

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA-INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**ESTUDO ESTRUTURAL E FARMACOGNÓSTICO
DE *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth.
(LAMIACEAE): UMA PLANTA MEDICINAL
UTILIZADA POR POPULAÇÕES RIBEIRINHAS
DO AMAZONAS**

ANDRÉIA BARRONCAS DE OLIVEIRA

Manaus, Amazonas
Dezembro, 2011

ANDRÉIA BARRONCAS DE OLIVEIRA

**ESTUDO ESTRUTURAL E FARMACOGNÓSTICO
DE *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth.
(LAMIACEAE): UMA PLANTA MEDICINAL
UTILIZADA POR POPULAÇÕES RIBEIRINHAS
DO AMAZONAS**

ORIENTADORA: MARIA SILVIA DE MENDONÇA Dra.

CO-ORIENTADORA: Renata Maria Strozi Alves Meira Dra.

Tese apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em BOTÂNICA.

Manaus, Amazonas
Dezembro, 2011

- O48 Oliveira, Andréia Barroncas de
Estudo estrutural e farmacognóstico de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil.
ex Benth. (Lamiaceae): uma planta medicinal utilizada por populações
ribeirinhas do Amazonas / Andréia Barroncas de Oliveira.--- Manaus : [s.n.],
2012.
xiv, 95f. : il. color.
- Tese (doutorado) --- INPA, Manaus, 2012
Orientador : Maria Silvia de Mendonça Queiroz
Co-orientador : Renata Maria Strozi Alves Meira
Área de concentração : Biologia de Água Doce e Pesca Interior
1. Trevo-roxo. 2. Ontogenia. 3. Histoquímica. 4. Fitoquímica.
I. Título.
- CDD 19. ed. 583.8704

Sinopse: Foi realizado um estudo anatômico e farmacognóstico de *Scutellaria agrestis*, uma planta utilizada como medicinal pelas comunidades ribeirinhas, situadas em Manacapuru (Amazonas, Brasil). Esta pesquisa gerou dados científicos da planta estudada, através do diálogo entre diferentes áreas do conhecimento, considerando que a anatomia é um importante parâmetro taxonômico para a certificação e controle de qualidade de plantas medicinais, e que a detecção de compostos biologicamente ativos é fundamental na busca de uma melhor compreensão das atividades farmacológicas da espécie.

Palavras-chave: Trevo-roxo. Ontogenia. Histoquímica. Fitoquímica

Dedico mais esta etapa de minha trajetória aos meus três amores, meu Pai amado e amigo André Gomes de Oliveira; ao meu esposo com quem divido as experiências desta encarnação, escolhido do meu coração Marcelo Gonçalves Cortez e ao meu filho querido, antigo afeto do mais profundo sentimento de minha alma.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao criador “Deus”, pela misericórdia de me conceder a oportunidade de viver mais esta experiência nesta escola chamada “Terra” e aos amigos queridos da dimensão espiritual, pelo acompanhamento durante esta etapa da minha vida, inspirando-me tranquilidade e confiança nos momentos necessários.

Ao programa de Pós-Graduação em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pela realização deste curso de Doutorado.

A Capes e ao CNPq, pelo suporte financeiro que possibilitou a execução deste estudo.

Ao Laboratório de Botânica Agroflorestral (LABAF) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pela realização de parte deste trabalho. Local do qual guardo antigas e queridas recordações da época de graduação.

Ao Laboratório de Farmacobotânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pelo auxílio durante a realização tanto da prospecção fitoquímica quanto dos ensaios biológicos, em especial às farmacêuticas Gleyce Barbosa e Maria Cristina Verdam, colegas queridas. À Professora Deborah Teixeira Ohana, pela oportunidade de realizar esta etapa do trabalho, que só foi possível pela parceria junto à Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela parceria e presteza durante a realização dos testes histoquímicos e obtenção das imagens de microscopia de luz. Local de trabalho do qual guardo preciosas recordações da época de mestrado.

A todos os funcionários, professores e estudantes de pós-graduação ligados ao Laboratório de Anatomia Vegetal (UFV) e aos Laboratórios de Farmacobotânica e Botânica Agroflorestral (UFAM), por todo o auxílio.

Ao núcleo de Microscopia Eletrônica e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa, pelas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Amazonas (CEEA-UFAM), pela aprovação do experimento e disponibilização dos animais utilizados nos ensaios biológicos.

Ao seu Matias, responsável pelo horto medicinal da Universidade Nilton Lins, pela disponibilidade de fornecer diversos indivíduos da planta estudada, possibilitando a realização de parte desta tese. Em especial a doutoranda Ressiliane, pela descoberta deste cultivo.

Aos ribeirinhos residentes nas comunidades Nossa Senhora das Graças e Nossa Senhora de Nazaré pela presteza de fornecer alguns indivíduos da espécie estudada para a realização desta pesquisa.

À Fiocruz, pelo apoio na liofilização do extrato aquoso da espécie estudada, em especial à Josy, pela presteza.

A todos os funcionários e professores ligados ao curso da Botânica do INPA por todo auxílio, em especial as secretárias Neide e Jéssica.

À minha amiga e orientadora, Dra. Maria Silvia de Mendonça, pela oportunidade de trabalhar com liberdade, confiança, apoio e compreensão durante este treinamento acadêmico. Minha eterna amizade em favor de seu enorme coração.

À minha querida co-orientadora, porém eterna orientadora, Dra. Renata Strozi Alves Meira, pela amizade, confiança, paciência e incontestável orientação durante a realização do Mestrado e do Doutorado. Agradeço por todo o aprendizado de anatomia vegetal que obtive por seu intermédio, como professora e orientadora exemplar. Minha eterna gratidão aos professores de anatomia vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

À professora Fernanda Guilhon da Faculdade de Farmácia (UFAM), pelas valiosas contribuições.

As colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, pela agradável convivência em especial, a Dya, Dayana e Vinícius e à técnica do laboratório Nívea Moreira, pelo auxílio.

Aos colegas do Laboratório de Botânica Agroflorestal da Universidade Federal do Amazonas, Polyana, Glória, Ângela, Beth, Mariana, Anália, Lucilene, Silvia, Ressiliane, Alexandre, Rogério, Maria Cristina, Madalena, Simone pelo carinho e apoio, em especial ao técnico do laboratório Manoel, pelo auxílio.

As amigas Alice Santana e Sissi Mikaela, pela paciência, colaborações burocráticas e principalmente pela amizade.

À pós-doutoranda do New York Botanical Garden Marcela Thadeo, por sua solidariedade já em Viçosa quando compartilhávamos a orientadora, até hoje, auxiliando-me na revisão de artigos científicos.

À minha amiga querida Mariana Cassino, pela amizade, pelo companheirismo acadêmico, pela paciência, pelo carinho, pelas nossas conversas existencialistas e pelas inúmeras contribuições durante as correções desta tese. Amizades deste tipo são especiais e criam ligações para esta e outras existências.

Aos amigos, de pós-graduação, André, Mayá, Mariana, Carlos, Amanda, Natália, Cristiane, Keila, Helena, pela amizade durante as disciplinas cursadas na botânica.

Às amigas doutoras Juliana e Roberta, pela amizade, carinho e atenção dispensada durante a minha estadia em Viçosa.

À minha amiga e eterna orientadora de iniciação científica Professora Maria Gracimar de Araújo, a Gal, pela amizade, pela sua postura ética seja no trabalho ou na vida pessoal. Obrigada pelas primeiras aulas de pesquisa durante o PIBIC (UFAM), é com imenso orgulho e enorme admiração que agradeço a oportunidade de ter sido sua aluna. Minha eterna amizade e gratidão.

Ao meu amigo e amado pai André Gomes de Oliveira, pelo incansável incentivo, apoio, confiança e orientações concedidas com tanto carinho durante esta existência. Além de ser um exemplo de ser humano, corajoso, otimista e perseverante. Muito obrigada por ter me dado o maior bem que um espírito pode receber que é a oportunidade de se esclarecer por meio da ciência, filosofia e religião.

Ao meu amor, escolhido companheiro Marcelo, pela dedicação, incentivo, apoio e paciência durante a execução deste estudo. Obrigada por me ajudar a me tornar um espírito melhor.

Ao meu querido e profundamente amado filho, pela experiência de ser mãe, pela compreensão durante a minha ausência na execução deste trabalho, pela benção de estar em nosso lar. Obrigada pelas lições de vida.

À minha amiga e querida irmã Carol, pelo carinho, pelo apoio, pela paciência, em especial por ser minha irmã.

À minha amiga e mãe Socorro, pelos carinhos incomparáveis de mãe.

À tia Graça, pela amizade, pelas experiências e aprendizados desta vida.

Aos meus irmãos queridos Márcio, Juliana, Thiago e Joanna, pelo carinho e simplesmente por serem meus irmãos amados.

À Iolanda e Abigail, por todo carinho e dedicação com que têm cuidado do meu lar e do meu filho, sem os quais eu não poderia me dedicar tão intensamente a este treinamento científico.

A todos que colaboraram durante o desenvolvimento desta pesquisa, em quaisquer etapas e formas. Muito Obrigada.

As plantas medicinais são doadoras incondicionais de partículas divinas, oferecidas pela natureza, a fim de harmonizar e guiar o ser humano, no caminho do resgate de sua verdadeira essência. São dádivas de amor que se colocam à disposição de toda a humanidade (Júnior et al., 2005).

“Ser espírita é ser cristão genuíno,
com a obrigação de pautar a vida
pelos ensinamentos de Nosso
Senhor Jesus Cristo”

Chico Xavier

ESTUDO ESTRUTURAL E FARMACOGNÓSTICO DE *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE): UMA PLANTA MEDICINAL UTILIZADA POR POPULAÇÕES RIBEIRINHAS DO AMAZONAS

Resumo: *Scutellaria agrestis* (trevo-roxo) é uma planta muito utilizada pela população ribeirinha do Amazonas no tratamento de dores de ouvido, febre, diarreia e pressão alta. Este trabalho objetivou realizar estudos anatômicos, histoquímicos, fitoquímicos e farmacológicos dos órgãos vegetativos de *S. agrestis*, com intuito de investigar o princípio ativo desta planta. Os indivíduos de *S. agrestis* foram coletados nas comunidades Nossa Senhora das Graças e Nossa Senhora de Nazaré localizadas no município de Manacapuru/AM, às margens do Rio Solimões e no horto medicinal da Universidade Nilton Lins, Manaus/AM. Amostras dos órgãos vegetativos foram processadas de acordo com técnicas usuais de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura para o estudo anatômico dos órgãos vegetativos e ontogenético dos tricomas. Os metabólitos sintetizados pelas estruturas secretoras foram detectados e histolocalizados por meio de testes fitoquímicos e histoquímicos. Foi preparado da folha da espécie estudada extrato aquoso e realizados experimentos *in vivo* e *in vitro* para investigar a toxicidade aguda e apenas *in vivo* para as ações analgésicas e/ou antiinflamatórias da planta. Em *S. agrestis* são vistos, tanto na folha quanto no caule, inúmeros tricomas tectores e glandulares. O revestimento epidérmico dos órgãos vegetativos aéreos desta planta acumula no vacúolo antocianinas, exceto a face adaxial da epiderme foliar. A folha é anfihipoestomática, com estômatos do tipo diacítico. A lâmina foliar possui epiderme unisseriada; o mesofilo é dorsiventral e hidatódios estão presentes ao longo da margem. A nervura principal possui formato plano convexo, com tecido vascular colateral organizado em um arco aberto. O pecíolo exhibe contorno côncavo convexo; o sistema vascular é colateral. O caule é quadrangular com vértices proeminentes; a endoderme é evidente; o sistema vascular é do tipo colateral e a medula parenquimática. A raiz é protostélica, com a endoderme evidenciada pelas estrias de Caspary suberificadas; as células da exoderme, córtex e endoderme apresentam conteúdos fenólicos e mucilaginosos. A ontogenia dos tricomas de *S. agrestis* segue o padrão para a família. As estruturas secretoras responsáveis pela síntese das substâncias são glândulas capitadas e peltadas e uma epiderme secretora. Tais estruturas são o sítio de secreção do princípio ativo da planta produzindo fenóis (fenóis gerais, taninos hidrolisáveis, cumarinas e várias classes de flavonoides como antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonois, xantonas, leucoantocianidinas, flavanonas, flavanonóis), terpenos (óleos essenciais, esteroides livres, saponinas), lipídios totais, ácidos e

proteínas. O extrato aquoso da folha de *S. agrestis* apresentou efeito analgésico e anti-inflamatório respondendo ao sinal de dor, porém não apresenta atividade antiedematogênica; não apresenta componentes tóxicos, logo é uma droga vegetal que possui suporte científico, conferindo uma margem de segurança toxicológica para os avanços de estudos com esta espécie. Os resultados obtidos nesta pesquisa fornecem dados botânicos e farmacognósticos contribuindo para o controle de qualidade desta planta utilizada como medicinal, assim como para a biologia da mesma.

Palavras-chave: trevo-roxo, ontogenia de estruturas secretoras, histoquímica, fitoquímica, ensaios biológicos.

STRUCTURAL AND PHARMACOGNOSTIC STUDY OF *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE): A MEDICINAL PLANT USED BY RIVERINE POPULATIONS OF AMAZONAS

Abstract: *Scutellaria agrestis* (trevo-roxo) is a plant widely used by the riverine population of the Amazon state in the treatment of earaches, fever, diarrhea and high blood pressure. This work aimed to perform anatomical, histochemical, pharmacological and phytochemical analysis of the vegetative organs of *S. agrestis*, in order to investigate the active principle of this plant. Individuals of *S. agrestis* were collected in two locations, the first of them being the riverine communities Nossa Senhora das Graças and Nossa Senhora de Nazaré, located in the Solimões river, in Manacapuru, state of Amazonas, and the second one, the medicinal garden of Nilton Lins University, in Manaus, Amazonas state. Samples of vegetative organs were processed according to usual techniques of light microscopy and scanning electron microscopy for anatomical study of the plant and ontogenetic study of plant trichomes. The metabolites synthesized by secretory structures were detected and histolocalized by phytochemical and histochemical tests. An aqueous extract was prepared from the leaf of the studied species and experiments were performed to investigate the acute toxicity *in vivo* and *in vitro*, and the analgesic and/or anti-inflammatory actions *in vivo*. Numerous glandular trichomes are seen in both leaf and stem of *S. agrestis*. The epidermis of the vegetative organs of this plant contains anthocyanins in the vacuole, except for the adaxial leaf epidermis. The leaf is amphihypostomatic, with diacitic stomata. The leaf blade has uniseriate epidermis, dorsiventral mesophyll and hydathodes are present along the margin. The midrib has a plan-convex shape, with vascular tissue arranged in an open arc. The petiole has a concave-convex shape, collateral vascular system. The stem is square-shaped with prominent vertices, evident endoderm, collateral vascular system and parenchymatous pith. The root is protostelic, with endoderm highlighted by suberified Casparian strips; cells of exodermis, cortex and endodermis have mucilage and phenolic content. The ontogeny of trichomes of *S. agrestis* follows the pattern for the family. The secretory structures responsible for the synthesis of substances are peltate and capitate glands and the secretory epidermis. Such structures are the site of secretion of the active principle of the plant, producing phenols (phenols, hydrolysable tannins, coumarins and several classes of flavonoids such as anthocyanins, anthocyanidines, chalcones, aurones, flavones, flavonols, xanthones, *leucoanthocyanidines*, flavanones, flavanonols), terpenes (essential oils, free steroids, saponins), total lipids, proteins and acids. The aqueous extract of *S. agrestis* leaf showed analgesic and anti-inflammatory response to

the pain signal, but does not present antiedematogenic activity and has no toxic components, so it is a vegetal drug with scientific support, giving a toxicological margin of safety for the improvement of studies with this species. The results of this research provide botanical and pharmacognostic data, contributing to the knowledge of this plant biology.

Keywords: trevo-roxo, ontogeny of secretory structures, histochemistry, phytochemistry, biological assays.

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	1
2.	Objetivos.....	5
3.	Síntese.....	80
4.	Referências Bibliográficas.....	82
5.	Anexo A.....	95
CAPÍTULO 1. Anatomia dos órgãos vegetativos de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae), uma planta medicinal, cultivada por populações ribeirinhas do Amazonas-Brasil.....		
		06
	Introdução.....	09
	Material e Métodos.....	10
	Resultados.....	12
	Discussão.....	21
	Conclusões.....	24
	Referências Bibliográficas.....	25
CAPÍTULO 2. Ontogenia dos tricomas, fitoquímica e histoquímica dos órgãos vegetativos aéreos de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae), Brasil-Amazonas.....		
		31
	Introdução.....	34
	Material e Métodos.....	35
	Resultados.....	40
	Discussão.....	50
	Conclusões.....	54
	Referências Bibliográficas.....	54
CAPÍTULO 3. Efeito analgésico e anti-inflamatório do extrato aquoso de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae) em roedores.....		
		61
	Introdução.....	64
	Material e Métodos.....	65
	Resultados.....	68
	Discussão.....	71
	Conclusões.....	74
	Referências Bibliográficas.....	74

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1:

Figura 1. Plantas de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	13
Figura 2. Lâmina foliar de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	13
Figura 3. Estruturas da lâmina foliar de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	17
Figura 4. Hidatódios na lâmina foliar e nervura central de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	18
Figura 5. Estruturas da nervura mediana, pecíolo e caule de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	19
Figura 6. Estrutura, da raiz de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	20

CAPÍTULO 2:

Figura 1. Distribuição dos tricomas na lâmina foliar de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. Imagens em MEV	43
Figura 2. Desenvolvimento dos tricomas na folha de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth	44
Figura 3. Tricomas presentes na lâmina foliar de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. Imagens em MEV.....	45
Figura 4. Histoquímica dos metabólitos presentes nas estruturas secretoras de <i>Scutellaria agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth.	47

CAPÍTULO 3:

Figura 1. Efeito da administração (p. o.) de <i>S. agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. (30, 100, 300 mg/kg), indometacina (10 mg/kg), água potável (10 mL/kg) e (p. sc.) e fentanil (50 µg/kg) em camundongos para avaliação da atividade analgésica e/ou anti-inflamatória por meio do teste de formalina.	70
Figura 2. Efeito da administração (p. o.) no tempo de 3 horas de <i>S. agrestis</i> A. St.-Hil. ex Benth. (30, 100, 300 mg/kg), indometacina (10 mg/kg) e água potável (10 mL/kg) em ratos para avaliação da atividade anti-inflamatória por meio do teste de edema de pata.	70

1. INTRODUÇÃO

A evolução da arte de curar pelos vegetais foi marcada por numerosas etapas difíceis de serem delimitadas com exatidão, uma vez que o uso de plantas medicinais esteve presente ao longo de toda a história da humanidade. A medicina esteve por muito tempo associada a práticas mágicas, místicas e ritualísticas (Martins *et al.*, 1995; Borrás, 2003, Júnior *et al.*, 2005), encontrando tanto nos monges, feiticeiros e alquimistas quanto na população usuária das plantas os principais responsáveis por sua disseminação (Di Stasi, 1996).

No Brasil, o uso de plantas medicinais mostra influências das culturas indígena, africana e europeia. No período pré-colonial, as populações indígenas já possuíam a prática de utilizar as plantas para fins terapêuticos e preparo de corantes, repassando tais conhecimentos aos seus descendentes (Júnior *et al.*, 2005).

Inúmeras espécies vegetais foram incorporadas à medicina tradicional mediante seu uso empírico e métodos de tentativa e erro (Júnior *et al.*, 2005), sendo prescritas com frequência pelos efeitos terapêuticos que produziam apesar dos seus constituintes químicos não serem conhecidos (Maciel *et al.*, 2002). Assim, as observações populares sobre o uso e a eficácia das plantas medicinais contribuíram de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas dos vegetais e serviram como subsídio para a seleção das mesmas.

As substâncias sintetizadas pelas plantas como os flavonoides, taninos, alcaloides, cumarinas, ligninas e terpenos, quando isolados da planta, parecem ser os principais responsáveis por suas ações terapêuticas, sejam elas analgésicas, anti-inflamatórias, antivirais, hipoglicemiantes, antiespasmódicas e antialérgicas (Simões *et al.*, 2004; Júnior *et al.*, 2005). Muitos dos compostos secundários das plantas são produzidos por estruturas especializadas. As secreções oriundas dos vegetais envolvem processos complexos de formação, ocorrendo desde a síntese até o armazenamento de substâncias específicas em compartimentos do protoplasto da célula secretora e, posteriormente, a liberação para espaços extracelulares no interior dos órgãos ou para a superfície externa do vegetal. Geralmente, diferentes tipos de estruturas secretoras estão presentes em diferentes partes da planta como também um mesmo tipo de estrutura pode estar presente nos diversos órgãos vegetativos e reprodutivos da mesma (Fahn, 1979; Castro e Machado, 2003).

Em virtude do rico arsenal de compostos químicos oriundos dos vegetais, profissionais de diferentes áreas como farmacêuticos, biólogos, bioquímicos, pesquisadores de áreas afins buscaram desenvolver a partir das plantas medicinais alternativas e combinações de princípios

ativos (Di Stasi, 1996). Logo, os produtos quimicamente fabricados tomaram o lugar dos medicamentos naturais. No entanto, a existência de doenças de difícil tratamento (HIV, câncer, dengue), a procura por novos remédios (analgésicos, anti-hipertensivos, anti-inflamatórios), a crise econômica, o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população às assistências médica e farmacêutica, além da tendência generalizada dos consumidores a preferirem produtos de origem natural são fatores que contribuem tanto para a maior utilização de plantas medicinais quanto para a busca pela descoberta de novos princípios ativos capazes de remediar os males. (Castro *et al.*, 2004; Júnior *et al.*, 2005; Leite *et al.*, 2009).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), nos países em desenvolvimento, cerca de 80% da população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (Brasil, 2005). Desta forma, a busca de novos medicamentos a partir de vegetais, seja na forma do princípio ativo isolado seja *in natura*, é atualmente a esperança mais concreta para pacientes com doenças graves, assim como para a melhoria na qualidade da saúde pública (Castro *et al.*, 2004).

Na década de 70, a OMS criou o Programa de Medicina Tradicional, visando integrar a medicina popular e a medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de atenção à saúde (Brasil, 2005). Recentemente, o governo brasileiro elaborou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, envolvendo aspectos da saúde, desenvolvimento econômico e social da população brasileira, assim como questões ambientais voltadas ao uso racional dos recursos naturais (Brasil, 2005). Em março de 2010, foi regulamentada a resolução RDC n.10 que dispõe sobre a padronização das medidas de referências de uso das drogas vegetais, sujeitas a notificação junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Vale ressaltar a diferença entre droga vegetal e fitoterápico definindo-se droga vegetal como todo material botânico sem vida que sofreu alguma transformação, podendo se tratar do indivíduo inteiro ou parte dele (órgãos), obrigatoriamente seco e utilizado como forma bruta de “medicamento”. Já o termo fitoterápico pode ser definido como um “medicamento” obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais, não se admitindo em sua composição qualquer substância ativa isolada, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais (Oliveira *et al.*, 2005; Leite *et al.*, 2009).

Investigações científicas com plantas medicinais envolvem inúmeros elementos, de caráter inter e multidisciplinar, que permitem aos pesquisadores obterem conhecimentos mais ricos que aqueles obtidos em linhas específicas da ciência (Di Stasi, 1996; Júnior *et al.*, 2005;

Leite *et al.*, 2009). Assim, tais pesquisas perpassam por estudos da medicina tradicional (etnobotânica); estudos morfoanatômicos (identificação botânica); histolocalização, isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (histoquímica, fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (farmacologia); transformações químicas de princípios ativos (química orgânica sintética); estudo da relação estrutura / atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos (química medicinal e farmacologia) e finalmente a operação de formulações para a produção de fitoterápicos ou do uso direto da droga vegetal. A integração destas áreas na pesquisa de plantas medicinais, além de favorecer a transversalidade, amplifica a perspectiva entre as diferentes áreas do conhecimento estabelecendo novas interfaces, e, principalmente, conduz a um caminho promissor e eficaz para descobertas de novos medicamentos (Di Stasi, 1996; Maciel *et al.*, 2002; Fernandes, 2004; Júnior *et al.*, 2005; Leite *et al.*, 2009).

Diante do exposto, investigações com plantas utilizadas para fins medicinais são necessárias seja para o fornecimento de informações morfológicas, anatômicas, histoquímicas, fitoquímicas e farmacológicas, seja no que se refere aos dados sobre fenologia, tipos de estruturas secretoras e marcadores quimiotaxonômicos. Além disso, tais estudos são fundamentais para o fornecimento de informações preliminares sobre a atividade terapêutica da droga vegetal. É importante ressaltar que ainda é mais rápido descobrir a identidade de uma droga bruta (em estado integral ou fragmentado) a partir de sua anatomia do que de sua composição química (Cutler *et al.*, 2011).

Espécies de *Scutellaria* (*S. baicalensis*, *S. amoena*, *S. linearis*, *S. viscidula*, *S. strigillosa*, *S. prostrata*, *S. grossas*, *S. barbata*, *S. hypericifolia*, *S. galericulata*, *S. discolor*, *S. seleriana*, *S. ovata*, *S. linearis*, entre outras) são amplamente utilizadas na medicina tradicional dos povos asiáticos, europeus e americanos, uma vez que tais continentes figuram como o centro de distribuição sub-cosmopolita do gênero (Paton, 1990; Pool, 2006). Trabalhos químicos, fitoquímicos e farmacológicos com espécies pertencentes ao gênero supracitado têm sido intensamente realizados com o intuito de comprovação da sua eficácia terapêutica no tratamento de sintomas e/ou doenças como inflamações, febre, diarreia, infecções virais, fúngicas ou bacterianas, pressão alta, câncer, HIV, entre outras (Ersöz *et al.*, 2002; Chou *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2009; Shang *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011).

Scutellaria baicalensis Georgi e *Scutellaria barbata* D. Don, conhecidas popularmente na China como Huanh Qin e Ban Zhi Lian, respectivamente, encontram-se listadas na farmacopeia dos povos da China e do Japão. Este reconhecimento se deve tanto ao amplo uso na terapêutica popular quanto ao fato de serem referenciadas cientificamente as suas

propriedades medicinais (anticâncer, anti-inflamatória, antialérgica, antiviral, antioxidante) e seus princípios ativos, dentre eles destacando-se os alcaloides, flavonoides (baiacalina, baiacaleina) e terpenos (Shang *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2011; Dai *et al.*, 2011).

Scutellaria agrestis (trevo-roxo) é a única espécie do gênero com registro de cultivo por populações tradicionais no Brasil (Alonso, 1990; Almeida e Albuquerque, 2002; Harley *et al.*, 2010). No Amazonas, esta espécie é amplamente utilizada como medicinal no tratamento de dor de ouvido, pressão alta e diarreia pelas comunidades ribeirinhas residentes ao longo do rio Solimões, Amazonas (Cassino, 2010).

Como relatado anteriormente, numerosas são as pesquisas acerca dos constituintes químicos e farmacológicos do gênero *Scutellaria*. No entanto, poucos são os dados anatômicos ao seu respeito, podendo-se destacar o que se tem descrito para a família na literatura clássica de anatomia vegetal (Metcalf e Chalk, 1957) e uma breve descrição anatômica da folha e do caule de *Scutellaria pinnatifida* A. Hamit subsp. *pichleri* originária do Irã (Hatamneia *et al.*, 2008). Com relação a *Scutellaria agrestis*, não há trabalhos na literatura científica, sendo assim qualquer estudo realizado com esta espécie se faz de grande importância.

Diante da perspectiva de investigar o princípio ativo presente nas estruturas vegetativas de *Scutellaria agrestis* sob aspectos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos, e ainda na busca de interrelacioná-los, o presente estudo foi organizado em três capítulos. O primeiro referiu-se à caracterização anatômica dos órgãos vegetativos; o segundo descreveu a ontogenia dos tricomas e a detecção das substâncias sintetizadas pelas estruturas secretoras e o terceiro avaliou preliminar e experimentalmente, a partir de bioensaios *in vivo*, a segurança toxicológica e a ação analgésica e/ou anti-inflamatória do extrato aquoso da espécie estudada. Esta pesquisa pretendeu, através do diálogo entre diferentes áreas do conhecimento, gerar dados científicos a respeito de *Scutellaria agrestis*, considerando que a anatomia é um importante parâmetro taxonômico para a certificação e controle de qualidade de plantas medicinais, e que a detecção de compostos biologicamente ativos é fundamental na busca de uma melhor compreensão das atividades farmacológicas da espécie.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral:

- Realizar um estudo anatômico e farmacognóstico dos órgãos vegetativos de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae), uma planta com potencial terapêutico utilizada na medicina popular em comunidades ribeirinhas do Amazonas.

2.2. Específicos:

- Caracterizar morfoanatomicamente os órgãos vegetativos de *Scutellaria agrestis*;
- Efetuar prospecção fitoquímica preliminar para detectar as classes de compostos presentes nos órgãos vegetativos aéreos de *Scutellaria agrestis*;
- Histolocalizar as classes de compostos detectadas nas estruturas secretoras de *Scutellaria agrestis* por meio de testes histoquímicos;
- Investigar preliminarmente a segurança toxicológica e as ações analgésicas e/ou anti-inflamatórias do extrato aquoso das folhas de *Scutellaria agrestis* por via oral através de experimentação em animais.

Capítulo 1

Oliveira, A.B.; Mendonça, M.S.; Meira, R.M.S.A. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae), uma planta medicinal, cultivada por populações ribeirinhas do Amazonas-Brasil. Manuscrito em preparação para South African Journal of Botany.

ANATOMIA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE), UMA PLANTA MEDICINAL, CULTIVADA POR POPULAÇÕES RIBEIRINHAS DO AMAZONAS-BRASIL

Resumo: *Scutellaria agrestis* (Lamiaceae) é uma planta vulgarmente conhecida como trevo-roxo, cultivada para fins medicinais por comunidades ribeirinhas residentes em área de várzea, situadas ao longo do rio Solimões, no interior do Amazonas, Brasil. Desta forma, objetivou-se caracterizar a anatomia e como análise complementar realizar alguns testes histoquímicos dos órgãos vegetativos de *S. agrestis*. Amostras da folha, do caule e da raiz foram coletadas de cinco indivíduos, nas comunidades Nossa Senhora das Graças e Nossa Senhora de Nazaré localizadas em Manacapuru/AM, às margens do Rio Solimões. Amostras foram processadas conforme metodologia usual para obtenção de cortes histológicos, de peças diafanizadas e para observação ao microscópio eletrônico de varredura. Testes histoquímicos foram realizados para identificação de compostos fenólicos, polissacarídeos e lipídios. Em *Scutellaria agrestis* são vistos, tanto na folha quanto no caule, inúmeros tricomas tectores e glandulares. Ademais, numerosos espaços intercelulares estão presentes em todos os órgãos vegetativos desta espécie. A folha é anfi-hipoestomática, com estômatos do tipo diacítico. A lâmina foliar possui epiderme unisseriada, com as células da face abaxial armazenando antocianinas; o mesofilo é dorsiventral e hidatódios estão presentes ao longo da margem. A nervura mediana possui formato plano convexo, com sistema vascular colateral organizado em um arco aberto. A epiderme do pecíolo e do caule é unisseriada e as células armazenam antocianinas. O pecíolo exhibe contorno côncavo convexo e o sistema vascular é colateral. O caule é quadrangular com vértices proeminentes; a endoderme é evidente; o sistema vascular é do tipo colateral e a medula parenquimática. A raiz é protostélica, com a endoderme evidenciada pelas estrias de Caspary suberificadas; idioblastos mucilaginosos e contendo compostos fenólicos ocorrem no córtex inclusive na exoderme e endoderme.

Palavras- chave: erva medicinal, trevo roxo, histoquímica.

ANATOMY OF VEGETATIVE ORGANS OF *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE), A MEDICINAL PLANT CULTIVATED BY RIVERINE POPULATIONS OF AMAZONAS STATE- BRAZIL

Abstract: *Scutellaria agrestis* (Lamiaceae) is a plant popularly known as trevo-roxo, cultivated for medicinal purposes by residents of riverine communities of floodplain areas along the Solimões river in the Amazonas state, Brazil. This study aimed to characterize the anatomy and to perform, as an additional analysis, histochemical tests of the vegetative organs of the *S. agrestis*. Samples of leaf, stem and root were collected from five individuals in the communities Nossa Senhora das Graças e Nossa Senhora de Nazaré, located in the Solimões river, in Manacapuru, state of Amazonas. The samples were processed according to the usual methodology for obtaining histological sections, diaphanized parts and for observation under electron microscope. Histochemical tests were performed to identify phenolic compounds, polysaccharides and lipids. Numerous glandular trichomes are seen in both leaf and stem of *Scutellaria agrestis* and numerous intercellular spaces are present in all vegetative organs of this species. The leaf is amphihypostomatic, with diacitic stomata. The leaf blade has uniseriate epidermis, with cells of the abaxial surface storing anthocyanins. The mesophyll is dorsiventral and hydathodes are present along the margin. The midrib has a plan-convex shape, with vascular tissue arranged in an open arc. The epidermis of the petiole and stem cells is uniseriate and stores anthocyanins. The petiole has a concave convex shape, collateral vascular system. The stem is square-shaped with prominent vertices, evident endoderm, collateral vascular system and parenchymatous pith. The root is protostelic, with endoderm highlighted by suberified Casparian strips. Idioblasts containing mucilage and phenolic compounds occur in the cortex including the exodermis and endodermis.

Keywords: medicinal herb, trevo-roxo, histochemistry.

INTRODUÇÃO

A família Lamiaceae compreende cerca de sete subfamílias, 300 gêneros e 7.500 espécies. No Brasil, ocorrem 28 gêneros e 350 espécies (Souza e Lorenzi, 2008). Com distribuição cosmopolita, ocorrem em todos os ambientes e altitudes. Caracterizam-se por apresentar folhas opostas ou verticiladas, margens denteadas ou serrilhadas com ramos e caules quadrangulares e pubescentes; flores pequenas dispostas em cimeiras (Ribeiro *et al.*, 1999; Souza e Lorenzi, 2008). Pertencente a esta família, o gênero *Scutellaria* L. com aproximadamente 360 espécies possui distribuição sub-cosmopolita (Paton, 1990; Pool, 2006). Ocorre principalmente em regiões temperadas e montanhas tropicais incluindo a Europa, América do Norte e Leste da Ásia (Bruno *et al.*, 2002), com algumas espécies registradas para a América Central, Colômbia, Equador (Alonso, 1990, Pool, 2006). No Brasil foram encontradas citações de ocorrência apenas de *Scutellaria agrestis* A.St.-Hil. ex Benth. (Alonso, 1990; Almeida e Albuquerque, 2002; Cassino, 2010; Harley *et al.*, 2010).

Há muito tempo espécies de *Scutellaria* (*S. baiacalensis*, *S. amoena*, *S. linearis*, *S. viscidula*, *S. strigillosa*, *S. prostrada*, *S. grossas*, *S. barbata*, *S. hypericifolia*, *S. galericulata*, *S. discolor*, *S. seleriana*, *S. ovata*, *S. linearis*, entre outras) têm sido utilizadas na medicina tradicional por povos asiáticos, europeus e americanos. Nos últimos anos, tais espécies vêm sendo estudadas nas áreas da saúde, química e fitoquímica e então testadas suas atividades terapêuticas tais como antiespasmódica, antidiarréica, antifúngica, febrífuga, atividade antioxidante, anticâncer, antiHIV, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, anticonvulsiva (Ersöz *et al.*, 2002; Chou *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2009; Shang *et al.*, 2010).

Apesar do grande interesse a cerca das espécies de *Scutellaria*, estudos envolvendo anatomia vegetal são raros, podendo-se destacar o que se tem descrito para a família Lamiaceae na obra literária clássica de Metcalfe e Chalk (1975) e uma breve descrição anatômica da folha e do caule de *Scutellaria pinnatifida* A. Hamit subsp. *pichleri* (Hatamneia *et al.*, 2008). Sabe-se que o gênero *Scutellaria*, apresenta células especializadas por conter “scutellarin” na face abaxial da epiderme; tricomas secretores com cabeça unicelular especialmente grande, tricomas glandulares pedunculado com cabeça biglandular e tricomas glandulares com cabeça contendo 16 ou mais células; e endoderme com estrias de Caspary nítidas, características estas de valor taxonômico, e utilizadas em chaves para distinção deste gênero na família Lamiaceae (Metcalfe e Chalk, 1957).

Scutellaria agrestis é cultivada e utilizada por comunidades indígenas Tikunas da Colômbia, Peru e Brasil, com fins medicinais, no tratamento de doenças do estômago e diarreias. Este conhecimento tradicional, concomitante à domesticação desta espécie ao longo do tempo, foi sendo repassado para as demais comunidades descendentes (Alonso, 1990). Atualmente, esta espécie, conhecida popularmente como trevo-roxo, é uma planta cultivada por populações ribeirinhas dos municípios do Amazonas banhados pelo rio Solimões e tem sido usada na medicina caseira no tratamento de dor de ouvido, febre, diarreia, pressão alta e outras doenças, específicas do universo nosológico de tais comunidades (Cassino, 2010).

Em hortos e parques ecológicos municipais da cidade de Manaus (Amazonas, Brasil), *Scutellaria agrestis* vem sendo identificada erroneamente (*Hipytis* sp.) ou, muitas vezes, ficando sem a identificação científica, constando apenas o seu nome popular (trevo-roxo). Este fato é preocupante podendo gerar problemas de saúde para a população que usa esta planta para fins medicinais, uma vez que plantas morfológicamente semelhante podem corresponder a espécies distintas, é muito comum uma mesma espécie receber nomes vulgares, tanto quanto, um mesmo nome popular pode ser usado para denominar diferentes espécies vegetais (Borrás, 2003).

Considerando-se que caracteres anatômicos são parâmetros taxonômicos importantes para a certificação e controle de qualidade de plantas medicinais, tornam-se necessárias investigações da estrutura dos órgãos vegetativos de espécies que possuam atividades terapêuticas. Tais averiguações se fazem ainda mais imperativas no caso de espécies inéditas quanto ao conhecimento anatômico, como é o caso de *Scutellaria agrestis*. Diante disso, o presente trabalho caracterizou anatômica e histoquimicamente (análise complementar), os órgãos vegetativos de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae).

MATERIAL E MÉTODOS

Scutellaria agrestis foi selecionada a partir da listagem de plantas citadas e usadas como medicinais para dor de ouvido e antidiarréica (Cassino, 2010), pelos ribeirinhos residentes nas comunidades Nossa Senhora das Graças situada na Costa do Pesqueiro (3°20'S, 60°36'W) e Nossa Senhora de Nazaré situada na Costa do Paratari (3°34'S, 60°55'W) em áreas de várzea, na zona rural do município de Manacapuru/AM, às margens do Rio Solimões.

Foram realizadas coletas de cinco indivíduos cultivados de *Scutellaria agrestis* nas comunidades ribeirinhas supracitadas para o estudo anatômico. Exsicatas foram confeccionadas e incorporadas ao Herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, sob o número de registro 232920, sendo a identidade taxonômica confirmada pelo especialista Prof. Dr. Alan Paton (Kew Gardens, Inglaterra). Destes mesmos indivíduos ou populações, foram retiradas amostras da raiz, do caule e da folha (pecíolo e lâmina foliar, jovens e adultas), fixadas por 24 horas em formalina neutra tamponada (FNT: tampão fosfato, formalina, 9:1 v/v), mantidas sob vácuo em dessecador por 48 horas e conservadas em etanol 70% (Kraus e Arduin, 1997).

Para a diafanização, folhas inteiras foram colocadas em solução de hidróxido de sódio aquoso a 10% durante cinco dias, sendo a solução trocada a cada 12 horas, e lavada em água corrente, seguindo-se coloração com safranina 1% em álcool etílico 50% (Johansen, 1940).

Do material fixado, foram retiradas amostras da raiz (na altura de 60 mm a partir do ápice radicular), do caule (na altura de 100 mm a partir do ápice caulinar) e da folha (fragmentos da base, do meio e do ápice tanto da lâmina quanto do pecíolo), incluídas em metacrilato (Historesin, Leica) e seccionadas com auxílio de micrótomo rotativo (RM 2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). Os cortes (transversais e longitudinais de 6 - 8µm de espessura) foram corados com azul de toluidina pH 4,0 (O'Brien e McCully, 1981) para caracterização estrutural. As lâminas foram montadas com resina sintética (Permount -Fisher). Parte dos cortes histológicos das amostras incluídas em metacrilato foi submetida ao PAS (ácido periódico e reagente de Schiff) para polissacarídeos gerais (Maia, 1979). Todas as lâminas foram montadas com resina sintética (Permount).

Testes histoquímicos foram realizados, utilizando-se cortes transversais da lâmina foliar, do pecíolo, do caule e da raiz de amostras frescas. Parte dos cortes que não foram submetidos a reagentes foram fotografados a fim de documentar a coloração original dos tecidos analisados (branco). Secções controle foram realizadas simultaneamente, de acordo com a metodologia descrita nos protocolos. Os reagentes utilizados foram: vermelho de rutênio (Johansen, 1940) para polissacarídeos ácidos/mucilagens; lugol para amido (Jensen, 1962); ácido tânico a 5%/cloreto de ferro III a 3% para mucilagens (Pizzolato e Lillie, 1973); dicromato de potássio a 10% para compostos fenólicos (Gabe, 1968); solução de amônia para antocianinas (Johansen, 1940); vanilina clorídrica para taninos (Mace e Howell, 1974); floroglucinol para ligninas (Johansen, 1940); sudan IV para lipídios totais (Brundett et al., 1991).

As imagens foram obtidas por meio de microscópio fotônico (modelo AX 70 TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) com sistema U-PHOTO, acoplado a uma filmadora e microcomputador com analisador de imagens (Image Pro-Plus), do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Para descrever os caracteres superficiais da lâmina foliar, parte das amostras fixadas foi subdividida em pequenos pedaços (100 mm²) e desidratadas em série etílica, e secas ao ponto crítico (Bozzola e Russel, 1992). Após a afixação das amostras nos suportes, procedeu-se à deposição metálica com ouro utilizando-se equipamento Sputter Coater (modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Alemanha). Para captura de imagens foi utilizado microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 1430 VP, Zeiss, Cambridge, Inglaterra) do Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O arranjo do sistema vascular do pecíolo foi classificado de acordo com Howard (1979); o padrão de venação seguiu a classificação de Hickey (1979); o tipo de estômato na lâmina foliar por Wilkinson (1979) e os tricomas analisados segundo o proposto por Theobald *et al.* (1979).

RESULTADOS

Caracterização morfológica

Scutellaria agrestis é uma erva prostrada, com ramos eretos alcançando cerca de 450 mm de altura, ramificada; pubescente, com pêlos distribuídos por todo corpo vegetativo aéreo. O caule é quadrangular, de cor arroxeada (Figura 1A). A filotaxia é oposta cruzada (Figura 1B). O pecíolo mede cerca de 6-10 mm de comprimento e apresenta coloração roxa. O limbo é simples e bicolor, com a face adaxial de cor verde e a face abaxial roxa; apresenta venação, tanto de ordem primária quanto secundária, proeminente (Figura 1C) e textura membranácea. A forma do limbo é ovada a cordiforme, o ápice é agudo e levemente retuso na extremidade quando observado em estereoscópico, a base é cordada, com margem convexamente serreada e levemente revoluto (Figuras 1B-C; 2A-D). As flores são labiadas, variando de cor branca a violeta, dispostas em inflorescência terminal do tipo cimeira (Figuras 1A, D).



Figura 1. Plantas de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. A- aspecto geral; B, C- detalhe da filotaxia; D- detalhe da inflorescência. Barra: A- 2mm, B-C- 1mm, D- 0,6mm.

Caracterização anatômica da folha

O padrão de venação da lâmina foliar de *S. agrestis* é do tipo eucamptódromo e acródomo basal, com areolação randomizada, ou seja, sem um padrão preferencial de orientação, tanto no formato das aréolas quanto nas terminações das vênulas (Figuras 2A-D).

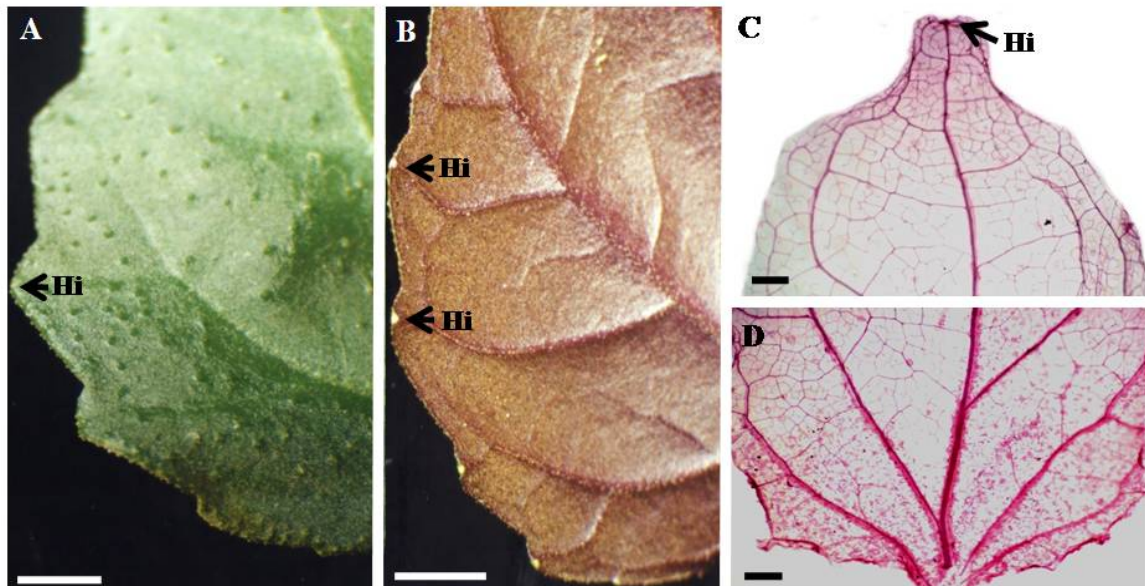


Figura 2. Lâmina foliar de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. A- face adaxial; B- face abaxial evidenciando hidatódios nos ápice dos dentes marginais; C- ápice da lâmina foliar diafanizada evidenciando o hidatódio apical; D- base da lâmina foliar diafanizada. Legenda: Hi- hidatódio. Barra: A, B- 0,4mm; C, D- 230µm.

Inúmeros tricomas tectores com conteúdo citoplasmático conservado, de tamanhos variados, ocorrem em toda a superfície foliar, podendo ser uni ou multicelulares (2-7 células) e unisseriados, na maioria das vezes são levemente encurvados no ápice e raramente eretos, revestidos por uma cutícula granulosa (Figuras 3A-D). Os tricomas tectores longos e com maior número de células ocorrem na face adaxial, ocupando toda a extensão da lâmina e os curtos concentram-se nas margens e sobre as nervuras de ambas as faces (Figuras 3A-B). Tricomas glandulares multicelulares do tipo capitado e peltado são vistos em ambas as faces da lâmina foliar, com maior número de tricomas peltados na face abaxial (Figuras 3 D-E). O tricoma capitado apresenta pedicelo curto e possui cerca de quatro células compondo a cabeça (Figuras 3E-F). Já o tricoma peltado encontra-se, geralmente, inserido em uma leve depressão, possui pedicelo curto e a cabeça multicelular contendo de 5-12 células, sendo que a cutícula se distende com o acúmulo do composto sintetizado no espaço subcuticular (Figuras 3E, G).

A folha é anfi-hipoestomática, com estômatos do tipo diacítico (Figuras 3H-I), localizando-se levemente elevados em relação às demais células epidérmicas (Figura 3J).

A lâmina foliar em vista frontal apresenta epiderme com parede anticlinal sinuosa e periclinal convexa a cônica, em ambas as faces (Figuras 3H-I). A epiderme é unisseriada com parede periclinal externa lisa e mais espessa do que a interna, revestida por uma cutícula lipídica delgada (Figuras 3J, K).

As células epidérmicas são amplas, justapostas, de formato tabular e tamanho variado em ambas as faces (Figura 3J). Na face abaxial, as células armazenam no vacúolo taninos e antocianinas (Figuras 3L-N). O pigmento apresenta coloração vermelha (Figura 3L), quando observado em corte fresco e muda de cor quando o pH é alterado de ácido a básico utilizando-se solução de amônia, resultando numa coloração azulada (Figura 3N). O mesofilo é heterogêneo, dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e cerca de três camadas de parênquima lacunoso (tipo bractiforme, quando observado em vista frontal na figura 3O), com numerosos meatos (Figura 3J).

Hidatódios foram observados no ápice da nervura mediana e nos dentes da margem da lâmina foliar, onde estão localizados especificamente em valéculas (Figuras 2A-D; Figuras 4A-B). Estas estruturas foram observadas totalmente diferenciadas desde o estágio inicial do desenvolvimento da lâmina foliar e estão presentes até a fase adulta (Figuras 4C-D). São vascularizados exclusivamente por xilema, apresentando elementos terminais com espessamento helicoidal (Figura 4E). O epitema subepidérmico é constituído por células parenquimáticas justapostas densamente coradas, circundadas por bainha aberta. As câmaras

dos poros aquíferos são duas a três vezes maiores do que as câmaras subestomáticas (Figuras 4C-D). Em vista frontal, são registrados cerca de seis poros aquíferos em cada hidatódio da região marginal e cerca de doze poros no hidatódio apical, com o ostíolo sempre aberto em todos os hidatódios (Figura 4F). O hidatódio apical é maior do que os hidatódios da margem, apresentando maior número tanto de poros aquíferos quanto de células parenquimáticas que compõe o epitema (Figura 4D).

A nervura mediana possui formato plano convexo, com as células epidérmicas de tamanho menor nesta região da lâmina foliar. Subjacentes à epiderme da face adaxial, encontram-se duas a quatro camadas de colênquima do tipo lamelar e apenas uma camada do tipo anelar voltada à face abaxial. O tecido vascular é colateral e está organizado em três feixes conectados em forma de arcos abertos, envoltos por parênquima de preenchimento (Figura 5A).

O pecíolo em corte transversal exhibe contorno côncavo na face adaxial e convexo na face abaxial, formando duas costelas (Figura 5B). A epiderme é unisseriada, com células de paredes delgadas, armazenando antocianinas no vacúolo (como descrito na folha), apresentando coloração vermelha intensa microscopicamente (Figura 5C), aludindo à cor arroxeada vista a olho nu, tanto na face abaxial da lâmina foliar quanto no caule (Figuras 1A-D). Tricomas tectores e glandulares, semelhantes aos descritos na lâmina foliar são observados na superfície epidérmica (Figuras 5B-E).

O córtex é composto por colênquima do tipo anelar descontínuo, com duas camadas de células na região da costela e uma camada tanto na valécula quanto no contorno convexo. Subjacentes ao colênquima ocorrem cerca de três a quatro camadas de parênquima clorofiliano homogêneo com numerosos meatos (Figura 5D).

O sistema vascular é do tipo colateral, organizado em três feixes vasculares, um central, maior, com forma de arco aberto e dois feixes acessórios, menores, de formato cilíndrico (Figura 5B).

Caracterização anatômica do caule e da raiz

O caule apresenta, em corte transversal, formato quadrangular com vértices proeminentes revelando costelas (Figura 5F). A epiderme é formada por uma camada de células poligonais revestidas por cutícula delgada corada de vermelho pelo sudan IV (Figura 5G). Na epiderme são visualizadas células armazenando antocianinas, estômatos, tricomas tectores e glandulares, semelhante ao descrito para o pecíolo.

Na porção externa do córtex, ocorre colênquima do tipo lamelar, unisseriado entre os vértices e pluriestratificado (duas a três camadas) nos vértices; subjacentes ao colênquima, três a quatro camadas de células de parênquima clorofiliano dispõem-se com bastantes espaços intercelulares (Figura 5H). A endoderme é evidente, com células amplas e coradas de vermelho pelo sudan IV (Figuras 5G, I).

O sistema vascular é contínuo, colateral, com a região fasciculada ativa na região dos vértices e interfasciculada na região das valéculas (Figuras 5F, H). Grupos de fibras apõem-se ao floema (Figuras 5H-I). A medula é parenquimática, com células amplas e muitos meatos (Figura 5F).

A raiz é revestida por epiderme unisseriada com células ordinárias de formato tabular e pêlos absorventes formando um emaranhado (Figura 6A). Na camada mais externa do córtex ocorre a exoderme unisseriada cujas células são amplas, com formato cúbico, (Figura 6A) e com acúmulo de antocianinas (Figura 6B). O córtex é homogêneo, formado por tecido parenquimático com numerosos espaços intercelulares (Figura 6A). A endoderme apresenta-se evidente, com a parede das células coradas de vermelho pelo sudan IV (Figuras 6C-D). As células que compõem a exoderme, o córtex e, inclusive a endoderme reagiram positivamente ao dicromato de potássio revelando a presença de compostos fenólicos, sendo que na endoderme a reação foi mais intensa (Figura 6E). Nesta mesma região, foi registrada a presença de mucilagem (Figura 6F). Resultados negativos foram obtidos para os testes de tanino e compostos de reserva como polissacarídeos gerais, amido e lipídeos.

O teste do sudan IV revelou a presença numerosa de micro-organismos diversos (protistas, dentre estes algumas diatomáceas), podendo ser móveis ou fixos detectados pela coloração vermelha da membrana celular dos mesmos. Provavelmente, tais organismos ocorrem no solo, podendo estar presentes tanto na superfície pelos absorventes quanto em todos os espaços intercelulares da raiz (Figuras 6G-I). Os tricomas radiculares são de vários tamanhos, curtos a longos, abundantes e às vezes estão fraturados no ápice, podendo possivelmente, ser o acesso de entrada dos micro-organismos encontrados na raiz.

O cilindro vascular é delimitado pelo periciclo com uma camada de células volumosas (Figura 6C). A estrutura vascular é pentarca, organizada em cinco pólos de protoxilema e metaxilema no centro, alternados com floema, configurando uma estrutura tipicamente protostélica (Figura 6C).

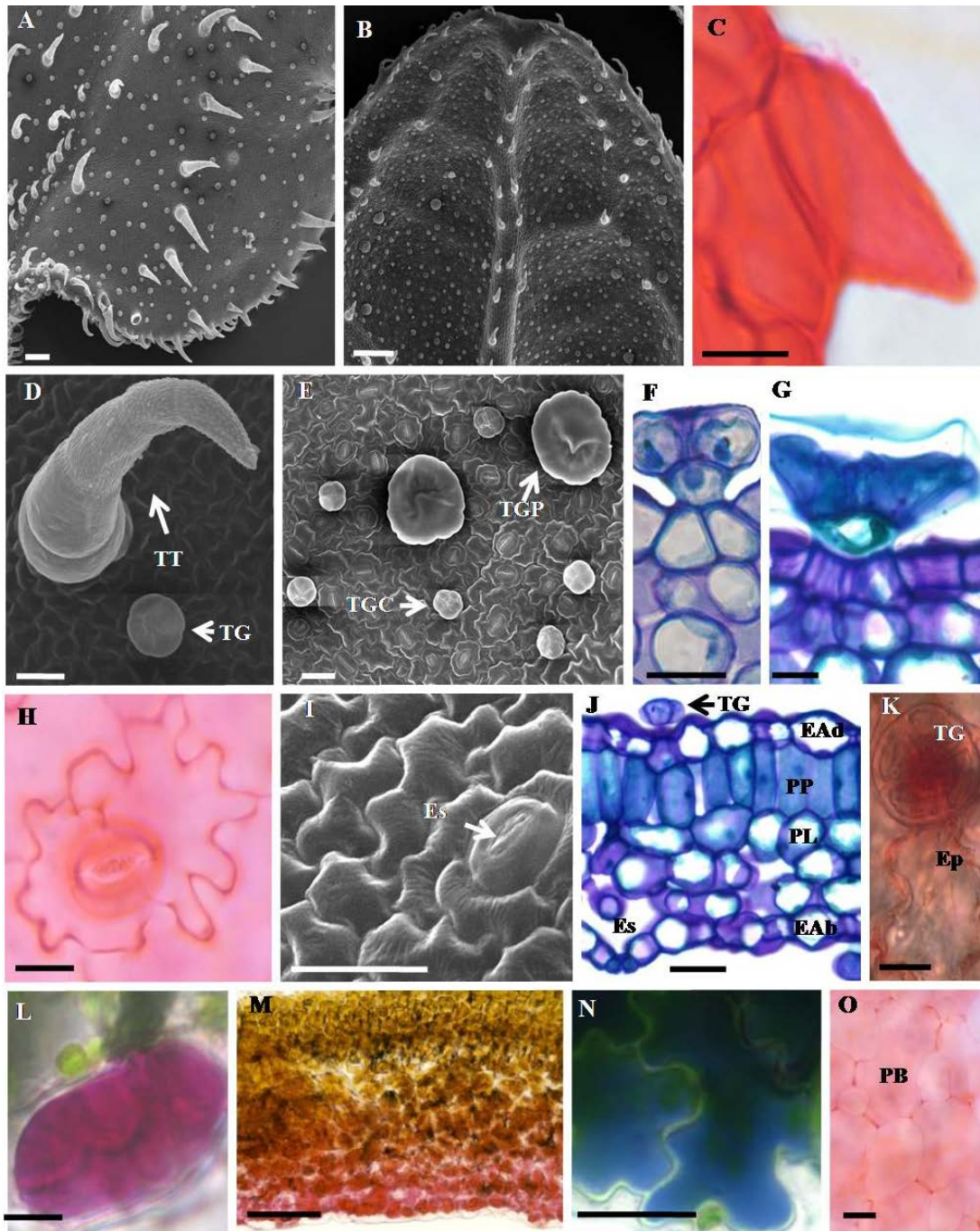


Figura 3. Estruturas da lâmina foliar de *Scutellaria agrestis* A.St.-Hil. ex Benth. A-B face adaxial e abaxial em MEV, respectivamente; C-D tricoma tector unicelular e multicelular (MEV), respectivamente; E- tricomas na face abaxial em MEV; F-G tricoma capitado e peltado em secção transversal, respectivamente; H,I estômato diacítico na face abaxial e adaxial (MEV) respectivamente; J- mesofilo em secção transversal; K- cutícula epidérmica lipídica (sudan IV); L, M, N- epiderme abaxial armazenando antocianina (corte fresco), tanino (vanilina clorídrica) e antocianina (solução de amônia), respectivamente; O- parênquima lacunoso braciforme. Legenda: EAd- epiderme adaxial, EAb- epiderme abaxial, Ep- epiderme, Es- estômato, PB- parênquima braciforme, PL- parênquima lacunoso, PP- parênquima paliçádico, TG- tricoma glandular, TGC- tricoma glandular capitado, TGP- tricoma glandular peltado, TT- tricoma tector. Barra: A-100µm; B, D-200µm; C, F, H, L, O-10µm; E, I-20µm; G-110µm; J, N-24µm; K-12µm; M-35µm.

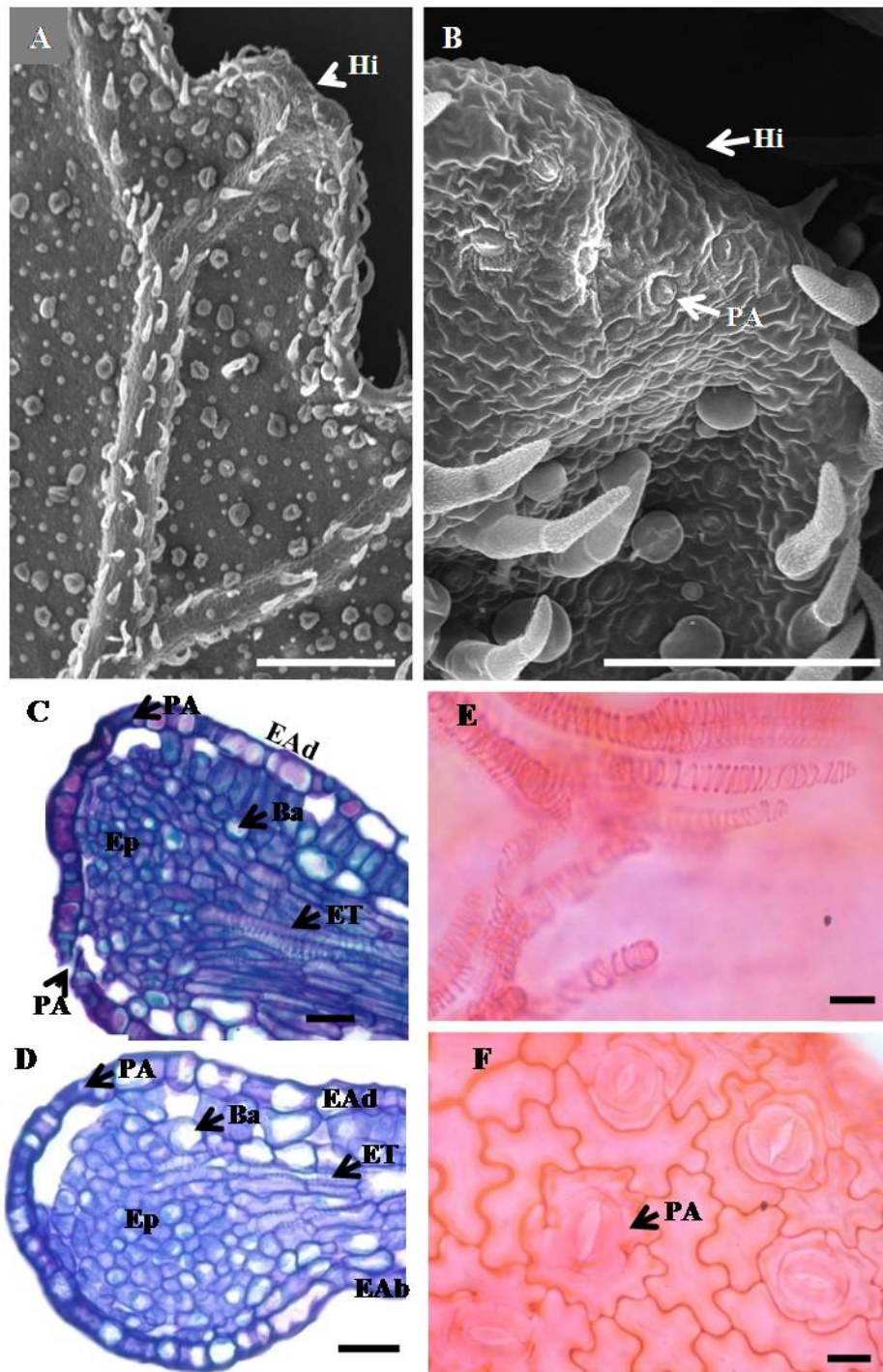


Figura 4. Hidatódios na lâmina foliar e nervura mediana de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. A-C, E-F- hidatódio nos dentes da margem foliar. D- hidatódio no ápice da lâmina foliar. A- vista geral da face abaxial em MEV; B- detalhe da figura anterior evidenciando os poros aquíferos; C- hidatódio no limbo jovem em secção longitudinal; D- hidatódio no limbo adulto em secção longitudinal; E- elementos traqueais helicoidais no hidatódio; F- poros aquíferos no hidatódio. Legenda: Ba- bainha, EAb- epiderme abaxial, EAd- epiderme adaxial, Ep- epitema, ET- elemento traqueal, Hi- hidatódio, PA- poro aquífero. Barra: A- 300 μ m; B- 100 μ m; C, D- 24 μ m; E, F- 10 μ m.

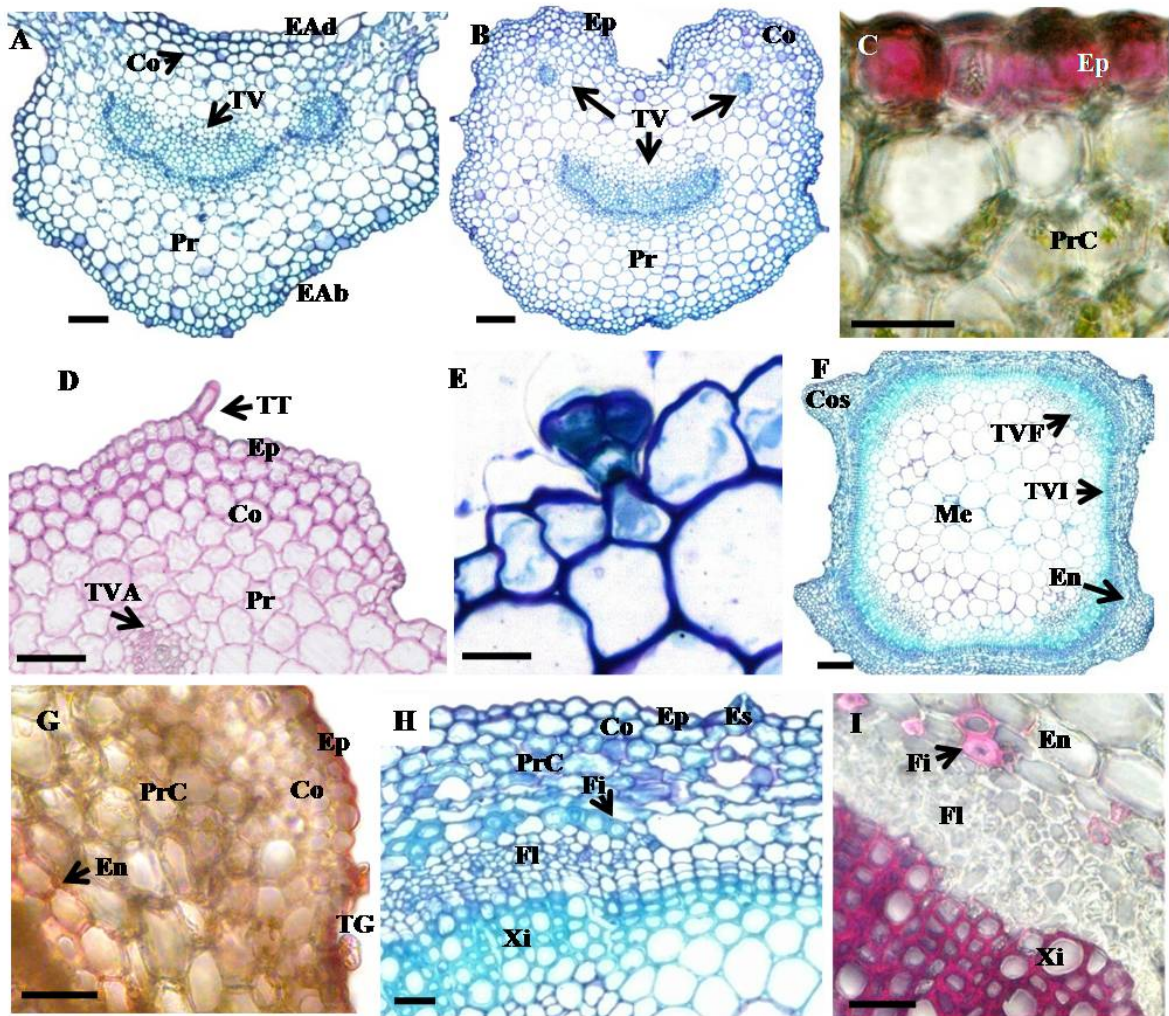


Figura 5. Estruturas da nervura mediana, pecíolo e caule de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. Em secções transversais. A- nervura mediana; B-E- pecíolo; B- aspecto geral; C- células da epiderme armazenando antocianina; C- colênquima (PAS) na região das costelas; D- tricoma capitado; E-H- caule; E- aspecto geral; F- epiderme e endoderme evidenciada pelo sudan IV; G- córtex e tecido vascular ; H- fibras floemáticas e células do xilema (floroglucinol). Legenda: Co- colênquima, Cos- costela, EAb- epiderme abaxial, EAd- epiderme adaxial, Ep- epiderme, En- endoderme, Es- estômato, Fi- fibra, Fl- floema, Me- medula, Pr- parênquima, PrC- parênquima clorofiliano, TG- tricoma glandular, TT- tricoma tector, TV- tecido vascular, TVA- tecido vascular acessório, TVF- tecido vascular fasciculado, TVI- tecido vascular interfasciculado, Xi- xilema. Barra: A- 70µm; B- 110µm; C- 25µm; D- 60µm; E- 15µm; F- 150 µm; G- 40µm; H-30µm; I-24µm.

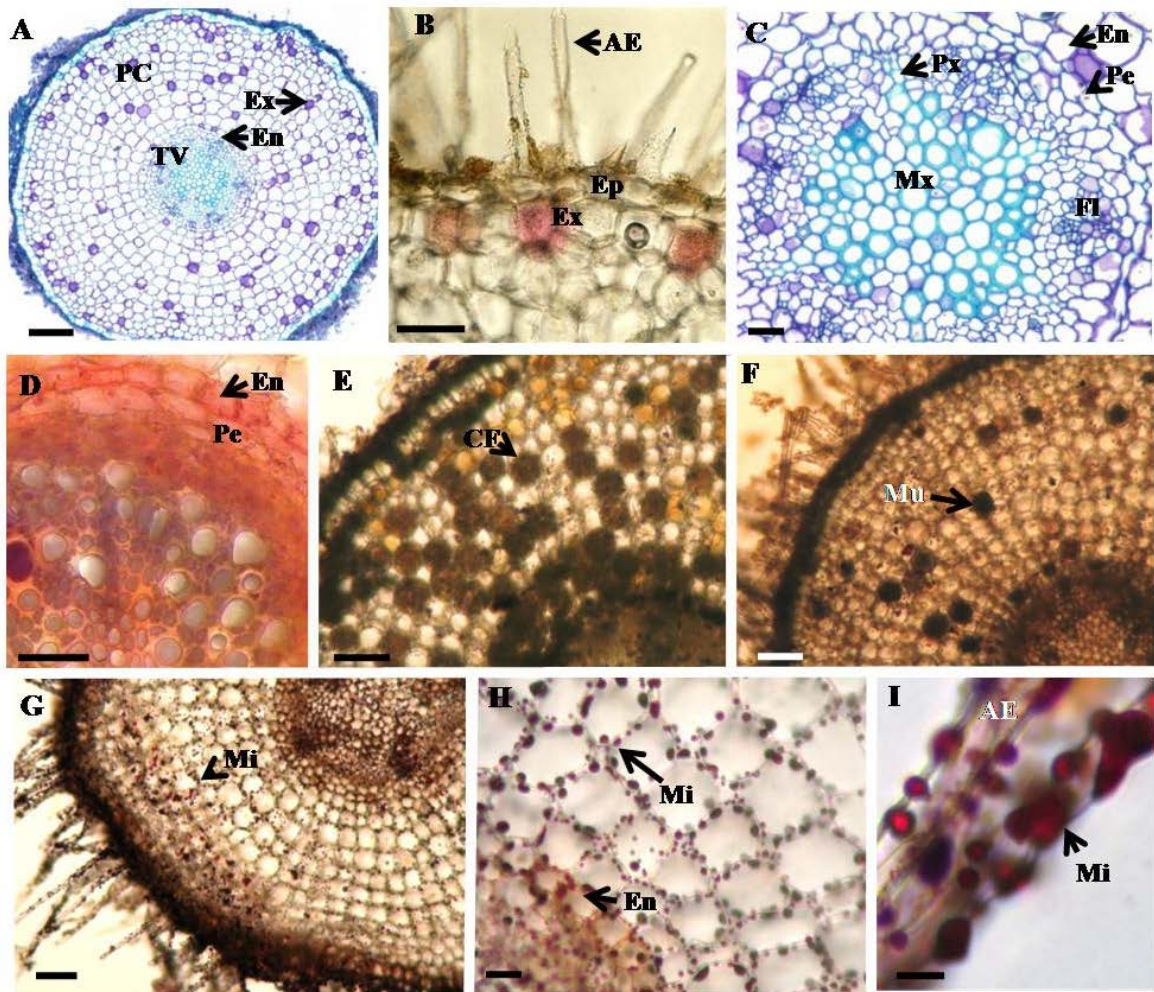


Figura 6. Estrutura da raiz de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. Em cortes transversais. A- aspecto geral; B- exoderme armazenando antocianina; C- endoderme e tecido vascular; D- endoderme (sudan IV); E- células com composto fenólico (dicromato de potássio); F- células com mucilagem (ácido tânico/cloreto de ferro III); G- aspecto geral da raiz com micro-organismos corados de vermelho (sudan IV); H- micro-organismos na região cortical (sudan IV); I- micro-organismos aderidos nos apêndices epidérmicos (sudan IV). Legenda: AE- apêndice epidérmico, CF- composto fenólico, En- endoderme, Ep- epiderme, Ex- exoderme, Fl- floema, Mi- micro-organismo, Mu- mucilagem, Mx- metaxilema, Pe- periciclo, PC- parênquima cortical, Px- protoxilema, TV- tecido vascular. Barra: A- 110 μ m; B- 20 μ m; C- 24 μ m; D- 40 μ m; E-G 130 μ m; H- 35 μ m; I- 15 μ m.

DISCUSSÃO

Representantes da família Lamiaceae podem ocorrer em diversos habitats. Muitas espécies apresentam características de ambientes áridos, ou seja, caracteres xeromórficos. Já um grupo menor dentro da família, incluindo os gêneros *Dysophylla*, *Mentha* e *Scutellaria*, é característico de ambientes úmidos (Metcalf e Chalk, 1957).

S. agrestis apresenta tanto tricomas tectores simples uni e multicelulares quanto tricomas glandulares do tipo capitado e peltado. Estas estruturas epidérmicas são caracteres comuns para Lamiaceae, sendo que os tricomas tectores podem variar de simples a ramificados, e os glandulares do tipo peltado e/ou capitado, geralmente variando quanto ao número de células que compõem a cabeça secretora. A combinação entre quantidade e o tipo, orientação e tamanho dos tricomas são informações de grande valor taxonômico, para a família Lamiaceae, em especial para o gênero *Scutellaria* (Metcalf e Chalk, 1957; Werker *et al.*, 1993; Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão *et al.*, 1997; Kaya *et al.*, 2006; Pool, 2006). Tais estruturas são registradas em várias espécies de *Mentha* L. (Bozani *et al.*, 2007), 13 espécies de *Hyptis* (Mart. Ex Benth) R. Harley (Faria, 2008), bem como em outros representantes de Lamiaceae (Metcalf e Chalk, 1957; Toledo *et al.*, 2004; Duarte e Lopes, 2005; Basílio *et al.*, 2006; Duarte e Lopes, 2007). Em *Scutellaria* é registrada a presença de tricomas glandulares com o pedicelo geralmente longo e cabeça secretora unicelular e bicelular, e raramente a ocorrência de tricomas secretores com 16 células compondo a cabeça (Metcalf e Chalk, 1957). Vale ressaltar que a caracterização destes tricomas é de suma importância, uma vez que há poucos relatos na literatura anatômica para o gênero.

Folha anfi-hipoestomática, como observado em *S. agrestis*, também foi descrito em *Cunila microcephala* Benth (Toledo *et al.*, 2004) e nas 13 espécies de *Hyptis* (Faria, 2008). Os estômatos em Lamiaceae podem ocorrer em uma ou em ambas as faces da lâmina foliar (Metcalf e Chalk, 1957), sendo as folhas anfiestomáticas em várias espécies de *Mentha*, em *Hyptis suaveolens* L. (Poit) (Bozani *et al.*, 2007; Basílio *et al.*, 2006, respectivamente) ou hipoestomáticas em *Hyptis pectinata* (L.) Poit., *Plectranthus neochilus* Schltr. e, *Leonurus sibiricus* L. (Basílio *et al.*, 2006; Duarte e Lopes, 2007; Duarte e Lopes, 2005, respectivamente). A variação observada indica que esta característica pode ser de utilidade para diferenciar gêneros e ou espécies de Lamiaceae.

O revestimento epidérmico dos órgãos vegetativos aéreos de *S. agrestis* compõe-se de células armazenando antocianina, substância responsável pela cor arroxeada da face abaxial da lâmina foliar, pecíolo e caule quando vistos a olho nu. A ocorrência de células epidérmicas

especiais para o gênero *Scutellaria* foi mencionada por Metcalfe e Chalk (1957), e registrada na epiderme do caule de *Mentha spicatus* (Bozani *et al.*, 2007), e na face adaxial da lâmina foliar de *Coleus blumei* Benth (Fisher, 1985). Tais pigmentos são hidrofílicos e não-tóxicos, responsáveis por algumas cores de frutas, legumes, flores e outros tecidos vegetais. As antocianinas possuem cores diferentes que podem variar de acordo com o pH. Quando este é inferior a 2, as antocianinas existem principalmente na forma de cátion flavílio, de cor vermelha; se o pH for alterado para 6, este composto será convertido em bases quinonoidais resultando numa coloração roxa (Bakowska *et al.*, 2003).

As antocianinas presentes nos órgãos reprodutivos atuam, dentre diversas funções conhecidas, como atrativos aos polinizadores ou dispersores de sementes. Entretanto, nos órgãos vegetativos ainda pouco se sabe, valendo ressaltar o seu papel na defesa química das plantas contra vírus, fungos e bactérias, proteção contra os raios UV e reguladores da atividade hormonal (Buchanan *et al.*, 2000; Castro *et al.*, 2004; Rausher, 2006). Em *S. agrestis* a presença destes pigmentos, possivelmente, está relacionada à proteção contra os raios UV, considerando tanto o ambiente ensolarado de ocorrência quanto o hábito herbáceo da mesma. Ainda, provavelmente está relacionada à defesa da planta contra a colonização microbiana (Harborne e Williams, 2000).

Hidatódios marginais estão presentes na lâmina foliar de *S. agrestis*. Existem poucos registros de hidatódios para representantes de Lamiaceae. Dentre os inúmeros trabalhos anatômicos já realizados para a família, resalta-se a sua ocorrência em *Coleus blumei* (Fisher, 1985) e em quatro representantes de *Hypenia* (*H. glauca*, *H. durifolia*, *H. reticulata* e *H. crispata*), dentre treze espécies investigadas (Faria, 2008).

Os hidatódios são formados muito cedo no processo de desenvolvimento da lâmina foliar e em alguns casos cessam o funcionamento mesmo antes do órgão chegar à maturidade, como apontado em *Hygrophila polysperma* T. Anders – Acanthaceae (Reams, 1953). Já em *Ficus formosana* Maxim. – Moraceae, é reportado o funcionamento do hidatódio laminar ativo apenas no último estágio de maturação do limbo (Chen e Chen, 2006). Em *S. agrestis*, é observado o hidatódio formado em limbos jovens, entretanto há necessidade de maior investigação fisiológica, uma vez que, na maturidade, os poros aquosos encontram-se todos abertos e não obstruídos, denotando um possível funcionamento do ponto de vista estrutural, muito embora a habilidade de controlar o processo de abertura do poro aquífero seja menor ou nulo em virtude do espessamento da cutícula na maturidade (Reams, 1953; Evert, 2006).

A função do hidatódio é a exsudação de um líquido de composição variável, desde água pura a solutos orgânicos e inorgânicos, por meio de gotejamento dos poros aquíferos,

fenômeno chamado gutação (Fahn, 1979; Evert, 2006). Tal processo se dá quando em condições propícias (umidade elevada do solo e do ar), o excesso de água gerado pelo balanço positivo de entrada de água pela raiz e redução ou ausência de transpiração foliar é eliminado pelos hidatódios (Fahn, 1979). As condições ambientais adequadas para que ocorra a gutação são ordinárias no norte do Brasil, particularmente no Amazonas onde a espécie em questão é cultivada.

Hidatódio do tipo epitemal (Fahn, 1979) é o tipo observado em *S. agrestis*. O tecido do epitema é formado por um parênquima com organelas abundantes incluindo complexo de Golgi, mitocôndrias, retículo endoplasmático, peroxissomos, ribossomos, plastídeos (exceto cloroplastos) e muitos vacúolos pequenos dentro do citoplasma (Fahn, 1979; Evert, 2006; Chen e Chen, 2006). Estudos indicam que diversos genes são expressos em hidatódios como GD1 (glutamine dumper), que atua na regulação e exportação de aminoácidos e PHO1, que atua na absorção e aquisição de fosfato. Estas informações implicam que tais genes exercem uma função importante de recuperação de nutrientes durante a gutação e possivelmente na defesa da planta, uma vez, que os hidatódios são reportados como porta de entrada para agentes patogênicos como, por exemplo, bactérias epifíticas (Fahn, 1979; Hugouvieux *et al.*, 1998; Pilot *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2004; Evert, 2006; Chen e Chen, 2006).

Nos indivíduos de *S. agrestis*, foram registrados, em todos os órgãos analisados, tecidos com abundantes espaços intercelulares. Tal observação é reportada para várias espécies de *Ocimum*, *Salvia*, *Hyphenia*, entre outras, pertencentes à família Lamiaceae (Metcalf e Chalk, 1957; Farias, 2008). A presença destes espaços intercelulares é observada não apenas em órgãos vegetativos dos representantes de Lamiaceae, mas em órgãos reprodutivos como no fruto de *Scutellaria minor* Hudson, especificamente na estrutura do mesocarpo (Mosqueiro *et al.*, 2002). O autor relaciona a presença destes espaços aeríferos com o tipo de dispersão (nautocoria) dos frutos de *S. minor*; tais espaços propiciariam a flutuação do fruto no momento da dispersão, uma vez que esta espécie é encontrada às margens de cursos d'água, onde a vegetação circundante é sujeita periodicamente a inundações (Mosqueiro *et al.*, 2002). Na lâmina foliar de *S. agrestis*, foi registrado um parênquima lacunoso com característica de células braciiformes, ou seja, com numerosos espaços intercelulares. Esta característica possivelmente está relacionada com o ambiente natural desta espécie, quiçá do gênero, já que o centro de distribuição de *Scutellaria* se dá normalmente em ambientes úmidos e encharcados como já descrito para *S. minor*. e demais espécies do gênero em questão (Alonso, 1990; Mosqueiro *et al.*, 2002; Shang *et al.*, 2010).

O tecido de suporte mecânico observado em *S. agrestis* é o colênquima, presente na lâmina foliar, pecíolo e nos vértices do caule. Estas células de suporte são caracteres que normalmente estão relacionadas tanto ao hábito herbáceo quanto à ocorrência da planta em ambientes úmidos (Evert, 2006), como é o caso da espécie em questão. Já no caso de espécies de ambientes secos, o esclerênquima é o tecido de sustentação predominante, como o registrado nas espécies de *Hypenia* (Faria, 2008).

Caule quadrangular com os vértices proeminentes e endoderme visível, como descrito neste trabalho para *S. agrestis*, são características diagnósticas presentes nos representantes de Lamiaceae segundo Metcalfe e Chalk (1957).

Na raiz de *Scutellaria agrestis*, foram detectadas substâncias como compostos fenólicos e mucilagens nas células do córtex. Ainda foram evidenciados numerosos micro-organismos, tanto aderidos aos pêlos radiculares quanto livres nos espaços intercelulares do córtex. Na rizosfera das plantas há grande diversidade de micro-organismos em razão da elevada quantidade de nutrientes secretados e liberados pelas raízes, (Willadino *et al.*, 2005). Ademais, esses nutrientes orgânicos constituem eficientes atrativos para microrganismos quimiorganotróficos oportunistas (Sala *et al.*, 2000; Willadino *et al.*, 2005). A presença dos micro-organismos nas raízes de *S. agrestis* pode estar relacionada aos numerosos espaços intercelulares no córtex, os quais podem servir de abrigo, e os compostos secretados na raiz servirem de atrativos. Assim, são recomendadas investigações adicionais quanto à identificação dos micro-organismos, e ainda quanto às prováveis associações que podem ocorrer entre a espécie em questão e os agentes detectados, uma vez que as substâncias secretadas podem estar intimamente relacionadas à presença dos micro-organismos ou implicar em estratégias adaptativas importantes para as práticas de manejo e cultivo da planta medicinal.

CONCLUSÕES

Caracteres anatômicos de valor diagnóstico em *Scutellaria agrestis* foram registrados no presente estudo, em especial a presença de hidatódio epitemal, descrito pela primeira vez para o gênero. Além disso, foram encontrados caracteres ordinários à família Lamiaceae e ao gênero *Scutellaria*, como tricomas tectores multicelulares e glândulas do tipo capitado e peltado; estômatos diacíticos, numerosos espaços intercelulares e caule quadrangular com endoderme evidente. Estas informações são relevantes, pois auxiliam na identificação da

espécie, contribuindo para o controle de qualidade da mesma, uma vez que a planta em questão é de uso medicinal.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM); a Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao laboratório de Anatomia Vegetal da UFV e ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) e a Capes pela concessão de bolsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, C.B.F.C.B.R.; Albuquerque, U.P. 2002. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45 (3): 343-353.

Alonso, J.L.F. 1990. Notas sobre *Scutellaria* (Labiatae) en Colombia y Ecuador. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 47 (1): 105-123.

Ascensão, L.; Marques, N.; Pais, M.S. 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 75: 619 -626.

Ascensão, L.; Marques, N.; Pais, M.S. 1997. Peltate glandular trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: Ultrastructure and histochemical characterization of secretions. *International Journal of Plant Sciences*, 158 (3): 249 -258.

Bakowska, A.; Kucharska, A.Z.; Oszmianski, J. 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*, 81: 349-355.

Basílio, I.J.L.D.; Agra, M.F.; Rocha, E.A.; Leal, C.K.A.; Abrantes, H.F. 2006. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. E *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 25 (4): 518-525.

Borrás, M.R.L. 2003. *Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas? – plantas comercializadas no mercado municipal Adolpho Lisboa*. Valer, Manaus, Amazonas. 322pp.

Bozani, N.E.; Costaguta, M.; Barboza, G.E. 2007. Estudos anatômicos em espécies de *Mentha* (Fam. Lamiaceae) de Argentina. *Arnaldoa*, 14 (1): 77 - 96.

Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1992. *Eletron Microscopy*. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 542pp.

Brundett, M.C.; Kendrick, B.; Peterson, C.A. 1991. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic e Histochemistry*, 66: 111-116.

Bruno, M.; Piozzi, F.; Maggio, A.M.; Simmonds, M.S.J. 2002. Antifeedant activity of neo-clerodane diterpenoids from two Sicilian species of *Scutellaria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 793-799.

Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. 2000. *Biochemistry e Molecular Biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville. 1367pp.

Cassino, M.F. 2010. *Estudo etnobotânico de plantas medicinais em comunidades de várzea do rio Solimões, Amazonas e aspectos farmacognósticos de Justicia pectoralis Jacq. forma mutuquinha (Acanthaceae)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 135pp.

Castro, H.G.; Ferreira, F.A.; Silva, D.J.H.; Mosquim, P.R. 2004. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários*. Editora da UFV, Viçosa, Minas Gerais. 113pp.

Chen, C.C.; Chen, Y.R. 2006. Study on laminar hydathodes of *Ficus formosana* (Moraceae) II. Morphogenesis of hydathodes. *Botanical Studies*, 47: 279-292.

Chou, T.C.; Chang, L.P.; Li, C.Y.; Wong, C.S.; Yang, S.P. 2003. The Antiinflammatory and Analgesic Effects of Baicalin in Carrageenan-Evoked Thermal Hyperalgesia. *Anesthesia e Analgesia*, 97: p.1724-1729.

Duarte, M.R.; Lopes, J.F. 2005. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Leonurus sibiricus* L., Lamiaceae. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 24:(1): 68 -74.

Duarte, M.R.; Lopes, J.F. 2007. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(4): 549 -556.

Ërsöz, T.; Tasdemir, D.; Calis, I; Turk J. 2002. Phenylethanoid Glycosides from *Scutellaria Galericulata*. *Chemistry*, 26: 465- 471.

Evert, R.F. 2006. *Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley e Sons, New Jersey. 601pp.

Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London. 302pp.

Faria, M.T. 2008. *Morfologia, anatomia, histoquímica e fitoquímica de espécies do gênero Hypenia (Mart. ex Benth) R. Harley-Lamiaceae ocorrentes no Cerrado de Goiás*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade federal de Goiás, Goiânia, Goiás. 205pp.

Fisher, D.G. 1985. Morphology and Anatomy of the Leaf of *Coleus blumei* (Lamiaceae). *American Journal of Botany*, 72 (3): 392-406.

Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Masson e Cie, Paris. 1113pp.

Harborne, J.B.; Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.

Harley, R., França, F., Santos, E.P., Santos, J.S. 2010. Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB008360>). Acesso em 15/08/2011.

Hatamneia, A.A.; Khayami, M; Mahmudzadeh, A.; Sarghein, S.H.; Heidarih, M. 2008. Comparative anatomical studies of some Genera of Lamiaceae family in Wesr Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, 1(3): 63-67.

Hickey, L.J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. p. 25-39. In: Metcalfe, C.R.; Chalk, L. *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem*. v.1. Claredon Press, Oxford.

Howard, R.A. 1979. *The petiole*. p. 88-96. In: Metcalfe CR, Chalk L. *Anatomy of the dicotyledons*. v.1. Claredon Press, Oxford.

Hugouvieux V.; Barber, C.E.; Daniels, M.J. 1998. Entry of *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* into Hydrathodes of *Arabidopsis thaliana* Leaves: A System for Studying Early

Infection Events in Bacterial Pathogenesis. *The American Phytopathological Society*, 11 (6): 537-543.

Jensen, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. W. H. Freeman e Co., San Francisco. 408pp.

Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 523pp.

Kaya, A.; Demirci, B.; Baser, K.H.C. 2007. Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. e Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oils. *South African Journal of Botany*, 73: 29 -34.

Kraus, J.E.; Arduin, 1997. M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Rio de Janeiro. 198pp.

Lin, L.; Harnlya, J.M.; Upton, R. 2009. Comparison of the Phenolic Component Profiles of Skullcap (*Scutellaria lateriflora*) and Germander (*Teucrium canadense* and *T. chamaedrys*), a Potentially Hepatotoxic Adulterant. *Phytochemistry*, 20: 298-306.

Mace, M.E.; Howell, C.R. 1974. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108.

Maia, V. 1979. *Técnica Histológica*. Atheneu, São Paulo. 298pp.

Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1957. *Anatomy of the dicotyledons, leaves, steam, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford. 560pp

Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of the leaf and stem*. 2a ed. Clarendon Press, Oxford. 276pp.

Mosqueiro, M.A.M.; Juan, R.; Pastor, J. 2002. Carpologia de *Scutellaria minor* Hudson em Andalucía Occidental. *Lagasalia*, 22: 93-101.

O' Brien, T.P.; Mccully M.E. 1981. *The study of structure principles and selected methods*. Termarcarphi Pty. LTD, Melbourn. 280pp.

Paton, A. 1990. A global taxonomic investigation of *Scutellaria*. *Kew Bull*, 45: 399-450.

Pilot, G.; Stransky, H.; Bushey, D.F.; Pratelli, R.; Ludewig, U.; Wingate, V.P.M.; Frommera, W.B. 2004. Overexpression of glutamine dumper1 Leads to Hypersecretion of Glutamine from Hydathodes of Arabidopsis Leaves. *The Plant Cell*, 16: 1827–1840.

Pizzolato, T.D.; Lillie, R.D. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 21: 56-64.

Pool, A. 2006. New Species of *Scutellaria* (Lamiaceae) from Mesoamerica. *Novon*, 16 (3): 388-403.

Rausher, M.D. 2006. The evolution of flavonoids and their genes. p. 175-212. In: Erich G., *The Science of Flavonoids*. Springer, USA.

Reams, W.M. 1953. The Occurrence and Ontogeny of Hydathodes in *Hygrophila polysperma* T. Anders. *New Phytologist*, 52(1): 8-13.

Ribeiro, J.E.L.S.; Hopikns, M.J.G.; Vincentini, A. 1999. *Flora da reserva ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 816pp.

Sala V.M.R.; Freitas, S.S.; Silveira, A.P.D. 2007. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(11): 1593-1600.

Shang, X.; Hea X.; Li, M.; Zhanga, R.; Fana, P.; Zhanga, Q.; Jia Z. 2010. The genus *Scutellaria* an ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 279–313.

Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2008. *Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII*. 2ª ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo. 703pp.

Theobald, W.L.; Krahulik, J.L.; Rollins, R.C. 1979. Trichome description and classification. p. 40-53. In: Metcalfe CR, Chalk L. *Anatomy of the dicotyledons*. v.1. Claredon Press, Oxford.

Toledo, M.G.T.; Alquini, Y.; Nakashima, T. 2004. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). *Revista Brasileira Científica Farmacêutica*, 40 (4): 487-493.

Wang, Y.; Ribot, C.; Rezzonico, E.; Poirier, Y. 2004 Structure and Expression Profile of the Arabidopsis PHO1 Gene Family Indicates a Broad Role in Inorganic Phosphate Homeostasis. *Plant Physiology*, 135: 400–411.

Werker, E.; Putievsky, E.; Ravid, U.; Duda, N.; Katzir, L. 1993. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 71: 43 -50.

Wilkinson, H.P. The plant surface (mainly leaf). p. 97-165. In: Metcalfe, C.R.; Chalk, L. *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem*. v.1. Clarendon Press, Oxford.

Willadino, L.; Câmara, T.J.R.; Galindo, R.M.P.; Guedes, R.M.M.; Michereff, S.J. 2005. Sistema Vascular e Exsudatos Radiculares. p.19-40. In: Michereff, S.J.; Andrade, D.E. G.T.; Menezes, M. *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Imprensa Universitária, Recife.

Capítulo 2

Oliveira, A. B.; Mendonça, M. S.; Meira, R. M. S. A. Ontogenia dos tricomas, fitoquímica e histoquímica dos órgãos vegetativos aéreos de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae), Brasil - Amazonas. Manuscrito em preparação para Annals of Botany.

ONTOGENIA DOS TRICOMAS, FITOQUÍMICA E HISTOQUÍMICA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS AÉREOS DE *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE), BRASIL, AMAZONAS

Resumo: No Amazonas, *Scutellaria agrestis* (trevo-roxo) é uma planta muito utilizada por comunidades ribeirinhas, situadas ao longo do rio Solimões, no tratamento de dores de ouvido, febre, diarreia e pressão alta. Esta pesquisa se propôs caracterizar ontogeneticamente os tricomas e histoquimicamente as estruturas secretoras e determinar o perfil fitoquímico das folhas e do caule da espécie em questão. Amostras da folha e do caule foram coletadas de 36 indivíduos para o estudo anatômico, histoquímico e fitoquímico, no horto medicinal da Universidade Nilton Lins (Manaus, AM). O estudo ontogenético das estruturas secretoras foi realizado por meio da análise das amostras ao microscópio de luz e de varredura, preparadas conforme métodos usuais. Testes fitoquímicos e histoquímicos foram realizados para identificação de várias classes de metabolitos. A ontogenia dos tricomas de *Scutellaria agrestis* segue o padrão descrito para a família. As estruturas secretoras responsáveis pela síntese das substâncias são os tricomas secretores capitados e peltados e as células epidérmicas. Tais estruturas são o sítio de secreção de fenóis (fenóis gerais, taninos hidrolisáveis, cumarinas e várias classes de flavonoides como antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonois, xantonas, leucoantocianidinas, flavanonas, flavanonois), terpenos (óleos essenciais, esteroides livres, saponinas), lipídios totais e ácidos, e proteínas. Nas folhas e caule os resultados foram negativos para polissacarídeos e alcaloides. Estes resultados contribuem para estudos taxonômicos quando se trata da caracterização anatômica dos tricomas e quimiotaxonômicos quando abordados a detecção dos compostos químicos.

Palavras-chave: trevo-roxo, desenvolvimento de estruturas secretoras, metabólitos secundários.

TRICHOME ONTOGENY, PHYTOCHEMISTRY AND HISTOCHEMISTRY OF THE AERIAL VEGETATIVE ORGANS OF *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE), AMAZONAS STATE, BRAZIL

Abstract: *Scutellaria agrestis* (trevo-roxo) is a plant widely used by riverine communities along the Solimões river in the Amazonas state (Brazil) for the treatment of earaches, fever, diarrhea and high blood pressure. This research aimed to characterize the ontogeny of trichomes and the histochemistry of secretory structures, and to determine the phytochemical profile of the leaves and stem of the species. Samples of leaves and stems were collected from 36 individuals for anatomical, histochemical and phytochemical study, in the medicinal garden of Nilton Lins University (Manaus, Amazonas state). The ontogenetic study of secretory structures was performed through the analysis of samples under light microscope and scanning electron microscope, prepared according to usual methods. Phytochemical and histochemical tests were performed to identify several classes of metabolites. The ontogeny of trichomes of *Scutellaria agrestis* follows the pattern described for the family. The secretory structures responsible for the synthesis of substances are peltate and capitate glands and the secretory epidermis. Such structures are the site of secretion of the active principle of the plant, producing phenols (phenols, hydrolysable tannins, coumarins and several classes of flavonoids such as anthocyanins, anthocyanidines, chalcones, aurones, flavones, flavonols, xanthenes, *leucoanthocyanidines*, flavanones, flavanonols), terpenes (essential oils, free steroids, saponins), total lipids, proteins and acids. The results in leaves and stems were negative for alkaloids and polysaccharides. These results contribute to taxonomic studies when it comes to the anatomical characterization of trichomes and to chemotaxonomic studies, regarding the detection of chemical compounds.

Keywords: trevo-roxo, secretory structures development, secondary metabolites.

INTRODUÇÃO

Lamiaceae é uma família usualmente conhecida pela grande quantidade de plantas aromáticas devido à alta produção de terpenos. As estruturas secretoras responsáveis pela síntese destes compostos em Lamiaceae são os tricomas glandulares dos tipos peltado e capitado (Werker *et al.*, 1993; Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão *et al.*, 1997; Bini e Giuliani, 2006). Tais glândulas são frequentemente encontradas nos órgãos vegetativos e reprodutivos, com variações entre as espécies na morfologia, anatomia, composição química da secreção, localização e função (Werker *et al.*, 1993; Ascensão *et al.*, 1997). Estas variáveis têm sido investigadas por muitos pesquisadores, os quais têm desenvolvido trabalhos tanto de morfologia, anatomia e ontogenia dos tricomas glandulares quanto de caracterização histoquímica da secreção (Werker *et al.*, 1993; Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão *et al.*, 1997; Ascensão e Pais, 1998; Bosabalidis *et al.*, 1998; Gersbach, 2002; Marin *et al.*, 2006; Bini e Giuliani, 2006; Gairola *et al.*, 2009).

Muitos representantes de Lamiaceae, tais como espécies dos gêneros *Salvia*, *Plecthantus*, *Leonotis*, *Ocimum*, *Rosmarinus*, *Scutellaria*, dentre outros, têm sido utilizados para fins terapêuticos (Werker *et al.*, 1993; Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão *et al.*, 1997; Marin *et al.*, 2006; Shang *et al.*, 2010). As espécies *Scutellaria baicalensis*, *S. amoena*, *S. linearis*, *S. viscidula*, *S. barbata*, *S. hypericifolia*, *S. galericulata*, *S. discolor*, entre outras, se destacam por serem plantas amplamente usadas, principalmente pelos povos asiáticos, como medicinais e largamente investigadas quanto às suas propriedades curativas (Nalawade *et al.*, 2003; Shang *et al.*, 2010). *Scutellaria baicalensis* é umas das ervas mais utilizadas na medicina tradicional chinesa, sendo empregada no tratamento de distúrbios inflamatórios, hepatites, infecções virais e bacterianas e como agente anticancerígeno (Chang *et al.*, 2011).

O gênero *Scutellaria* ocorre geralmente na Europa, América do Norte e Leste da Ásia (Bruno *et al.*, 2002). No Brasil, a única espécie encontrada é *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth., sendo essa cultivada para fins medicinais por populações rurais (Alonso, 1990; Almeida e Albuquerque, 2002; Harley *et al.*, 2010). No norte do Brasil, em especial no Amazonas, é uma planta muito utilizada por comunidades ribeirinhas no tratamento de dores de ouvido, febre, diarreia e pressão alta (Cassino, 2010).

Diante do valor medicinal apresentado pelas espécies pertencentes à *Scutellaria*, foi feita uma revisão da literatura a respeito de sua fitoquímica e farmacologia por Shang *et al.* (2010), na qual os autores destacaram que, até o momento, somente 35 de aproximadamente

350 espécies foram investigadas com mais detalhes. Estudos fitoquímicos têm mostrado que destas 35 espécies estudadas, já foram isolados mais de 295 componentes, dentre os quais os fenóis (flavonoides) e os terpenos (óleos essenciais) foram identificados como os dois principais compostos químicos presentes nas espécies de *Scutellaria* (Shang *et al.*, 2010). Dentre as substâncias isoladas encontram-se flavanonas, flavanonois, feniletanoides glicosídeos, iridoídes glicosídeos, diterpenoides, triterpenoides, sesquiterpenoides, esteroides, alcaloides, polissacarídeos, entre outros (Rosselli *et al.*, 2007; Husain *et al.*, 2008; Shang *et al.*, 2010). Considerando que estes representantes possuem muitos compostos bioativos com efeitos contra o câncer e HIV, estudos das diversas áreas do conhecimento são requeridos a fim de colaborar para o desenvolvimento de novas drogas e tratamentos terapêuticos, especialmente antitumorais e antivirais a partir de espécies deste gênero (Li-Weber, 2009; Shang *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2011).

Investigações anatômicas, fitoquímicas e histoquímicas de *Scutellaria agrestis* (trevo-roxo), se fazem necessárias, uma vez que pouco se sabe acerca desta espécie além do que se tem descrito para a família na literatura clássica de anatomia vegetal com referência para o gênero (Metcalf e Chalk, 1957). Perante a importância da vasta utilização terapêutica dos representantes de *Scutellaria* e ainda com intuito de subsidiar estudos tanto taxonômicos quanto quimiotaxonômicos, esta pesquisa visou descrever o desenvolvimento dos tricomas, caracterizar histoquimicamente as estruturas secretoras e determinar o perfil fitoquímico das folhas e do caule de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material botânico

Indivíduos cultivados de *Scutellaria agrestis* foram coletados no Horto medicinal da Universidade Nilton Lins, localizado na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil (03° 3' 37.5"S e 60° 00' 33.4"W). Foram coletados seis indivíduos para o estudo anatômico e histoquímico e 30 indivíduos para as análises fitoquímicas.

Exsiccatas foram confeccionadas, identificadas pelo Prof. Dr. Alan Paton (Kew Gardens), especialista do gênero *Scutellaria*, e incorporadas ao Herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, sob o número de registro 232920.

Caracterização estrutural

As amostras do caule foram coletadas a partir de 100 mm do ápice caulinar, e as amostras da folha, de acordo com o estágio de desenvolvimento da mesma, considerando-se Estádio I – primórdios foliares nos ápices caulinares, Estádio II – folhas do primeiro nó, Estádio III – folhas do segundo nó, Estádio IV – folhas do terceiro nó e Estádio V – folhas do quarto nó. Todas as amostras foram fixadas por 24 horas em formalina neutra tamponada (FNT: tampão fosfato, formalina, 9:1 v/v), mantidas sob vácuo em dessecador por 48 horas e conservadas em etanol 70% (Kraus e Arduin, 1997).

O material foi incluído em metacrilato (Historesin, Leica) e seccionado com auxílio de micrótomo rotativo (RM 2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). Os cortes (transversais e longitudinais de 6 - 8µm de espessura) foram corados com Azul de Toluidina pH 4,0 (O'Brien e Mccully, 1981). Além disso, alguns cortes foram corados com Sudan IV (Brundett *et al.*, 1991) para evidenciar a cutícula dos tricomas glandulares. As lâminas foram montadas com resina sintética (Permount -Fisher). O material foi analisado e as imagens obtidas em fotomicroscópio Olympus AX70 equipado com sistema U-photo.

Para descrever os caracteres superficiais das diferentes fases de desenvolvimento dos tricomas, parte das amostras foliares fixadas foi subdividida em peças de 100 mm², desidratada em série etílica, levada à secagem em ponto crítico do dióxido de carbono (Bozzola e Russel, 1992). Após a afixação das amostras nos suportes, procedeu-se à deposição metálica com ouro utilizando-se equipamento Sputter Coater (modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Alemanha). Para captura de imagens foi utilizado microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 1430 VP, Zeiss, Cambridge, Inglaterra) do Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

A descrição dos tricomas foi baseada na classificação proposta por Theobald *et al.* (1979).

Caracterização histoquímica

Amostras frescas da lâmina foliar dos 4º e 5º estádios (folhas adultas) e do caule foram seccionadas, transversal e longitudinalmente, utilizando-se micrótomo de mesa (LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil). As classes de metabólitos investigadas encontram-se descritas na Tabela 1. Cortes do material fresco que

não foram submetidos a reagentes foram fotografados a fim de documentar a coloração original dos tecidos analisados (branco). Secções controle foram realizadas simultaneamente, de acordo com a metodologia descrita nos protocolos.

As observações e documentações fotográficas do material submetido a testes histoquímicos foram realizadas em um microscópio de luz (modelo AX70, Olympus, Tóquio, Japão) equipado com sistema U-Photo e recurso para epifluorescência. A lâmpada de vapor de mercúrio utilizada foi a HBO 50W e o filtro para luz azul (400nm) e ultra-violeta (300nm).

Prospecção fitoquímica

Indivíduos de *Scutellaria agrestis* contendo os órgãos vegetativos aéreos foram coletados às 10:00 horas da manhã no dia 05 de outubro de 2009 e imediatamente transportados à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). O material foi colocado em estufa com circulação de ar interna a 40 °C por um período de 24 horas. Após a secagem, as folhas foram destacadas manualmente do caule e trituradas separadamente com auxílio de um moinho de faca para obtenção da droga vegetal pulverizada.

A partir do material vegetal seco e pulverizado (MVSP) foram realizados os seguintes testes de prospecção: para a detecção de saponina, a partir do extrato aquoso a 2% por decocção, foi realizado o teste de espuma com agitação do extrato por 15 segundos e adição de três gotas de ácido clorídrico, com indicativo positivo se houver permanência da espuma (Schenkel *et al.*, 2004). Para a verificação de alcaloide, a partir do extrato clorídrico (decocção com 1,00 g de MVSP e 20 mL de ácido clorídrico (HCl) a 10%), foi observada a reação com os reagentes Mayer, Bertrand, Hager e Dragendorff, com indicativo positivo para o aparecimento de precipitados em pelo menos dois dos cinco tubos de ensaios experimentados (Costa, 2002). Para detecção de cumarinas, a partir do extrato hidroalcolico (extrato aquoso por decocção sob refluxo por cinco minutos, com 2,5 g de MVSP e 50 mL de etanol 70%), foi aplicada uma gota de hidróxido de potássio (KOH-1N) e interpretado o teste da fluorescência sob luz UV, com indicativo positivo para o aparecimento da cor amarela, azul ou verde (Kuster e Rocha, 2004).

Os testes para detecção de esteroides livres, triterpenoides pentacíclicos livres e várias classes de compostos fenólicos foram realizados segundo o proposto por Matos (1997), seguindo uma marcha analítica. Esta é iniciada pelo preparo do extrato hidroalcolico (extrato

aquoso por decocção sob refluxo por cinco minutos, com 2,5 g de MVSP e 50 mL de etanol 70%) e a partir de então realizados os ensaios analíticos sequenciais.

Para a detecção de esteróides e triterpenoides pentacíclicos livres (Lieberman-Burchard), 10 mL do extrato recém-preparado foi levado ao banho-maria até sua secura, a seguir o resíduo seco foi extraído com 2,0 mL de clorofórmio, repetindo este passo por três vezes. A solução resultante foi filtrada utilizando-se algodão com alguns centigramas de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) em um tubo de ensaio. Para a avaliação deste teste foram adicionados 1,0 mL de anidrido acético e em seguida três gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) com vigorosa agitação a cada reagente acrescentado. Por fim o indicativo de positivo é observado com o rápido aparecimento da cor azul seguida de verde permanente para esteróides livres e cores entre parda e vermelha para triterpenoides pentacíclicos livres. O volume restante do extrato hidroalcolico foi fracionado em sete tubos de ensaio, identificados em uma numeração crescente. A partir do volume presente em cada tubo de ensaio foi dada sequência à marcha analítica, realizando os testes, que foram interpretados segundo a coloração dos precipitados demonstrados na tabela 2.

O teste para fenóis, taninos hidrolisáveis e taninos condensados (tubo de ensaio 01) foi realizado através da reação com cloreto férrico (1N). Para a detecção de antocianinas, antocianidinas, chalconas e auronas (tubos de ensaios 02-pH 3, 03-pH 8,5 e 04-pH 11) foi realizado por meio de variações do pH com hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl). O teste para detecção de leucoantocianidinas, catequinas e flavonas (tubos de ensaios 05-pH 1-3, 06-pH 11) também foi realizado por meio de variações do pH. Por fim, para o teste de detecção dos flavonois, flavonas, flavononois e xantonas (tubo de ensaio 07) foram adicionados centigramas de magnésio granulado e 0,5 mL de HCL concentrado.

Tabela 1. Testes histoquímicos aplicados em amostras frescas do material.

	Grupos de metabólitos	Reação positiva	Reagente/ Em luz visível
Lipídios	Lipídios totais	vermelha	Sudan IV (Brundett <i>et al.</i> , 1991)
		laranja	Sudan III (Johansen, 1940)
		amarela	Vermelho Neutro (Kirk, 1970) *
	Lipídios neutros e ácidos	azul (ácidos), rosa (neutros)	Sulfato Azul do Nilo (Cain, 1947)
	Ácidos graxos	verde escuro	Acetato de Cobre/ Ácido Rubeânico (Ganter e Jollés, 1969)
Terpenos	Óleos essenciais e óleo-resinas	azul (essência), vermelha (resina), violeta (essência+resina)	Reagente de Nadi (David e Carde, 1964)
	Esteroides	amarela a púrpura	Tricloreto de Antimônio (Hardman e Sofowora, 1972; Mace <i>et al.</i> , 1974) *
	Lactonas sesquiterpênicas	vermelho-acastanhada	Ácido Sulfúrico (Geissman e Griffin, 1971)
	Terpenoides com grupo carbonilo	vermelho-alaranjada	2,4 – Dinitrofenilhidrazina (Ganter e Jollés, 1969)
Compostos Fenólicos	Compostos fenólicos gerais	castanho- avermelhada	Dicromato de Potássio (Gabe, 1968)
		verde, púrpura, azul, negro	Cloreto Férrico III (Johansen, 1940)
	Flavonoides	amarelo-esverdeada	Cloreto de Alumínio (Charrière-Ladreix 1976) *
	Agliconas flavonoicas	amarela	Reagente de Wilson (Charrière-Ladreix 1976) *
	Antocianinas	azul-violeta a verde	Variação de pH com Solução de Amônia e Ácido sulfúrico (Johansen, 1940)
	Taninos	vermelha	Vanilina Clorídrica (Mace e Howell, 1974)
	Lignina	vermelha	Floroglucinol (Johansen, 1940)
Alcaloides		vermelha	Reagente deWagner (Furr e Mahlberg, 1981)
		castanho-avermelhada	Reagente de Dittmar (Furr e Mahlberg, 1981)
Polissacarídeos Neutros	Amido	roxa	Lugol (Jensen, 1962)
	Pectinas e mucilagens	rosa intenso	Vermelho de Rutênio (Johansen, 1940)
	Polissacarídeos neutros	rosa	PAS (Maia, 1979)
Proteínas		laranja	Xilidine Ponceau (O'Brien e McCully, 1981)

*: Visualizado sob luz fluorescente (UV)

Tabela 2. Detecção dos fenóis mediante a coloração dos precipitados (Matos, 1997).

	Classes de compostos fenólicos	Coloração dos precipitados		
Fenóis	Fenóis gerais	variável entre o azul e o vermelho		
	Taninos hidrolisáveis	Azul		
	Taninos condensados	Verde		
Flavonoides	Variações do pH	Ácido (pH 3)	Alcalino (pH 8,5)	Alcalino (pH 11)
	Antocianinas e Antocianidinas	vermelha	lilás	azul-púrpura
	Flavonas, Flavonóis e Xantonas	-	-	amarela
	Chalconas e Auronas	vermelha	-	vermelho-púrpura
	Flavanonois	-	-	vermelho-laranja
	Variações do pH	Ácido (pH 1-3)		Alcalino (pH 11)
	Leucoantocianidinas	vermelha		-
	Catequinas (Taninos catéquicos)	pardo-amarelada		-
	Flavanonas	-		vermelho-laranja
	Flavonois, Flavanonas, Flavononois e Xantonas	vermelha		

RESULTADOS

Ontogenia dos tricomas tectores e glandulares

O ápice caulinar com os primórdios foliares de *Scutellaria agrestis* é densamente recoberto por tricomas tectores e glandulares, (Figuras 1A-B) que se encontram em diversas fases de desenvolvimento, com numerosos tricomas já totalmente diferenciados (Figura 1C).

Tricomas tectores estão presentes em ambas as faces, sobre as nervuras e margens foliares, também ocorrendo nas áreas intervenais, porém apenas na face adaxial. Os tricomas glandulares estão distribuídos em ambas as faces da lâmina foliar, com maior concentração na face abaxial, ocorrendo nos espaços intervenais de toda a superfície foliar (Figuras 1C-D).

Tricomas estão ausentes apenas nas regiões do ápice da lâmina foliar e dentes marginais, onde estão localizados os hidatódios (Figura 1E), estruturas descritas no capítulo 1 desta tese. Nas folhas adultas, totalmente expandidas, é observada uma redução na densidade de ambos os tipos de tricomas resultando numa distribuição espaçada, porém com a localização dos mesmos mantidos (Figuras 1E-F).

A diferenciação dos tricomas tem início já no meristema apical caulinar pela atividade da protoderme. Neste estágio, também podem ser visualizados o meristema fundamental e os feixes procambiais (Figura 2A). No segundo par dos primórdios foliares, os tricomas glandulares e tectores começam a aparecer (Figura 2A). São formados a partir de uma única célula protodérmica facilmente distinta das demais circunvizinhas, por apresentar-se dilatada e arredondada no ápice (Figuras 2B, G). O núcleo, que nas demais células protodérmicas têm posição basal posiciona-se no centro do citoplasma celular quando a célula que irá formar o tricoma se dilata (Figuras 2B, G). A célula inicial que dará origem aos tricomas secretores (Figura 2G) difere da inicial que formará o tricoma tector (Figura 2B) por apresentar-se mais densa e menos vacuolizada. Durante o desenvolvimento dos tricomas tectores, a célula inicial continua a dilatar e o núcleo é deslocado para o ápice da célula (Figuras 2C, H). Na sequência, ocorre a primeira divisão periclinal (Figuras 2D, I), dando origem a duas células. A célula apical continuará a sofrer divisões periclinais sequenciais (Figura 2E) até que esta estrutura esteja totalmente diferenciada em uma estrutura multicelular e unisseriada (Figura 2F).

Os tricomas tectores são unisseriados e variam de uni a multicelulares (2-7 células), resultando em estruturas de tamanhos diferentes (Figuras 3A-B), podendo variar (1-14 células basais) de acordo com o porte da mesma. Estes tricomas são levemente encurvados no ápice e raramente eretos, revestidos por uma cutícula granulosa, com o conteúdo citoplasmático conservado na maioria das vezes (Figuras 3A-B).

No desenvolvimento do tricoma secretor, a célula protodérmica apical divide-se apenas mais uma vez periclinalmente (Figuras 2J, K) dando origem a uma célula apical e uma subapical. Posteriormente, a célula subapical se diferencia no pedicelo e a célula apical se dilata formando a cabeça globosa, podendo, por fim, sofrer de duas a seis divisões anticlinais (Figuras 2L, M) dando origem a cabeça multisseriada do tricoma peltado. Foram observados tricomas secretores com quatro células secretoras apicais (cabeça), formando o tipo capitado (Figuras 2N-O, S) ou com cinco a doze células secretoras apicais, originando o tipo peltado (Figuras 2P-S). A célula epidérmica basal (pé) pode dividir-se anticlinalmente de uma a sete

vezes formando o pedestal celular que atua como suporte nos tectores, sendo que um maior número de divisões anticlinais vai ocorrer nos tricomas tectores de maior porte. Já no caso dos tricomas glandulares, a célula epidérmica basal pode dividir-se uma vez durante a formação do tipo capitado ou de uma a duas vezes no caso do tipo peltado ou pode permanecer sem dividir-se (Figuras 2N-R).

O tricoma glandular capitado caracteriza-se por apresentar uma ou duas células basais (pé), o pedicelo unicelular curto com as paredes laterais cutinizadas e cerca de quatro células secretoras compondo a cabeça (Figuras 2N-O, 2S, 3C). No centro da cabeça secretora, ocorrem micro poros (Figura 3C), abertura pela qual o composto, anteriormente sintetizado e armazenado no pequeno espaço subcuticular, será lançado.

O tricoma glandular peltado encontra-se, geralmente, inserido em uma leve depressão. O pé é composto por uma, duas ou quatro células, o pedicelo é unicelular, curto, com as paredes laterais cutinizadas (Figuras 2P-S) e o arranjo celular da cabeça pode variar de 5-12 células secretoras dispostas em círculo, com a cutícula distendida armazenando, no espaço subcuticular, o composto sintetizado pelas células apicais, conferindo à cabeça secretora um formato esférico (Figuras 2P-S, 3D-E). Este espaço subcuticular torna-se progressivamente grande à medida que as substâncias são armazenadas, até que ocorra a ruptura cuticular da linha horizontal, aparentemente frágil, observada na porção mediana da cabeça secretora (Figuras 3D-E).

Os tricomas multicelulares do tipo capitado e peltado são visualizados em ambas as faces da lâmina foliar, com maior número de glândulas peltadas na epiderme da face abaxial (Figuras 3F-G).

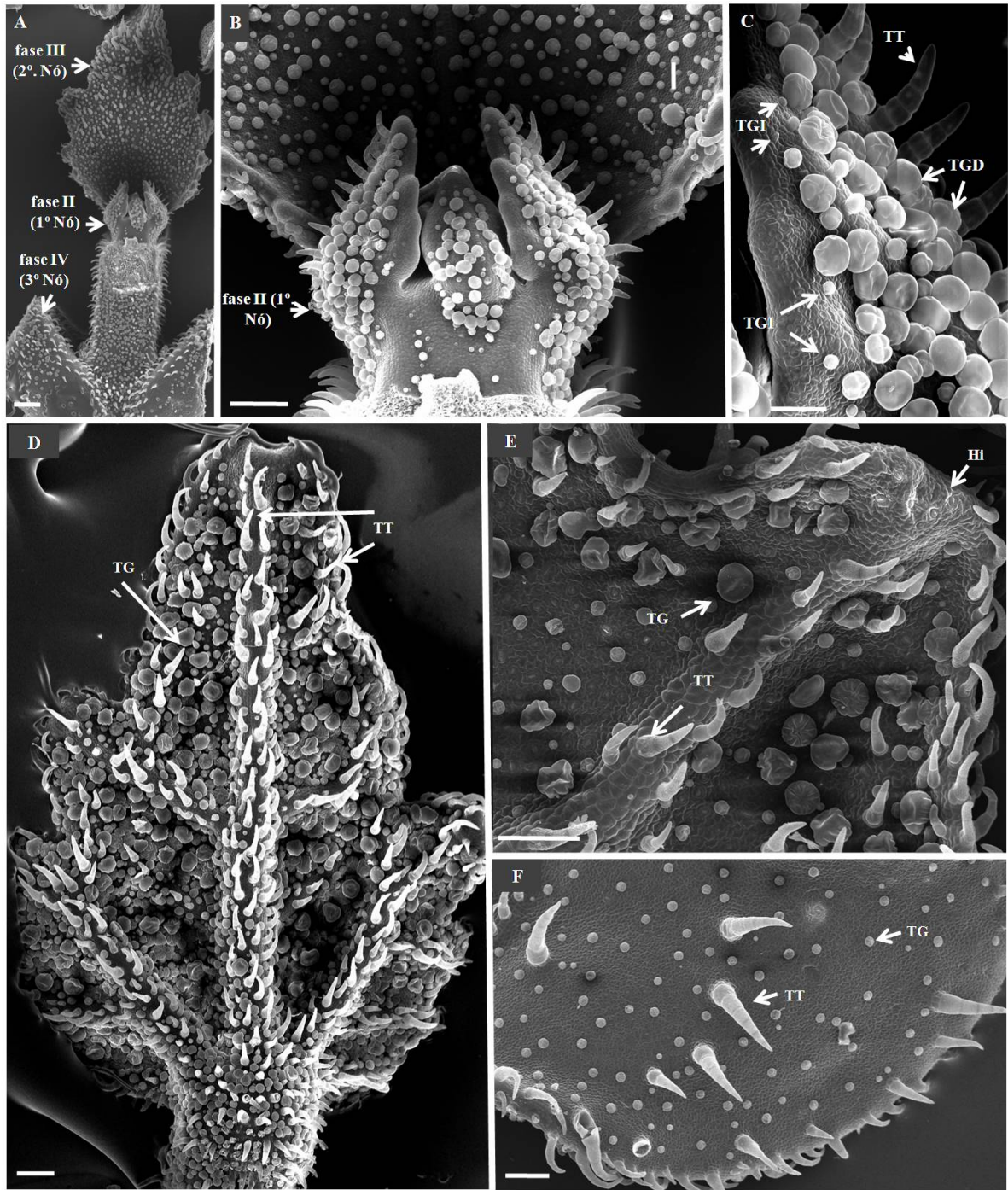


Figura 1. Distribuição dos tricomas na lâmina foliar de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. Imagens em MEV. A- ápice caulinar; B- primórdios do 1° nó no ápice caulinar; C- face abaxial da folha jovem com detalhe para fases diferentes de desenvolvimento dos tricomas; D- face abaxial da folha jovem com detalhe para a distribuição dos tricomas; E- face abaxial da folha adulta; F- face adaxial da folha adulta. Legenda: Hi- hidatódio, TG- tricoma glandular, TGD- tricoma glandular diferenciado, TGI- tricoma glandular indiferenciado, TT- tricoma tector. Barra: A-200µm; C-30µm; B, D, E, F-100µm.

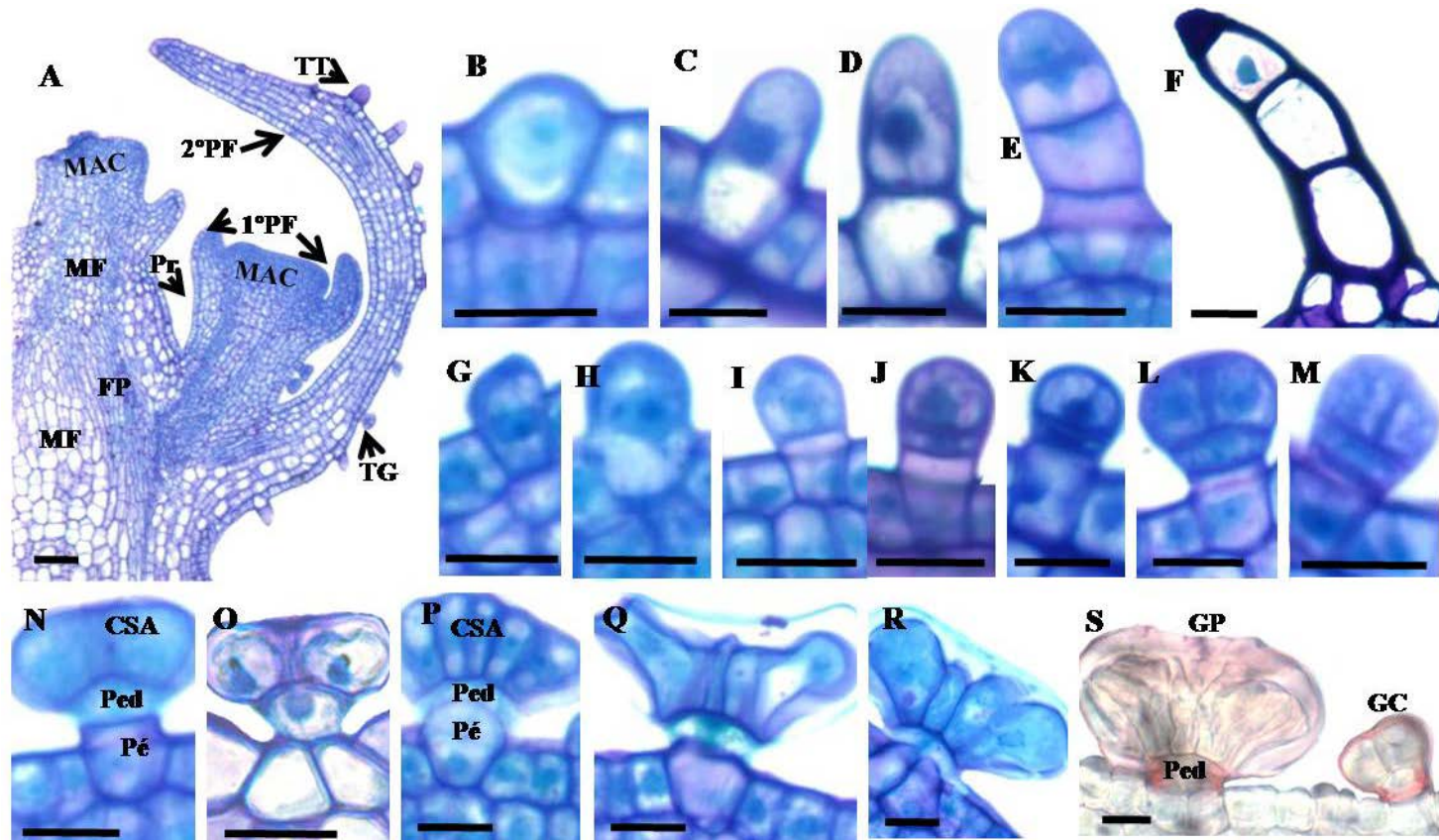


Figura 2. Desenvolvimento dos tricomas na folha de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. Secções longitudinais, exceto as figuras O e Q- secções transversais. A- meristema apical e primórdios foliares; B-E- diferentes fases do desenvolvimento do tricoma tector; F- tricoma tector diferenciado; G-K- diferentes fases do desenvolvimento do tricoma glandular; L- tricoma capitado evidenciando a primeira divisão anticlinal da cabeça; M- tricoma peltado evidenciando a primeira divisão anticlinal da cabeça; N-O- tricoma do tipo capitado; P-R- tricoma do tipo peltado; S- tricoma peltado e capitado com lipídios impregnados no pedicelo (sudan IV). Legenda: CSA- células secretoras apicais, FP- feixes procambiais, GC- glândula capitada, GP- glândula peltada, MAC- meristema apical caulinar, MF- meristema fundamental, Ped- pedicelo, 1°PF- primeiro par de primórdios foliares, 2°PF- segundo par de primórdios foliares, Pr- protoderme, TG- tricoma glandular, TT- tricoma tector. Barra: A- 45µm; B-E, G-N, P-R-12µm; F- 24µm; O-10µm; S-12µm.

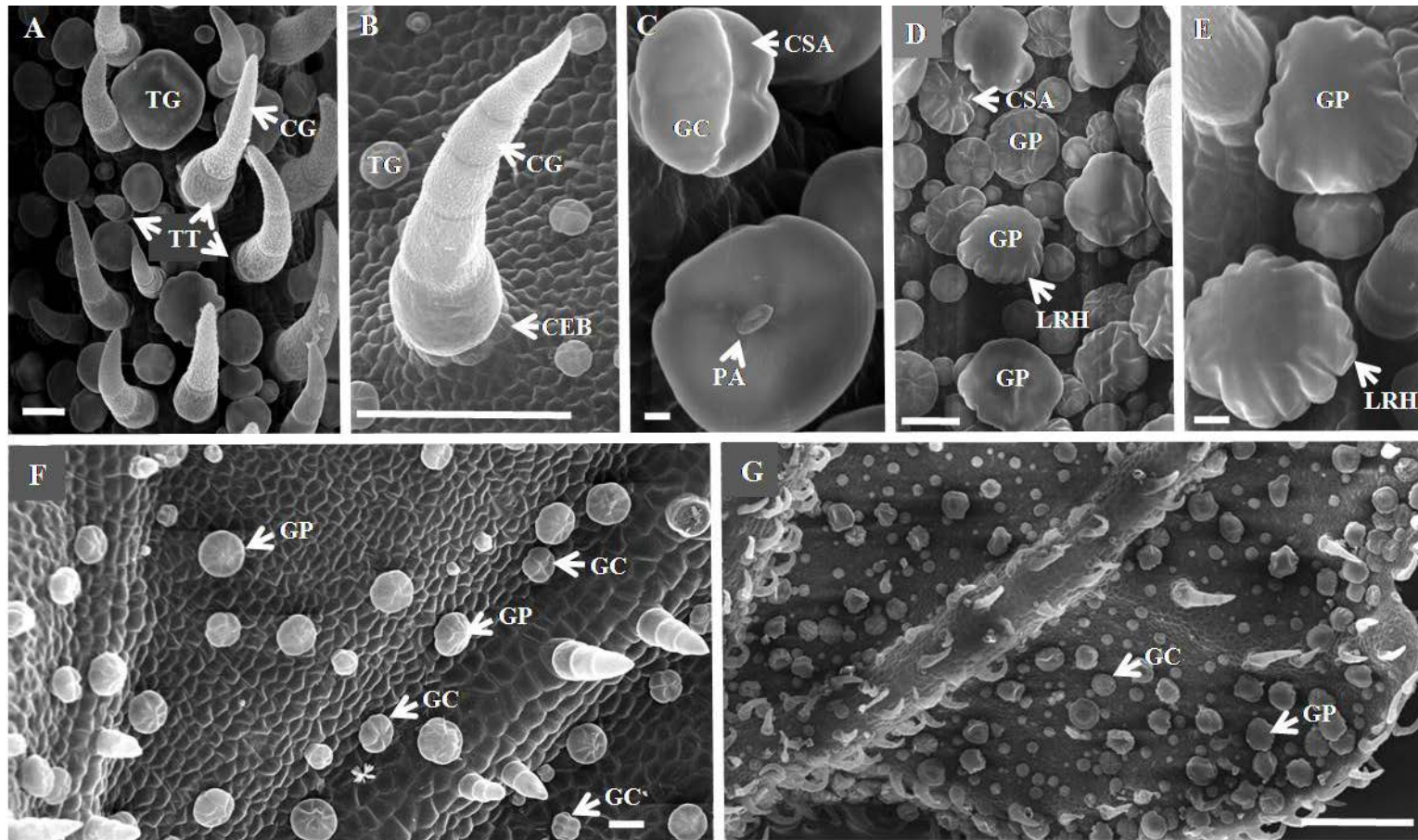


Figura 3. Tricomas presentes na lâmina foliar de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. Imagens em MEV. A- face abaxial com tricomas tectores e glandulares; B- tricoma tector na face adaxial; C- tricoma capitado na face abaxial; D- tricoma peltado na face abaxial; E- tricoma peltado na face abaxial; F- face adaxial com tricomas tectores e glandulares; G- face abaxial com tricomas tectores e glandulares. Legenda: CEB- célula epidérmica basal, CG- cutícula granulosa, CSA- células secretoras apicais, GC- tricoma capitado, GP- tricoma peltado, LRH- linha de ruptura horizontal, PA- poro aquoso, TG- tricoma glandular, TT- tricoma tector. Barra: A - 2 μ m, B- 100 μ m; C- 2 μ m; D- 30 μ m; E- 10 μ m; F- 20 μ m; G- 200 μ m.

Fitoquímica e Histoquímica do caule e da folha

A prospecção fitoquímica, realizada a partir do extrato aquoso das amostras do caule e da folha de *Scutellaria agrestis*, revelou a presença de saponinas, esteroides livres, fenóis gerais, cumarinas, taninos hidrolisáveis, várias classes de flavonoides (antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonóis, xantonas, leucoantocianidinas, flavanonas, flavanonóis), (Tabela 3). Todos estes compostos detectados na espécie estudada apresentaram coloração mais intensa nas reações obtidas do extrato aquoso da folha quando comparadas ao extrato obtido do caule.

Não foram detectados em *Scutellaria agrestis* alcaloides, triterpenoides pentacíclicos livres, taninos condensados e catequinas (taninos catéquicos) (Tabela 3).

As estruturas secretoras histolocalizadas em *Scutellaria agrestis* são todas de origem epidérmica: células epidérmicas propriamente ditas (descritas no Capítulo 1 desta tese) e tricomas glandulares capitados e peltados.

O tecido de revestimento de *S. agrestis* é composto por uma epiderme secretora que recobre os órgãos vegetativos aéreos. As células epidérmicas do caule, do pecíolo e da face abaxial da lâmina foliar apresentaram reação positiva para taninos e antocianinas (Tabela 4 e Figuras 4A-D, respectivamente), com resultados negativos para os demais testes histoquímicos aplicados (Tabela 4) e não conclusivos para o teste de flavonoides sob luz fluorescente. Assim, as evidências indicam que as classes de flavonoides detectadas por meio dos testes fitoquímicos estão armazenadas nas células epidérmicas.

Os tricomas capitados e peltados reagiram positivamente para lipídios totais em luz visível, o que foi confirmado sob luz fluorescente (Tabela 4, Figuras 4E-L). Ainda sob luz visível, foram detectados lipídios ácidos, compostos fenólicos, óleos essenciais e proteínas (Tabela 4, Figuras 4E, F, M-V). Os esteroides detectados por meio da prospecção fitoquímica foram histolocalizados apenas nos tricomas peltados sob luz fluorescente (Tabela 3, 4, Figuras 4J, W-Z). Os testes histoquímicos obtiveram resultados negativos para polissacarídeos (Tabela 4) e não conclusivos para os testes de lactonas sesquiterpênicas, ácidos graxos e flavonoides sob luz fluorescente. Nos testes realizados para detecção de alcaloides, tanto fitoquímico quanto histoquímico, houve reação negativa, confirmando a ausência deste composto na espécie em questão (Tabelas 3, 4).

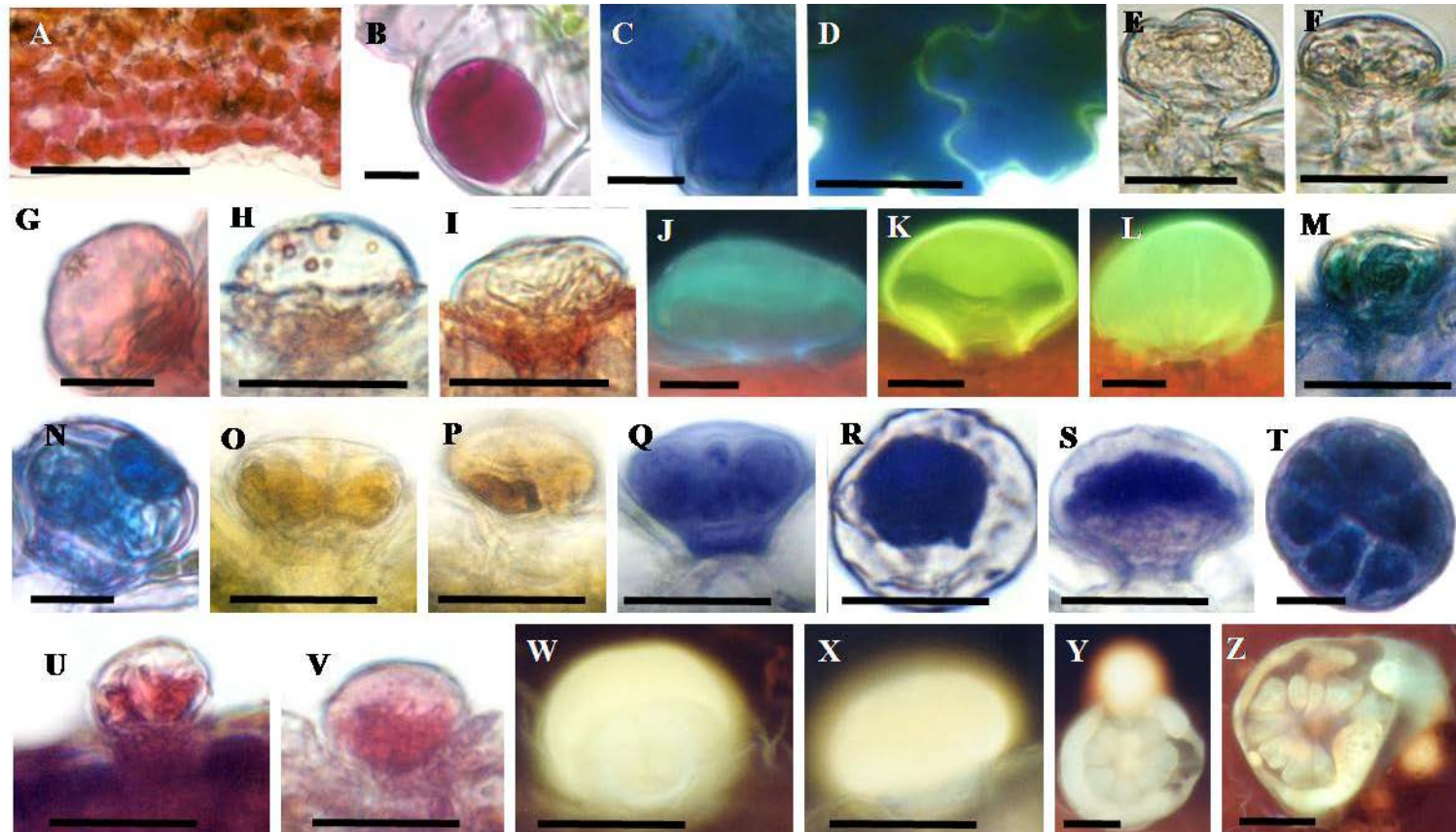


Figura 4. Histoquímica dos metabólitos presentes nas estruturas secretoras de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. Cortes transversais, exceto A, D (frontal). A- face abaxial contendo tanino (vanilina clorídrica); B, C, D face abaxial armazenando antocianina na cor natural e submetido a solução de amônia, respectivamente; E, F- tricoma capitado e peltado (material fresco), respectivamente; G, H- tricomas peltados com lipídios (sudan IV e III), respectivamente; I- tricoma capitado com lipídio (sudan III); J- tricoma peltado, auto-fluorescência; K, L- tricoma peltados com lipídio (vermelho neutro sob luz fluorescente); M, N- tricoma peltado e capitado com lipídio ácido (sulfato azul do Nilo), respectivamente; O- tricoma capitado com composto fenólico (dicromato de potássio); P- tricoma peltado com composto fenólico (cloreto férrico); Q, R- tricoma capitados; S, T- tricoma peltados, ambas com óleo essencial (reagente de Nadi); U, V- tricoma capitado e peltado com proteína (Xilidine Ponceau); W, X, Y, Z- tricoma peltado com esteroides (Tricloreto de Antimônio). Barra: A- 35µm; B- 10µm; C-12µm; D- 24µm; G- 12µm; E-F, H-Z- 10µm.

Tabela 3. Prospecção fitoquímica dos metabólitos presentes em *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth.

Grupo de metabólitos		Caule	Folha
	Alcaloides	-	-
Terpenos	Saponinas	+	++
	Esteroides livres	+	++
	Triterpenoides pentacíclicos livres	-	-
Compostos fenólicos	Cumarinas	+	++
	Fenóis gerais	+	++
	Taninos hidrolisáveis	+	++
	Taninos condensados	-	-
	Antocianinas e Antocianidinas	+	++
	Chalconas e Auronas	+	++
	Flavonas, Flavonóis e Xantonas	+	++
	Flavanonóis	-	-
	Leucoantocianidinas	+	++
	Catequinas (Taninos catéquicos)	-	-
	Flavanonas	-	-
Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas	+	++	

Reação positiva: +; Reação positiva forte: ++; Reação negativa: -.

Tabela 4. Histoquímica dos metabólitos presentes nas estruturas secretoras de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth.

Grupo de metabólitos	Reagente	Caule e Folha			
		Epiderme abaxial	Glândula		
			capitada	peltada	
Lipídios	Lipídios totais	Sudan IV	-	+	+
		Sudan III	-	+	+
		Vermelho Neutro	-	++	++
	Lipídios neutros	Sulfato Azul do Nilo	-	-	-
	Lipídios ácidos		-	++	++
	Ácidos graxos	Acetato de Cobre/ Ácido Rubeânico	-	NC	NC
Terpenos	Óleos essenciais	Reagente de Nadi	-	++	++
	Óleos resinas		-	-	-
	Esteroides	Tricloreto de Antimônio	-	-	++
	Lactonas sesquiterpênicas	Ácido Sulfúrico	-	NC	NC
	Terpenoides com grupo carbonilo	2,4 – Dinitrofenilhidrazina	-	-	-
Compostos fenólicos	Compostos fenólicos gerais	Dicromato de Potássio	+	+	+
		Cloreto férrico III	+	+	+
	Flavonoides	Cloreto de Alumínio	NC	NC	NC
	Agliconas flavonóicas	Reagente de Wilson	-	-	-
	Antocianinas	Varição de pH (Solução de Amônia/Ácido Sulfúrico)	++	-	-
	Taninos	Vanilina Clorídrica	++	-	-
Lignina	Floroglucinol	-	-	-	
Alcaloides		Reagente de Dittmar	-	-	-
		Reagente de Wagner	-	-	-
Polissacarídeos	Amido	Lugol	-	-	-
	Pectinas, mucilagens	Vermelho de Rutênio	-	-	-
	Polissacarídeos neutros	PAS	-	-	-
Proteínas	Proteínas totais	Xilidine Ponceau	-	+	+

Reação positiva: +; Reação positiva forte: ++; Reação negativa: -; Não conclusivo: NC.

DISCUSSÃO

A grande diversidade dos tricomas tem interessado os botânicos por seu valor taxonômico e sua importância nas estratégias adaptativas das plantas (Metcalf e Chalk, 1957; Ascensão *et al.*, 1995). Além disso, os tricomas glandulares, encontrados especialmente nas espécies de Lamiaceae, secretam substâncias (terpenoides e fenóis) de interesse comercial para as indústrias farmacêuticas e agrícolas, e ainda, por serem utilizados como aromas e fragrâncias (Metcalf e Chalk, 1957; Duke, 1994; Bini e Giuliani, 2006; Hatamneia *et al.*, 2008).

Os tricomas tanto tectores quanto glandulares de *Scutellaria agrestis* descritos no presente estudo apresentam o mesmo padrão de desenvolvimento relatados para outras espécies de Lamiaceae, tais como *Leonotis leonuros* R. Br. (Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão e Pais, 1998), *Ocimum basilicum* L. (Werker *et al.*, 1993), *Salvia officinalis* (Corsi e Bottega, 1999), *Mentha x piperita* (Turner *et al.*, 2000), *Ocimum selloi* Benth (Gonçalves *et al.*, 2010).

Tricomas tectores presentes na espécie estudada são numerosos e geralmente estão distribuídos sobre as nervuras e margens foliares; o mesmo foi reportado para *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Gairola *et al.*, 2009). Tais tricomas atuam na proteção estrutural da planta aumentando a reflexão da radiação solar, reduzindo a temperatura interna e evitando a transpiração excessiva da planta (Evert, 2006; Soares e Machado, 2007). Ademais, *S. agrestis* apresenta células epidérmicas contendo antocianinas revestindo o caule, o pecíolo e a face abaxial da lâmina foliar, esses pigmentos auxiliam na proteção dos tecidos da planta contra os raios UV (Harbone e Williams, 2000; Rausher, 2006). Tais mecanismos de proteção corroboram a realidade de ocorrência da espécie estudada, uma vez que esta é uma erva prostrada com ramos eretos, encontrando-se próxima à superfície do solo, exposta a ambientes ensolarados comuns ao clima do Amazonas.

Os tricomas dos tipos capitado e peltado observados em *S. agrestis* são os tipos de tricomas secretores tradicionalmente reconhecidos em Lamiaceae (Ascensão *et al.*, 1995; Bini e Giuliani, 2006; Evert, 2006; Gairola *et al.*, 2009; Gonçalves *et al.*, 2010). Entretanto, foi registrado um único tipo de glândula capitada para a espécie em questão, diferindo de muitos trabalhos, nos quais geralmente são identificados dois ou mais subtipos desta estrutura. Para a classificação de tal glândula são utilizados como parâmetros o número de células secretoras apicais (1-4) e o comprimento e número de células do pedicelo (Ascensão *et al.*, 1995; Falciani *et al.*, 1995; Ascensão e Pais, 1998; Werker *et al.*, 1993; Corsi e Bottega, 1999; Gairola *et al.*, 2009). A glândula capitada presente em *S. agrestis* está classificada como o tipo

I descrito para *L. leonurus* (Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão e Pais, 1998) e tipo B para as espécies do grupo *Stachys germanica* (Falciani *et al.*, 1995). Tal tricoma é caracterizado por apresentar uma a duas células compondo a célula da base e o pedicelo e quatro células secretoras apicais formando a cabeça com um pequeno espaço subcuticular. Micro poros são visualizados no centro da cabeça secretora capitada em *S. agrestis* com função de excreção da substância acumulada temporariamente no espaço subcuticular, corroborando o proposto por Ascensão e Pais (1998) para a mesma estrutura em *L. leonurus*.

O tricoma peltado presente em *S. agrestis* possui de 5 a 12 células secretoras apicais, como reportado para outras espécies da família com uma variação de 4-18 células compondo a cabeça secretora (Metcalf e Chalk, 1957; Corsi e Bottega, 1999; Evert, 2006; Bini e Giuliani, 2006). Ademais, uma linha horizontal presente na porção mediana das células apicais, observada na espécie estudada, é identificada em *L. leonurus* como a linha de ruptura cuticular que pode ser rompida, possibilitando o lançamento da substância armazenada na cavidade subcuticular (Ascensão *et al.*, 1995). Este mecanismo advém de fatores externos tais como altas temperaturas, baixa umidade ou injúria física, como resposta de defesa da planta (Ascensão *et al.*, 1995).

Os tricomas tanto capitados quanto peltados descritos na espécie estudada apresentam as paredes laterais do pedicelo completamente impregnadas com substâncias lipídicas, tal observação foi registrada para outras espécies de Lamiaceae (Fahn, 1979; Ascensão *et al.*, 1995; Ascensão e Pais, 1998; Evert, 2006). A presença do lipídio no pedicelo possivelmente atua como suporte da cutícula, evitando o rompimento da camada celulósica na região do pedicelo quando a cutícula se encontra totalmente expandida devido ao acúmulo de substância armazenada na cavidade subcuticular (Fahn, 1979). Além disso, parece estar relacionada com o controle de fluxo da substância secretada na via apoplástica (Fahn, 1979).

Raramente tricomas glandulares são ausentes em indivíduos de Lamiaceae, no entanto, Hatamneia *et al.* (2008) não registraram a presença destas estruturas nas folhas e no caule de *Scutellaria pinnatifida* subsp. *pichleri*.

As principais substâncias químicas produzidas pelos tricomas glandulares e epidermes secretoras registradas neste estudo em *S. agrestis* são fenóis (várias classes de flavonoides, taninos hidrolisáveis e cumarinas), terpenos (óleos essenciais, esteroides livres e saponinas) e ainda a presença de lipídeos ácidos e proteínas, com ausência de polissacarídeos e alcaloides para ambos os testes fitoquímicos e histoquímicos. Possivelmente, a produção de tais substâncias está diretamente relacionada com o sucesso adaptativo da planta atuando no mecanismo de defesa química da mesma contra herbivoria e agentes patogênicos como vírus,

bactérias e outros micro-organismos (Fahn, 1979). Recentemente foi descoberto por Hirunuma *et al.* (2011) que os flavonoides endógenos presentes nas raízes de *Scutellaria baicalensis* induzem morte celular dentro de 24h por meio de apoptose via oxidação de cobre dependente de DNA nuclear sem induzir rajadas oxidativas, utilizando peroxidases da parede celular. Tal fenômeno difere da ação dos flavonoides encontrados nas demais espécies vegetais, em que a morte celular é frequentemente desencadeada pela grande produção de hidroxilas, causando explosão oxidativa. Vários flavonoides já foram identificados nas plantas, contudo nenhum destes havia sido identificado como sinalizador de apoptose. Este sistema alternativo de indução da morte celular pode atuar na defesa da planta contra invasão de micro-organismos, independente de rajadas oxidativas como ocorre em outras espécies vegetais (Hirunuma *et al.*, 2011).

A literatura científica que investiga os representantes de Lamiaceae apresenta ricas informações quanto à variedade de compostos químicos produzidos por meio das estruturas secretoras presentes nas espécies vegetais. Como exemplo, destacam-se *Scutellaria lateriflora*, com a presença de flavonas e flavanonas como principal componente fenólico, (Lin *et al.*, 2009); *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley, com a presença de flavonoides, lignanas, terpenos e saponinas e a ausência de amidos, alcaloides, cumarinas, esteroides, triterpenos, antraquinonas e taninos (Fiuza *et al.*, 2010); *Coleus aromaticus* (Benth.), sinonímia de *Plectranthus amboinicus* Lour, com o registro de 95% de óleos essenciais contidos nos órgãos florais (Joshi *et al.*, 2011) e *Origanum x intercedens*, apresentando como principais componentes agliconas flavonoicas e óleos essenciais, (Bosabalidis *et al.*, 1998).

Os principais sítios de produção dos compostos para a família localizam-se nas folhas de *Rosmarinus officinalis* L., onde ocorrem proteínas, polissacarídeos e compostos fenólicos em glândulas peltadas e capitadas (Marin *et al.*, 2006); nas folhas de *L. leonurus*, onde são produzidos polissacarídeos, proteínas, óleos essenciais e flavonoides em glândulas capitadas (Ascensão e Pais, 1998); nas folhas de *Mentha spicata*, onde há biossíntese de monoterpênicos em glândulas peltadas (Gershenzon *et al.*, 1989) e nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Plectranthus ornatuns* Codd., onde substâncias hidrofílicas e lipofílicas são sintetizadas em glândulas capitadas, compostos lipofílicos e terpenoicos ocorrem em glândulas peltadas e substâncias hidrofílicas e fenólicas ocorrem em tricomas digitiformes (Ascensão *et al.*, 1999). Apesar da diversidade, é possível verificar diante do exposto que os principais compostos presentes na família Lamiaceae são os fenóis, os terpenos, polissacarídeos e lipídios. Em *Scutellaria*, os principais compostos encontrados são os fenóis (flavonoides) e terpenos (óleos

essenciais). Ademais, nota-se que as estruturas secretoras responsáveis pela síntese destes compostos são geralmente as glândulas peltadas e capitadas, tal como o observado na espécie em questão.

Por meio da prospecção fitoquímica realizada com amostras da folha e do caule da espécie estudada observou-se que as folhas apresentaram coloração mais intensa em todas as reações obtidas. Assim, a folha parece ser o órgão mais indicado para coleta, uma vez que este possivelmente apresenta maior quantidade do princípio ativo, conseqüentemente maior rendimento no uso racional da planta. No entanto, ainda são necessários estudos fitoquímicos quantitativos para afirmação desta conjectura.

Os compostos químicos supracitados (fenóis e terpenos) possuem propriedades antibactericidas, antivirais, fago-inibidoras (“antifeedant” - supressoras de apetite em insetos) e antifúngicas (Buchanan *et al.*, 2000; Bruno *et al.*, 1999; Harbone e Williams, 2000; Bruno *et al.*, 2002; Chang *et al.*, 2011). A atividade fago-inibidora tem sido investigada por Bruno *et al.* (1999), Bruno *et al.* (2002) e Raccuglia *et al.* (2010) a partir de diterpenoides neoclerodanes (jodrellin B, jodrellin A, scutalbin A, scutecyprol B) isolados de *Scutellaria rubicunda* subsp. *linneana* (Carbel) Rech., *S. rubicunda* subsp. *rubicunda* Hornem e diterpenoides (hastifolins A-C) isolados de *S. hastifolia*. Resultados significativos foram obtidos por estes autores quanto ao sistema de defesa da planta contra herbivoria junto a cinco diferentes tipos de larvas de Lepidópteros. Além disso, tais diterpenoides podem ser considerados constituintes típicos de *Scutellaria* e podem ser usados para estudos quimiotaxonômicos em nível de gênero (Bruno *et al.*, 1999; Bruno *et al.*, 2002; Rosselli *et al.*, 2007; Raccuglia *et al.*, 2010).

No caule e na folha de *Scutellaria agrestis* foi identificada a presença de várias classes de flavonoides (antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas, chalconas, alronas, flavonas, flavonois e xantonas). Hussain *et al.* (2008) isolaram dos órgãos vegetativos aéreos de *Scutellaria linearis* oito flavonoides, quatro diterpenoides neoclerodanes e dois esteroides. Tais moléculas de flavonoides têm sido isoladas por vários pesquisadores (Hirotani *et al.*, 1997; Bosabalidis *et al.*, 1998; Hussain *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2009) e, assim como os terpenoides, podem ser utilizadas como marcadores químicos para estudos quimiotaxonômicos do gênero *Scutellaria*. Isto é possível uma vez que estudos das vias biossintéticas dos flavonoides podem ser utilizadas como modelo para entender a regulação gênica em plantas, contribuindo para o entendimento histórico evolutivo das mesmas (Rausher, 2006).

CONCLUSÕES

A ontogenia dos tricomas de *Scutellaria agrestis* segue o padrão para a família. As estruturas secretoras responsáveis pela síntese das substâncias biologicamente ativas são os tricomas capitados e peltados (fenóis e terpenos), geralmente encontradas na família, e a epiderme secretora (flavonoides), esta última estrutura pouco citada na literatura específica de Lamiaceae, quiçá descrita pela primeira vez para *Scutellaria* neste trabalho. Entretanto, vale ressaltar que investigações ultraestruturais são recomendadas para o melhor entendimento das vias de secreção, e ainda para auxiliar na interpretação de suas funções.

Os principais compostos biologicamente ativos sintetizados são os fenóis e os terpenos, ordinários para a família e para o gênero. Assim, sugere-se continuidade nos estudos fitoquímicos, a fim de isolar constituintes químicos das classes de terpenos e flavonoides, uma vez que estes podem ser utilizados como marcadores quimiotaxonômicos para o gênero.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em especial à Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF/UFAM) pelo apoio nas análises fitoquímicas; à Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao laboratório de Anatomia Vegetal da UFV e ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) e à Capes, pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, C.B.F.C.B.R.; Albuquerque, U.P. 2002. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45(3): 343-353.

Alonso, J.L.F. 1990. Notas sobre *Scutellaria* (Labiatae) en Colombia y Ecuador. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 47(1): 105-123.

Ascensão, L.; Marques, N.; Pais, M.S. 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 75: 619 -626.

Ascensão, L.; Marques, N.; Pais, M.S. 1997. Peltate glandular trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: Ultrastructure and histochemical characterization of secretions. *International Journal of Plant Sciences*, 158(3): 249 -258.

Ascensão, L.; Mota, L.; Castro, M.M. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany*, 84: 437-447.

Ascensão, L.; Pais, M.S. 1998. The leafe capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. *Annals of Botany*, 81: 263 -271.

Bini, L.M.; Giuliani, C. 2006. The Glandular Trichomes of the Labiatae. A Review. *Acta Horticultura*, 723: 85-90.

Bosabalidis, A.; Gabrieli, C.; Niopas, I. 1998. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum x intercedens*. *Phytochemistry*, 49 (6): 1549-1553.

Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1992. *Eletron Microscopy*. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 542pp.

Brundett, M.C.; Kendrick, B.; Peterson, C.A. 1991. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic and Histochemistry*, 66: 111-116.

Bruno, M.; Piozzi, F.; Maggio, A.M.; Simmonds, M.S.J. 2002. Antifeedant activity of neo-clerodane diterpenoids from two Sicilian species of *Scutellaria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 793-799.

Bruno, M; Vassallo, N.; Simmonds, M.S.J. 1999. A diterpenoid with antifeedant activity from *Scutellaria rubicund*. *Phytochemistry*, 50: 973-976.

Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville. 1367pp.

Cain, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 88: 383-392.

- Cassino, M.F. 2010. *Estudo etnobotânico de plantas medicinais em comunidades de várzea do rio Solimões, Amazonas e aspectos farmacognósticos de Justicia pectoralis Jacq. forma mutuquinha (Acanthaceae)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 135pp.
- Chang, H.; Yi, P.L.; Cheng, C.H.; Lu, C.Y.; Hsiao, Y.T.; Tsaia, Y.F.; Li, C.L.; Chang, F.C. 2011. Biphasic effects of baicalin, an active constituent of *Scutellaria baicalensis* Georgi, in the spontaneous sleep-wake regulation. *Journal of Ethnopharmacology*, (doi:10.1016/j.jep.2011.03.023).
- Charrière-Ladreix, Y. 1976. Répartition intracellulaire du secrétat flavonique de *Populus nigra* L. *Planta*, 129: 167-174.
- Corsi, G.; Bottega, S. 1999. Glandular Hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany*, 84: 657-664.
- Costa, A.F. 2002. *Farmacognosia*. Fundação Calouste-Gulbenkian, Lisboa. v.1, 1031pp.
- David, R.; Carde, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Academie des Sciences Paris, Série D*, 258: 1338-1340.
- Duke, S.O. 1994. Glandular trichomes-A focal point of chemical and structural interactions. *International Journal of Plant Sciences*, 55(6): 617-620.
- Evert, R.F. 2006. *Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley e Sons, New Jersey. 601pp.
- Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London. 302pp.
- Falciani, L.; Maleci, B.; Lippi, M.M. 1995. Morphology and distribution of trichomes in Italian species of the *Stachys germanica* group (Labiatae): a taxonomic evaluation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 119: 245-256.
- Fiuza, T.S.; Rezende, M.H.; Sabóia-Morais, S.M.T.; Tresvenzol, L.M.F.; Ferreira, H.D.; Paula, J.R.; 2010. Estudo das folhas e caule de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley, Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(2): 192-200.

- Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44: 153–159.
- Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Masson e Cie, Paris. 1113pp.
- Gairola, S.; Naidoo, Y.; Bhatt, A.; Nicholas, A. 2009. An investigation of the foliar trichomes of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae): An important medicinal plant of Southern Africa. *Flora*, 204: 325-330.
- Ganter, P.; Jollés, G. 1969. *Histochimie normale et pathologique*. vol. I. Gauthier – Villars, Paris. 1904pp.
- Geissman, T.A.; Griffin, T.S. 1971. Sesquiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry*, 10: 2475 –2485.
- Gersbach, P.V. 2002. The essential oil secretory structures of *prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 89: 255-260.
- Gershenzon, J.; Maffei, M.; Croteau, R. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of Spearmint (*Mentha spicata*). *Plant Physiologic*, 89: 1351-1357.
- Gonçalves, L.A.; Azevedo, A.A.; Otoni, W.C. 2010. Characterization and ontogeny of the glandular trichomes of *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae). *Acta Botânica Brasileira*, 24(4): 909-915.
- Harborne, J.B.; Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.
- Hardman, R.; Sofowora, E.A. 1972. Antimony trichloride as test reagents for steroids, especially diosgenin and yamogenin, in plant tissues. *Stain Technology*, 47: 205–208.
- Harley, R., França, F., Santos, E.P., Santos, J.S. 2010. Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB008360>). Acesso em 15/08/2011.
- Hatamneia, A.A.; Khayami, M; Mahmudzadeh, A.; Sarghein, S.H.; Heidarih, M. 2008. Comparative anatomical studies of some Genera of Lamiaceae family in Wesr Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, 1(3): 63-67.

- Hirotsani, Y.Z.M.; Yoshikawa, T.Y.; Furuya, T. 1997. Flavonoids and phenylethanoids from hairy root cultures of *Scutellaria baicalensis*. *Phytochemistry*, 44(1): 83-87.
- Hirunuma, M.; Shoyama, Y.; Sasaki, K.; Sakamoto, S.; Taura, F.; Shoyama, Y.; Tanaka, H.S. 2011. Flavone-catalyzed apoptosis in *Scutellaria baicalensis*. *Phytochemistry*, (doi:10.1016/j.phytochem.2011.02.009).
- Hussain, H.; Ahmad, V.U.; Anwar, S.; Miana, G.A.; Krohn, K. 2008. Chemical constituents of *Scutellaria linearis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 490-492.
- Jensen, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. W. H. Freeman e Co., San Francisco. 408pp.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 523pp.
- Joshi, R.K.; Badakar, V.; Kholkute, S.D. 2011. Carvacrol Rich Essential Oils of *Coleus aromaticus* (Benth.) from Western Ghats Region of North West Karnataka, India. *Advances in Environmental Biology*, 5(6): 1307-1310.
- Kirk Jr, P.W. 1970. Neutral red as a lipid fluorochrome. *Stain Technology* 45: 1-4.
- Kraus, J.E.; Arduin, 1997. M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Rio de Janeiro. 198pp.
- Kuster, R.M.; Rocha, L.M. 2004. Cumarinas, Cromonas e Xantonas. p. 537-556. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.
- Lin, L.; Harnlya, J.M.; Upton, R. 2009. Comparison of the Phenolic Component Profiles of Skullcap (*Scutellaria lateriflora*) and Germander (*Teucrium canadense* and *T. chamaedrys*), a Potentially Hepatotoxic Adulterant. *Phytochemistry*, 20: 298-306.
- Li-Weber, M. 2009. New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents wogonin, baicalein and baicalin. *Cancer Treatment Reviews*, 35: 57-68.
- Mace, M.E.; Bell, A.A.; Stipanovic, R.D. 1974. Histochemistry and isolation of gossypol and related terpenoids in roots of cotton seedlings. *Phytopathology*, 64: 1297-1302.

- Mace, M.E.; Howell, C.R. 1974. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108.
- Maia, V. 1979. *Técnica Histológica*. Atheneu, São Paulo. 298pp.
- Marin, M.; Koko, V.; Duletić-Laušević, S.; Marin, P.D.; Rančić, D.; Dajic-Stevanovic, Z. 2006. Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: Morphology, stereology and histochemistry. *South African Journal of Botany*, 72: 378-382.
- Matos, F. J. A. 1997. *Introdução a Fitoquímica Experimental*. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. 141pp.
- Metcalfe, C. R.; Chalk, L. 1957. *Anatomy of the dicotyledons, leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford. 560pp
- Metcalfe, C.R.; Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of the leaf and stem*. 2a ed. Clarendon Press, Oxford. 276pp.
- Nalawade, S.M.; Sagare, A.P.; Lee, C.Y.; Kao, C.L.; Tsay, H.S. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. *Botanical Bulletin Academic Since*, 44: 79-98.
- O' Brien, T.P.; McCully M.E. 1981. *The study of structure principles and selected methods*. Termarcaphi Pty. LTD, Melbourn. 280pp.
- Raccuglia, R.A.; Bellone, G.; Loziene, K.; Piozzi, F.; Rosselli, S; Maggio, A.; Bruno, M. Simmonds, M.S.J. 2010. Hastifolins A-G, antifeedant neo-clerodane diterpenoids from *Scutellaria hastifolia*. *Phytochemistry*, 71: 2087-2091.
- Rausher, M.D. 2006. The evolution of flavonoids and their genes. p. 175-212. In: Erich G., *The Science of Flavonoids*. Springer, USA.
- Rosselli, S.; Bruno, M.; Simmonds, M.S.J.; Senatore, F.; Rigano, D.; Formisano, C. 2007. Biochemical Volatile constituents of *Scutellaria rubicunda* Hornem subsp. *linnaeana* (Caruel) Rech. (Lamiaceae) endemic in Sicily. *Systematics and Ecology*, 35: 797-800.
- Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Athayde, M. L. 2004. Saponinas. p. 711-740. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R.

Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Shang, X.; Hea X.; Li, M.; Zhanga, R.; Fana, P.; Zhanga, Q.; Jia Z. 2010. The genus *Scutellaria* an ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 279-313.

Soares, A.M.S.; Machado, O.L.T. 2007. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Tropica - Ciencias Agrarias e Biologicas*, 1(1): 9-19.

Theobald, W.L.; Krahulik, J.L.; Rollins, R.C. 1979. Trichome description and classification. p. 40-53. In: Metcalfe CR, Chalk L. *Anatomy of the dicotyledons*. v.1. Clarendon Press, Oxford.

Turner, G.W.; Gershenzon, J.; Croteau, R.B. 2000. Development of peltate glandular trichomes of Peppermint. *Plant Physiology*, 124: 665-679.

Werker, E.; Putievsky, E.; Ravid, U.; Duda, N.; Katzir, L. 1993. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 71: 43-50.

Capítulo 3

Oliveira, A.B.; Mendonça, M.S.; Meira, R.M.S.A. Efeito analgésico e anti-inflamatório do extrato aquoso de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae) em roedores. Manuscrito em preparação para Revista Brasileira de Farmacognosia.

EFEITO ANALGÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO AQUOSO DE *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE) EM ROEDORES

Resumo: *Scutellaria agrestis* é utilizada por comunidades ribeirinhas do Amazonas, principalmente para o tratamento de otites por via tópica, utilizando-se o extrato bruto obtido por maceração. O presente trabalho visou investigar preliminarmente o perfil fitoquímico, a segurança toxicológica e as ações analgésicas e/ou anti-inflamatórias do extrato aquoso das folhas de *S. agrestis*. Desta espécie foram coletados 80 indivíduos no horto medicinal da Universidade Nilton Lins, Manaus, Brasil. Amostras das folhas foram processadas segundo as técnicas usuais para a obtenção do material seco e pulverizado. A partir da droga vegetal foram feitas análises do perfil fitoquímico e das doses administradas durante os ensaios biológicos. Os metabólitos detectados foram fenóis (taninos hidrolisáveis, cumarinas e várias classes de flavonoides) e terpenos (esteroides livres, saponinas). O extrato aquoso da folha de *S. agrestis* apresentou efeito analgésico e anti-inflamatório atuando na resposta nociceptiva, porém não apresentou atividade antiedematogênica. Ainda não foram detectados componentes tóxicos. Os resultados obtidos nesta pesquisa conferem base científica preliminar quanto ao uso do extrato aquoso de *S. agrestis* na medicina popular.

Palavras- chave: trevo-roxo, fitoquímica, ensaios biológicos.

ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (LAMIACEAE) IN RODENTS

Abstract: *Scutellaria agrestis* is used by riverine communities of Amazonas state, Brazil, mainly topically for the treatment of ear infections, using the crude extract obtained by maceration. This study aimed to preliminary investigate the phytochemical profile, the toxicological safety and the analgesic and/or anti-inflammatory actions of the aqueous extract of leaves of *S. agrestis*. Eighty individuals were collected in the medicinal garden of Nilton Lins University, Manaus, Brazil. Samples of leaves were processed according to the usual techniques for obtaining dry and pulverized material. Analysis of the phytochemical profile and the doses administered during the biological assays were made from the plant drug. The metabolites detected were phenols (hydrolysable tannins, coumarins and several classes of flavonoids) and terpenes (free steroids, saponins). The aqueous extract of *S. agrestis* leaves showed analgesic and anti-inflammatory action, acting in nociceptive response, but showed no antiedematogenic activity. Toxic compounds were not detected. The results obtained in this study provide preliminary scientific basis for the use of aqueous extract of *S. agrestis* in folk medicine.

Keywords: trevo-roxo, phytochemistry, biological assays.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o uso de plantas medicinais, sobretudo em países em desenvolvimento, nos programas de saúde pública (Castro *et al.*, 2004; Brasil, 2005). Entretanto, são necessários subsídios de várias áreas do conhecimento, tais como identificação botânica, prospecção fitoquímica, ensaios biológicos, a fim de garantir a segurança do uso de drogas vegetais (Castro *et al.*, 2004; Balbino e Dias, 2010).

O gênero *Scutellaria* L. compreende aproximadamente 360 espécies de distribuição sub-cosmopolita (Paton, 1990; Pool, 2006). Dentre estas espécies destacam-se *S. baicalensis*, *S. amoena*, *S. linearis*, *S. viscidula*, *S. strigillosa*, *S. prostrata*, *S. grossas*, *S. barbata*, *S. hypericifolia*, *S. galericulata*, *S. discolor*, *S. seleriana*, *S. ovata*, *S. linearis*, *S. rehderiana*, como plantas medicinais muito utilizadas por povos tradicionais asiáticos, europeus e americanos no tratamento de diversas doenças. A partir deste conhecimento, têm sido investigadas diversas propriedades terapêuticas destas espécies, como antiespasmódica, antifúngica, febrífuga, antioxidante, anticâncer, anti-HIV, antibactericida, antiviral, anti-inflamatória, anticonvulsiva (Ersöz *et al.*, 2002; Chou *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2009; Shang *et al.*, 2010). Ademais, cerca de 300 substâncias biologicamente ativas foram isoladas de 35 espécies de *Scutellaria*. Dentre estas, os dois principais grupos constituintes são os compostos fenólicos (flavonoides, glicosídeos feniletanoides) e os terpenos (glicosídeos iridoides, diterpenos e triterpenoides), muito embora também sejam encontrados nestas plantas outros metabólitos como os alcaloides, fitosteróis, polissacarídeos, entre outros (Shang *et al.*, 2010).

Scutellaria agrestis, conhecida popularmente como trevo-roxo, é uma planta cultivada por populações ribeirinhas do Amazonas, Brasil, e utilizada na medicina popular para fins terapêuticos de algumas doenças inflamatórias, principalmente otites, para as quais se utiliza por via tópica o extrato bruto obtido por maceração. Também é utilizada no tratamento de febre, diarreia e pressão alta, com uso do extrato aquoso obtido por infusão, administrado por via oral (Cassino, 2010).

Na medicina popular, é comum o uso de plantas medicinais para tratar otites, embora nem sempre tal uso seja respaldado cientificamente. A otite consiste na infecção do ouvido externo (inflamação da pele do canal auditivo externo) ou médio (inflamação da mucosa que reveste a cavidade timpânica). Ambas podem ser crônicas ou agudas, podendo a otite externa

ser causada por bactérias e/ou fungos e a otite média, por bactérias e/ou vírus (Neto *et al.*, 2006; Nogueira *et al.*, 2008).

Diante da importância de avaliar a ação farmacológica de drogas vegetais, principalmente de plantas com informações restritas a dados etnofarmacológicos na região amazônica, como é o caso da espécie estudada, e ainda, considerando a importância do vasto potencial farmacológico reportado ao gênero *Scutellaria* (Shang *et al.*, 2010), o presente trabalho visou investigar preliminarmente o perfil fitoquímico, a segurança toxicológica e as ações analgésicas e/ou anti-inflamatórias do extrato aquoso das folhas de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth., com o propósito de dar início aos primeiros estudos da atividade terapêutica desta droga.

MATERIAL E MÉTODOS

Indivíduos cultivados de *Scutellaria agrestis* foram coletados às 10:00 horas da manhã do dia 05 de outubro de 2009, no Horto medicinal da Universidade Nilton Lins localizada na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil (03° 3' 37.5"S e 60° 00' 33.4"W) e imediatamente transportadas para o Laboratório de Farmacobotânica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas (FCF/UFAM). Foram utilizados 30 indivíduos para a prospecção fitoquímica e 50 indivíduos para a realização dos ensaios farmacológicos. As amostras recém coletadas foram colocadas em estufa com circulação de ar interna a 40 °C ± 2 °C no período de 24 horas. Posteriormente, a partir do material seco, as folhas foram separadas manualmente e trituradas com auxílio de um moinho de faca.

Exsiccatas foram confeccionadas, identificadas pelo Prof. Dr. Alan Paton (Kew Gardens), especialista do gênero *Scutellaria*, e incorporadas ao Herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, sob o número de registro 232920.

Prospecção fitoquímica preliminar

O material vegetal seco e pulverizado (MVSP) foi utilizado para os seguintes testes de prospecção: heterosídeos cianogênicos, esteroides livres, triterpenoides pentacíclicos livres e compostos fenólicos tais como taninos hidrolisáveis, taninos condensados, antocianinas, antocianidinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas, flavonóis, flavonas, flavononóis

e xantonas (Matos, 1997); saponinas (Schenkel *et al.*, 2004); alcaloides (Costa, 2002) e cumarinas (Kuster e Rocha, 2004).

Preparação do extrato aquoso

O extrato aquoso foi extraído por infusão a 5 % de folhas secas e trituradas de *S. agrestis*, durante 30 minutos. Posteriormente, foi liofilizado em aparelho Christ Beta, modelo 1-8 LMC-1, e armazenado à temperatura ambiente, protegido da luz, até o momento da utilização.

Animais

Foram usados 30 ratos *Wistar* (peso 200-250 g), sendo quinze fêmeas e quinze machos, e 90 camundongos *Swiss* (peso 25-30 g), de ambos os sexos, metade de cada. Todos os animais utilizados nos ensaios farmacológicos foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas.

Os animais foram mantidos em salas com temperatura de 22-25 °C, ciclo de luz 12/12h, com ração e água *ad libitum*. Os mesmos foram ambientados na sala de experimento durante cerca de 12 horas antes da realização dos ensaios. Os protocolos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal da Universidade Federal do Amazonas (CEEA-UFAM), sob o número 012/2010 (Anexo A).

Avaliação da toxicidade aguda e triagem hipocrática (Brito, 1994)

Para avaliação da toxicidade aguda, sete grupos de seis camundongos receberam doses de 30, 100, 300, 1000, 3000 e 5000 mg/kg/dia (Anvisa, 2004) do extrato aquoso de *S. agrestis* por via oral através de gavagem, enquanto no grupo controle foi administrada água potável (10 mL/kg). O experimento foi utilizado como base para a faixa de dose testada nos demais experimentos, considerando que não foi encontrada na literatura científica nenhuma referência acerca da espécie estudada.

Foram observadas alterações como parâmetros comportamentais e fisiológicos e mortalidade nas primeiras 5 horas e a cada 24 horas durante 15 dias.

Avaliação da atividade analgésica e/ou anti-inflamatória pelo teste de formalina (Lapa *et al.*, 2008)

Para o teste da formalina foram utilizados seis grupos de oito camundongos, nos quais foram administrados, por via oral, 10 mg/kg de indometacina (Merck, Manaus, Brasil) solubilizada em solução 0,1 N de NaOH com pH 8 (controle positivo da fase anti-inflamatória), água potável, 10 mL/kg (controle negativo) e extrato aquoso de *S. agrestis* nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg, e, por via subcutânea, 50 µg/kg de fentanil diluídos em solução salina 0,9% (controle positivo da fase analgésica). Após o período de uma hora, cada animal recebeu 30 mL de solução de formalina 2% por via subplantar na pata direita. Em seguida, os animais foram observados nos primeiros 5 minutos, para avaliação da atividade analgésica (primeira fase), e dos 15 aos 30 minutos, para avaliação da ação anti-inflamatória (segunda fase). O tempo que cada animal passou batendo, lambendo ou mordendo a pata injetada foi registrado e as médias desses tempos observados nos grupos tratados foram comparadas à média do controle negativo.

Avaliação da atividade anti-inflamatória pelo método de edema de pata em ratos (Lapa *et al.*, 2008).

Foram utilizados cinco grupos com seis ratos, nos quais o edema foi induzido pela injeção de 0,3 mL de carragenina (1,5% em salina estéril), administrada na região subplantar da pata direita de todos os animais. Na pata esquerda foram administrados 0,3 mL de salina, que corresponde ao controle individual dos animais.

Uma hora antes da injeção de carragenina, o extrato aquoso de *S. agrestis* foi administrado nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg pela via oral. O grupo controle negativo recebeu 10 mL/kg de água potável (v.o.). A indometacina (10 mg/kg, v.o., solubilizada em solução 0,1 N de NaOH com pH 8) foi usada como controle positivo do teste.

Após a aplicação da carragenina, a progressão do volume do edema foi mensurada com auxílio do aparelho hidropletismômetro digital (plethysmometer modelo LE 7500). Foram realizadas seis medidas, sendo uma basal e as demais a cada hora, durante cinco horas. As médias de cada grupo foram comparadas com o controle negativo, a cada tempo registrado.

Análise estatística

Os resultados foram avaliados em função da comparação com os grupos controle (água 10 mL/kg). Os dados obtidos foram tratados estatisticamente com auxílio do Software Graph Pad Prism versão 5.0, por análise de variância (ANOVA), utilizando-se pós-teste de Dunnett's para 1way e Bonferroni para 2way. Os resultados foram expressos através da média do desvio padrão, sendo considerados significativos aqueles que apresentaram $P < 0,05$.

RESULTADOS

A prospecção fitoquímica realizada a partir das amostras da folha de *Scutellaria agrestis* revelou a presença de saponinas, esteroides livres, fenóis gerais, cumarinas, taninos hidrolisáveis e flavonoides como antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonois, xantonas, leucoantocianidinas, flavanonas, flavanonóis (Tabela 1). Não foram detectados alcaloides, triterpenoides pentacíclicos livres e taninos condensados (Tabela 1).

No experimento da triagem hipocrática, referente aos parâmetros comportamentais, foi registrada a ocorrência de espasmos grosseiros na primeira hora de observação dos animais. Tais espasmos também foram observados nos demais experimentos realizados nesta pesquisa, ocorrendo logo após a administração oral das doses do extrato aquoso da droga testada.

Durante os 15 dias de observação referentes ao experimento de toxicidade aguda, não houve registro de morte de nenhum dos animais testados, portanto não foi possível determinar a DL_{50} . O extrato foi considerado sem toxicidade no modelo testado, considerando-se que a dose testada (5000 mg/kg/dia) neste experimento foi a máxima, como o exigido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ademais, foi registrada por meio da prospecção fitoquímica a ausência de heterosídeos cianogênicos na folha de *S. agrestis*, corroborando os dados obtidos *in vivo*.

Tabela 1. Prospecção fitoquímica da droga vegetal de *Scutellaria agrestis* A. St.-Hil. ex Benth.

Metabólitos	Folha
Heterosídeos cianogênicos	-
Alcaloides	-
Saponinas	++
Esteroides livres	++
Triterpenoides pentacíclicos livres	-
Cumarinas	++
Fenóis gerais	++
Taninos hidrolisáveis	++
Taninos condensados	-
Antocianinas e Antocianidinas	++
Chalconas e Auronas	++
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	++
Flavanonóis	-
Leucoantocianidinas	++
Catequinas (Taninos catéquicos)	-
Flavanonas	-
Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas	++

Reação positiva: +; Reação positiva forte: ++; Reação negativa: -.

No teste de formalina, houve redução da resposta ao estímulo doloroso nas duas fases de observação (Figura 1). Nos primeiros cinco minutos do teste, que correspondem à fase neurogênica, observou-se uma redução média de cerca de 32% da sensação álgica nos animais que receberam as três doses do extrato quando comparados ao controle negativo. Já nesta fase inicial, o extrato foi capaz de reduzir de maneira estatisticamente significativa a resposta dos animais ao estímulo nocivo quando comparado ao controle positivo fentanil (droga padrão), que apresentou 84% de inibição da sensação de dor. Durante a fase anti-inflamatória, avaliada nos últimos 15 minutos de observação, obteve-se redução média de 65% da resposta álgica nos animais tratados com as doses de 100 e 300 mg/kg do extrato, sendo essa redução estatisticamente significativa, quando comparada com ambos os controles positivos, indometacina e fentanil.

Na avaliação da atividade antiedematogênica, pelo modelo de edema de pata em ratos, o extrato aquoso da folha de *S. agrestis* não demonstrou atividade estatisticamente significativa quando comparado ao controle negativo (Figura 2).

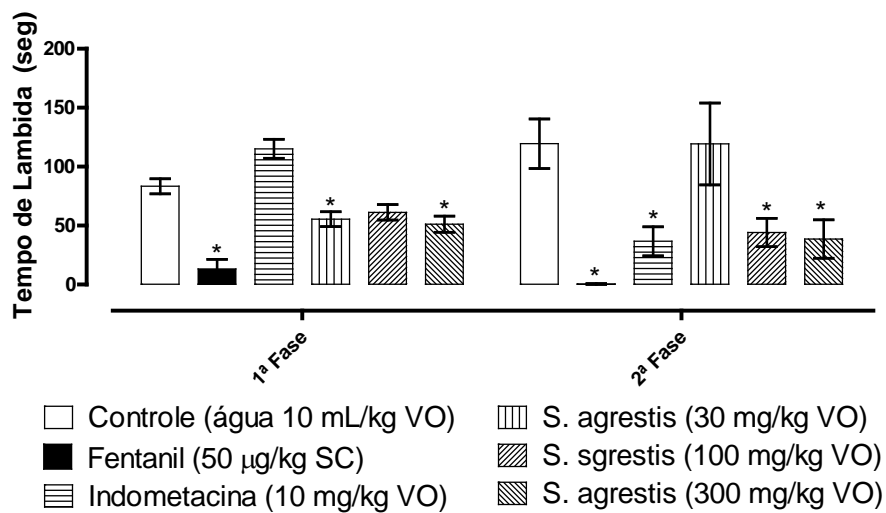


Figura 1. Efeito da administração (*p. o.*) de *S. agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (30, 100, 300 mg/kg), indometacina (10 mg/kg), água potável (10 mL/kg) e (*p. sc.*) e fentanil (50 µg/kg) em camundongos (n= 8) para avaliação da atividade analgésica e/ou anti-inflamatória por meio do teste de formalina. Os dados são expressos através da média do desvio padrão, com $P < 0,05$ (ANOVA 2way, pós-teste de Bonferroni).

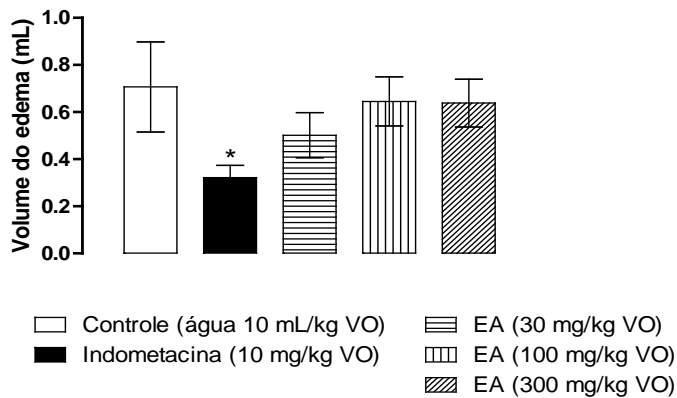


Figura 2. Efeito da administração (*p. o.*) no tempo de 3 horas de *S. agrestis* A. St.-Hil. ex Benth. (30, 100, 300 mg/kg), indometacina (10 mg/kg) e água potável (10 mL/kg) em ratos (n= 6) para avaliação da atividade anti-inflamatória por meio do teste de edema de pata. Os dados são expressos através da média do desvio padrão, com $P < 0,05$ (ANOVA 1way, pós-teste de Dunnett`s).

DISCUSSÃO

Em *Scutellaria agrestis* foi registrada a presença de terpenos e fenóis, compostos também registrados em várias espécies do gênero (*S. linearis*, *S. baicalensis*, *S. amoena*, *S. linearis*, *S. viscidula*, *S. barbata*, *S. hypericifolia*, *S. galericulata*, *S. discolor*), incluindo a presença de alcaloides em *S. barbata* e *S. baicalensis* (Hirotsu *et al.*, 1997; Bosabalidis *et al.*, 1998; Hussain *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2009; Shang *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011). Alcaloides não foram detectados na espécie estudada, sendo este resultado obtido tanto do perfil fitoquímico quanto histoquímico (este último, no capítulo 2 desta tese).

Os fenóis e os terpenos, principalmente os flavonoides, e seus derivados (cerca de 160 compostos) como flavonas, flavonois, flavanonas, entre outros, já foram isolados de 35 espécies de *Scutellaria* e relacionados a várias atividades terapêuticas, como anti-inflamatória, anticâncer, antioxidante, antimutagênica, entre outras atividades (Shang *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2011). Neste contexto, citamos alguns exemplos reportados na literatura científica como a presença de flavonoides (baicalina, baiacaleina) em *Scutellaria baicalensis*, relacionada às atividades de melhor desempenho da função contrátil cardíaca por meio de seus efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, antiapoptóticos, ainda contribuindo para os efeitos cardioprotetores e para aliviar as respostas ao estresse (Lee *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2011). Em *Scutellaria barbata*, foi verificado um grande número de flavonoides, alcaloides, esteroides, diterpenoides e polissacarídeos relacionados a efeitos inibitórios de uma variedade de cânceres humanos incluindo leucemia, hepatoma, câncer de colo de útero, de mama, do sistema digestivo e de fígado; ainda a partir do extrato bruto desta planta, foram testadas *in vitro* e *in vivo* as atividades antitumorais, tendo como resposta a não proliferação de células *in vitro*, inibindo o crescimento de tumores em roedores (*in vivo*) e ainda melhorando a função imunológica dos mesmos (Dai *et al.*, 2011).

Entre as diversas atividades terapêuticas listadas para os representantes de *Scutellaria*, a atividade anti-inflamatória parece ser o efeito farmacológico característico do gênero (Shang *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011). A inflamação é uma resposta do organismo vivo a uma agressão sofrida, caracterizada pelo surgimento dos sinais clássicos de rubor (eritema), calor (aumento da temperatura na região inflamada), tumor (edema), dor e perda de função do tecido ou órgão afetado (Falção *et al.*, 2005). Há diferentes causas para o desenvolvimento do processo inflamatório, mas os mecanismos são comuns a todos os tipos (Falção *et al.*, 2005).

O extrato aquoso de *S. agrestis* demonstrou uma ação acentuada sobre dois desses sinais da inflamação, a resposta nociceptiva (dor), apresentando um efeito analgésico nos

animais já na primeira fase de observação do teste de formalina. O modelo experimental utilizado nesta pesquisa compõe-se de duas fases de resposta à formalina com mediação química e mecanismos de modulação distintas, apresentando diferenças marcantes quanto à sua sensibilidade a drogas analgésicas. Assim, a primeira fase refere-se a um caráter neurogênico, sendo sensível a analgésicos opioides e a alguns agonistas das vias descendentes, enquanto a segunda fase é caracterizada como dor de origem inflamatória, sendo sensível a analgésicos anti-inflamatórios não esteroidais (Lapa *et al.*, 2008). Assim, pode-se interpretar que o extrato de *S. agrestis* possivelmente possua atividade do tipo opioide causando a dessensibilização das fibras periféricas responsáveis pela aferência dos sinais algícos, o que não descarta inicialmente a possibilidade de efeito anti-inflamatório coexistente. Além disso, o registro dos animais apresentarem espasmos grosseiros, observados sempre na primeira hora após a administração das doses da droga testada, pode ser interpretado como a ocorrência de euforia. Tal evento comumente é propiciado por analgésicos do tipo opioide (Rang *et al.*, 2004), corroborando o pressuposto para a droga estudada neste trabalho.

O termo opioide se aplica a qualquer substância, endógena ou sintética, que produz efeitos semelhantes à morfina (Rang *et al.*, 2004). O ópio é um extrato obtido da seiva da papoula (*Papaver somniferum*), que contém dois tipos de alcaloides analgésicos, a morfina e a codeína (Rang *et al.*, 2004; Heinz *et al.*, 2010). A morfina, o principal componente, exerce ações depressoras e estimulantes em sítios específicos no sistema nervoso central (SNC), podendo apresentar efeitos como analgesia, euforia, sedação, depressão respiratória, supressão da tosse entre outros (Rang *et al.*, 2004; Tripathi, 2006).

Como descrito, o alcaloide é a principal substância responsável pela ação analgésica do tipo opioide. Na espécie estudada, não foi detectada a presença deste composto, entretanto foi registrada a presença de terpenos. O diterpeno neoclerodane (salvinorina A), presente em *Salvia divinorum* (Lamiaceae), foi descoberto como um receptor opioide potente e seletivo (KOR) agonista, publicado como a primeira droga opioide não nitrogenada, ou seja, não alcaloide subtipo seletivo (Roth *et al.*, 2002; Yan e Roth, 2004). Salvinorina A possui propriedades psicoativas e, quando injetada, distribui-se por todo o cérebro, principalmente no cerebelo e córtex, com absorção extremamente rápida e curta duração e estima-se que menos de 10 mg no cérebro podem ser responsáveis pelos efeitos alucinógenos (Hooker *et al.*, 2008). Após a descoberta de salvinorina A, estão sendo desenvolvidos alguns estudos voltados para a síntese de sintéticos deste diterpeno (Simpson *et al.*, 2009; McGovern *et al.*, 2010), assim

como para a sua utilização como uma droga potencial ansiolítica e antidepressiva (Braida *et al.*, 2009).

Diante do exposto, há necessidade de maiores investigações quanto à substância responsável pela ação farmacológica da droga (*S. agrestis*) testada neste estudo, uma vez que há referências literárias de vários diterpenos neoclerodane para o gênero, tais como diterpenoides neoclerodanes jodrellin B, jodrellin A, scutalbin A, scutecyprol B isolados de *Scutellaria rubicunda* subsp. *linneana* (Carbel) Rech., *S. rubicunda* subsp. *rubicunda* Hornem e diterpenoides hastifolins A-C isolados de *S. hastifolia* (Bruno *et al.*, 1999; Bruno *et al.*, 2002; Raccuglia *et al.*, 2010). Ainda, vale ressaltar a indicação do extrato de *Scutellaria baicalensis* e *S. lateriflora* para a redução da ansiedade, depressão, insônia, estresse, irritabilidade e inquietação (Lee *et al.*, 2007; Head e Kelly, 2009).

Avaliando-se o extrato de *Scutellaria agrestis* durante a segunda fase de observação do teste de formalina (anti-inflamatória), obteve-se uma redução média de 65% da resposta álgica nos animais tratados com as doses de 100 e 300 mg/kg do extrato. A dor inflamatória é ocasionada pela liberação de mediadores inflamatórios que desencadeiam a sensibilização de nociceptores presentes nas terminações de fibras nervosas aferentes primárias, tendo como consequência um desencadeamento de respostas maiores em intensidade e/ou duração (Rang *et al.*, 2004).

A atividade antiedematogênica realizada a partir do extrato aquoso da folha de *S. agrestis* mostrou resultados não significativos, verificando-se que o extrato desta planta não tem efeito na redução do edema durante o processo inflamatório, apresentando apenas ação analgésica registrada no teste de formalina. Rang *et al.* (2004) reportam que a dor associada à lesão em neurônios da via nociceptiva, em vez de estímulo periférico excessivo, é frequentemente um componente dos estados da dor crônica e pode responder mal aos analgésicos opiáceos. Ademais, quando uma droga vegetal apresenta efeito antinociceptivo acessado pelo modelo das contorções abdominais ou pelo teste de formalina (segunda fase) dissociado da ação antiedematogênica no modelo da carragenina; pode-se, então, descartar a possibilidade desta droga estar alterando a participação das prostaglandinas no processo anti-inflamatório (Lapa *et al.*, 2008). Diante dos efeitos farmacológicos obtidos para *S. agrestis*, possivelmente sua ação não esta relacionada às prostaglandinas, contudo são necessários estudos *in vitro* para se esclarecer o mecanismo de ação desta droga.

Neste contexto, a partir do extrato obtido da raiz de *Scutellaria baicalensis* registrou-se um potente efeito analgésico pautado a outros mecanismos anti-inflamatórios no qual foi proposto que os mecanismos de Baicalina (substância isolada do extrato) podem estar

associados à inibição de mediadores inflamatórios (citocinas pró-inflamatórias como a PGE2) e ainda, outras possibilidades como um aumento de IL-10 e a inibição da infiltração de neutrófilos induzida pela injeção de carragenina nas patas dos animais. Assim, sugere-se que Baicalina pode ser terapêuticamente útil para mitigar a dor inflamatória (Chou *et al.*, 2003; Yoon *et al.*, 2009).

O extrato aquoso de *S. agrestis* nos experimentos de toxicidade tanto *in vitro* quanto *in vivo* nos modelos testados apresentaram-se atóxicos. Os flavonoides geralmente são substâncias que possuem baixa toxicidade do ponto de vista farmacológico e numerosos efeitos biológicos e atividades terapêuticas (Harborne e Williams, 2000; Tabares, 2007). Tendo em vista que a droga estudada apresenta muitos tipos de flavonoides, é possível relacionar a presença destas substâncias à ausência de toxicidade registrada neste estudo. Ainda vale ressaltar que a ausência de metabólitos tóxicos é considerada uma propriedade importante para a seleção de compostos promissores (Pereira, 2007).

CONCLUSÕES

Os dados obtidos nesta pesquisa fornecem base científica preliminar para o uso popular do extrato aquoso de *S. agrestis* pela comunidade ribeirinha do Amazonas. Entretanto, sugerem-se mais experimentos *in vivo* e *in vitro* com intuito de estudar o mecanismo de ação analgésica da droga e investigação de outras propriedades terapêuticas. A ausência de sinais de toxicidade em animais de experimentação expostos a altas doses do extrato proporciona uma margem de segurança confortável para os avanços dos estudos *in vivo* com esta espécie.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em especial a Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF/UFAM) pelo apoio durante realização dos experimentos fitoquímicos e farmacológicos; e a Capes pela concessão de bolsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Balbino, E.; Dias, M.F. 2010. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(6): 992-1000.

Bosabalidis, A.; Gabrieli, C.; Niopas, I. 1998. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum x intercedens*. *Phytochemistry*, 49 (6): 1549-1553.

Braida, D.; Capurro, V.; Zani, A.; Rubino, T.; Viganò D.; Parolaro, D; Sala, M. 2009. Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of salvinin A, the main active ingredient of *Salvia divinorum*, in rodents. *British Journal of Pharmacology*, 157: 844-853.

Brasil. 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para Realização de Estudos de Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápicos. Resolução RDC, n. 90 de 16 de março de 2004 (<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=10242>). Acesso em 28/10/2009.

Brasil. 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. *Proposta de Política Nacional de Plantas Mediciniais e Medicamentos Fitoterápicos. Versão Sistematizada*. Distrito Federal, Brasília. 43pp.

Brito, A.S. 1994. *Manual de ensaios toxicológicos in vivo*. Editora da Unicamp, Campinas. 124pp.

Bruno, M; Vassallo, N.; Simmonds, M.S.J. 1999. A diterpenoid with antifeedant activity from *Scutellaria rubicund*. *Phytochemistry*, 50: 973-976.

Bruno, M.; Piozzi, F.; Maggio, A.M.; Simmonds, M.S.J. 2002. Antifeedant activity of neo-clerodane diterpenoids from two Sicilian species of *Scutellaria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 793-799.

Cassino, M.F. 2010. *Estudo etnobotânico de plantas medicinais em comunidades de várzea do rio Solimões, Amazonas e aspectos farmacognósticos de Justicia pectoralis Jacq. forma mutuquinha (Acanthaceae)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 135pp.

Castro, H.G.; Ferreira, F.A.; Silva, D.J. .; Mosquim, P.R. 2004. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários*. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 113pp.

Chou, T.C.; Chang, C.P.; Li, C.Y.; Wong, C.S.; Yang, S.P. 2003. The anti-inflammatory and analgesic effects of Baicalin in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. *Anesthesia & Analgesia*, 97:1724–1729.

Costa, A.F. 2002. *Farmacognosia*. Fundação Calouste-Gulbenkian, Lisboa. v.1, 1031pp.

Dai, Z.J.; Gao, J.; Li, Z.F.; Ji, Z.Z.; Kang, H.F.; Guan, H.T.; Diao, Y.; Wang, B.F.; Wang, X.J. 2011. *In Vitro* and *in Vivo* antitumor activity of *Scutellaria barbata* extract on murine liver cancer. *Molecules*, 16: 4389-4400.

Ėrsöz, T.; Tasdemir, D.; Calis, I; Turk J. 2002. Phenylethanoid Glycosides from *Scutellaria Galerikulata*. *Chemistry*, 26: 465- 471.

Falcão, H.S.; Lima, I.O.; Santos, V.L.; Dantas, H.F.; Diniz, M.F.F.M.; Barbosa-Filho, J.M.; Batista, L.M. 2005. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 15: 381-391.

Harborne, J.B.; Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.

Head, K.A.; Kelly, G.S. 2009. Nutrients and botanicals for treatments of stress: adrenal fatigue, neurotransmitter, imbalance, anxiety, and restless sleep. *Alternative Medicine Review*, 14(2): 114-140.

Heinz, L.; Mohr, K.; Hein, L. 2010. *Farmacologia: texto e atlas*. Artmed, Porto Alegre. 408pp.

Hirotsani, Y.Z.M.; Yoshikawa, T.Y.; Furuya, T. 1997. Flavonoids and phenylethanoids from hairy root cultures of *Scutellaria baicalensis*. *Phytochemistry*, 44(1): 83-87.

Hooker, J.M.; Xu, Y.; Schiffer, W.; Shea, C.; Carter, P.; Fowler, J.S. 2008. Pharmacokinetics of the potent hallucinogen, salvinorin A in primates parallels the rapid onset, short duration of effects in humans. *Neuroimage*, 41(3): 1044-1050.

Hussain, H.; Ahmad, V.U.; Anwar, S.; Miana, G.A.; Krohn, K. 2008. Chemical constituents of *Scutellaria linearis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 490-492.

Kuster, R.M.; Rocha, L.M. 2004. Cumarinas, Cromonas e Xantonas. p. 537-556. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R.

Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Lapa, A.J.; Souccar, S.; Lima-Landman, M.T.R.; Castro, M.S.A.; Lima, T.C.M. 2008. *Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais*. Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 144 pp.

Lee, S.; Kim, D.H.; Jung, J.W.; Oh, J.H.; Park, H.J.; Park, C.; Huh, Y.; Cheong, J.H.; Oh, T.H.; Ryu, J.H. 2007. *Schizandra chinensis* and *Scutellaria baicalensis* counter stress behaviors in mice. *Phytotherapy Research*, 21: 1187-1192.

Lee, Y.M.; Cheng, P.Y.; Chim, L.S.; Kunge, C.W.; Ka, S.M.; Chung, M.T.; Sheu, J.R. 2011. Baicalein, an active component of *Scutellaria baicalensis* Georgi, improves cardiac contractile function in endotoxaemic rats via induction of heme oxygenase-1 and suppression of inflammatory responses. *Journal of Ethnopharmacology*, 135: 179–185.

Lin, L.; Harnly, J.M.; Upton, R. 2009. Comparison of the Phenolic Component Profiles of Skullcap (*Scutellaria lateriflora*) and Germander (*Teucrium canadense* and *T. chamaedrys*), a Potentially Hepatotoxic Adulterant. *Phytochemistry*, 20: 298-306.

Matos, F. J. A. 1997. *Introdução a Fitoquímica Experimental*. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. 141pp.

McGovern, D.L.; Mosier, P.D.; Roth, B.L.; Westkaemper, R.B. 2010. CoMFA analyses of C-2 position salvinorin A analogs at the kappa-opioid receptor provides insights into epimer selectivity. *Journal Mol Graph Model* 28(7): 612-625.

Neto, J.F.L.; Hemb, L.; Silva, D.B. 2006. Fatores de risco para otite média aguda recorrente: onde podemos intervir? - uma revisão sistemática da literatura. *Jornal de Pediatria*, 82: 87-96.

Nogueira, J.C.R.; Diniz, M.F.M.; Lima, E.O. 2008. Atividade antimicrobiana *in vitro* de produtos vegetais em otite externa aguda. *Revista Brasileira Otorrinolaringol*, 74(1):118-24.

Park, K.; Park, H.S.; Kang, S.R.; Nagappan, A.; Lee, D.H.; Kim, J.A.; Han, D.Y.; Kim, G.S. 2011. Korean *Scutellaria baicalensis* water extract inhibits cell cycle G1/S transition by

suppressing cyclin D1 expression and matrix-metalloproteinase-2 activity in human lung cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 133: 634-641.

Paton A. 1990. A global taxonomic investigation of *Scutellaria*. *Kew Bull*, 45: 399-450.

Pereira, D.G. 2007. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. *Química Nova*, 30(1): 171-177.

Pool A. 2006. New Species of *Scutellaria* (Lamiaceae) from Mesoamerica. *Novon*, 16(3): 388-403.

Raccuglia, R.A.; Bellone, G.; Loziene, K.; Piozzi, F.; Rosselli, S; Maggio, A.; Bruno, M. Simmonds, M.S.J. 2010. Hastifolins A-G, antifeedant neo-clerodane diterpenoids from *Scutellaria hastifolia*. *Phytochemistry*, 71: 2087-2091.

Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; Flower, R.J. 2004. *Farmacologia*. Elsevier, Rio de Janeiro. 904pp.

Roth, B.L.; Baner, K.; Westkaemper, R.; Siebert, D.; Rice, K.C.; Steinberg, S.; Ernsberger, P.; Rothman, R.B. 2002. Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous k opioid selective agonist. *Neurobiology*, 99(18): 11934-11939.

Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Athayde, M. L. 2004. Saponinas. p. 711-740. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Shang, X.; Hea X.; Li, M.; Zhanga, R.; Fana, P.; Zhanga, Q.; Jia Z. 2010. The genus *Scutellaria* an ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 279-313.

Simpson, D.S.; Lovell, K.M.; Lozama, A.; Han, N.; Day, V.W.; Dersch, C.M.; Rothman, R. B.; Prisinzano, T.E. 2009. Synthetic studies of neoclerodane diterpenes from *Salvia divinorum*: role of the furan in affinity for opioid receptors. *Org Biomol Chemistry*, 7(18): 3748-3756.

Tabares, C.X.B. 2007. *Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal*. Serie Tesis Doctorales. Ciencias y Tecnologías.123pp.

Tripathi, K.D. 2006. *Farmacologia médica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 755pp.

Yan, F.; Roth, B.L. 2004. Salvinorin A: A novel and highly selective n-opioid receptor agonist. *Life Sciences*, 75: 2615-2619.

Yoon, S.B.; Lee, Y.J.; Park, S.K.; Kim, H.C.; Bae, H.; Kim, H.M.; Ko, S.G.; Choi, H.Y.; Oh, M.S.; Park, W. 2009. Anti-inflammatory effects of *Scutellaria baicalensis* water extract on LPS-activated RAW264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 125: 286-290.

3. SÍNTESE

Scutellaria agrestis (trevo-roxo) é uma planta cultivada e utilizada principalmente para o tratamento de dor de ouvido pela população ribeirinha residente ao longo do rio Solimões (Amazonas). Partindo destas informações, esta planta foi estudada quanto aos seus aspectos botânicos e farmacognósticos, com o intuito de identificar o princípio ativo da planta e assegurar seu uso quanto ao efeito anti-inflamatório e toxicológico. Assim, para garantir a coleta da espécie correta, contribuindo para o controle de qualidade da mesma, obteve-se como resultado as características morfoanatômicas de valor diagnóstico para *Scutellaria agrestis*, que são: caule quadrangular de cor arroxeadada, com endoderme evidente; filotaxia oposta cruzada; pecíolo côncavo convexo de coloração roxa; limbo simples, bicolor, com a face adaxial verde e a face abaxial roxa; estômatos do tipo diacítico; venação tanto de ordem primária quanto secundária proeminente, do tipo acródoma-eucamptódroma, contorno plano convexo; textura membranácea; forma do limbo ovada a cordiforme, ápice agudo e levemente retuso na extremidade quando observado em estereoscópico, base cordada, com margem convexamente serreada e levemente revoluta; hidatódio epitemal distribuídos ao longo da margem com apenas um localizado no ápice; tricomas distribuídos em todo o corpo vegetativo aéreo dos tipos tectores multicelulares, glandulares capitados (de um único tipo caracterizado pelas quatro células secretoras apicais) e glandulares peltados; com numerosos espaços intercelulares presentes em todos os órgãos vegetativos.

Durante o estudo ontogenético dos tricomas, registrou-se que o seu padrão de desenvolvimento corresponde ao dos demais membros da família. As estruturas responsáveis pela síntese das substâncias biologicamente ativas são os tricomas capitados e peltados (fenóis e terpenos) e a epiderme secretora que reveste o caule, o pecíolo e a face abaxial da lâmina foliar (flavonoides). Foi registrada a presença de esteroides livres, saponinas, óleos essenciais, lipídios ácidos, taninos hidrolisáveis, cumarinas e várias classes de flavonoides como antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonóis, xantonas, leucoantocianidinas, flavanonas, flavanonois. Acredita-se que os flavonoides e os terpenos sintetizados nas estruturas secretoras dos órgãos vegetativos da espécie sejam as principais substâncias responsáveis pelos efeitos analgésicos e anti-inflamatórios observados como resposta à nocicepção induzida nos experimentos biológicos. Ainda, destaca-se a ausência de substâncias tóxicas no extrato aquoso desta planta. Assim, tais resultados conferem suporte científico preliminar para o uso popular do extrato aquoso de *S. agrestis* pela comunidade

ribeirinha do Amazonas como agente analgésico e assegura uma margem confortável para os avanços dos estudos *in vivo* e *in vitro* desta espécie quanto à toxicologia da planta.

Sugerem-se investigações ultraestruturais das glândulas e epiderme secretora para o melhor entendimento das vias de secreção; continuidade nos estudos fitoquímicos, a fim de isolar constituintes químicos das classes de terpenos e flavonoides, uma vez que estes podem ser utilizados como marcadores quimiotaxonômicos para o gênero e, ainda, ser relacionados com a atividade terapêutica. Por fim, recomenda-se o prosseguimento nos estudos *in vivo* e *in vitro* da droga vegetal com intuito de estudar o mecanismo de ação analgésica da mesma e ainda investigar outras propriedades terapêuticas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, C.B.F.C.B.R.; Albuquerque, U.P. 2002. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45 (3): 343-353.

Alonso, J.L.F. 1990. Notas sobre *Scutellaria* (Labiatae) en Colombia y Ecuador. *Anales Jardín Botánico de Madrid*, 47 (1): 105-123.

Ascensão, L.; Marques, N.; Pais, M.S. 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 75: 619 -626.

Ascensão, L.; Marques, N.; Pais, M.S. 1997. Peltate glandular trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: Ultrastructure and histochemical characterization of secretions. *International Journal of Plant Sciences*, 158 (3): 249 -258.

Ascensão, L.; Mota, L.; Castro, M.M. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany*, 84: 437-447.

Ascensão, L.; Pais, M.S. 1998. The leafe capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. *Annals of Botany*, 81: 263 -271.

Bakowska, A.; Kucharska, A.Z.; Oszmianski, J. 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*, 81: 349-355.

Balbino, E.; Dias, M.F. 2010. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(6): 992-1000.

Basílio, I.J.L.D.; Agra, M.F.; Rocha, E.A.; Leal, C.K.A.; Abrantes, H.F. 2006. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. E *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 25 (4): 518-525.

Bini, L.M.; Giuliani, C. 2006. The Glandular Trichomes of the Labiatae. A Review. *Acta Horticultura*, 723: 85-90.

- Borrás, M.R.L. 2003. *Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas? – plantas comercializadas no mercado municipal Adolpho Lisboa*. Valer, Manaus, Amazonas. 322pp.
- Bosabalidis, A.; Gabrieli, C.; Niopas, I. 1998. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum x intercedens*. *Phytochemistry*, 49 (6): 1549-1553.
- Bozani, N.E.; Costaguta, M.; Barboza, G.E. 2007. Estudos anatómicos em espécies de *Mentha* (Fam. Lamiaceae) de Argentina. *Arnaldoa*, 14 (1): 77 - 96.
- Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1992. *Eletron Microscopy*. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 542pp.
- Braida, D.; Capurro, V.; Zani, A.; Rubino, T.; Viganò D.; Parolaro, D; Sala, M. 2009. Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of salvinin A, the main active ingredient of *Salvia divinorum*, in rodents. *British Journal of Pharmacology*, 157: 844-853.
- Brasil. 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para Realização de Estudos de Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápicos. Resolução RDC, n. 90 de 16 de março de 2004 (<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=10242>). Acesso em 28/10/2009.
- Brasil. 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. *Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos. Versão Sistematizada*. Distrito Federal, Brasília. 43pp.
- Brasil. 2010. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 10, de 09 de março de 2010. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 março 2010. Seção I, p.52.
- Brito, A.S. 1994. *Manual de ensaios toxicológicos in vivo*. Editora da Unicamp, Campinas. 124pp.
- Brundett, M.C.; Kendrick, B.; Peterson, C.A. 1991. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic e Histochemistry*, 66: 111-116.
- Bruno, M; Vassallo, N.; Simmonds, M.S.J. 1999. A diterpenoid with antifeedant activity from *Scutellaria rubicund*. *Phytochemistry*, 50: 973-976.

- Bruno, M.; Piozzi, F.; Maggio, A.M.; Simmonds, M.S.J. 2002. Antifeedant activity of neo-clerodane diterpenoids from two Sicilian species of *Scutellaria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 793-799.
- Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville. 1367pp.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 88: 383-392.
- Cassino, M.F. 2010. *Estudo etnobotânico de plantas medicinais em comunidades de várzea do rio Solimões, Amazonas e aspectos farmacognósticos de Justicia pectoralis Jacq. forma mutuquinha (Acanthaceae)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 135pp.
- Castro, H.G.; Ferreira, F.A.; Silva, D.J. .; Mosquim, P.R. 2004. *Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários*. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 113pp.
- Castro, M.M.; Machado, S.R. 2003. Células e tecidos secretores, p. 179-188. In: Appezato-da-Glória, B.; Carmello-Guerreiro, S.M. *Anatomia vegetal*. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.
- Chang, H.; Yi, P.L.; Cheng, C.H.; Lu, C.Y.; Hsiao, Y.T.; Tsaia, Y.F.; Li, C.L.; Chang, F.C. 2011. Biphasic effects of baicalin, an active constituent of *Scutellaria baicalensis* Georgi, in the spontaneous sleep-wake regulation. *Journal of Ethnopharmacology*, (doi:10.1016/j.jep.2011.03.023).
- Charrière-Ladreix, Y. 1976. Répartition intracellulaire du secrétat flavonique de *Populus nigra* L. *Planta*, 129: 167-174.
- Chen, C.C.; Chen, Y.R. 2006. Study on laminar hydathodes of *Ficus formosana* (Moraceae) II. Morphogenesis of hydathodes. *Botanical Studies*, 47: 279-292.
- Chou, T.C; Chang, C.P.; Li, C.Y.; Wong, C.S.; Yang, S.P. 2003. The anti-inflammatory and analgesic effects of Baicalin in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. *Anesthesia & Analgesia*, 97:1724 -1729.

Corsi, G.; Bottega, S. 1999. Glandular Hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany*, 84: 657-664.

Costa, A.F. 2002. *Farmacognosia*. Fundação Calouste-Gulbenkian, Lisboa. v.1, 1031pp.

Cutler, D.F. 2011. *Anatomia vegetal: uma abordagem aplicada*. Artmed, Porto Alegre. 304pp.

Dai, Z.J.; Gao, J.; Li, Z.F.; Ji, Z.Z.; Kang, H.F.; Guan, H.T; Diao, Y.; Wang, B.F.; Wang, X.J. 2011. *In Vitro* and *in Vivo* antitumor activity of *Scutellaria barbata* extract on murine liver cancer. *Molecules*, 16: 4389-4400.

David, R.; Carde, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Academie des Sciences Paris, Série D*, 258: 1338-1340.

Di Stasi, L.C. 1996. *Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo. 230pp.

Duarte, M.R.; Lopes, J.F. 2005. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Leonurus sibiricus* L., Lamiaceae. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, 24:(1): 68 -74.

Duarte, M.R.; Lopes, J.F. 2007. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(4): 549 -556.

Duke, S.O. 1994. Glandular trichomes-A focal point of chemical and structural interactions. *International Journal of Plant Sciences*, 55(6): 617-620.

Ërsöz, T.; Tasdemir, D.; Calis, I; Turk J. 2002. Phenylethanoid Glycosides from *Scutellaria Galericulata*. *Chemistry*, 26: 465- 471.

Evert, R.F. 2006. *Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley e Sons, New Jersey. 601pp.

Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London. 302pp.

Falcão, H.S.; Lima, I.O.; Santos, V.L.; Dantas, H.F.; Diniz, M.F.F.M.; Barbosa-Filho, J.M.; Batista, L.M. 2005. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 15: 381-391.

Falciani, L.; Maleci, B.; Lippi, M.M. 1995. Morphology and distribution of trichomes in Italian species of the *Stachys germanica* group (Labiatae): a taxonomic evaluation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 119: 245-256.

Faria, M.T. 2008. *Morfologia, anatomia, histoquímica e fitoquímica de espécies do gênero Hypenia (Mart. ex Benth) R. Harley-Lamiaceae ocorrentes no Cerrado de Goiás*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade federal de Goiás, Goiânia, Goiás. 205pp.

Fernandes, T.M. 2004. *Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 260pp.

Fisher, D.G. 1985. Morphology and Anatomy of the Leaf of *Coleus blumei* (Lamiaceae). *American Journal of Botany*, 72 (3): 392-406.

Fiuza, T.S.; Rezende, M.H.; Sabóia-Morais, S.M.T.; Tresvenzol, L.M.F.; Ferreira, H.D.; Paula, J.R.; 2010. Estudo das folhas e caule de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley, Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(2): 192-200.

Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44: 153–159.

Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Masson e Cie, Paris. 1113pp.

Gairola, S.; Naidoo, Y.; Bhatt, A.; Nicholas, A. 2009. An investigation of the foliar trichomes of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae): An important medicinal plant of Southern Africa. *Flora*, 204: 325-330.

Ganter, P.; Jollés, G. 1969. *Histochemie normale et pathologique*. vol. I. Gauthier – Villars, Paris. 1904pp.

Geissman, T.A.; Griffin, T.S. 1971. Sesquiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry*, 10: 2475 –2485.

Gersbach, P.V. 2002. The essential oil secretory structures of *prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 89: 255-260.

Gershenzon, J.; Maffei, M.; Croteau, R. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of Spearmint (*Mentha spicata*). *Plant Physiologic*, 89: 1351-1357.

Gonçalves, L.A.; Azevedo, A.A.; Otoni, W.C. 2010. Characterization and ontogeny of the glandular trichomes of *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae). *Acta Botânica Brasileira*, 24(4): 909-915.

Harborne, J.B.; Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.

Hardman, R.; Sofowora, E.A. 1972. Antimony trichloride as test reagents for steroids, especially diosgenin and yamogenin, in plant tissues. *Stain Technology*, 47: 205–208.

Harley, R., França, F., Santos, E.P., Santos, J.S. 2010. Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB008360>). Acesso em 15/08/2011.

Hatamneia, A.A.; Khayami, M; Mahmudzadeh, A.; Sarghein, S.H.; Heidarih, M. 2008. Comparative anatomical studies of some Genera of Lamiaceae family in Wesr Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, 1(3): 63-67.

Head, K.A.; Kelly, G.S. 2009. Nutrients and botanicals for treatments of stress: adrenal fatigue, neurotransmitter, imbalance, anxiety, and restless sleep. *Alternative Medicine Review*, 14(2): 114-140.

Heinz, L.; Mohr, K.; Hein, L. 2010. *Farmacologia: texto e atlas*. Artmed, Porto Alegre. 408pp.

Hickey, L.J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. p. 25-39. In: Metcalfe, C.R.; Chalk, L. *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem*. v.1. Claredon Press, Oxford.

Hirovani, Y.Z.M.; Yoshikawa, T.Y.; Furuya, T. 1997. Flavonoids and phenylethanoids from hairy root cultures of *Scutellaria baicalensis*. *Phytochemistry*, 44(1): 83-87.

Hirunuma, M.; Shoyama, Y.; Sasaki, K.; Sakamoto, S.; Taura, F.; Shoyama, Y.; Tanaka, H.S. 2011. Flavone-catalyzed apoptosis in *Scutellaria baicalensis*. *Phytochemistry*, (doi:10.1016/j.phytochem.2011.02.009).

Hooker, J.M.; Xu, Y.; Schiffer, W.; Shea, C.; Carter, P.; Fowler, J.S. 2008. Pharmacokinetics of the potent hallucinogen, salvinorin A in primates parallels the rapid onset, short duration of effects in humans. *Neuroimage*, 41(3): 1044-1050.

Howard, R.A. 1979. *The petiole*. p. 88-96. In: Metcalfe CR, Chalk L. *Anatomy of the dicotyledons*. v.1. Clarendon Press, Oxford.

Hugouvieux V.; Barber, C.E.; Daniels, M.J. 1998. Entry of *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* into *Hydathodes* of *Arabidopsis thaliana* Leaves: A System for Studying Early Infection Events in Bacterial Pathogenesis. *The American Phytopathological Society*, 11 (6): 537-543.

Hussain, H.; Ahmad, V.U.; Anwar, S.; Miana, G.A.; Krohn, K. 2008. Chemical constituents of *Scutellaria linearis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 490-492.

Jensen, W.A. 1962. *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. W. H. Freeman e Co., San Francisco. 408pp.

Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 523pp.

Joshi, R.K; Badakar, V.; Kholkute, S.D. 2011. Carvacrol Rich Essential Oils of *Coleus aromaticus* (Benth.) from Western Ghats Region of North West Karnataka, India. *Advances in Environmental Biology*, 5(6): 1307-1310.

Júnior, A.A.A.; Lopes, R.C.; Armond, C.; Silva, F.; Casali, V.W.D. 2005. *Folhas de chá: plantas medicinais na terapêutica humana*. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 233pp.

Kaya, A.; Demirci, B.; Baser, K.H.C. 2007. Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. e Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oils. *South African Journal of Botany*, 73: 29 -34.

Kirk Jr, P.W. 1970. Neutral red as a lipid fluorochrome. *Stain Technology* 45: 1-4.

Kraus, J.E.; Arduin, 1997. M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR, Rio de Janeiro. 198pp.

Kuster, R.M.; Rocha, L.M. 2004. Cumarinas, Cromonas e Xantonas. p. 537-556. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Lapa, A.J.; Souccar, S.; Lima-Landman, M.T.R.; Castro, M.S.A.; Lima, T.C.M. 2008. *Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais*. Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 144 pp.

Lee, S.; Kim, D.H.; Jung, J.W.; Oh, J.H.; Park, H.J.; Park, C.; Huh, Y.; Cheong, J.H.; Oh, T.H.; Ryu, J.H. 2007. *Schizandra chinensis* and *Scutellaria baicalensis* counter stress behaviors in mice. *Phytotherapy Research*, 21: 1187-1192.

Lee, Y.M.; Cheng, P.Y.; Chim, L.S.; Kunge, C.W.; Ka, S.M.; Chung, M.T.; Sheu, J.R. 2011. Baicalein, an active component of *Scutellaria baicalensis* Georgi, improves cardiac contractile function in endotoxaemic rats via induction of heme oxygenase-1 and suppression of inflammatory responses. *Journal of Ethnopharmacology*, 135: 179–185.

Leite, J.P.V. 2009. *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas*. Atheneu, São Paulo. 320pp.

Lin, L.; Harnlya, J.M.; Upton, R. 2009. Comparison of the Phenolic Component Profiles of Skullcap (*Scutellaria lateriflora*) and Germander (*Teucrium canadense* and *T. chamaedrys*), a Potentially Hepatotoxic Adulterant. *Phytochemistry*, 20: 298-306.

Li-Weber, M. 2009. New therapeutic aspects of flavones: The anticancer properties of *Scutellaria* and its main active constituents wogonin, baicalein and baicalin. *Cancer Treatment Reviews*, 35: 57–68.

Mace, M.E.; Bell, A.A.; Stipanovic, R.D. 1974. Histochemistry and isolation of gossypol and related terpenoids in roots of cotton seedlings. *Phytopatology*, 64: 1297-1302.

Mace, M.E.; Howell, C.R. 1974. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108.

- Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C.; Veiga Jr., V.F. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quimica Nova*, 25:(3): 429-438.
- Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C.; Veiga Jr., V.F. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quimica Nova*, 25 (3): 429-438.
- Maia, V. 1979. *Técnica Histológica*. Atheneu, São Paulo. 298pp.
- Marin, M.; Koko, V.; Duletić-Laušević, S.; Marin, P.D.; Rančić, D.; Dajic-Stevanovic, Z. 2006. Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: Morphology, stereology and histochemistry. *South African Journal of Botany*, 72: 378-382.
- Martins, E.R.; Castro, D.M. de; Castellani, D.C.; Dias, J.E. 1995. *Plantas medicinais*. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 220pp.
- Matos, F. J. A. 1997. *Introdução a Fitoquímica Experimental*. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. 141pp.
- McGovern, D.L.; Mosier, P.D.; Roth, B.L.; Westkaemper, R.B. 2010. CoMFA analyses of C-2 position salvinorin A analogs at the kappa-opioid receptor provides insights into epimer selectivity. *Journal Mol Graph Model* 28(7): 612-625.
- Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1957. *Anatomy of the dicotyledons, leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford. 560pp
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of the leaf and stem*. 2a ed. Clarendon Press, Oxford. 276pp.
- Mosqueiro, M.A.M.; Juan, R.; Pastor, J. 2002. Carpologia de *Scutellaria minor* Hudson em Andalucía Occidental. *Lagasalia*, 22: 93-101.
- Nalawade, S.M.; Sagare, A.P.; Lee, C.Y.; Kao, C.L.; Tsay, H.S. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. *Botanical Bulletin Academic Since*, 44: 79-98.
- Neto, J.F.L.; Hemb, L.; Silva, D.B. 2006. Fatores de risco para otite média aguda recorrente: onde podemos intervir? - uma revisão sistemática da literatura. *Jornal de Pediatria*, 82: 87-96.

- Nogueira, J.C.R.; Diniz, M.F.M.; Lima, E.O. 2008. Atividade antimicrobiana *in vitro* de produtos vegetais em otite externa aguda. *Revista Brasileira Otorrinolaringol*, 74(1):118-24.
- O' Brien, T.P.; Mccully M.E. 1981. *The study of structure principles and selected methods*. Termarcaphi Pty. LTD, Melbourn. 280pp.
- Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M.K. 2005. *Farmacognosia*. Atheneu, São Paulo. 412pp.
- Park, K.; Park, H.S.; Kang, S.R.; Nagappan, A.; Lee, D.H.; Kim, J.A.; Han, D.Y.; Kim, G.S. 2011. Korean *Scutellaria baicalensis* water extract inhibits cell cycle G1/S transition by suppressing cyclin D1 expression and matrix-metalloproteinase-2 activity in human lung cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 133: 634-641.
- Paton A. 1990. A global taxonomic investigation of *Scutellaria*. *Kew Bull*, 45: 399-450.
- Pereira, D.G. 2007. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. *Química Nova*, 30(1): 171-177.
- Pilot, G.; Stransky, H.; Bushey, D.F.; Pratelli, R.; Ludewig, U.; Wingate, V.P.M.; Frommera, W.B. 2004. Overexpression of glutamine dumper1 Leads to Hypersecretion of Glutamine from Hydathodes of Arabidopsis Leaves. *The Plant Cell*, 16: 1827–1840.
- Pizzolato, T.D.; Lillie, R.D. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 21: 56-64.
- Pool A. 2006. New Species of *Scutellaria* (Lamiaceae) from Mesoamerica. *Novon*, 16(3): 388-403.
- Raccuglia, R.A.; Bellone, G.; Loziene, K.; Piozzi, F.; Rosselli, S; Maggio, A.; Bruno, M. Simmonds, M.S.J. 2010. Hastifolins A-G, antifeedant neo-clerodane diterpenoids from *Scutellaria hastifolia*. *Phytochemistry*, 71: 2087-2091.
- Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M.; Flower, R.J. 2004. *Farmacologia*. Elsevier, Rio de Janeiro. 904pp.
- Rausher, M.D. 2006. The evolution of flavonoids and their genes. p. 175-212. In: Erich G., *The Science of Flavonoids*. Springer, USA.

Reams, W.M. 1953. The Occurrence and Ontogeny of Hydathodes in *Hygrophila polysperma* T. Anders. *New Phytologist*, 52(1): 8-13.

Ribeiro, J.E.L.S.; Hopikns, M.J.G.; Vincentini, A. 1999. *Flora da reserva ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 816pp.

Rosselli, S.; Bruno, M.; Simmonds, M.S.J.; Senatore, F.; Rigano, D.; Formisano, C. 2007. Biochemical Volatile constituents of *Scutellaria rubicunda* Hornem subsp. *linnaeana* (Caruel) Rech. (Lamiaceae) endemic in Sicily. *Systematics and Ecology*, 35: 797-800.

Roth, B.L.; Baner, K.; Westkaemper, R.; Siebert, D.; Rice, K.C.; Steinberg, S.; Ernsberger, P.; Rothman, R.B. 2002. Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous k opioid selective agonist. *Neurobiology*, 99(18): 11934-11939.

Sala V.M.R.; Freitas, S.S.; Silveira, A.P.D. 2007. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(11): 1593-1600.

Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Athayde, M. L. 2004. Saponinas. p. 711-740. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Shang, X.; Hea X.; Li, M.; Zhanga, R.; Fana, P.; Zhanga, Q.; Jia Z. 2010. The genus *Scutellaria* an ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 279-313.

Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. de; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. 2004. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ªed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 1102pp.

Simpson, D.S.; Lovell, K.M.; Lozama, A.; Han, N.; Day, V.W.; Dersch, C.M.; Rothman, R. B.; Prisinzano, T.E. 2009. Synthetic studies of neoclerodane diterpenes from *Salvia divinorum*: role of the furan in affinity for opioid receptors. *Org Biomol Chemistry*, 7(18): 3748-3756.

Soares, A.M.S.; Machado, O.L.T. 2007. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Tropicana - Ciências Agrárias e Biológicas*, 1(1): 9-19.

Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2008. *Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII*. 2ª ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo. 703pp.

Tabares, C.X.B. 2007. *Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal*. Serie Tesis Doctorales. Ciencias y Tecnologías. 123pp.

Theobald, W.L.; Krahulik, J.L.; Rollins, R.C. 1979. Trichome description and classification. p. 40-53. In: Metcalfe CR, Chalk L. *Anatomy of the dicotyledons*. v.1. Clarendon Press, Oxford.

Toledo, M.G.T.; Alquini, Y.; Nakashima, T. 2004. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). *Revista Brasileira Científica Farmacêutica*, 40 (4): 487-493.

Tripathi, K.D. 2006. *Farmacologia médica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 755pp.

Turner, G.W.; Gershenzon, J.; Croteau, R.B. 2000. Development of peltate glandular trichomes of Peppermint. *Plant Physiology*, 124: 665-679.

Wang, Y.; Ribot, C.; Rezzonico, E.; Poirier, Y. 2004 Structure and Expression Profile of the Arabidopsis PHO1 Gene Family Indicates a Broad Role in Inorganic Phosphate Homeostasis. *Plant Physiology*, 135: 400–411.

Werker, E.; Putievsky, E.; Ravid, U.; Duda, N.; Katzir, L. 1993. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 71: 43 -50.

Wilkinson, H.P. The plant surface (mainly leaf). p. 97-165. In: Metcalfe, C.R.; Chalk, L. *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem*. v.1. Clarendon Press, Oxford.


Willadino, L.; Câmara, T.J.R.; Galindo, R.M.P.; Guedes, R.M.M.; Michereff, S.J. 2005. Sistema Vascular e Exsudatos Radiculares. p.19-40. In: Michereff, S.J.; Andrade, D.E. G.T.;

Menezes, M. *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Imprensa Universitária, Recife.

Yan, F.; Roth, B.L. 2004. Salvinorin A: A novel and highly selective n-opioid receptor agonist. *Life Sciences*, 75: 2615-2619.

Yoon, S.B.; Lee, Y.J.; Park, S.K.; Kim, H.C.; Bae, H.; Kim, H.M.; Ko, S.G.; Choi, H.Y.; Oh, M.S.; Park, W. 2009. Anti-inflammatory effects of *Scutellaria baicalensis* water extract on LPS-activated RAW264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 125: 286-290.

5. **ANEXO A.** Autorização do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Amazonas (referente ao capítulo 3).



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA-UFAM)

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº 012/2010-CEEA, sobre “Estudo anatômico e fitoquímico de *Scutellaria agrestis* St. Hill exBenth. utilizada como medicinal pelos ribeirinhos do Amazonas com abordagem farmacológica” sob responsabilidade de **ANDRÉIA BARRONCAS DE OLIVEIRA e MARIA SILVIA DE MENDONÇA**, está de acordo com a legislação Federal pertinente ao uso científico de animais e foi **APROVADO** pelo COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA-UFAM) em reunião de **07/05/2010**.

Manaus, 12 de maio de 2010



Prof. Dr. Fábio Tonissi Moroni
Presidente do CEEA-UFAM

Av. Gal. Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Coroado – Campus Universitário, Setor Sul, Bloco A - CEP 69077-000, Manaus – AM
Tel.: (92) 3305-4038- e-mail: cee@ufam.edu.br