



INSTITUTO FEDERAL
GOIÁS
Câmpus Anápolis

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CÂMPUS ANÁPOLIS**

CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA E DO PERFIL
FITOQUÍMICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE *VERNONIA
CONDENSATA* BAKER E *VERNONIA POLYANTHES* LESS**

JAKELINE DE OLIVEIRA RAMOS

ORIENTADOR(A): Prof^ª Ms. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha.

**ANÁPOLIS
2014**

JAKELINE DE OLIVEIRA RAMOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA E DO PERFIL
FITOQUÍMICO DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE *VERNONIA
CONDENSATA* BAKER E *VERNONIA POLYANTHES* LESS**

Trabalho de Defesa do Curso de Licenciatura em Química
apresentado à Coordenação de Química do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof^ª Ms. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha.

**ANÁPOLIS
2014**

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo amor, pelo dom da vida e por todas as bênçãos recebidas.

À professora Gracielle Oliveira Sabbag Cunha, pela orientação e pelos conhecimentos transmitidos de forma generosa. Obrigada, principalmente, pela atenção, paciência e compreensão. Minha eterna admiração, gratidão e respeito!

À minha mãe, Rozilda, pelos ensinamentos e valores transmitidos ao longo de toda a minha vida e pelo incentivo na continuação dos meus estudos.

Ao Wanderson (Bobãozym) (UEG) pela imensa ajuda com o rotaevaporador, com a obtenção dos reagentes utilizados nos testes de identificação, pela ajuda com as *Artemias* e outras.

Ao Diego, Randys e Osvaldo (UEG) pelos conhecimentos transmitidos sobre a *Artemia salina* e pela disponibilidade do material necessário.

Obrigada à Layssa, pelos esclarecimentos fornecidos, particularmente, no início da realização deste trabalho.

À Bruna, pela amizade e obtenção de alguns reagentes.

Aos professores Lucas Hoffmann (IFG), Laura Maria (IFG) e Guilhermina Costa (SENAI) pelas correções e sugestões fornecidas na Qualificação e na Defesa.

À Anna Raphaela e Jocielle pela amizade, companheirismo e ajuda, principalmente, durante a realização da parte experimental.

Ao Marcus, técnico do laboratório de Química, pela ajuda. Mas, em especial, pelas conversas, besteiras e histórias trocadas ao longo de um ano e meio de trabalho.

A realização deste trabalho não seria possível sem a ajuda dessas pessoas. A todos o meu afeto, admiração e gratidão. Obrigada! ☺

RESUMO

O presente trabalho apresenta o estudo fitoquímico e o teste de toxicidade dos extratos brutos e das frações hexânicas, diclorometânicas, em acetato de etila e hidroalcólicas obtidas de duas espécies do gênero *Vernonia*, *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less. A toxicidade foi avaliada frente às larvas de *Artemia salina* Leach, chegando a resultados de $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$, valor que, de acordo com a literatura, considera a amostra atóxica frente às larvas. Como esse ensaio possui uma boa relação com a atividade antitumoral nos seres humanos, pode-se supor que as espécies testadas não demonstram atividade antitumoral. Também foram realizados nos extratos brutos e nas frações testes qualitativos de identificação da presença de metabólitos secundários. Obteve-se resultados positivos para saponinas espumídicas, saponinas hemolíticas, taninos catéquicos, ácidos orgânicos, esteroides e triterpenoides, carotenoides, depsídeos e depsídonas, alcaloides e flavonoides.

Palavras-chave: *Vernonia polyanthes* Less; *Vernonia condensata* Baker; toxicidade; estudo fitoquímico.

ABSTRACT

This paper presents the phytochemical study and the toxicity testing of extracts and hexanic, dichloromethanic, hydroalcoholic and in ethyl acetate fractions obtained from two species of the *Vernonia*, *Vernonia condensata* Baker and *Vernonia polyanthes* Less genus. Toxicity was evaluated against *Artemia salina* Leach larvae, reaching results of $DL_{50} > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$, value which are according to the literature, considered the sample non-toxic to the larvae. Since this assay has a good relationship with the antitumor activity in humans, it can be assumed that the tested species do not show antitumor activity. Were also performed in crude extracts and fractions of qualitative tests in identifying the presence of secondary metabolites. Positive results were obtained for foam saponins, haemolytic saponins, catechin tannin, organic acids, triterpenoids and steroids, carotenoids, and depsides depsidones, flavonoids and alkaloids.

Keyword: *Vernonia polyanthes* Less; *Vernonia condensata* Baker; toxicity; phytochemical study.

LISTA DE ABREVIATURAS

a.C	Antes de Cristo
IC ₅₀	Concentração necessária para inibir 50% das células tumorais
M	Metro
μM	Micromolar
CLAE-UV-EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - Ultra Violeta - Espectro de Massas
μm	Micrometro
Mm	Milímetro
EtOH	Etanol
AcOEt	Acetato de Etila
G	Gramas
W	Watts
μL	Microlitro
DMSO	Dimetilsulfóxido
DL ₅₀	Dose de letalidade de 50% dos náuplios

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Estruturas das moléculas de morfina, quinina e estriquinina	15
Figura 2.2. Estruturas das moléculas de procaína, cloroquina e tropicamida	17
Figura 2.3 Estruturas dos compostos vernoniosideo A ₃ , vernoniosideo B ₁ e vernoquinosideo A encontrados em espécies do gênero <i>Vernonia</i>	19
Figura 2.4 Estruturas dos compostos vernolepina, vernodalina e vernodalinol	20
Figura 2.5 Estruturas dos compostos vernoguinsterol e vernoguinosideo	21
Figura 2.6 Estruturas dos compostos glaucolideo, glaucolideo B, glaucolideo K e glaucolideo L	21
Figura 2.7 Estruturas dos compostos bioativos hirsutolideo e hirsutinolideo	22
Figura 2.8 Arbusto de <i>Vernonia polyanthes</i> Less	24
Figura 2.9 Estruturas moleculares dos triterpenos α -amirina e β -amirina e lupeol	25
Figura 2.10 Estruturas químicas dos compostos isolados da <i>Vernonia polyanthes</i> Less	26
Figura 2.11 Estruturas químicas dos flavonoides luteolina, apigenina e quercetina	27
Figura 2.12 Arbusto de <i>Vernonia condensata</i> Baker	28
Figura 2.13 Estrutura química da vernoniosideo B ₂ isolada a partir da <i>Vernonia condensata</i>	29
Figura 2.14 Síntese dos metabólitos secundários	31
Figura 2. 15 Fatores que influenciam os níveis totais ou parciais de metabólitos secundários	34
Figura 2. 16 Náuplio de <i>Artemia salina</i>	35
Figura 3.1 Obtenção dos extratos de <i>Vernonia condensata</i> Baker e <i>Vernonia Polyanthes</i> Less	36
Figura 3.2 Metodologia utilizada na partição do extrato	37
Figura 3.3 Esquema de preparação e eclosão dos ovos de <i>Artemia</i>	39
Figura 4.1 Teste de identificação de saponinas hemolítica e espumídicas	51
Figura 4.2 Teste de identificação de alcaloides, esteroides e triterpenoides	54
Figura 4.3 Teste de identificação de taninos catéquicos e saponinas espumídicas	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Massa de material vegetal e quantidade de extrato obtido das folhas de <i>Vernonia condensata</i> Baker e <i>Vernonia polyanthes</i> Less	46
Tabela 4.2 Massa das frações obtidas da partição líquido-líquido dos extratos brutos de <i>Vernonia condensata</i> Baker e <i>Vernonia polyanthes</i> Less	47
Tabela 4.3 Avaliação da atividade tóxica de extratos e frações de <i>Vernonia condensata</i> e <i>Vernonia polyanthes</i>	48
Tabela 4.4 Resultados nos testes realizados nos extratos brutos de <i>Vernonia condensata</i> e <i>Vernonia polyanthes</i>	50
Tabela 4.5 Resultados nos testes realizados nas frações <i>Vernonia condensata</i>	52
Tabela 4.6 Resultados nos testes realizados nas frações de <i>Vernonia polyanthes</i>	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	14
2.1 Produtos naturais	14
2.2 Família Asteraceae	18
2.3 Gênero <i>Vernonia</i>	18
2.3.1 Aspectos farmacológicos do Gênero <i>Vernonia</i>	19
2.3.2 Uso popular do gênero <i>Vernonia</i>	22
2.3.3 <i>Vernonia polyanthes</i> Less	23
2.3.4 <i>Vernonia condensata</i> Baker	27
2.4 Metabólitos secundários	29
2.4.1 Compostos fenólicos	32
2.4.2 Terpenos	32
2.4.3 Alcaloides	33
2.4.4 Fatores que influenciam os níveis totais ou parcial de metabólitos secundários	34
2.5 Ensaio de Letalidade com <i>Artemia salina</i> Leach	34
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	36
3.1 Coleta do material botânico	36
3.2 Obtenção dos extratos brutos	36
3.3 Fracionamento dos extratos e obtenção das frações	37
3.4 Preparação das amostras e ensaio de Letalidade de <i>Artemia salina</i> Leach	38
3.5 Cálculo dos valores de DL ₅₀	39
3.6 Prospecção fitoquímica	40
3.6.1 Preparação dos reativos	40
3.6.2 Testes	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1 Resultados da extração	46
4.2 Resultados do fracionamento dos extratos brutos através da partição líquido-líquido	46
4.3 Avaliação da atividade tóxica de extratos e frações de <i>Vernonia condensata</i> Baker e <i>Vernonia polyanthes</i> Less	47

4.4 Identificação da presença de metabólitos secundários	49
5. CONCLUSÃO	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1. INTRODUÇÃO

O início do uso de produtos naturais para fins medicinais é datado desde o surgimento da humanidade (ANDRADE *et al.*, 2007). Atualmente, o desenvolvimento tecnológico não extinguiu essa prática, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil. Acredita-se que o uso de produtos naturais para o tratamento de doenças esteja associado a diversos fatores, como a situação econômica, a falta de acesso aos medicamentos em geral (VEIGA JR.; PINTO, 2005) e a insatisfação com o sistema de saúde (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006). Além disso, as plantas medicinais são de fácil obtenção (VEIGA JR.; PINTO, 2005) e geralmente, esses conhecimentos são mantidos por meio da tradição oral (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007).

O Brasil é considerado um país privilegiado com grande quantidade de produtos naturais em geral, característica resultante da sua biodiversidade ecológica. A biodiversidade pode ser definida como a variedade de espécies de flora, fauna e micro-organismos e também por suas funções ecológicas desempenhadas nos ecossistemas. E é justamente essa variedade de espécies que eleva o Brasil ao posto de principal nação entre os países de maior biodiversidade (BRASIL, 2013).

No entanto, a falta de conhecimento sobre muitas espécies limita as possibilidades de uso sustentável dos recursos naturais e também do desenvolvimento de estratégias de conservação (MEDEIROS, 2006). Estima-se que entre 205-500 mil espécies, apenas 5% foram estudadas quanto a suas propriedades fitoquímicas e essa porcentagem é ainda menor quando relacionada aos aspectos biológicos (CECHINEL FILHO; YNES, 1998). Neste sentido, o reino vegetal tem contribuído de forma significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, que são utilizados como medicamentos, agroquímicos e cosméticos (PHILLIPSON; ANDERSON, 1989).

Diante deste contexto, este trabalho busca contribuir com o conhecimento fitoquímico e biológico de duas espécies da família Asteraceae: *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less, conhecidas popularmente como boldo e assa-peixe, respectivamente. Com isso, houve a preparação do extrato etanólico das folhas, o fracionamento das substâncias presentes no extrato, a realização do teste de letalidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach e a identificação da presença de metabólitos secundários por meio de testes qualitativos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produtos Naturais

Acredita-se que a origem do uso de produtos naturais para fins medicinais esteja relacionada com o surgimento da humanidade, principalmente a utilização de recursos vegetais. As plantas eram utilizadas pelo homem para a cura, prevenção e tratamento de diversas enfermidades (ANDRADE *et al*, 2007). Ainda hoje, em comunidades tradicionais, são empregadas como remédios caseiros e constituem uma importante fonte de matéria-prima para a fabricação de medicamentos em geral (LEÃO; FERREIRA; JARDIM, 2007).

A obra chinesa *Pen Ts'ao* (“A Grande Fitoterapia”) escrita por Shan Nung constitui-se como a primeira referência escrita sobre o uso de plantas medicinais (ELDIN, 2001). Papiros encontrados no Egito mostram que por volta de 2000 a.C. alguns médicos utilizavam as plantas como remédios e acreditavam que as doenças eram produtos de causas naturais. Outro importante registro para a história dos produtos naturais é o Papiro de Ebers, que é datado por volta de 1500 a.C.. Nesta escritura, há relatos de cerca de 700 drogas que incluem extratos de plantas e venenos de animais (ALMEIDA, 1993).

Durante a civilização grega, vários filósofos contribuíram para o desenvolvimento das ciências, deixando para trás um pensamento místico e surgindo uma visão mais racional em relação ao tratamento de doenças. Entre eles Hipócrates, que acreditava que os médicos deveriam seguir certos princípios, pois eram "servidores da natureza" (DINIZ, 2006).

O farmacêutico grego Galeno, considerado o pai da farmácia, pode ser considerado um importante contribuinte da história e do desenvolvimento das ciências médico-farmacêuticas da Antiguidade (PITA, 1998). Galeno abordou questões sobre a composição de medicamentos, descrevendo incalculáveis substâncias terapêuticas de origem animal, mineral e vegetal como gorduras, sal, leite, bórax e argila (BASSO, 2004).

Nos séculos XVIII e XIX foram isoladas as primeiras substâncias puras do reino vegetal, a morfina, a quinina e a estriquinina (Figura 2.1), proporcionando um maior desenvolvimento nas pesquisas de produtos naturais (PINTO *et al*, 2002).

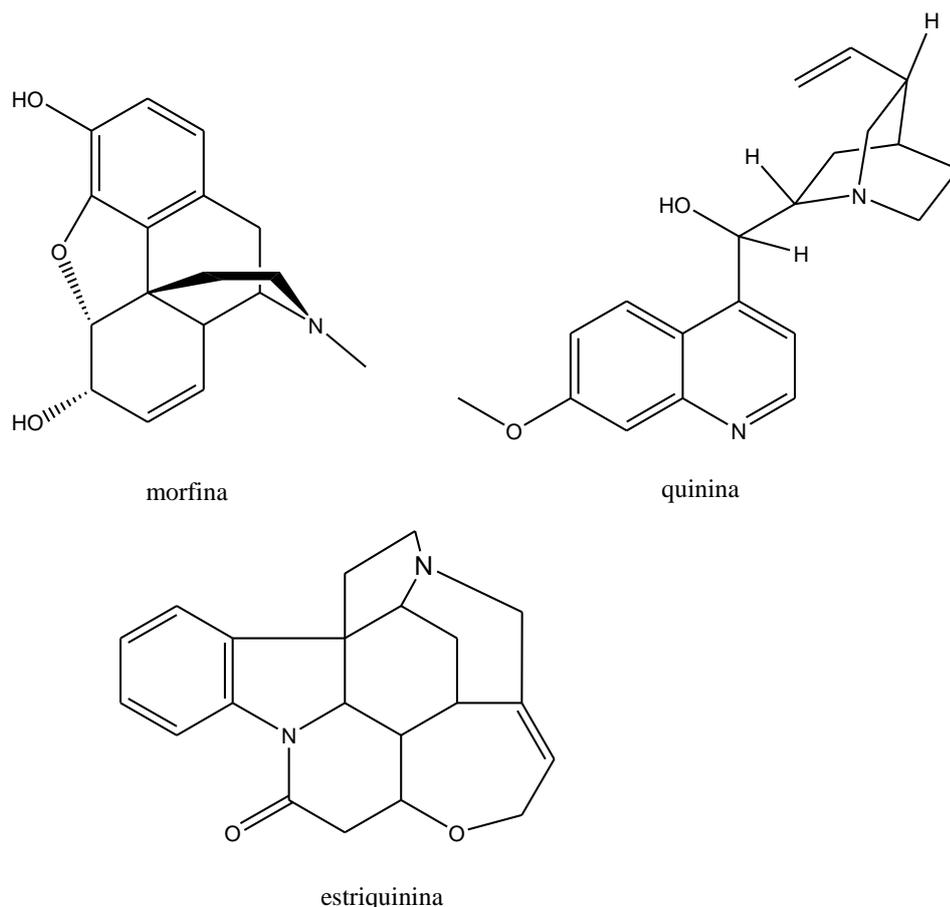


Figura 2.1. Estruturas das moléculas de morfina, quinina e estriquinina.

No Brasil, os primeiros médicos que vieram de Portugal foram levados a compreender a importância do uso dos remédios naturais empregados pelos indígenas, em decorrência da falta dos remédios utilizados na Europa (VEIGA JR.; PINTO, 2005). Os escravos africanos trouxeram consigo plantas de uso medicinal que eram empregadas no tratamento de enfermidades e em rituais religiosos. Os índios dispunham de uma vasta gama de plantas medicinais e o conhecimento era transmitido de geração em geração através dos pajés (LORENZI; MATOS, 2008).

Em 1808, dois fatores históricos foram importantes para o desenvolvimento da ciência brasileira, a vinda da Corte Real e o decreto de D. João VI que possibilitou às nações amigas a abertura dos portos. Depois desse documento, inúmeras expedições de caráter científico começaram a chegar ao Brasil. Buscavam, principalmente, o conhecimento da flora e da fauna. Os naturalistas eram os responsáveis por coletar espécies animais e vegetais para exposições em museus europeus (FREEDBERG, 1999).

Quando a noiva de D. Pedro, a Princesa Leopoldina da Áustria, veio ao Brasil, alguns pesquisadores vieram em sua comitiva, como o médico português Bernadino António Gomes, que fez importantes observações sobre as plantas locais (COSTA, 1986). Já o médico e botânico Carl Friedericho von Martius e o zoólogo Johan Baptist Spix foram um dos iniciadores do estudo sistemático da flora e da fauna brasileiras. Posteriormente, em 1847, Theodoro Peckolt veio estudar a flora e devido aos seus trabalhos, é considerado o pai da fitoquímica brasileira (SANTOS; PINTO; ALENCASTRO, 1998).

Mesmo com o desenvolvimento tecnológico, o uso de plantas medicinais nos países em desenvolvimento, como o Brasil, vem sendo intensamente utilizadas. Acredita-se que o uso de produtos naturais para o tratamento de diversas doenças esteja relacionado à situação de pobreza e a falta de acesso aos medicamentos em geral, enquanto que o uso de plantas medicinais é uma prática de fácil obtenção fundamentada na tradição popular (VEIGA JR; PINTO, 2005). Outra justificativa para o uso de plantas medicinais está no descontentamento da população com o sistema de saúde e o senso de reger a própria saúde e a dos familiares em geral (TOMAZZONI, NEGRELLE; CENTA, 2006).

Frequentemente, o conhecimento do uso de plantas medicinais é mantido por meio da tradição oral, sendo que, geralmente, não há nenhuma comprovação científica que justifique o seu uso para o tratamento de doenças (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007). Nota-se também uma grande falta de conhecimento em relação aos constituintes motivadores da atividade farmacológica e a falta de comprovação em testes pré-clínicos e clínicos (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

As plantas têm sido uma relevante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, constituindo-se em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Essas espécies vegetais revelam uma série quase que inesgotável de diversidade estrutural e de propriedades físico-químicas e biológicas. Dados revelam que apesar do seu grande potencial medicinal somente 15 a 17% das plantas foram estudadas para esse propósito (GUERRA; NODARI, 2007).

Pode-se considerar o Brasil como um país privilegiado em relação à biodiversidade, pois abrange várias zonas climáticas como o semi-árido do nordeste, as áreas temperadas do sul e o trópico úmido do norte, e são estas diferenças climáticas que o torna um país rico em variações ecológicas, formando biomas distintos como a floresta amazônica, o pantanal, o cerrado e a caatinga. Em decorrência dessa variedade de biomas, o Brasil comporta uma enorme biodiversidade da fauna e da flora, compreendendo cerca de 20% do

número total de espécies do planeta. A destruição dos biomas compromete a sustentabilidade do meio ambiente e a própria vida na Terra, já a preservação garante inúmeros benefícios à humanidade (BRASIL, 2013).

O reino vegetal é o maior auxiliador no abastecimento de metabólitos secundários (PHILLIPSON; ANDERSON, 1989). Os metabólitos secundários são substâncias que proporcionam vantagens para a sobrevivência e para a continuidade das espécies vegetais (SANTOS, 2007). Esses compostos são encontrados em grupos exclusivos, auxiliam na interação das plantas com o meio ambiente e podem ser utilizados para o tratamento de diversas enfermidades (BRANDÃO *et al.*, 2010). Muitos desses metabólitos, como a procaína, a cloroquina e a tropicamida (Figura 2.2) podem ser utilizados como modelos para o desenvolvimento de medicamentos sintéticos (WANG; LIN; YE, 2006).

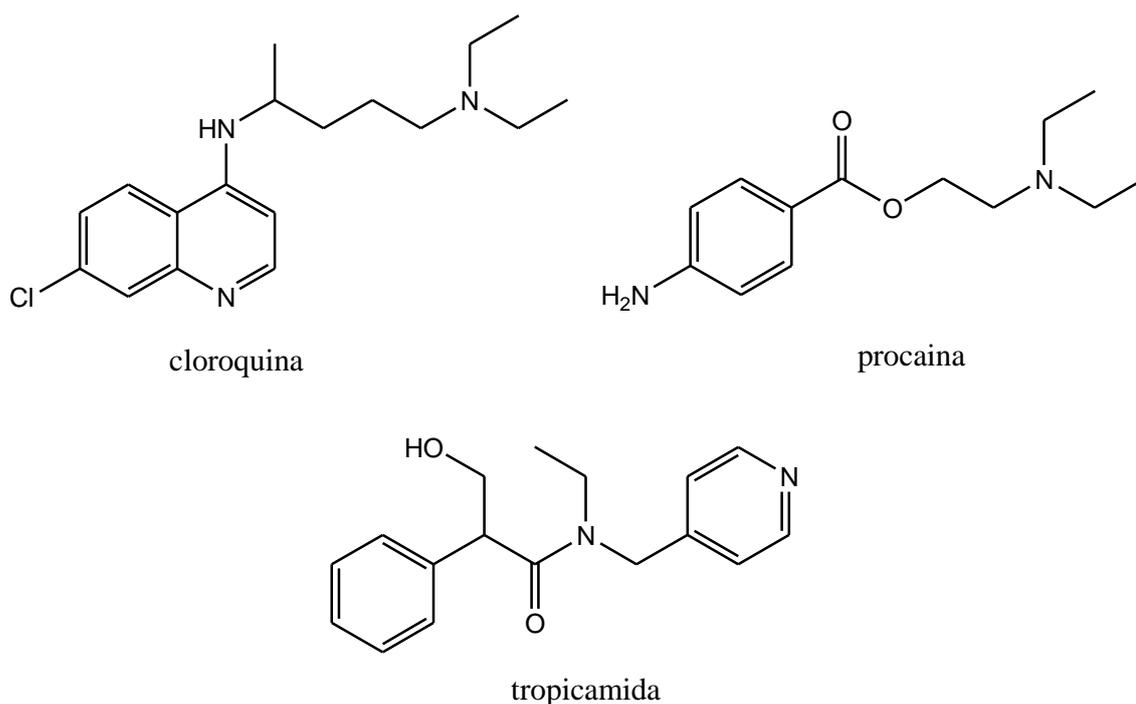


Figura 2.2. Estruturas das moléculas de procaína, cloroquina e tropicamida.

Em decorrência dos fatores mencionados anteriormente, nota-se o quanto o reino vegetal é uma importante fonte de produtos naturais que podem ser utilizados pelo homem em benefício à sua saúde.

2.2 Família Asteraceae

Asteraceae é considerada a maior família de angiospermas (BREMER, 1994), compreendendo uma distribuição cosmopolitana, ou seja, encontra-se em quase todo o mundo. Geralmente é localizada em maior quantidade em locais com clima temperado e subtropical, onde não existam florestas densas (CRONQUIST, 1981).

Essa família compreende aproximadamente 25.000 espécies pertencentes a 1.600 gêneros (BREMER, 1994), sendo que o Brasil possui cerca de 160 gêneros e em torno de 1.900 espécies (BARROSO *et al.*, 1991). Dentre as plantas referentes à família Asteraceae, podem ser salientados o *Helianthus annuus* L. (Girassol), o *Lactuca sativa* L. (Alface), o *Solidago chilensis* Meyen (Arnica), a *Vernonia condensata* Baker (Boldo-baiano) e a *Vernonia polyanthes* Less (Assa-peixe) (LORENZI; MATOS, 2008). As plantas pertencentes à Asteraceae possuem hábito herbáceo arbóreo, às vezes trepadeira, tendo folhas simples, alternadas ou opostas (HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

Essa família detém grande notabilidade como fitoterápico, sendo considerada uma grande geradora de compostos bioativos (MELLO; MELLO; LANGELOH, 2008). São documentadas, na composição química, a presença de lactonas sesquiterpênicas, alcaloides, flavonoides, óleos essenciais e outros (LORENZI; MATOS, 2008). Algumas espécies podem apresentar uso terapêutico, sendo utilizadas como analgésicos, diuréticas, balsâmicas e antireumáticas, no tratamento da bronquite e tosses persistentes (BOORHEM, 2009), estimulante de apetite, além da supressão de gases intestinais e inflamação na vesícula (PANIZZA, 1998; BOORHEM, 2009). Dentre as espécies pertencentes à família Asteraceae, este trabalho visa o estudo de duas espécies do gênero *Vernonia*: *Vernonia condensata* e *Vernonia polyanthes*.

2.3 Gênero *Vernonia*

O nome *Vernonia* foi uma homenagem ao botânico inglês William Vernon que fez importantes contribuições sobre as espécies pertencentes ao gênero (QUATTROCCHI, 1999). Esse gênero abrange uma ampla variedade de espécies distribuídas em todo o mundo, sendo que muitas vezes são utilizadas para o tratamento de inúmeras doenças tais como a

malária, distúrbios gastrointestinais e doenças respiratórias (AWE; MAKINDE, OLAJIDE, 1999; CARVALHO; COSTA; ABREU, 1999; BARBOSA-FILHO *et al.*, 2008).

2.3.1 Aspectos farmacológicos do Gênero *Vernonia*

Triterpenos, esteroides e lignanas são os principais constituintes químicos do gênero *Vernonia*, sendo que os flavonoides e as lactonas sesquiterpênicas são compostos mais frequentes (CARVALHO; COSTA; ABREU, 1999).

Compostos bioativos podem ser encontrados como o vernoniosideo A₃ (JISAKA *et al.*, 1993), o vernoniosideo B₁, com propriedades antihelmínticos (HUFFMAN *et al.*, 1993) ambos presentes na *Vernonia amygdalina* e o vernoguinosideo A com propriedades antifúngicas, encontrado na *Vernonia guineensis* (DONFACK *et al.*, 2012) (Figura 2.3).

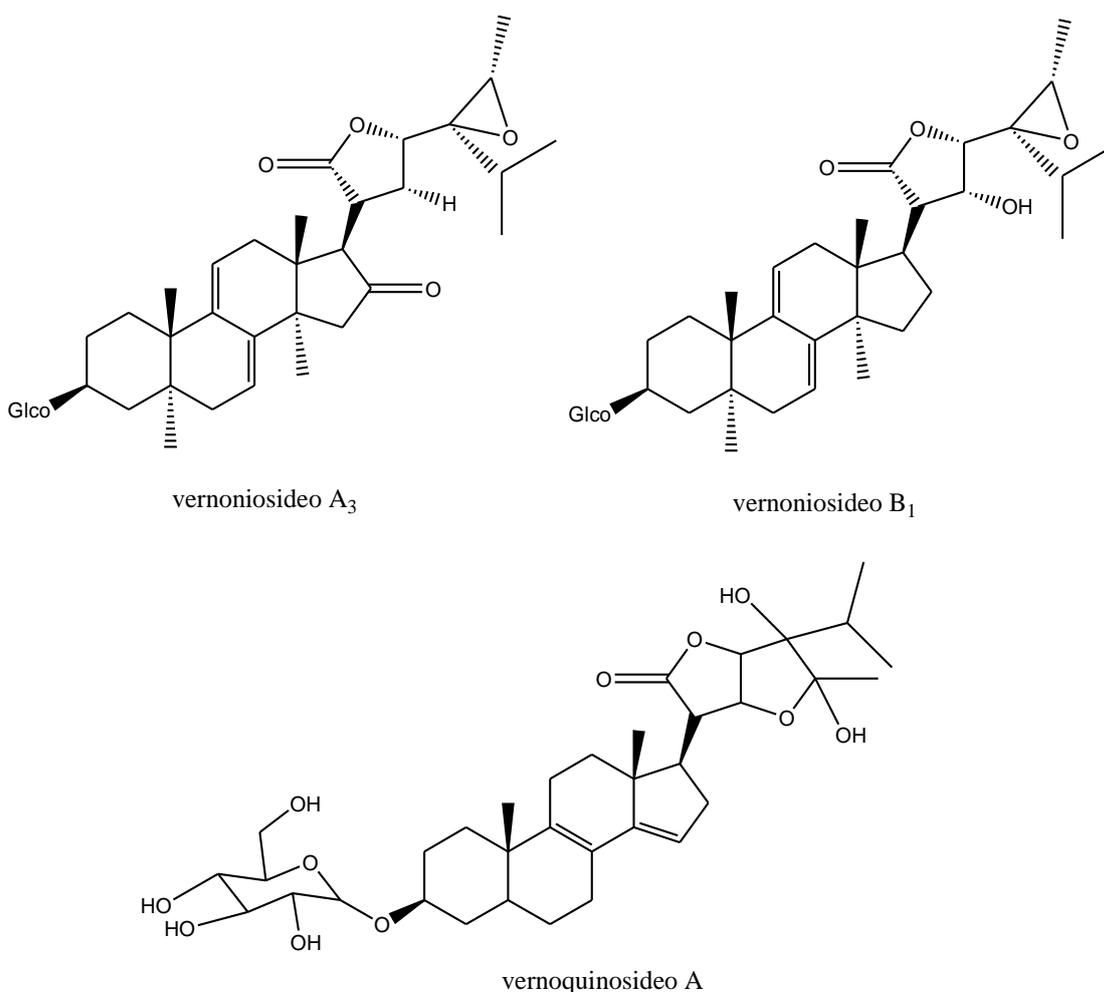


Figura 2.3. Estruturas dos compostos vernoniosideo A₃, vernoniosideo B₁ e vernoquinosideo A encontrados em espécies do gênero *Vernonia*.

A vernolepina, presente na *Vernonia amygdalina*, possui propriedades antibacterianas (JISAKA *et al.*, 1993), a vernodalina apresenta propriedades inseticidas (GANJIAN, KUBO; FLUDZINSKI, 1983) e o vernodalinol, apresenta inibição contra células cancerígenas com $IC_{50} = 70-75 \mu\text{g/mL}$ (LUO *et al.*, 2011) ambos são compostos que também são encontrados na *Vernonia amygdalina* (Figura 2.4).

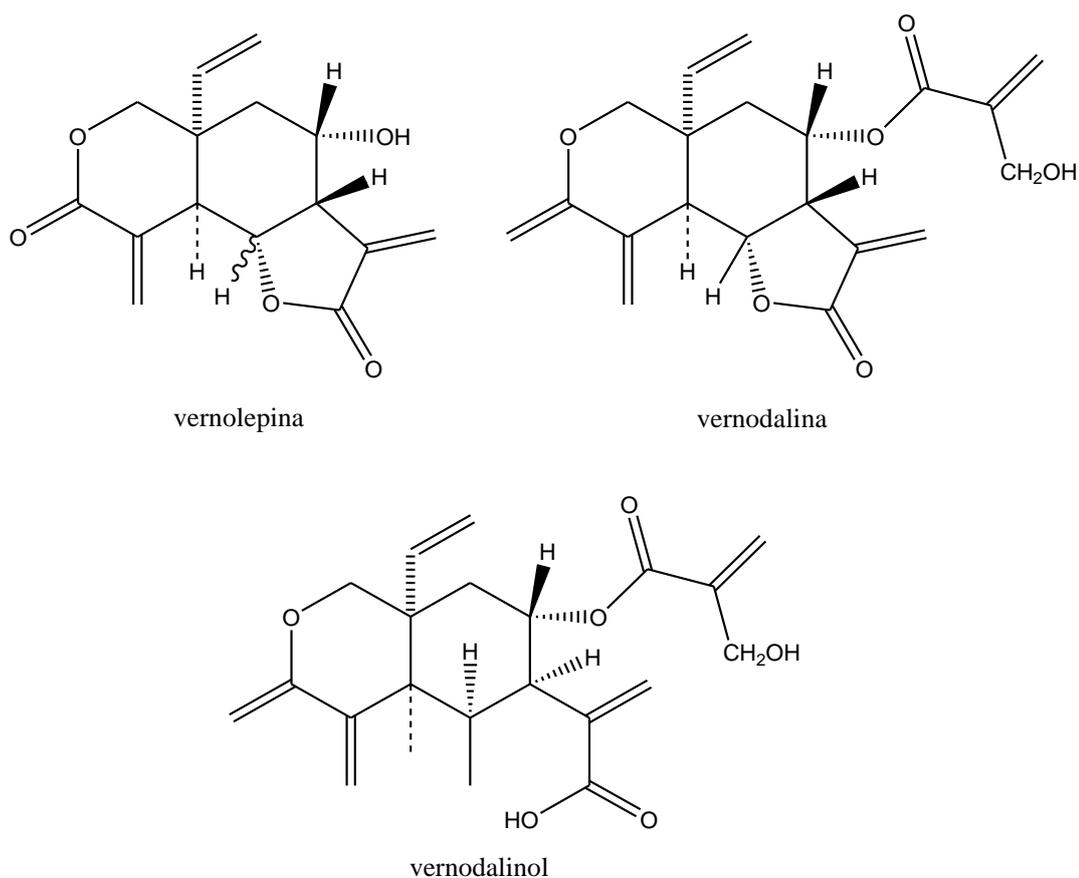


Figura 2. 4. Estruturas dos compostos vernolepina, vernodalina e vernodalinol.

O vernoguinsteroil e o vernoguinosídeo, isolados de *Vernonia guineensis*, apresentam propriedades antitripanossomíase (TCHINDA *et al.*, 2002) (Figura 2.5).

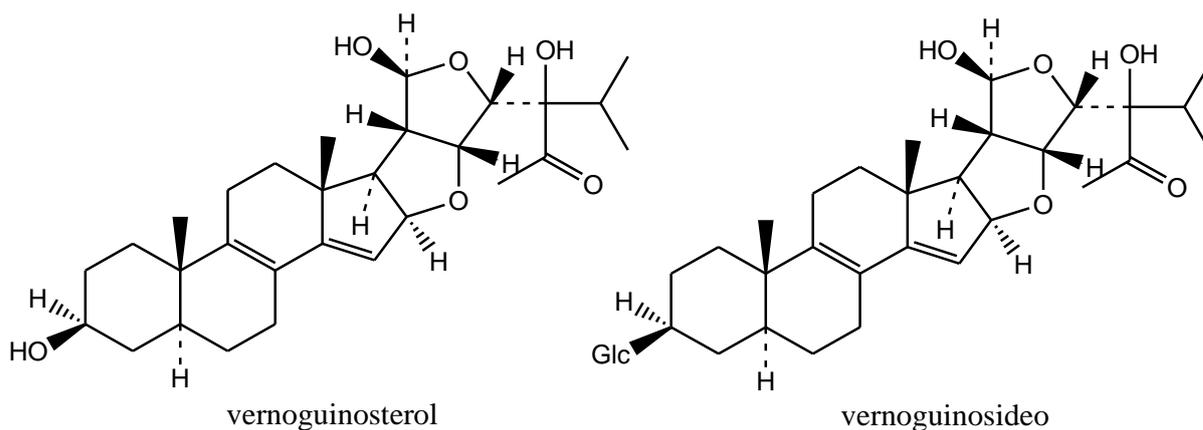


Figura 2.5. Estruturas dos compostos vernoguinsterol e vernoguinosideo.

Outros compostos podem ser encontrados em espécies do gênero *Vernonia* como o glaucolideo, presente na *Vernonia scorpioides* (BUSKUHL *et al.*, 2010), glaucolideo B, encontrado na *Vernonia eremophila* (BURIM *et al.*, 1999), glaucolideo K e o glaucolideo L, ambos encontrados na *Vernonia pachyclada* (WILLIAMS *et al.*, 2005) (Figura 2.6).

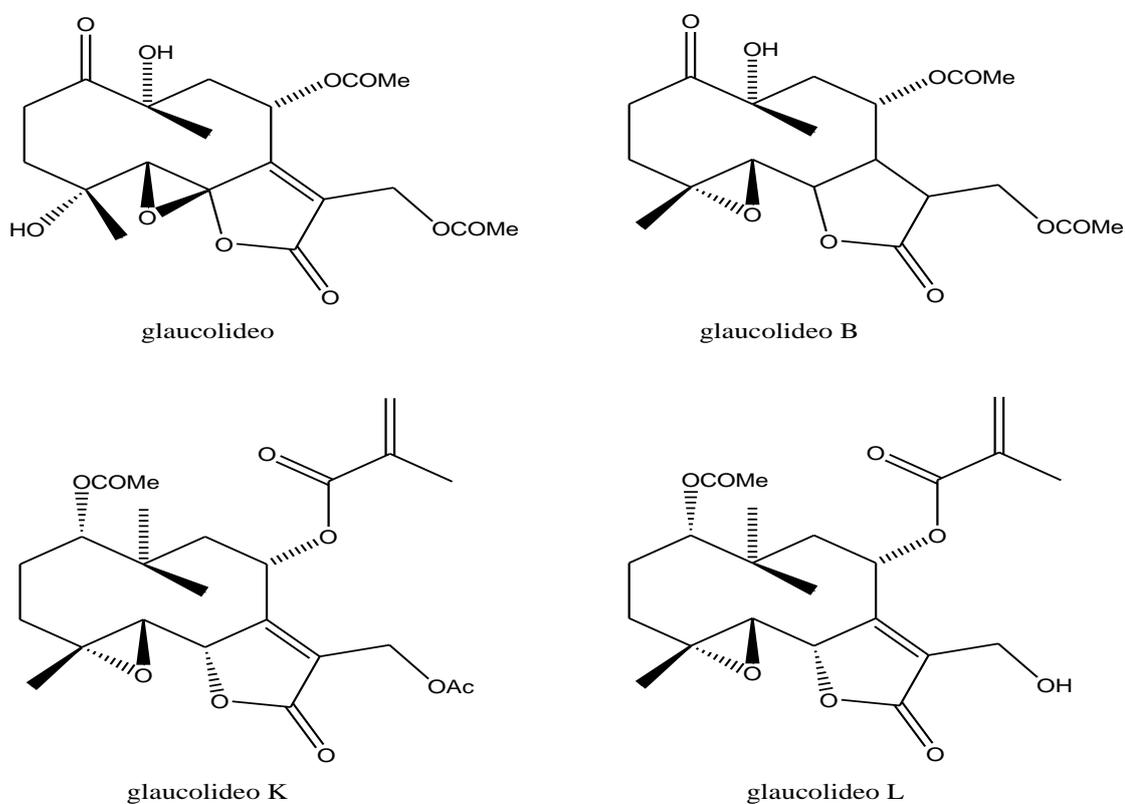


Figura 2.6. Estruturas dos compostos glaucolideo, glaucolideo B, glaucolideo K e glaucolideo L.

O hirsutolideo presente na *Vernonia bockiana* apresenta propriedades antitumoral (HUO *et al.*, 2008 *apud* TOYANG, 2013) e o hirsutinolideo, *Vernonia scorpioides*, possui atividade citotóxica, $IC_{50} = 3.3 \mu M$ frente à células tumorais (BUSKUHL *et al.*, 2010) (Figura 2.7).

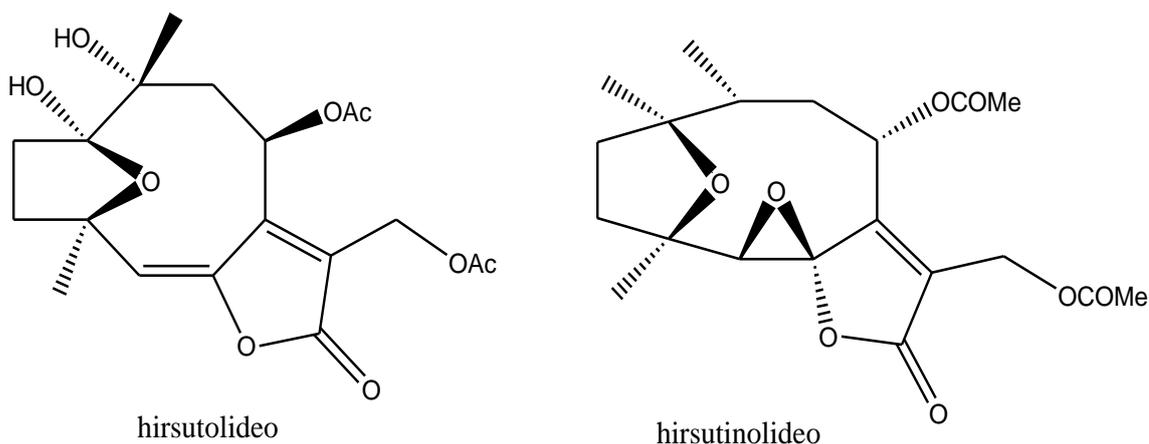


Figura 2.7. Estruturas dos compostos bioativos hirsutolideo e hirsutinolideo.

2.3.2 Uso popular do gênero *Vernonia*

Geralmente as folhas e as raízes das plantas são utilizadas, como as folhas da *Vernonia condensata* Baker que são indicadas para o tratamento de distúrbios do fígado, como analgésicos (BOORHEM, 2009; FRUTUOSO *et al.*, 1994), estimulante de apetite e inflamação na vesícula (PANIZZA, 1998; BOORHEM, 2009). Já na *Vernonia polyanthes* Less além das folhas, as raízes também são utilizadas para o tratamento de enfermidades como afecções de pele, dores musculares e reumatismo (PANIZZA, 1998), indicadas também no tratamento da bronquite e tosses persistentes (BOORHEM, 2009). As folhas e as raízes são indicadas para a eliminação de cálculos renais, sendo que na forma de compressa a *Vernonia polyanthes* possui efeito antirreumático e na forma de chá é indicada para tosses persistentes (LORENZI; MATOS, 2008).

Vernonia guinensis é utilizada na medicina popular como antihelmíntica, como antídotos para venenos de cobra e afrodisíaca (TCHINDA *et al.*, 2002). *Vernonia colorata* é empregada em toda a África para o tratamento de várias doenças. Suas folhas podem ser

utilizadas no tratamento de tosse, diarreia, febre e como tônico em geral (RABE; MULLHOLLAND; STADEN, 2002).

Vernonia kotschyana Sch. Bip é utilizada na medicina popular africana para o tratamento de cólicas, tuberculose, dores de cabeça e dermatoses. Sendo utilizada também no tratamento da malária, impotência sexual masculina, enjoos durante a gravidez e como digestivo (NERGARD *et al.*, 2004).

De acordo com o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (2011), *Vernonia condensata* Baker é indicada como antidispéptico, sendo ingerida por infusão. Seu modo de usar consiste em tomar cerca de 150 mL do infuso, três vezes ao dia antes das principais refeições. Já a *Vernonia polyanthes* Less é indicada como expectorante, sendo ingerida também por infusão. O enfermo deve tomar uma vez ao dia cerca de 150 mL do infuso, logo após o preparo.

Há relatos que indicam que *Vernonia condensata* e *Vernonia polyanthes* são espécies capazes de causar abortos ou oferecer outros riscos para a gestação (MENGUE; MENTZ; SCHENKEL, 2001; AWE; MAKINDE; OLAJIDE, 1999).

Algumas plantas desse gênero além de serem utilizadas para fins medicinais, também são empregadas como alimentos e como matéria-prima na indústria (IWU, 1993). *Vernonia galamensis* é utilizada industrialmente devido aos seus teores de óleos nas sementes (TOYANG; VERPOORTE, 2013), enquanto que *Vernonia amygdalina* e a *Vernonia clorata* são ingeridas como vegetais folhosos (IWU, 1993).

2.3.3 *Vernonia polyanthes* Less

Vernonia polyanthes Less (Figura 2.8), conhecida popularmente como assa-peixe, assa-peixe-branco ou chamarrita, é um arbusto que varia de 1-3 m de altura, nativo da Bahia. Possui folhas simples, flores esbranquiçadas e o florescimento ocorre no início do inverno. Geralmente, é encontrada em pastagens, beira de estradas e em terrenos baldios. Para os pecuaristas é considerada uma planta daninha, sendo uma importante fonte de néctar para as abelhas produtoras de mel (LORENZI; MATOS, 2008).



Figura 2.8. Arbusto de *Vernonia polyanthes* Less.

São documentadas na sua caracterização fitoquímica a presença de ácidos fixos, aminogrupos, cumarinas, glicosídeos flavônicos, saponínicos e antraquinônicos, esteroides, triterpenos, alcaloides e taninos hidrolisáveis. A investigação química obteve resultados negativos para a presença dos glicosídeos antociânicos e cianogénéticos e taninos condensados (SOUZA *et al.*, 2008). Além de possuir flavonoides, óleos essenciais e glicosídeos possui também alcaloides (LORENZI; MATOS, 2008). Testes realizados no extrato bruto de *Vernonia polyanthes* Less verificaram atividade antimicrobacteriana na espécie (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007).

Foram isolados no extrato clorofórmico os triterpenos alfa e beta-amirina e lupeol (Figura 2.9) (BENFATTI; BARBASTEFANO; RODRIGUES, 2007). Estudos realizados por Mors *et al.* (2000) investigaram a capacidade dos extratos de algumas plantas de neutralizar a ação de venenos de cobras. Nesse estudo, os autores verificaram que o triterpeno lupeol apresentou uma taxa de 20% de proteção contra o veneno.

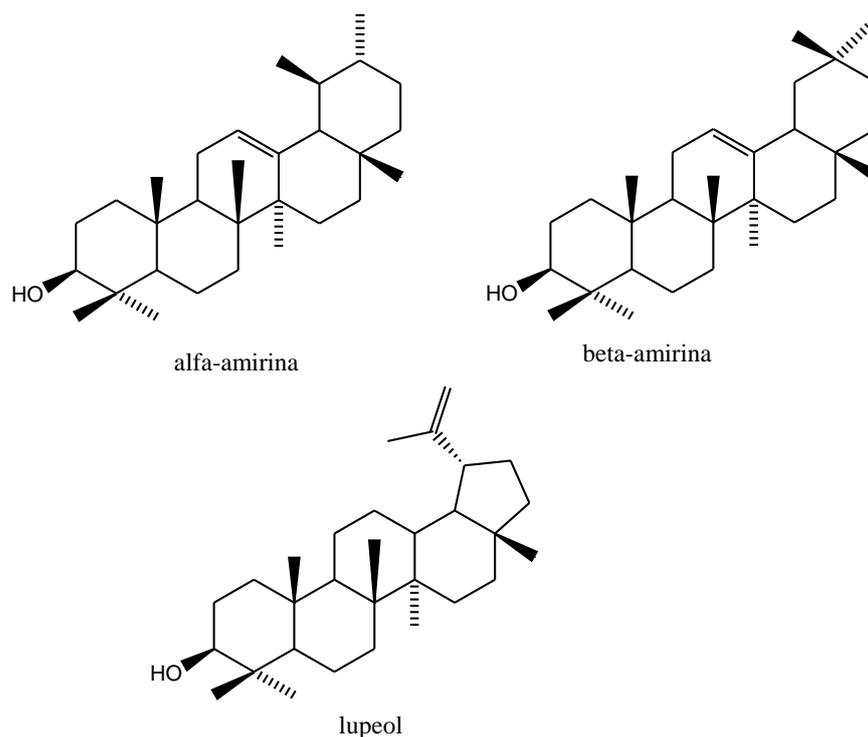
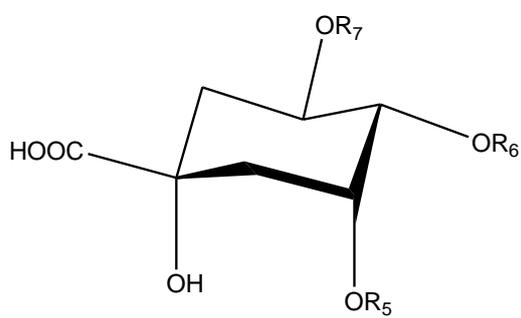
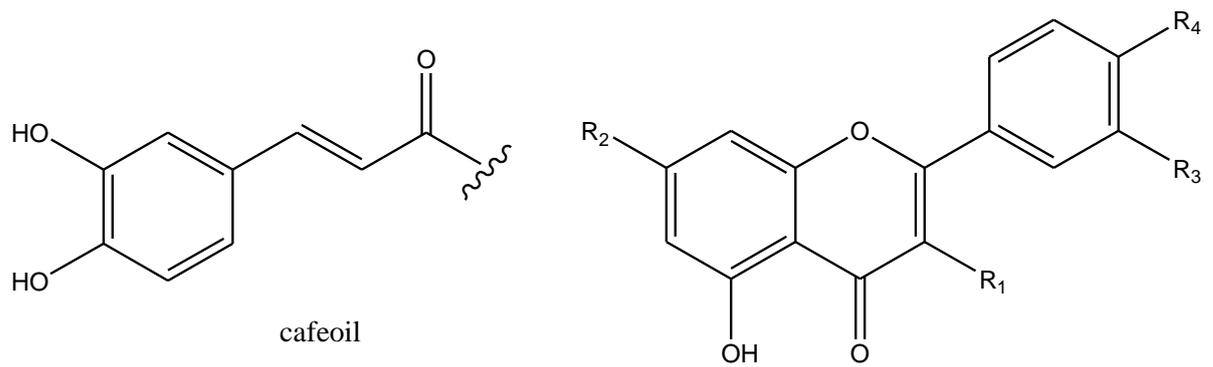


Figura 2.9. Estruturas moleculares dos triterpenos α -amirina e β -amirina e lupeol.

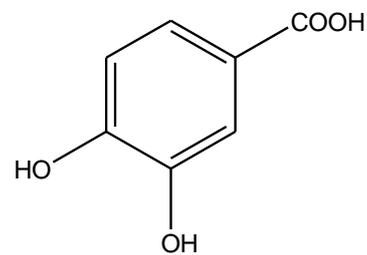
Também foram identificados no extrato hidroalcoólico das folhas os seguintes compostos: (1) 3,7-dimetoxi-5,3',4'-trihidroxi-flavona, (2) 3',4'-dimetoxiluteolina, (3) glaucolídeo A (4) ácido 3,5-di-*O*-(*E*)-cafeoilquínico, (5) ácido 4,5-di-*O*-(*E*)-cafeoilquínico, (6) luteolina, (7) quercetina, (8) Ácido protocatecuico, (9) quercetina-3-*O*- β -glucosídeo, (10) apigenina e (11) isoramnetina (Figura 2.10). Testes realizados por CLAE-UV-EM propôs a estrutura do flavonoide acetina-7-*O*-glicuronídeo e identificou no extrato hidrometanólico a presença de dois ácidos cafeoilquínicos, um mono e outro dissustituído e um flavonol. Já no extrato em acetato de etila foi constatada a presença de um ácido cafeoilquínico e três ácidos clorogênicos. No extrato de lavagem foliar e no extrato diclometânico foram encontrados duas lactonas sesquiterpênicas, sendo que no extrato de lavagem também foram encontrados dois flavonoides. Foram isolados e identificados no extrato em acetato de etila através de métodos cromatográficos, como a cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, cromatografia em coluna *flash* e cromatografia em camada delgada preparativa, os ácidos clorogênicos 3,5-di-*O*-*E*-cafeoilquínico e 4,5-di-*O*-*E*-cafeoilquínico, ácido protocatecuico e os flavonoides luteolina, apigenina, quercetina (Figura 2.11), quercetina-3-*O*- β -glucosídeo e isoramnetina (IGUAL *et al.*,2013).



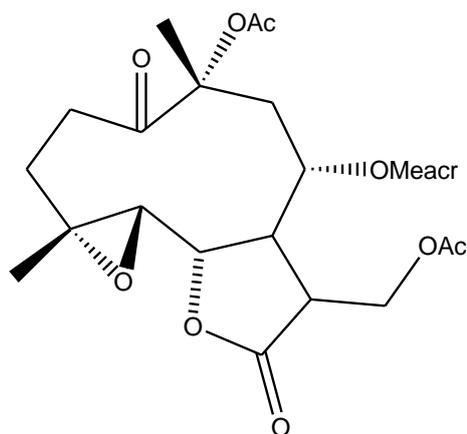
ácido quínico

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	OMe	OMe	OH	OH
2	H	OH	OMe	OMe
6	H	OH	OH	OH
7	OH	OH	OH	OH
9	O-beta-glu	OH	OH	OH
10	H	OH	H	OH
11	OH	OH	OMe	OH

	R ₅	R ₆	R ₇
4	cafeoil	H	cafeoil
5	H	cafeoil	cafeoil



Ácido protocatecuico



Glaucolídeo A

Figura 2.10. Estruturas químicas dos compostos isolados da *Vernonia polyanthes* Less.

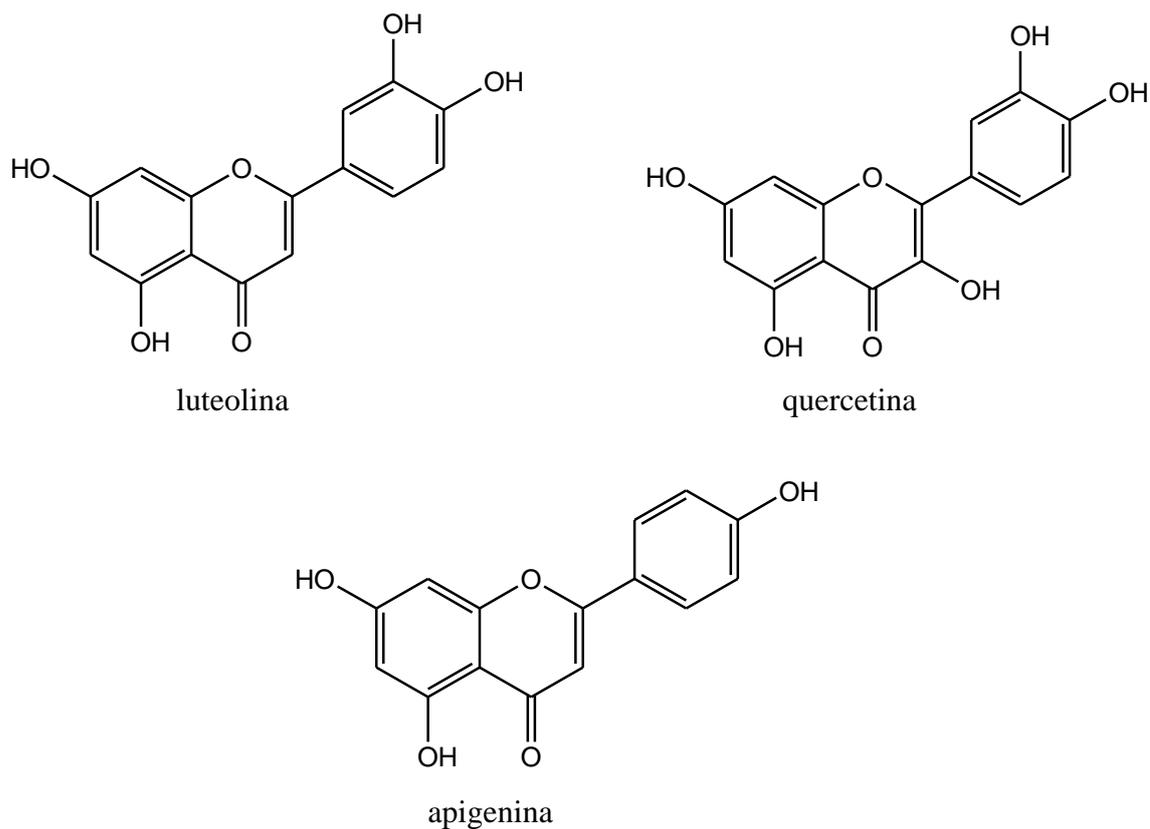


Figura 2.11. Estruturas químicas dos flavonoides luteolina, apigenina e quercetina.

2.3.4 *Vernonia condensata* Baker

Vernonia condensata Baker (Figura 2.12) é um arbusto que provavelmente foi trazido para o Brasil através dos escravos, no período colonial. Possui de 2-4 m de altura, folhas simples com sabor amargo, flores esbranquiçadas e o florescimento ocorre no verão. Essa espécie é conhecida popularmente como boldo, boldo-baiano, boldo-chinês ou boldo-goiano, sendo utilizada no tratamento de várias enfermidades. Registros da composição química da *Vernonia condensata* Baker relatam a existência de flavonoides, óleos essenciais, substâncias amargas (lactonas sesquiterpênicas), saponinas e o glicosídeo cardiotônico "vernonina" (LORENZI; MATOS, 2008).



Figura 2.12. Arbusto de *Vernonia condensata* Baker.

Teste de toxicidade aguda, embriotoxicidade e mutagenicidade realizados em camundongos utilizando extratos liofilizados de *Vernonia condensata* Baker demonstram que a toxicidade oral é muito baixa, não apresentando riscos teratogênicos ou mutagênicos, sendo que o único efeito tóxico constatado foi um pequeno retardo do crescimento fetal em doses de extrato elevado como 2.000 mg: kg peso corporal: dia (MONTEIRO *et al.*, 2001). Também foi verificado que os seus extratos brutos aquosos possuem propriedades analgésicas, sendo capaz de inibir contorções abdominais de ratos dependendo da dose provocada por 0,6% de ácido acético. Contudo, foi verificado que a fração menos polar aumentou o tempo de sono dos ratos utilizados nos testes, entretanto não houve nenhuma modificação em relação ao número de contorções abdominais (FRUTUOSO *et al.*, 1994).

Valverde e colaboradores (2001) isolaram o vernoniosideo B₂ (Figura 2.13) da *Vernonia condensata* e este composto apresentou propriedades anti-inflamatórias e analgésicas.

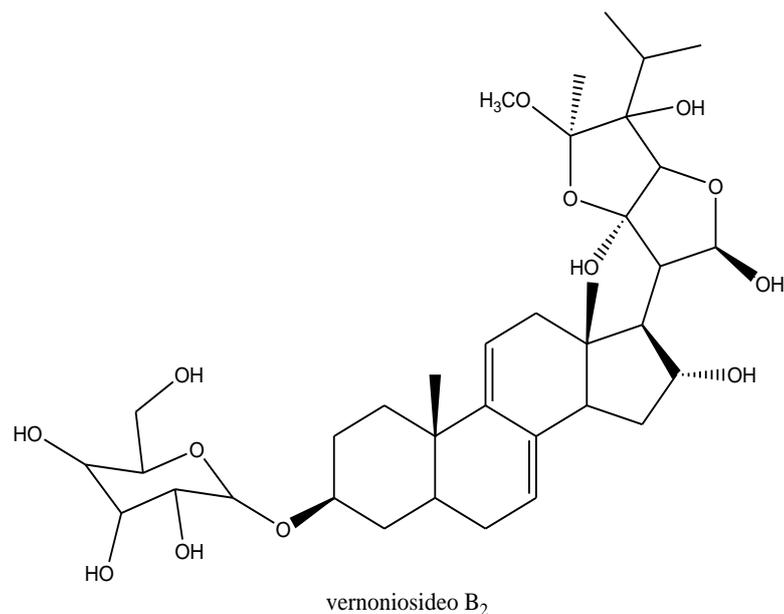


Figura 2.13. Estrutura química da vernoniosideo B₂ isolada a partir da *Vernonia condensata*.

O extrato aquoso de *Vernonia condensata*, com dose de até 5.000 mg kg⁻¹, via oral não causou a morte ou algum indício de toxicidade em testes realizados com ratos, essas doses de extratos também não alteraram a propulsão intestinal (SILVA *et al.*, 2006). Outros testes realizados com o extrato de *Vernonia condensata* (100 mg.kg⁻¹) geraram uma taxa de sobrevivência de 60 % em ratos nos quais foram aplicados cerca de 5 mg.kg⁻¹ de veneno de jararaca (PEREIRA *et al.*, 1994).

Teste de identificação de metabólitos secundários realizados em extratos dessa espécie comprovaram a presença de flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides e esteroides (SILVA *et al.*, 2013). Extratos da espécie apresentaram redução do número de contorções abdominais em camundongos (RISSO, 2008). Resultados obtidos por Frutuoso e colaboradores (1994) indicam que as folhas de *Vernonia condensata* Baker possuem propriedades analgésicas e antiulcerosas, nos produtos polares e nos menos polares há propriedades sedativas.

2.4. Metabólitos secundários

Estima-se que a utilização de produtos naturais para fins medicinais seja uma prática datada desde o surgimento da humanidade (ANDRADE *et al.*, 2007). Nos primórdios, o material vegetal era utilizado da forma como era encontrado na natureza, posteriormente, passou-se a concentrar esses produtos para a obtenção de um melhor resultado. Com o

desenvolvimento químico, a identificação e o isolamento de substâncias ativas passaram a ser realizados, proporcionando um progresso na síntese de moléculas com atividades terapêuticas. Mesmo com a evolução da síntese de novos fármacos, o uso da fitoterapia continuou a permanecer nas práticas da vida moderna (AURICCHIO; BACCHI, 2003). Com isso, é de fundamental importância conhecer o metabolismo das plantas para possibilitar a obtenção do conhecimento acerca de suas propriedades farmacológicas.

O metabolismo pode ser definido como um conjunto de transformação de moléculas orgânicas que ocorrem nas células vivas, sendo que essas transformações são catalisadas por enzimas (NELSON; COX, 2002). O metabolismo vegetal pode ser classificado em primário e secundário. Os metabólitos primários são considerados indispensáveis para a sobrevivência da planta, pois são considerados processos essenciais à vida e comum aos seres vivos. Já o metabolismo secundário pode ser definido como substâncias que não atuam diretamente na manutenção da vida do produtor, mas que proporcionam vantagens para a sua sobrevivência e para a continuidade da espécie (SANTOS, 2007).

Os metabólitos secundários auxiliam na sobrevivência da planta no ecossistema, pois participam da interação planta/ambiente, possuindo efeitos atrativos e repulsivos contra micro-organismos, insetos, vertebrados e plantas. São utilizados industrialmente para a produção de inseticidas, corantes, aromatizantes, medicamentos, na agronomia e na alimentação (MARASCHIN; VERPOORTE, 1999, SANTOS, 2007).

As alterações que ocorrem no metabolismo primário podem afetar drasticamente o metabolismo secundário e muitos metabólitos secundários são formados a partir de sequências de reações semelhantes com as do metabolismo primário. Com isso, não há uma separação bem definida entre o metabolismo primário e o secundário (SANTOS, 2007).

Os metabólitos secundários são formados por rotas metabólicas diversas e a partir de substâncias formadas no metabolismo primário (DELBONE; LANDO, 2010), sendo que eles veem gerando um grande fascínio devido a sua vasta atividade farmacológica (ALVES, 2001). Entretanto, a síntese dos metabólitos secundários das plantas deriva especialmente do metabolismo da glicose via dois intermediários: ácido chiquímico e acetato (Figura 2.14). Os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos, são formados a partir do ácido chiquímico. Mas muitos metabólitos secundários são resultado de uma combinação de um componente do ácido chiquímico e de um ou mais componentes do

acetato ou de seus derivados, como por exemplo, os flavonoides e os taninos condensados (SANTOS, 2007).

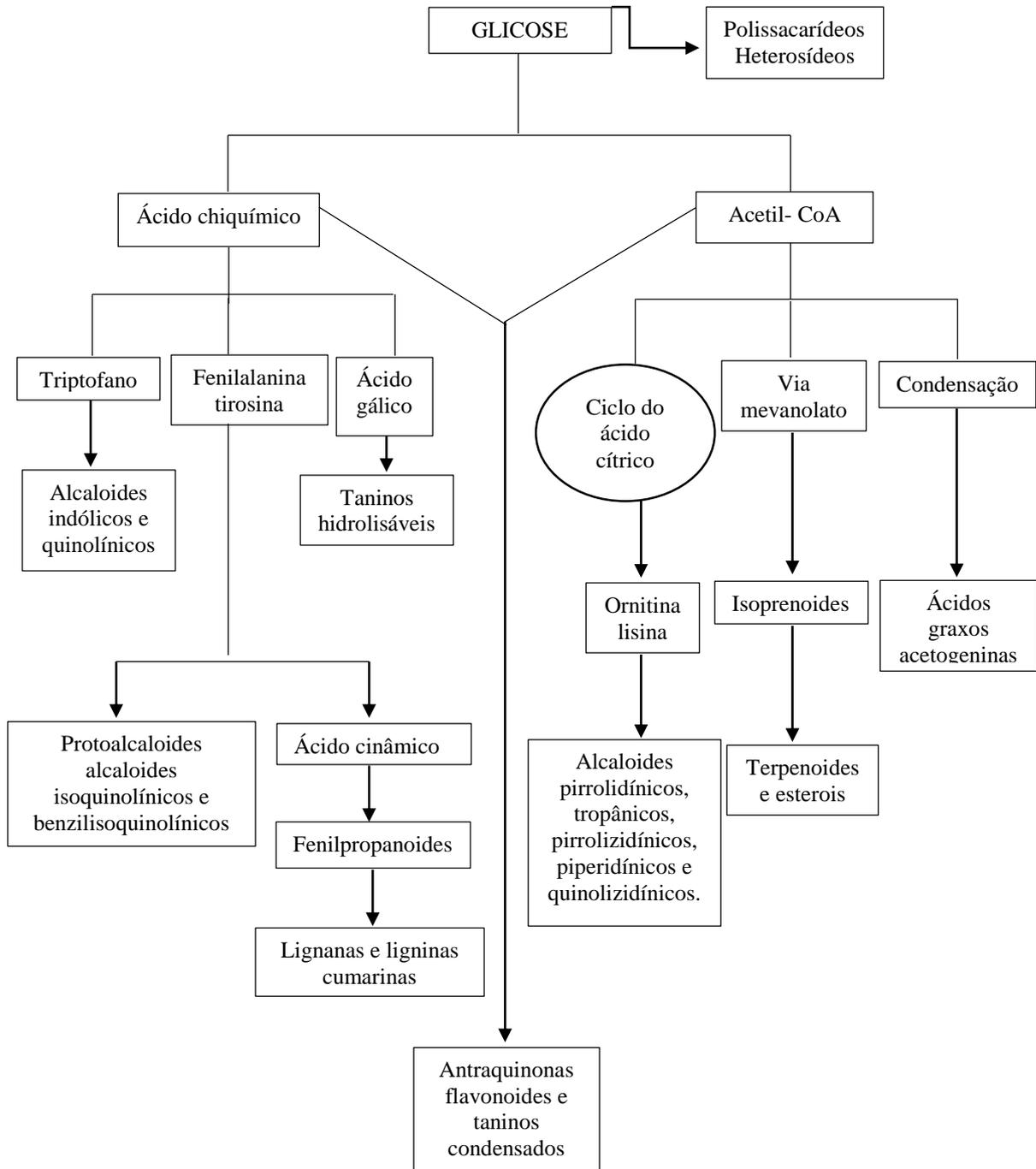


Figura 2.14. Síntese dos metabólitos secundários.

Fonte: SANTOS (2007).

Os metabólitos secundários que são encontrados na forma livre são intitulados de agliconas ou quando estão ligados a uma ou mais unidades de açúcar são chamadas de heterosídeos. Já os polissacarídeos que não são identificados como metabólitos secundários são considerados um importante grupo de produtos naturais, sendo produtos da polimerização de unidades de açúcar (SANTOS, 2007). Devido ao grande número de substâncias denominadas de metabólitos secundários, esses compostos foram divididos em três grupos: compostos fenólicos, alcaloides e terpenoides (DELBONE; LANDO, 2010).

2.4.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são uma classe de estruturas simples e complexas que são vastamente distribuídas no reino vegetal e nos micro-organismos, sendo também um componente do metabolismo animal. Esses compostos possuem pelo menos um anel aromático, sendo que ao menos, um hidrogênio é substituído por uma hidroxila. Entretanto, os animais não são capazes de sintetizar o anel aromático como as plantas e a maioria dos micro-organismos, com isso, os compostos fenólicos que são produzidos pelos animais utilizam o anel benzênico de substâncias oriundas da alimentação (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007).

Efeitos antioxidante, antibacteriano, antitumoral e antimutagênico são atividades biológicas fornecidas pelos compostos fenólicos (BHANDARI; KAWABATA, 2004). Além disso, eles são economicamente importantes, sendo utilizados como flavorizantes e corantes de alimentos e bebidas, pois auxiliam no sabor, odor e coloração de muitos vegetais (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007).

2.4.2 Terpenos

Os terpenos são substâncias de origem vegetal de grande importância ecológica para a defesa das plantas, sendo que vários monoterpenos foram isolados e estudados quanto à toxicidade frente a diferentes insetos (VIEGAS JR, 2003).

Quatro das seis principais classes de hormônios vegetais são pertencentes à classe dos terpenos. Além disso, os esteroides são uma importante classe de substâncias tanto para o reino vegetal quanto para o animal. Eles são precursores de hormônios em mamíferos, plantas e em insetos (PERES, 2004).

Observa-se uma variação nos níveis de terpenos em diferentes partes da planta durante o seu crescimento. *Chrysonthamus nauseosus*, da família Asteraceae, é uma espécie que possui uma grande quantidade de terpenos. Os níveis desses compostos interferem diretamente na proteção da planta contra herbívoros, sendo que nos meses de verão há um aumento nos níveis de terpenos ocasionando uma maior proteção nessa época do ano. Já no inverno, esses níveis diminuem drasticamente devido as suas folhas serem ingeridas por outros animais (VIEGAS JR, 2003).

2.4.3 Alcaloides

Os alcaloides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados principalmente nas angiospermas. Quando esses compostos possuem um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico eles são chamados de alcaloides verdadeiros. Quando o átomo de nitrogênio não pertence a um sistema heterocíclico eles são classificados como protoalcaloides. Já os pseudoalcaloides são compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos. Nas plantas, os alcaloides geralmente formam sais com ácidos, como por exemplo, o ácido quínico ou mecônico aminoácidos (HENRIQUES *et al.*, 2007).

Os alcaloides representam um imenso grupo de metabólitos secundários, possuem grande diversidade estrutural e representam cerca de 20 % das substâncias naturais descritas. A sua ampla variedade de atividades biológicas pode estar relacionada com a sua variedade estrutural. Eles podem ser utilizados como repelentes contra herbívoros ou mesmo na matéria-prima de fármacos. Dentre a sua vasta atividade biológica, pode-se destacar que esses compostos auxiliam no tratamento de Alzheimer, como a galantamina. Além disso, possuem propriedades antitumorais, antimalárico, antitussígenos e outros (HENRIQUES *et al.*, 2007).

2.4.4 Fatores que influenciam os níveis totais ou parcial de metabólitos secundários

Sabe-se que os metabólitos secundários sofrem influência de diversos fatores que interferem nos níveis totais ou parciais de suas substâncias. Esses fatores podem ser a sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos (Figura 2.15) (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

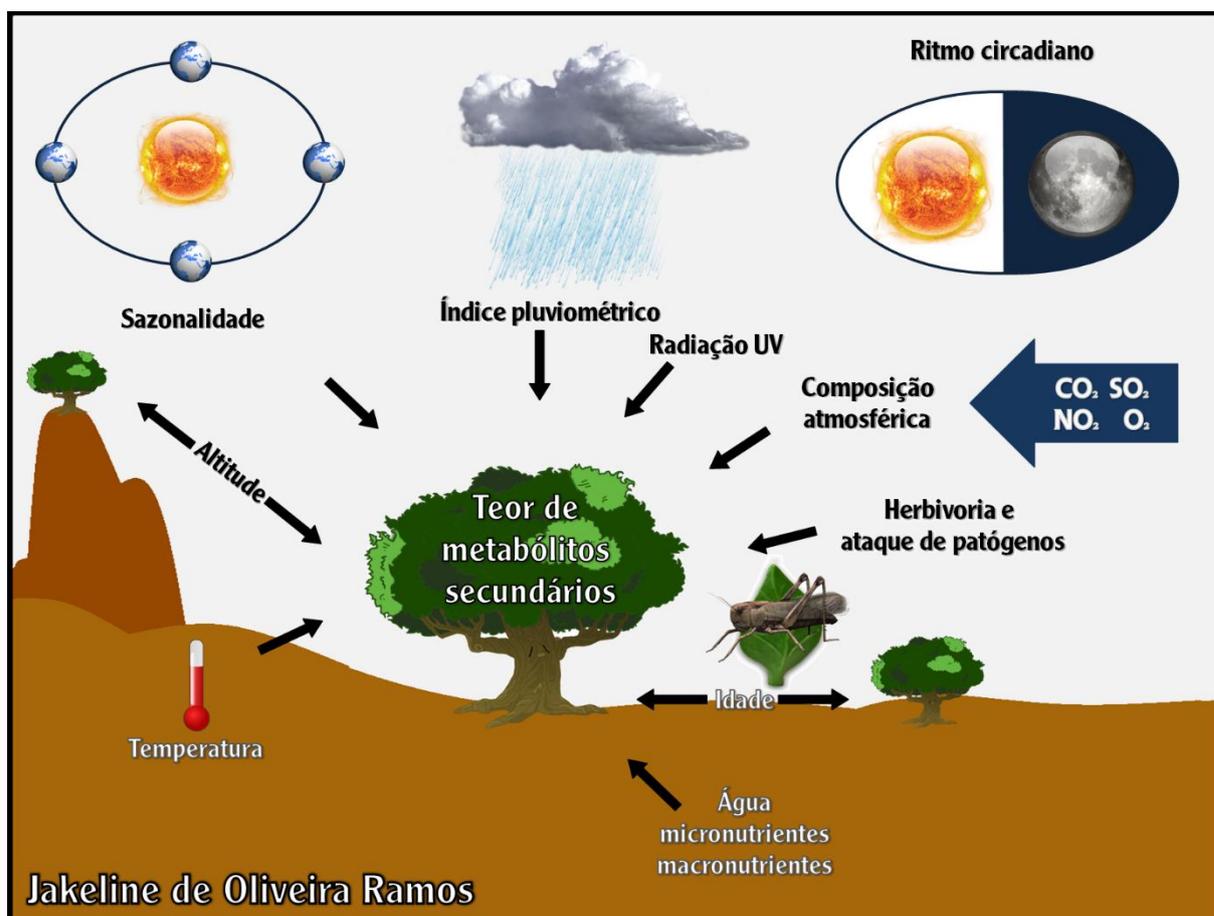


Figura 2.15. Fatores que influenciam os níveis totais ou parciais de metabólitos secundários.

2.5 Ensaio de Letalidade com *Artemia salina* Leach

O uso inadequado de plantas medicinais pode apresentar efeitos tóxicos, que muitas vezes são ignorados pela população em geral. Com isso, a toxicidade das plantas deve ser investigada, para que o uso de produtos naturais constitua-se uma prática segura (LIMA,

2014). Nesse sentido, o ensaio de letalidade frente à *Artemia salina* vem sendo muito utilizado em pesquisas de produtos naturais (HIROTA *et al.*, 2012), devido a sua simplicidade de manuseio, rapidez, baixo custo (NASCIMENTO *et al.*, 2008) e de fácil acesso, já que os ovos são encontrados em lojas de artigos para pesca.

A *Artemia salina* (Figura 2.16) é uma espécie de microcrustáceo marinho pertencente à ordem Anostraca. Uma *Artemia* adulta mede cerca de 10 mm de comprimento, enquanto que os cistos possuem diâmetro médio de 250 µm e os náuplios recém-eclodidos possuem em média 450 µm de comprimento (IGARASHI, 2008). Ela é conhecida como camarão de água salgada e tem sido um importante objeto de estudo, pois possui alta sensibilidade a uma variedade de compostos, grande quantidade de larvas obtidas na eclosão e a durabilidade que seus ovos apresentam quando estocados (CEPLEANU, 1993).



Figura 2.16. Náuplio de *Artemia salina*.

Fonte: <<http://worldaquarium.ru/artemiya-salina/>>

Uma característica do bioensaio com *Artemia* que o constitui uma prática viável é a semelhança dos efeitos tóxicos produzidos pelo microcrustáceo com aqueles produzidos pelos seres humanos (AMARAL; SILVA, 2008). O bioensaio de toxicidade com esse microcrustáceo baseia-se na estimativa da concentração de uma determinada substância através da resposta biológica (CAVALCANTE *et al.*, 2001).

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Coleta do material botânico

A coleta das folhas de *Vernonia condensata* Baker foi realizada na Fundação João Oliveira, localizada na zona leste de Anápolis. Já as folhas de *Vernonia polyanthes* Less foram coletas na Fazenda das Almas, em Miranópolis, zona norte do município de Anápolis. As duas coletas foram realizadas nos meses de setembro e outubro de 2013, respectivamente. Para isso, utilizaram-se facas para extração do material vegetal e sacos plásticos para o transporte dos mesmos.

3.2. Obtenção dos extratos brutos

Após coletado, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar a 40°C durante 3 dias e pulverizado em moinho Willey. As amostras secas foram pesadas e colocadas em frascos de vidro com etanol P.A. por 3 dias para a extração. O extrato foi filtrado e concentrado através da evaporação do solvente em rotaevaporador, a temperatura de aproximadamente 40°C, conforme representado na Figura 3.1.

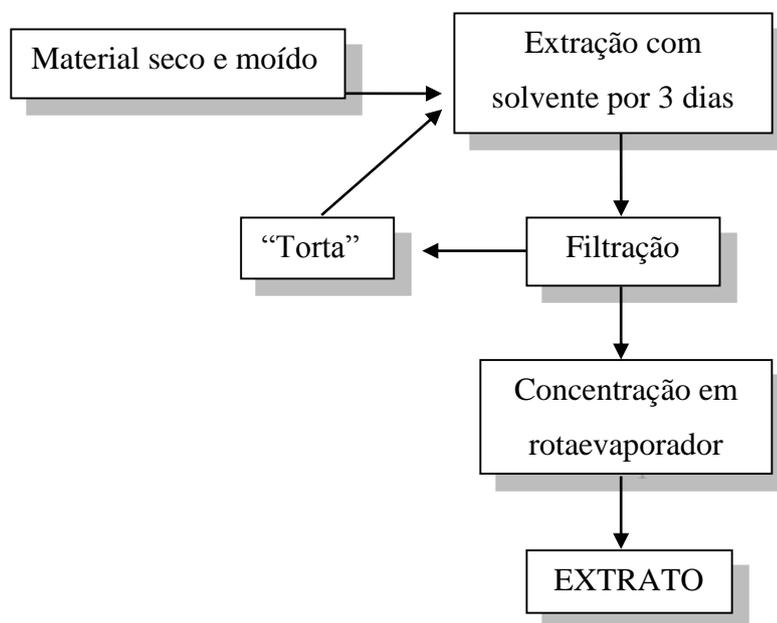


Figura 3.1. Obtenção dos extratos de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia Polyanthes* Less.

3.3. Fracionamento dos extratos e obtenção das frações

Os extratos etanólicos foram fracionados através de partição líquido-líquido, utilizando-se solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano e acetato de etila. Após o fracionamento, os solventes foram evaporados em banho-maria em temperatura de aproximadamente 40°C, originando as frações hexânicas, diclorometânicas, em acetato de etila e hidroalcoólicas, conforme a Figura 3.2.

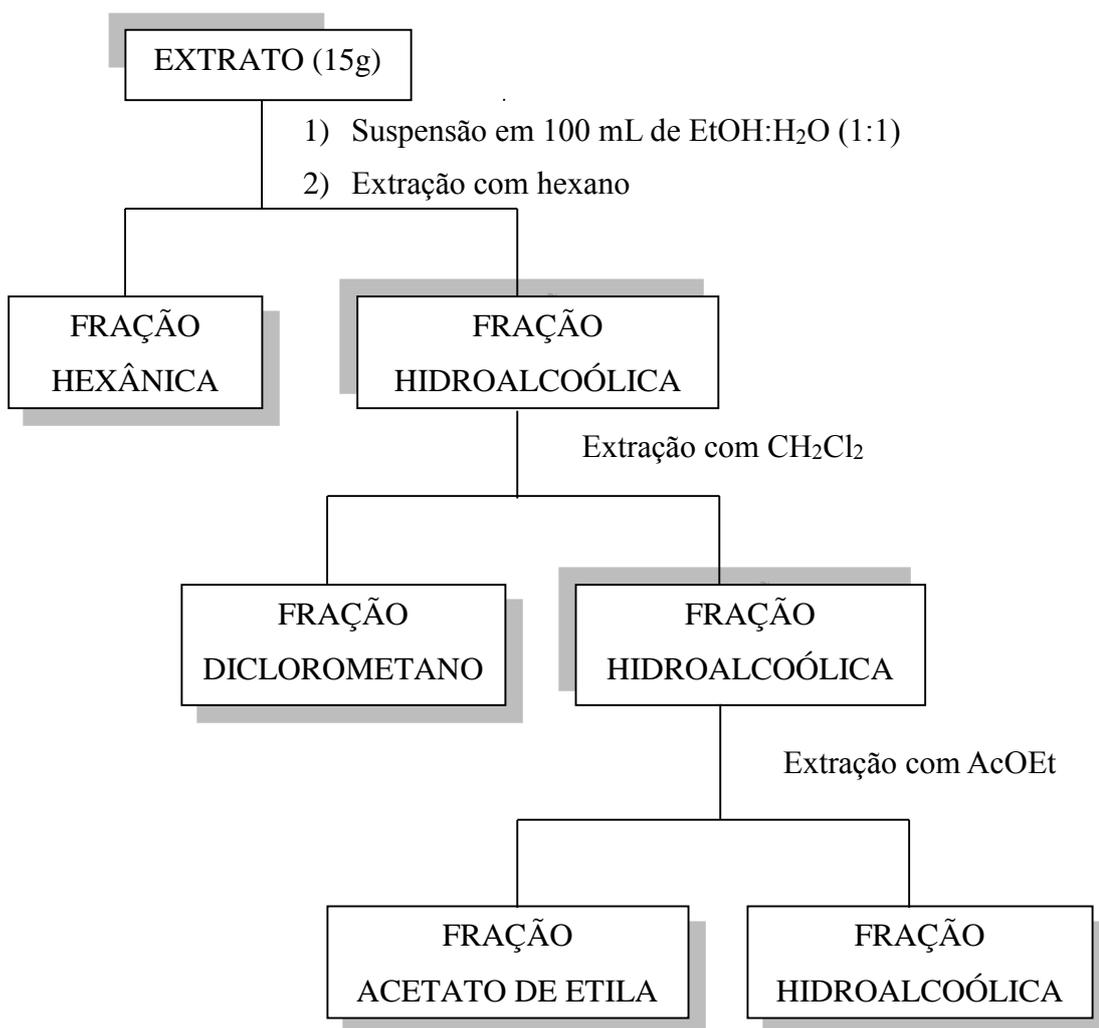


Figura 3.2. Metodologia utilizada na partição do extrato.

3.4 Preparação das amostras e ensaio de Letalidade de *Artemia salina* Leach

Os ensaios de Letalidade de *Artemia salina* foram realizados de acordo com a técnica descrita por Molinas-Salinas e Said-Fernández (2006), com algumas adaptações.

Na realização dos ensaios foram utilizados água destilada e sal marinho para a preparação de uma solução salina de concentração igual a 40g/L. Também foram adicionados cerca de 0.0006 g de extrato de levedura. Foram preparados dois litros de solução salina, sendo que um foi utilizado para a eclosão das larvas de *Artemias* e um litro para a renovação da água após a eclosão.

A solução salina foi levada em autoclave. Após o esfriamento da solução, 100 mg de ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em um kitassato com bomba de ar para oxigenação por um período de 36 horas em uma capela com temperatura ambiente, sob luz de 100 W.

Após este período, os náuplios foram coletados do kitassato para um bécker com o auxílio de uma pipeta. Uma nova solução salina foi adicionada para a renovação dos nutrientes. Para a realização dos ensaios, 10 náuplios de *Artemias* foram transferidos com uma micropipeta para a placa de Elisa (96 poços). Ao final da transferência, cada poço possuía 10 náuplios em 100 μL de solução salina.

Os extratos (0,01g) foram solubilizados em 0,3 mL de DMSO e em seguida foram acrescentados 9,7 mL de solução salina. Os extratos foram preparados em cinco concentrações diferentes: 1000 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 500 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 250 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, 125 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ e 62,5 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Os testes foram realizados em triplicatas e também verificou-se o comportamento dos náuplios frente ao branco (DMSO e solução salina) e ao dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) que foi utilizado como controle negativo.

Foram pipetados 100 μL dos extratos diluídos para cada poço que continha os 10 náuplios de *Artemias*. Em seguida, a placa foi tampada e deixada em temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, a placa foi analisada utilizando um microscópio para registrar a quantidade de náuplios mortos e vivos em cada poço (Figura 3.3).

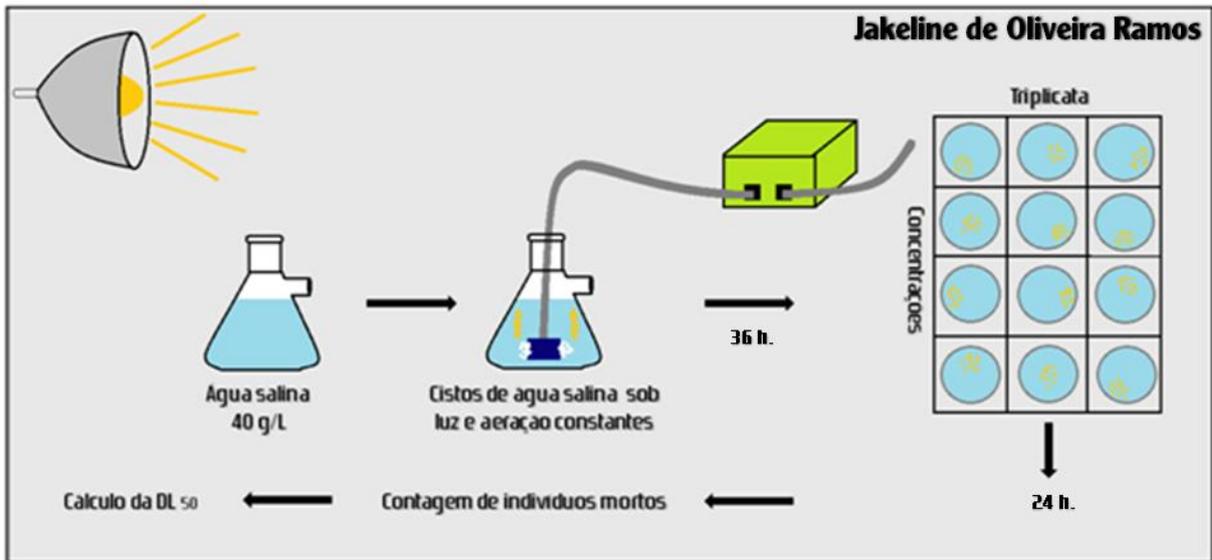


Figura 3.3. Esquema de preparação e eclosão dos ovos de *Artemia*.

Os dados gerados da análise da quantidade de náuplios de *Artemias* mortos em relação ao aumento da concentração dos extratos e frações testadas, foram analisados e plotados, os dados geraram uma equação linear simples na qual foi utilizada para estimar a DL₅₀.

3.5 Cálculo dos valores de DL₅₀

Os cálculos dos valores da dose que causa letalidade de 50% dos náuplios (DL₅₀) foram realizados pelo método PROBIT de análise.

" O probit é um método para estimar dose críticas em ensaios de dose-resposta [...]. Um ensaio do tipo dose-resposta é aquele onde uma determinada droga é administrada em k diferentes doses (níveis), d_1, d_2, \dots, d_k em, respectivamente, m_1, m_2, \dots, m_k indivíduos, obtendo-se como resposta, após um período especificado, y_1, y_2, \dots, y_k indivíduos que mudam de estado (ocorrência de um sucesso, por exemplo, morte). Neste tipo de ensaio uma amostra com indivíduos de uma mesma espécie é selecionada. Tal amostra é dividida em k grupos, cada um com m_i indivíduos, $i = 1, 2, \dots, k$. Cada dose é aplicada a cada grupo e o número de sucessos por grupo (morte do indivíduo, por exemplo) é contado. Dessa maneira, a resposta para cada grupo é uma variável aleatória com distribuição binomial com parâmetros m_i e π_i , ou seja, $Y_i \sim \text{Bin}(m_i, \pi_i)$ " (SOUZA; CHAVEZ; MUNIZ, 2011).

3.6 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Barbosa (2001) para a identificação da presença dos seguintes compostos: saponinas (saponinas espumídica e hemolítica), ácidos orgânicos, açúcares redutores, catequinas, esteroides e triterpenoides, carotenoides, depsídios e depsidonas, derivados da cumarina, antraquinonas, fenóis e taninos, flavonoides, alcaloides, purinas, heterosídeos cianogenéticos e polissacarídios.

3.6.1 Preparação dos reativos

Reativo de BOUCHARDAT: dissolveu-se 2 g de iodeto de potássio e 1 g de iodo ressublimado em 50 mL de água destilada.

Reativo de DRAGENDORFF:

Solução A: dissolveu-se 8 g de subnitrito de bismuto ($\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) em 20 mL de ácido acético.

Solução B: dissolveu-se 27,2 g de iodeto de potássio (KI) em 50 mL de água destilada. Adicionou-se aos poucos a solução A sobre a solução B.

Reativo de MAYER:

Solução A: dissolveu-se 1,36 g de cloreto mercúrico (HgCl_2) em 60 mL de água destilada.

Solução B: dissolveu-se 5 g de iodeto de potássio (KI) em 20 mL de água destilada.

As soluções A e B foram misturadas e diluídas para 100mL de solução.

Reativo de PASCOVÁ:

Solução A: dissolveu-se em 100 mL de etanol 0,075 g de verde de bromocresol e 0,25 g de azul de bromofenol.

Solução B: dissolveu-se em 100 mL de água destilada, 0,25 g permanganato de potássio (KMnO_4) e 0,25 g de carbonato de sódio ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Misturou-se 9 partes de A para 1 parte de B, no momento de usar.

Reativo de FEHLING:

Solução A: dissolveu-se 6.93 g de sulfato de cobre (CuSO_4) em água destilada e completar o volume para 100 mL.

Solução B: dissolveu-se 34,6 g de tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e 25g de hidróxido de potássio (KOH) em água destilada e diluiu para 100 mL. Utilizou-se na proporção de 2 mL de A, para 2 mL de B.

LUGOL:

Dissolveu-se 10 g de iodeto de potássio (KI) e 5 g de iodo em 50 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL.

Papel reativo de picrato de sódio:

Dissolveu-se 1g de ácido pícrico ($\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$) em 100 mL de água destilada. Acrescentou-se 10 g de carbonato de sódio e secou-se o papel em temperatura ambiente.

3.6.2 Testes**Saponinas**

Saponina espumídica: dissolveu-se 10 mg do extrato alcoólico seco em 5 mL de água destilada. Em seguida, diluiu-se para 15 mL e agitou-se vigorosamente durante 2 min em tubo fechado.

Resultado: se a camada de espuma permanecer estável por mais de meia hora, o resultado é considerado positivo para saponina espumídica.

Saponina hemolítica: dissolveu-se 10 mg do extrato seco, em 2 mL de solução de etanol a 80 %. Preparou-se 20 mL de suspensão de hemácias a 5% em solução de NaCl a 0,85 %. Juntou-se 10 mL da suspensão, a 1 mL do extrato em solução etanólica, homogeneizou-se cuidadosamente e deixou-se em repouso durante 5min. Repetiu-se o mesmo procedimento para os 10 mL de suspensão restante, no entanto, substituindo o extrato em solução por solução de NaCl a 0,85%. Centrifugou-se as duas preparações durante 5 min a 3500 rpm.

Preparação da suspensão de hemácias a 5%: retirou-se 5 mL de sangue humano, transferiu-se para um tubo de ensaio e adotou-se um volume padrão de solução salina e

procedeu-se a lavagem das hemácias, centrifugou-se durante 1 min a 3000 rpm e desprezou-se o líquido sobrenadante. Repetiu-se o procedimento de lavagem por 3 vezes. Em seguida, retirou-se 1 mL do concentrado de hemácias e adicionou-se 19 mL de solução de NaCl a 0,85% e homogeneizou-se.

Resultado: uma coloração vermelha ou rósea no líquido sobrenadante é considerada evidência de hemólise, quando comparada ao teste em branco.

Ácidos orgânicos

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e em seguida, transferiu-se 2 mL para um tubo de ensaio e adicionar gotas do reativo de Pascová.

Resultado: descoloração do reativo, a reação é positiva.

Açúcares redutores

Técnica 1: dissolve-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada.

Filtrou-se. Adicionou-se 2 mL do reativo de Fehling A e 2 mL do reativo de Fehling B. Aqueceu-se em banho-maria em ebulição durante 5 min.

Resultado: o aparecimento de um precipitado vermelho tijolo, indica presença de açúcares redutores.

Técnica 2: dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada.

Adicionou-se 1 mL de HCl concentrado e ferveu-se em banho-maria durante 10 min. Esfriou-se e neutralizou-se com solução de NaOH a 20%. Adicionou-se 2 mL do reativo de Fehling A e 2 mL de Fehling B. Aqueceu-se em banho-maria por 5 min.

Resultado: o aparecimento de precipitado vermelho, indica reação positiva para açúcares não redutores ou heterosídeos.

Heterosídeo cianogénico

Colocou-se em um erlenmeyer 10 g da planta fresca triturada, 10 mL de água destilada e 1 mL de H₂SO₄ concentrado, vedou-se o erlenmeyer com uma rolha de cortiça onde estava preso o papel reativo de picrato de sódio. Aqueceu-se a 50° C durante 30 minutos.

Resultado: se o papel corar de marrom – avermelhado, indica reação positiva para ácido cianídrico.

Polissacarídios

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e adicionou-se duas gotas de lugol.

Resultado: o aparecimento de coloração azul, indica resultado positivo.

Fenóis e taninos

Dissolveu-se 10 mg de extrato seco em 5 mL de água destilada, filtrou-se e adicionar 2 gotas de solução alcoólica de FeCl₃ a 1%.

Resultado: qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + solução de FeCl₃). Coloração inicial entre o azul e o vermelho, é indicativo da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo.

Precipitado escuro de tonalidade azul, indica presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, presença de taninos catéquicos.

Flavonoides

Geral: dissolveu-se 10 mg do extrato seco, em 10mL de metanol. Adicionou-se 5 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio.

Resultado: o surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

Alcaloides

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de solução de HCl a 5%. Em seguida, separou-se três porções de 1 mL em tubos de ensaio e adicionou-se gotas dos reativos abaixo:

Reativo de Bouchardat, resultado: precipitado laranja avermelhado

Reativo de Dragendorff, resultado: precipitado vermelho tijolo

Reativo de Mayer, resultado: precipitado branco

Purinas

Em uma cápsula de porcelana, colocou-se 10 mg do extrato seco, 3 gotas de solução de HCl 6 M e 2 gotas de H₂O₂ concentrado (30%). Evaporou-se em banho-maria. Juntou-se 3 gotas de solução de NH₄OH 6 M.

Resultado: o surgimento de coloração violeta indica reação positiva.

Catequinas

Técnica 1: Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 3 mL de metanol. Acrescentou-se 1 mL de solução aquosa de vanilina a 1% e 1 mL de HCl concentrado.

Resultado: o surgimento de uma coloração vermelha intensa indica reação positiva.

Técnica 2: Embebeu-se um palito de fósforo na solução (extrato seco + metanol). Evaporou-se até secar e umedeceu em HCl concentrado, em seguida, secou-se ao calor de uma chama forte.

Resultado: o aparecimento de cor vermelha, indica presença de catequinas.

Esteroides e triterpenoides

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 10 mL de clorofórmio. Filtrou-se sobre carvão ativado. Transferiu-se o filtrado para um tubo de ensaio e adicionou-se 1 mL de anidrido acético. Agitou-se e em seguida, adicionou-se 3 gotas de H₂SO₄ concentrado. Agitou-se novamente.

Resultado: desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente, ao verde persistente que indicam resultado positivo.

Derivados da cumarina

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de éter etílico, concentrou-se em banho-maria até 0,5 mL. Em papel filtro, aplicou-se gotas da solução etérea, de modo a formar duas manchas de aproximadamente 1cm de diâmetro cada. A uma destas, juntou-se 1 gota de solução de NaOH a 1M. Cobriu-se a metade da mancha com papel escuro e expôs-se a outra metade a luz ultravioleta. Descobriu-se e comparou-se.

Resultado: fluorescência azul na parte exposta da mancha, indica reação positiva.

Antraquinonas

Técnica 1: dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de tolueno. Adicionou-se 2 mL de solução de NH₄OH a 10%, agitou-se suavemente.

Resultado: o aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

Técnica 2: ferveu-se durante 15 min 10 mg do extrato, em 10 mL de solução aquosa de H₂SO₄ a 10 %. Filtrou-se o líquido ainda quente. Transferiu-se o filtrado para um funil de decantação, adicionou-se mais 10 mL de água destilada e extraiu-se duas vezes com 10 mL de

tolueno. Reuniu-se os extratos toluênicos e concentrou-se até 3 mL, depois adicionou-se 3 mL de solução de NH_4OH a 10%.

Resultado: o aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

Carotenoides

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 3 mL de clorofórmio. Juntou-se 2mL de clorofórmio saturado com tricloreto de antimônio.

Resultado: o aparecimento de coloração azul, indica reação positiva.

Depsídios e depsidonas

Dissolveu-se 10 mg do extrato seco em 5 mL de éter etílico. Evaporou-se todo o éter em banho-maria juntou-se ao resíduo 3mL de metanol. Agitou-se e adicionou-se 3 gotas de solução de FeCl_3 a 1%.

Resultado: o aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, indica reação positiva

A etapa da utilização do rotaevaporador foi realizada no laboratório de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Goiás (UEG) e a obtenção de alguns reagentes utilizados nos testes de identificação da presença de metabólitos secundários e de materiais utilizados no teste de letalidade frente às larvas de *Artemia salina* também foram fornecidos pela UEG. As demais etapas foram realizadas nos laboratórios de Química Orgânica e Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados da extração

Os extratos brutos etanólicos das folhas de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less foram obtidos de acordo com os procedimentos descritos em 3.1. A Tabela 4.1 apresenta as quantidades obtidas dos extratos brutos.

Tabela 4.1. Massa de material vegetal e quantidade de extrato obtido das folhas de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less.

Material Vegetal Seco (g)	Solvente	Massa de extrato obtida (g)	Rendimento (%)	Código
<i>Vernonia condensata</i> Baker (1.010)	Etanol	72, 4394	7,17	VCFE
<i>Vernonia polyanthes</i> Less (950,78)	Etanol	56, 8029	5,97	VPFE

V = Vernonia; C = Condensata; P = Polyanthes, F = Folha; E = Etanol.

4.2 Resultados do fracionamento dos extratos brutos através da partição líquido-líquido

A Tabela 4.2 apresenta a quantidade inicial dos extratos brutos etanólicos das folhas de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less e o rendimento das frações hexânicas, diclorometânicas, em acetato de etila e hidroalcoólicas obtidas através da partição líquido-líquido.

Tabela 4.2. Massa das frações obtidas da partição líquido-líquido dos extratos brutos de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less.

Extrato (g)	Solvente	Massa das frações obtidas (g)	Rendimento (%)	Código
Vernonia condensata Baker (30)	Hexano	8,1928	42,63	VCFE-H
	Diclorometano	6,6035	34,36	VCFE-D
	Acetato de etila	0,7633	3,97	VCFE-A
	Resíduo aquoso	3,6584	19,04	VCFE-W
Vernonia polyanthes Less (30)	Hexano	13,0412	68,00	VPFE-H
	Diclorometano	3,9356	20,52	VPFE-D
	Acetato de etila	0,7072	3,69	VPFE-A
	Resíduo aquoso	1,4952	7,79	VPFE-W

V = Vernonia; C = Condensata; P = Polyanthes, F = Folha; E = Etanol; H = Hexano; D = Diclorometano; A= Acetato de etila; W= Água.

4.3 Avaliação da atividade tóxica de extratos e frações de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less

Os ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* foram realizados com cinco amostras de *Vernonia condensata*: VCFE, VCFE-H, VCFE-D, VCFE-A e VCFE-W e com cinco amostras de *Vernonia polyanthes*: VPFE, VPFE-H, VPFE-D, VPFE-A e VPFE-W.

A Tabela 4.3 apresenta os valores de DL₅₀ das dez amostras analisadas, nota-se que todas as amostras apresentaram um DL₅₀> 1000 µg. mL⁻¹.

Tabela 4.3. Avaliação da atividade tóxica de extratos e frações de *Vernonia condensata* e *Vernonia polyanthes*.

Amostra	DL ₅₀ (µg. mL ⁻¹)
VCFE	>1000
VCFE-H	>1000
VCFE-D	>1000
VCFE-A	>1000
VCFE-W	>1000
VPFE	>1000
VPFE-H	> 1000
VPFE-D	> 1000
VPFE-A	>1000
VPFE-W	>1000

V = Vernonia; C = Condensata; P = Polyanthes, F = Folha; E = Etanol; H = Hexano; D = Diclorometano; A= Acetato de etila; W= Água.

Como a quantidade de náuplios mortos foram valores muito baixos, não foi possível a realização do cálculo da DL₅₀ pelo PROBIT. No entanto, de acordo com Westerlon (2006) quando isso ocorre, considera-se os valores da DL₅₀ >1000 µg. mL⁻¹.

De acordo com Meyer *et al.* (1982) são consideradas atóxicas as amostras que apresentam DL₅₀ > 1000 µg. mL⁻¹ e tóxicas as que apresentam DL₅₀ < 1000 µg. mL⁻¹. Como todas as amostras testadas apresentaram um DL₅₀ > 1000 µg. mL⁻¹, elas podem ser consideradas atóxicas frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

Como esse ensaio apresenta uma boa relação com a atividade antitumoral e anti-*Trypanossoma cruzi* (CAVALCANTE *et al.*, 2001), provavelmente as duas espécies testadas não apresentam atividade antitumoral ou antitripanossomicida. Esse bioensaio também possui uma boa correlação com a atividade antifúngica, antimicrobiana, antiviral e parasiticida (PISUTTHANAN *et al.*, 2004; KRISHNARAJU *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos coincidem com testes de toxicidade realizados por Monteiro *et al.*, (2001) utilizando ratos e folhas de *Vernonia condensata* que indicam que o extrato aquoso apresenta uma toxicidade muito baixa, sendo que nenhuma morte ou outros sinais de toxicidade pudessem ser detectados. Também foram realizadas necropsias nos ratos (14 dias após a ingestão) e nenhuma alteração patológica foi constatada.

Os resultados podem permitir uma maior compreensão do comportamento fitoquímico e biológico das duas espécies de *Vernonia*, sendo que elas são muito utilizadas como plantas medicinais e indicadas para o tratamento de diversas enfermidades como a

Vernonia condensata Baker que é indicada para o tratamento de distúrbios do fígado (BOORHEM, 2009; FRUTUOSO *et al.*, 1994), estimulante de apetite e inflamação na vesícula (PANIZZA, 1998; BOORHEM, 2009). Enquanto que a *Vernonia polyanthes* Less é utilizada para o tratamento de enfermidades como afecções de pele, dores musculares e reumatismo (PANIZZA, 1998). A atoxicidade dessas plantas pode ser uma justificativa para o sucesso do uso dessas espécies como plantas medicinais.

4.4 Identificação da presença de metabólitos secundários

Os testes de identificação da presença de metabólitos secundários foram realizados com os dois extratos brutos (VCFE e VPFE) e com as oito frações (VCFE-H, VCFE-D, VCFE-A, VCFE-W, VPFE-H, VPFE-D, VPFE-A e VPFE-W) de *Vernonia condensata* Baker e *Vernonia polyanthes* Less.

A Tabela 4.4 apresenta os resultados dos testes realizados com os extratos brutos, VCFE e VPFE.

Tabela 4.4. Resultados nos testes realizados nos extratos brutos de *Vernonia condensata* e *Vernonia polyanthes*.

	VCFE	VPFE
Saponina espumídica	Negativo	Negativo
Saponina hemolítica	Positivo	Positivo
Ácidos orgânicos	Negativo	Negativo
Açúcares redutores	Negativo	Negativo
Heterosídeo cianogénico	Negativo	Negativo
Polissacarídios	Negativo	Negativo
Fenóis e taninos	Negativo	Positivo para taninos catéquicos
Flavonoides	Negativo	Negativo
Alcaloides	Negativo	Negativo
Purinas	Negativo	Negativo
Catequinas	Negativo	Negativo
Esteroides e triterpenoides	Positivo	Positivo
Carotenoides	Negativo	Negativo
Depsídeos e depsidonas	Negativo	Negativo
Derivados de cumarina	Negativo	Negativo
Antraquinonas	Negativo	Negativo

V = Vernonia; C = Condensata; P = Polyanthes, F = Folha; E = Etanol.

Dos testes realizados nos extratos brutos das duas espécies do gênero *Vernonia*, somente os taninos catéquicos apresentaram resultado positivo para *Vernonia polyanthes*. Enquanto que os esteroides e triterpenoides apresentaram resultados positivos para as duas espécies.

A presença de taninos foi constatada em outra espécie do gênero *Vernonia*, no extrato metanólico das folhas de *Vernonia amygdalina* (AWE; MAKINDE; OLAJIDE, 1999). Esse metabólito apresenta atividade antioxidante, antimicrobiana, antimutagênica e

imunomoduladora (CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998; HASLAM, 1996). Já os esteróides são considerados uma das classes de substâncias mais importantes, sendo precursores de hormônios em mamíferos, plantas e em insetos (PERES, 2004).

Os extratos brutos das duas espécies apresentaram resultados positivos para saponinas hemolíticas, entretanto apresentaram resultados negativos para saponinas espumílicas (Figura 4.1).

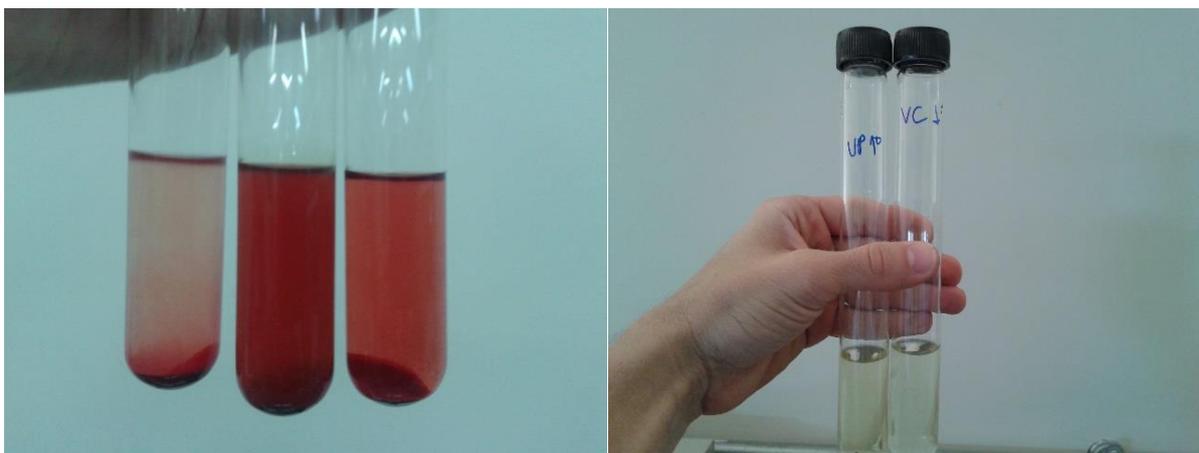


Figura 4.1. Teste de identificação da presença de saponinas hemolíticas e espumílicas.

Os demais testes apresentaram resultados negativos. Entretanto, alguns fatores como a temperatura, a sazonalidade e a disponibilidade hídrica (GOBBO-NETO; LOPES, 2007), podem interferir nos níveis parciais ou totais de metabólitos secundários, sendo que as duas espécies podem ter sofrido algum tipo de interferência nos seus níveis de metabólitos. Além disso, os metabólitos secundários podem estar “mascarados” nos extratos brutos por meio de interações, por isso, foram realizados testes utilizando frações hexânicas, diclorometânicas, em acetato de etila e hidroalcolólicas com o intuito de identificar essas possíveis substâncias.

A Tabela 4.5 apresenta os resultados dos testes realizados com as frações de *Vernonia condensata* Baker: VCFE-H, VCFE-D, VCFE-A, VCFE-W.

Tabela 4.5. Resultados nos testes realizados nas frações *Vernonia condensata*.

	VCFE-H	VCFE-D	VCFE-A	VCFE-W
Saponina espumídica	*	*	Positivo	Positivo
Ácidos orgânicos	*	*	Positivo	Positivo
Açúcares redutores	*	*	Negativo	Negativo
Polissacarídios	*	*	Negativo	Negativo
Fenóis e taninos	*	*	Positivo para taninos catéquicos	Positivo para taninos catéquicos
Flavonoides	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Alcaloides	*	*	Negativo	Positivo
Catequinas	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Esteroides e triterpenoides	Positivo	Positivo	*	*
Carotenoides	Positivo	Negativo	*	*
Depsídios e depsidonas	Positivo	Negativo	*	*
Derivados de cumarina	Negativo	Negativo	*	*

V = Vernonia; C = Condensata; F = Folha; E = Etanol; H = Hexano; D = Diclorometano; A= Acetato de etila; W= Água.

*As amostras não foram solúveis nos solventes utilizados.

A Tabela 4.6 apresenta os resultados dos testes realizados com as frações de *Vernonia polyanthes* Less: VPFE-H, VPFE-D, VPFE-A, VPFE-W.

Tabela 4.6. Resultados nos testes realizados nas frações de *Vernonia polyanthes*.

	VPFE-H	VPFE-D	VPFE-A	VPFE-W
Saponina espumídica	*	*	Positivo	Positivo
Ácidos orgânicos	*	*	Positivo	Positivo
Açúcares redutores	*	*	Negativo	Negativo
Polissacarídios	*	*	Negativo	Negativo
Fenóis e taninos	*	*	Positivo para taninos catéquicos	Positivo para taninos catéquicos
Flavonoides	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Alcaloides	*	*	Negativo	Negativo
Catequinas	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Esteroides e triterpenoides	Positivo	Negativo	*	*
Carotenoides	Positivo	Negativo	*	*
Depsídeos e depsidonas	Positivo	Negativo	*	*
Derivados de cumarina	Negativo	Negativo	*	*

V = Vernonia; P = Polyanthes, F = Folha; E = Etanol; H = Hexano; D = Diclorometano; A= Acetato de etila; W= Água.

*As amostras não foram solúveis nos solventes utilizados.

Alguns testes utilizando as frações não puderam ser realizados devido a esses compostos não serem solúveis nos solventes empregados. No entanto, os resultados obtidos da identificação da presença de metabólitos secundários nas espécies *Vernonia condensata* e *Vernonia polyanthes* revelam a presença de alguns metabólitos como saponina espumídica, ácidos orgânicos e taninos, nas frações em acetato de etila e hidroalcolica das duas plantas. Além disso, a fração hidroalcolica de *Vernonia condensata* apresentou resultados positivos

para alcaloides, enquanto que as frações em acetato de etila e hidroalcoólicas de *Vernonia polyanthes* exibiram resultados positivos para flavonoides.

Os resultados dos testes puderam ser verificados através de mudança na coloração, formação de espumas ou através da formação de precipitados. No teste de identificação de flavonoides nas frações em acetato de etila, hidroalcoólica e diclorometânica de *Vernonia polyanthes* houve o surgimento de uma coloração rósea indicante resultado positivo para flavonoides (Figura 4.2). Já os resultados positivos para esteroides e triterpenoides puderam ser observados através do desenvolvimento de uma coloração que variou do azul evanescente ao verde persistente (Figura 4.2).

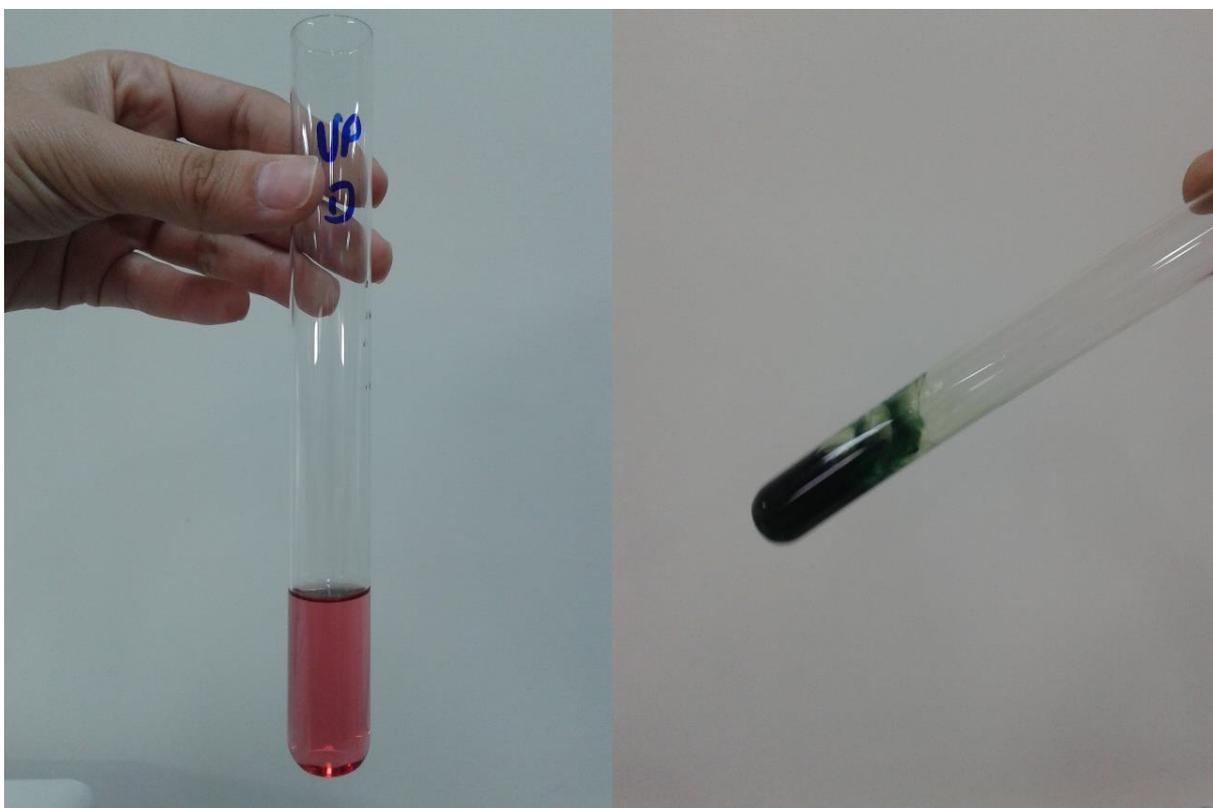


Figura 4.2. Teste de identificação da presença de alcaloides, esteroides e triterpenoides.

Na identificação de fenóis e taninos, houve o surgimento de um precipitado verde, indicando a presença de taninos catéquicos nas frações hidroalcoólica e em acetato de etila das duas espécies do gênero *Vernonia* (Figura 4.3). Essas frações apresentaram resultados positivos também para saponinas espumídicas, sendo que ocorreu a formação e permanência estável de uma camada de espuma por mais de meia hora (Figura 4.3).

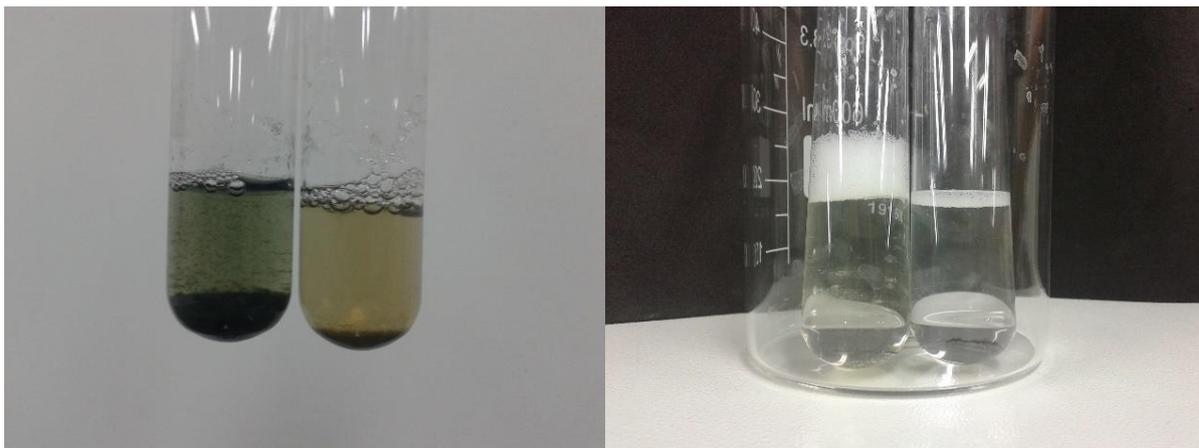


Figura 4.3. Teste de identificação da presença de taninos catéquicos e saponinas espumíficas.

As frações hexânicas das duas plantas apresentaram resultados positivos para esteroides e triterpenoides, carotenoides, depsídeos e depsidonas, enquanto que a fração diclorometânica da *Vernonia condensata* só apontou resultados positivos para esteroides e triterpenoides, a diclorometância da *Vernonia polyanthes* comprovou a presença de flavonoides. Estudos realizados com *Vernonia polyanthes* isolaram no extrato clorofórmico os triterpenos alfa e beta-amirina e lupeol (BENFATTI *et al*, 2007).

Há registros que relatam na composição química da *Vernonia condensata* a presença de flavonoides e saponinas (LORENZI; MATOS, 2008). Nos testes realizados, não houve a constatação da presença de flavonoides, enquanto que as saponinas foram verificadas. Além disso, outros testes de identificação de metabólitos secundários realizados por Silva e colaboradores (2013) comprovaram a presença de taninos, alcaloides e esteroides no extrato de *Vernonia condensata*. Nos testes realizados, as frações hidroalcólicas e em acetato de etila apontaram resultados positivos para taninos catéquicos, sendo que a hidroalcóolica também indicou resultados positivos para alcaloides. Já as frações hexânica e diclorometânica apresentaram resultados positivos para esteroides.

A caracterização fitoquímica da *Vernonia polyanthes* evidência a presença de ácidos fixos, aminogrupos, cumarinas, glicosídeos flavônicos, saponínicos e antraquinônicos, esteroides, triterpenos, alcaloides, taninos hidrolisáveis e flavonoides (SOUZA *et al.*, 2008; LORENZI; MATOS, 2008). Das quatro frações utilizadas de *Vernonia polyanthes*, três apresentaram resultados positivos para flavonoides, entretanto, a presença de alcaloides não foi detectada, já a fração hexânica apontou resultados positivos para esteroides e triterpenos.

Triterpenos, esteroides e lignanas são os principais constituintes químicos do gênero *Vernonia*, sendo que os flavonoides e as lactonas sesquiterpênicas são encontrados com maior frequência (CARVALHO; COSTA; ABREU, 1999).

Esses resultados revelam que as duas espécies possuem em comum alguns metabólitos secundários como taninos catéquicos, ácidos orgânicos, saponinas, esteroides e triterpenos, carotenoides, depsídios e depsidonas que foram identificados em suas frações. No entanto, diferem na presença de flavonoides e alcaloides.

Os testes de identificação de metabólitos permitiram a verificação da presença de alguns metabólitos nas duas espécies do gênero *Vernonia*. Esses compostos podem ser responsáveis pelas propriedades farmacológicas desempenhadas por essas plantas. Propriedades que fazem com que essas espécies sejam muito utilizadas na medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades.

Os flavonoides, identificados nas frações hidroalcoólica, em acetato de etila e diclorometânica de *Vernonia polyanthes*, apresentam propriedades antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante e antiviral (ZUANAZZI; MONTANHA, 2007). Já os taninos, presentes no extrato bruto de *Vernonia polyanthes* e nas frações hidroalcoólica e em acetato de etila das duas espécies, possuem atividade antioxidante, antimicrobiana, antimutagênica e imunomoduladora (CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998; HASLAM, 1996).

As saponinas, identificadas nos extratos brutos e nas frações hidroalcoólica e em acetato de etila de *Vernonia polyanthes* e *Vernonia condensata*, possuem atividade anti-inflamatória, antialérgica, antifúngica, antiviral, antiulcerogênica e sedativa (CABALLERO-GEORGE *et al.*, 2004; LECAILLE-DUBOIS; WAGNER, 1996).

Na *Vernonia polyanthes* foram identificados alcaloides na fração hidroalcoólica. Esses compostos auxiliam no tratamento de Alzheimer e possuem propriedade antitumoral, antimalárico e antitussígeno (HENRIQUES *et al.*, 2007).

5. CONCLUSÃO

Os extratos brutos e as frações testadas (hexânicas, diclorometânicas, em acetato de etila e hidroalcoólicas) de *Vernonia polyanthes* Less e *Vernonia condensata* Baker foram consideradas atóxicas frente às larvas de *Artemia salina* Leach, apresentando $DL_{50} > 1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Foram identificados no extrato bruto de *Vernonia polyanthes* Less a presença de taninos catéquicos, saponinas hemolíticas e esteroides e triterpenoides. Já no extrato de *Vernonia condensata* foram identificados a presença de saponinas hemolíticas e esteroides e triterpenoides. Como esses compostos poderiam estar “mascarados” nos extratos brutos por meio de interações, foram realizados os testes de identificação nas frações de ambas as espécies.

Nas frações obtidas através do extrato bruto de *Vernonia condensata* Baker foram identificados a presença de diversos compostos. A fração hidroalcoólica indicou resultados positivos para saponinas espumídicas, ácidos orgânicos, taninos catéquicos e alcaloides. Enquanto que a fração em acetato de etila apresentou resultados positivos para saponinas espumídicas, ácidos orgânicos e taninos catéquicos. Já a fração diclorometânica apontou a presença de esteroides e triterpenoides. Além de esteroides e triterpenoides, a fração hexânica indicou resultados positivos para carotenoides, depsídeos e depsídonas.

Já as frações obtidas através do extrato bruto de *Vernonia polyanthes* Less também indicaram a presença de diversos compostos. A fração hidroalcoólica apontou resultados positivos para saponinas espumídicas, ácidos orgânicos, taninos catéquicos e flavonoides. A fração em acetato de etila apresentou resultados positivos para saponinas espumídicas, ácido orgânicos, taninos catéquicos e flavonoides. Já a fração diclorometânica indicou a presença de flavonoides, enquanto que a fração hexânica apresentou resultados positivos para esteroides e triterpenoides, carotenoides, depsídeos e depsídonas.

Das classes de metabólitos identificados nos extratos brutos e nas frações das duas espécies do gênero *Vernonia*, observa-se que ambas apresentaram resultados positivos para saponinas espumídicas, saponinas hemolíticas, taninos catéquicos, ácidos orgânicos, esteroides e triterpenoides, carotenoides, depsídeos e depsídonas. No entanto, *Vernonia condensata* Baker indicou resultados positivos para alcaloides e *Vernonia polyanthes* Less apresentou resultados positivos para flavonoides.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais**: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: HEMUS, p. 341, 1993.

ALVES, H. M.. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Química Nova na Escola**, nº 3, p. 10-15, 2001.

AMARAL, E. A., SILVA, R. M. G. Avaliação da toxicidade aguda de Angico (*Anadenanthera falcata*), Pau-Santo (*Kilmeyera coreacea*), Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e Cipo-de-São-João (*Pyrostegia venusta*) por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Perquirêre**. 5ª ed., 2008.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G. V; CARVALHO, J. C. T.. BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacologic**, v.109, nº. 3, 2007.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E.M.. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, p. 55-61, 2003.

AWE, S. O.; MAKINDE, J. M.; OLAJIDE, O. A. Cathartic effect of the leaf extract of *Vernonia amygdalina*. **Fitoterapia**. v. 70, p. 161-165, 1999.

BARBOSA, W. L. R. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia. Revista Científica da UFPA. v. 4, 2001.

BARBOSA-FILHO, J. M.; ALENCAR, A. A.; NUNES, X. P. *et al.*,. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 1, p. 135-154, 2008.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; *et al.*. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa. v. 3. p. 237-314, 1991.

BASSO, P.. **A Farmácia e o Medicamento**. Uma História Concisa. Lisboa: Clube do Colecionador dos correios, 2004.

BENFATTI, A. C.; BARBASTEFANO, V.; RODRIGUES, J. *et al.*. **Estudo químico do extrato clorofórmico das folhas de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae)**. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2007.

BHANDARI, M. R.; KAWABATA, J.. Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal. **Food Chemistry**, v. 88, p. 163-168, 2004.

BOORHEM, R. L. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. Reader's digest Brasil LTDA., Rio de Janeiro, p. 416, 2009.

BRANDÃO, M. G. L.; PAULA-SOUZA, J.; GRAEL, C. F. F.; SCALON V.; SANTOS, A. C. P. SALIMENHA, M. F.; MONTE-MOR, R. L. M.. **Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas gerais**. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, p. 63-64, 2011.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade brasileira**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em: 18 de novembro de 2013.

BREMER, K. **Asteraceae: Cladistics and classification**. Timber Press, Portland, p.429, 1994.

BURIM, R. V.; CANALLE, R.; LOPES, J. L. C.; TAKAHASHI, C. S. Genotoxic action of the sesquiterpene lactone glaucolide B on mammalian cells in vitro and in vivo. **Genetics and Molecular Biology**. v. 22, nº.3, p. 401-406, 1999.

BUSKUH, H.; OLIVEIRA, F. L.; BLIND, L. Z.; FREITAS, R. A.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; CORILO, Y. E.; EBERLIN, M. N.; CARAMORI, G. F.; BIAVATTI, M. W. Sesquiterpene lactones from *Vernonia scorpioides* and their in vitro cytotoxicity. **Phytochemistry**. v. 71, p.1539–1544, 2010.

CABALLERO-GEORGE, C.; VANDERHEYDEN, P. M. L.; OKAMOTO, Y. *et al.*. Evaluation of bioactive saponins and triterpenoidal aglycons for their binding properties on human endothelin ETa and angiotensin in AT1 receptors. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 729-736, 2004.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P.. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 520-535, 2007.

CARVALHO, M. G.; COSTA, P. M.; ABREU, H. S. Flavones from *Vernonia diffusa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 10, nº 10, p. 163-166, 1999.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA M. C. C.; VELANDIA J. R.; ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* leach. **Química Nova**, v. 23, 2001.

CECHINEL FILHO, R.; YNES, V.. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105. 1998.

CEPLEANU F. **Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation** (tese), Faculdade de Ciências da Universidade de Lausanne; 1993.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G.. Are tannins a double-edged sword in biology and health? **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 168-175, 1998.

COSTA, A. M. A. A química no I colóquio sobre a história e desenvolvimento da ciência em Portugal III - Alcaloides e Polímeros. **Boletim Sociedade Portuguesa Química**, nº 23, p. 37 – 39, 1986.

CRONQUIST, A.. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, p. 1292 1981.

DELBONE, C. A. C.; LANDO, R. L.. Importância evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. In: Congresso de Educação do Norte Pioneiro, 10., 2010, Jacarezinho. **Anais...** Jacarezinho: UENP-CCHE-CLCA-Câmpus Jacarezinho, p. 396-404, 2010.

DINIZ, D..A “**Ciência das doenças**” e a “**Arte de curar**”: Trajetórias de medicina hipocrática. Rio de Janeiro, Universidade do Estado do Rio De Janeiro, Instituto de Medicina Legal, 2006.

DONFACK, A. R. N.; TOYANG, N. J.; WABO, H. K.; TANE, P.; AWOUFACK, M. D.; KIKUCHI, H.; TAMOKOU, J. D. D.; KUIATE, J. R.; OSHIMA, Y. Stigmatane derivatives from the root extract of *Vernonia guineensis* and their antimicrobial activity. **Phytochemistry Letters** 5, p. 596–599, 2012.

ELDIN, S. D. Fitoterapia na atenção primária à saúde. **Fitohormônios**. São Paulo: Manole, cap. 3, p. 33-43, 2001.

FREEDBERG, D.. Ciência, Comércio e Arte. IN: HERKENHOFF, Paulo. **O Brasil e os Holandeses (1630-1654)**. Rio de Janeiro: Editora Sextante Artes, p. 165, 1999.

FRUTUOSO, V. S.; GURJÃO, M. R. R.; CORDEIRO, R. S. B. *et al.*. Analgesic and anti-ulcerogenic effects of a polar extract from leaves of *Vernonia condensata*. **Planta Medica**. v. 60, p. 21-25, 1994.

GANJIAN, I.; KUBO, I.; FLUDZINSKI, P. Insect antifeedant elemanolide lactones from *Vernonia amygdalina*. **Phytochemistry**. v. 22, p 2525–2526, 1983.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P.. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, nº 2, p. 374-381, 2007.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 13-28.

HASLAM, E.. Natural polyphenols (Vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v. 59. p. 205-215, 1996.

HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N.. A família Asteraceae na estação de pesquisa e desenvolvimento ambiental Galheiro, Perdizes, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, p. 687-749, 2008.

HENRIQUES, A. T.; LIMBERGER, R. P.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H.. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos.. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 765-791.

HIROTA, B. C. K.; PAULA, C. S.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia salina*. **Visão Acadêmica**, v.13, nº 2, 2012.

HUFFMAN, M. A.; GOTOH, S.; IZUTSU, D.; KOSHIMIZU, K.; KALUNDE, M. S. Further observations on the use of the medicinal plant, *Vernonia amygdalina* (Del) by a wild chimpanzee, its possible affect on parasite load, and its phytochemistry. **African Study Monographs**, v. 14, p. 227–240, 1993.

HUO *et al. apud* TOYANG, N. J.; VERPOORTE, R.. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, p. 681-723, 2013.

IGARASHI, M. A. Potencial econômico das Artemias poduzidas em regiões salineiras do Rio Grande do Norte. **Pubvet**, v. 2, nº 31, ed. 42, 2008.

IGUAL, M. O.; MARTUCCI, M. E. P.; COSTA, F. B. *et al.* Sesquiterpene lactones, chlorogenic acids and flavonoids from leaves of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 51, p. 94-97, 2013.

IWU, M. M.. **Handbook of African Medicinal Plants**. 2ª ed., p. 327-329, 1993.

JISAKA, M.; KAWANAKA, M.; SUGIYAMA, H.; TAKEGAWA, K.; HUFFMAN, M. A.; OHIGASHI, H.; KOSHIMIZU, K. Antischistosomal activities of sesquiterpene lactones and steroid glucosides from *Vernonia amygdalina*, possibly used by wild chimpanzees against parasite-related diseases. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 56, p. 845–846, 1992.

JISAKA, M.; OHIGASHI, H.; TAKEGAWA, K.; HUFFMAN, M. A.; KOSHIMIZU, K. Anti- tumoral and antimicrobial activities of bitter sesquiterpene lactones of *Vernonia amygdalina*, a possible medicinal plant used by wild chimpanzees. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 57, p. 833–834, 1993.

KRISHNARAJU, A. V.; RAO, T.V. N.; SUNDA RARAJU,D.; VANISREE, M.; TSAY,H.S.; SUBBARAJU, G.V. Assessment of bioactivity of Indial medicinal plants using Brine Shrimp

(*Artemia salina*) lethality assay. **Internacional of Applied Science and Engineering**, v. 3, nº 2, p.125-134, 2005.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H.. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, v. 2, nº 4, p. 363-386, 1996.

LEÃO, R.B.A.; FERREIRA, M.R.C.; JARDIM, M.A.G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, nº 1, p. 21-25, 2007.

LIMA, I. R.; SILVA, I. B.; SILVA, T. M. S.; MAIA, M. B. S.; LEITE, S. P. **Plantas medicinais indicadas pelos vendedores de ervas do mercado São José-Recife/PE para o tratamento de doenças do fígado**. UFPE-Departamento de Histologia e Embriologia, Pernambuco, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto plantarum de estudos da flora LTDA, 2 ed., 2008.

LUO, X.; JIANG, Y.; FRONCZEK, F.R.; LIN, C.; IZEVBIGIE, E.B.; LEE, K. S. Isolation and structure determination of an esquiterpene lactone (vernodalinol) from *Vernonia amygdalina* extracts. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 464–470, 2011.

MEDEIROS, R. Desafios à gestão sustentável da biodiversidade no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 13, p. 1–10, 2006.

MELLO, J. R. B.; MELLO, F. B.; LANGELOH, A. Toxicidade pré-clínica de fitoterápico contendo *Gentiana lutea*, *Rheum palmatum*, *Aloe ferox*, *Cynara scolymus*, *Atropa belladonna*, *Peumus boldus* e *Baccharis trimera* em Coelhos Nova Zelândia. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, p. 752-756, 2008.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, p. 21-35, 2001.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E. *et al.*,. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p.31-34, 1982.

MOLINA-SALINAS, G. M.; SAID-FERNÁNDEZ, S. A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 633-638, 2006.

MONTEIRO, M. H. D., GOMES-CARNEIRO, M. R., FELZENSZWALB, I. *et al.* Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia condensata*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 74, p. 149-157, 2001.

MORS, W. B.; NASCIMENTO, M. C.; PEREIRA, B. M. R. *et al.*. Plant natural products active against snake bite-the molecular approach. **Phytochemistry**, v. 55, p. 627-642, 2000.

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M., ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C.; Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente à larva de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 29, nº 2, p. 145-150, 2008.

NELSON, D. L.; COX, M. M.. **Lehninger**: princípios de bioquímica. São Paulo: Sarvier, 5ª edição, 2002.

NERGART, C. S.; DIALLO, D.; MICHAELSEN, T. E.; MALTERUD, H. K. *et al.*. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 141-152, 2004.

OLIVEIRA, C. J.; ARAÚJO, T. L.. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, nº 1, p. 93-105, 2007.

PANIZZA, S.. **Plantas que curam** (cheiro de mato). IBRASA, São Paulo, 3 ed., p. 280, 1998.

PEREIRA, N. A. ; NASCIMENTO, B. M. R. M. C.; PARENTE, J. P.; MORS, W. B.. Folk medicine as snake venom antidotes; VI—protection against Jararaca venom by isolated constituents. **Planta Medica**, v. 60, p. 99–100, 1994.

PERES, L.E.P. **Metabolismo Secundário**, Piracicaba - São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, p. 1-10, 2004.

PHILLIPSON, G. W.; ANDERSON, A. C.. Ethnopharmacology and western medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, p. 61-72, 1989.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A.. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**. v. 25, p. 45 - 61, 2002.

PISUTTHANAN, S.; PLIANBANGCHANG, P.; PISUTTHANAN, N.; RUANRUAY, S.; MUANRIT, O. Brine shrimp activity of thai medicinal plants in the family Meliaceae. **Naresuan University Journal**. v. 12, nº 2, p.13-18, 2004.

PITA, J. R. **História da farmácia**. ed. Minerva, 1998.

QUATTROCCHI, U. **CRC World Dictionary of Plant Names**: Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology, 1ª edição, p. 640, 1999.

RABE, T.; MULLHOLLAND, D.; VAN STANDEN, J.. Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, p. 91-91, 2002.

RISSO, W. E. **Estudo da atividade antinociceptiva e análise exploratória da composição química dos extratos das folhas de Vernonia condensata Baker**. Dissertação (Mestrado em

Química dos Recursos Naturais). Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química dos Recursos Naturais, 2008.

SANTOS, N. P.; PINTO, A. C.; ALENCASTRO, R. B.; Theodoro Peckolt: Naturalista e Farmacêutico do Brasil Imperial. **Química Nova**, v. 21, 1998.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 403-434, 2007.

SILVA, A. R.; SILVA, G. L. S.; REIS, S. A.; PINTO, V. O.; GUEDES, A.; SANTOS, I. F. M.. **Triagem fitoquímica do extrato etanólico obtido das Folhas de alumã Vernonia condensata Baker**. I Seminário de Iniciação Científica da Rede FTC, 2013.

SILVA, M. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BATISTA, A. R. *et al.* Plantas medicinais usadas nos distúrbios do trato gastrointestinal no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 815-829, 2006.

SOUZA, E. M.; CHAVES, L. M.; MUNIZ, J. A. **Avaliação dos métodos: probit, probit isotonzado e up and down em dados de sensibilidade**. 2011.

SOUZA, F. A.; SENA, J.; MARANHO, L.T.; OLIVEIRA, C. M. R.; GUIMARÃES, A. T. B. Caracterização fitoquímica preliminar de infusões populares obtidas das partes aéreas das espécies *Apium leptophyllum* (Pers.) F. Muell. ex Benth. (Apiaceae), *Elvira biflora* L. (DC.) e *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 89, p. 24-27, 2008.

TCHINDA, A.T.; TSOPMO, A.; TANE, P.; AYAFOR, J. F.; CONNOLLY, J. D.; STERNER, O. Vernoguinsterol and vernoguinoside, trypanocida Istigastane derivatives from *Vernonia guineensis* (Asteraceae). **Phytochemistry**, v. 59, p. 371-374, 2002.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Revista Texto&Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v.15, nº.1, p. 115-21. 2006.

TOYANG, J. N.; VERPOORTE, R.. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, p. 681-723, 2013.

TUROLLA, M.S.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, nº 2 2006.

VALVERDE, A. L.; CARDOSO, G. L. C.; PEREIRA, N. A. *et al.*. Analgesic and anti-inflammatory activities of vernonioside B₂ from *Vernonia condensata*. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 263-264, 2001.

VEIGA JR., V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, nº 3, 2005.

VIEGAS JR, C.. Terpenos como atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, nº 3, p. 390-400, 2003.

WANG, L.; LIN, L.; YE B. Electrochemical studies of the interaction of the anticancer herbal drug emodin with DNA. **Journal of Pharmaceutical and biomedical Analyses**, v. 42, nº 5, p. 625-629, 2006.

WESTERLON, R. **Análise fitoquímica, avaliações de bioatividade *in vitro* e *in vivo* de *Raulinoa echinara*** (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade do Vale do Itajai. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2006.

WILLIAMS, R. B.; NORRIS, A.; SLEBODNICK, C.; MEROLA, J.; MILLER, J. S.; ANDRIANTSIFERANA, R.; RASAMISON, V. E.; KINGSTON, D. G. I. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia pachyclada* from the Madagascar Rain forest. **Journal of Natural Products**, v. 68, p.1371–1374, 2005.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 577-614, 2007.