


UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



**Estudo Farmacognóstico de *Vernonia brasiliana* (L.) Druce  
(Asteraceae) e determinação de sua Atividade Biológica**

**Lúcia Roberta de Souza Filizola**

**Dissertação  
Mestrado do Departamento de Ciências  
Farmacêuticas /UFPE**

**Orientador : Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier**

**Recife- PE  
2003**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Estudo Farmacognóstico de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce (Asteraceae) e  
determinação de sua Atividade Biológica

Lúcia Roberta de Souza Filizola

Dissertação de Mestrado, submetida  
ao Programa de Pós-Graduação do  
Departamento de Ciências  
Farmacêuticas do Centro de Ciências  
da Saúde da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito à  
obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Produtos Naturais  
Orientador: Prof.Dr.: Haroudo Satiro Xavier

Recife – 2003



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Recife, 12 de Setembro de 2003.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 12 de Setembro de 2003 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO:** Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier (Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura:

**EXAMINADOR INTERNO:** Profª. Dra. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes (Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura:

**EXAMINADOR EXTERNO:** Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva (Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Reitor

GERALDO JOSÉ MARQUES PEREIRA

Vice-reitor

YONY DE SÁ BARRETO

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

PAULO ROBERTO FREIRE CUNHA

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

GILSON EDMAR GONÇALVES E SILVA

Vice- Diretor do Centro de Ciências da Saúde

JOSÉ THADEU PINHEIRO

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

SILVANA CABRAL MAGGI

Vice-Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA

Coordenador de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

DAVI PEREIRA DE SANTANA

Vice-Coordenador de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

DALCI JOSÉ BRONDANI

LÚCIA ROBERTA DE SOUZA FILIZOLA

Estudo Farmacognóstico de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce ( Asteraceae) e  
determinação de sua Atividade Biológica

BANCA EXAMINADORA:

Membro Externo Titular

Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva  
Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco

Membros Internos Titulares

Profa. Dra. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes  
Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier  
Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Membro Externo Suplente

Profa. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel  
Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco

Membro Interno Suplente

Profa. Dra. Maria Nelly Caetano Pisciotano  
Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

*“ Sempre que duvidamos de nosso próprio caminho, ou perdemos a visão do processo, temos de nos lembrar para onde estamos evoluindo, o que significa todo o processo de viver. Alcançar o céu na Terra é a razão de estarmos aqui. E aqui sabemos como se pode fazer isso...como será feito.”*

*(James Redfield)*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, meus familiares e amigos, que me compreenderam nos momentos de angústia e ausência, e me deram a certeza de que quando a perseverança é nossa companheira diária, alcançar o nosso objetivo, torna-se inevitável.

Ao Prof. Haroudo Satiro Xavier, que me recebeu da melhor forma possível e com quem tive o imenso prazer de compartilhar e aprender os ensinamentos de um grande mestre e orientador.

Aos Amigos e Colegas do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN), Dra. Ana Lima, Dra. Nancy Veloso, Benigna Silva, Elina Albino, Lígia Barbosa, Cristina Durão, Cristiane Lima, Soraia de Souza, Silvana Farias, Cátia Menezes, Cristina Menezes, Sandoval Vieira, Ismênia França, Carlos Alberto Lima, Letícia Carneiro, Verônica Pereira, Maria dos Anjos Rodrigues, Cristina Monteiro, Zênia Maciel, Denise Rodrigues, Manoel Albino, Tiago Gomes, Ângela Figueirôa, Josemayre Luna, enfim, todos que compartilham comigo as tarefas diárias profissionais, e que de forma direta ou indireta, sem exceção, me apoiaram.

À uma grande e eterna amiga, que me incentivou e participou de cada momento desse trabalho. Agradeço imensamente a Deus pela bela oportunidade que me deu de poder vivenciar e aprender o valor de uma grande amizade, Lúcia de Fátima Francelino da Silva.

Aos colegas do mestrado: Ana Amélia Lira, Eduardo Gonçalves, Francisco Jaime Júnior, Roseane Maria Costa, Risonildo Cordeiro, Rosiel Santos, Sabrina Torres, Simone Bezerra, Thiago Aquino, Tereza Raquel, Valderes Almeida, Márcia Francisca Linhares, pela amizade conquistada durante todo o tempo que estivemos juntos.

À Dr<sup>a</sup> Ana Albertina de Araújo pela ajuda e participação nesse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Farmacognosia, pela divertida e saudável convivência, Diogo Florêncio, Lívia Barreto, Clébio Pereira, Karina Randau, Késia Pontual, Frederico Duarte e Sarah Rodrigues.

À Dra. Evani Lemos, pela sua dedicação e amizade.

À Jovita Farias, pela amizade e dedicação.

Aos meus estimados amigos: Cristiano Soares da Rocha e Cristiane Rocha, por toda nossa amizade, apoio e companheirismo na nossa jornada.

À Lindinalva Maria da Silva e minha avó, Maria José, por todo amor e carinho dispensados.

À grande amiga e sogra, Sra. Lucíola Filizola, por todo apoio e incentivo.

Ao Prof. Francisco José de Abreu Matos, pela atenção e realização da Espectrometria de Massas.

À Dra. Neide Shinohra, do Instituto de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, pela amizade e atenção.

À Dra. Mércia Caracciolo, do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, que contribuiu para a realização dos testes farmacológicos.

À Dra. Eulália Ximenes, do Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, pela sua amizade e cooperação técnica nos testes antimicrobianos.

À Dra. Ivone de Souza, pela amizade e auxílio na aquisição de animais para os testes farmacológicos.

À Dra. Rejane Pimentel, Graça Chagas e Nilton, do Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela amizade, profissionalismo e cooperação.

À Dra. Rita de Cássia Pereira, pela identificação do material botânico.



Ao Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal de Pernambuco, pela realização dos ensaios espectrométricos.

Ao Prof. Dr. Parviz Afiatpour , Profª Maria do Carmo Fraga, Rejane Silva, Dr. Almir Wanderley, Erick da Silva e Orion da Silva, do Departamento de Farmacologia e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, pela amizade e realização dos testes farmacológicos.

A todos os professores do Mestrado em Ciências Farmacêuticas, pelas orientações e incentivo durante o curso.

À Secretária do Mestrado Iguacy Duque, por toda sua dedicação e amizade.

Ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE, por disponibilizar as instalações físicas para que fosse possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Carlos e Maria José, meu avô, Luiz, que não se encontram mais conosco, meu profundo agradecimento pela oportunidade que me deram de poder conviver com pessoas e vivenciar momentos de grande sabedoria e aprendizado, que jamais serão esquecidos.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE QUADROS	xv
LISTA DE FIGURAS	xvi
RESUMO	xix
ABSTRACT	xx
1. INTRODUÇÃO	21
2. OBJETIVOS	24
Capítulo I – Estudo Farmacognóstico	
1. Farmacobotânica – Anatomia dos Órgãos Vegetativos de <i>Vernonia brasiliana</i> (L.) Druce (Artigo aceito para publicação na Revista Acta Farmacéutica Bonaerense)	25
Introdução	27
Materiais e Métodos	27
Resultados e Discussão	28
Referências Bibliográficas	31
2. Estudo Farmacoquímico	
Introdução	35
2.1 Materiais e Métodos	38
2.1.2 Material Vegetal	38
2.1.3 Identificação do Material Botânico	38
2.2 Drogas e Reagentes	38
2.3 Equipamentos	40
2.4 Outros	40
2.5 Metodologia	41
2.5.1 Perfil Fitoquímico	41
2.5.2 Pesquisa de Polifenóis	43

2.5.3 Pesquisa de Saponinas	45
2.5.4 Pesquisa de Alcalóides	45
2.5.5 Pesquisa de Mono e Sesquiterpenos	45
2.5.6 Pesquisa de Triterpenos e Esteróides	46
2.5.7 Pesquisa de Iridóides	46
2.5.8 Pesquisa de Açúcares Redutores	47
2.6 Resultados e Discussão	47
2.6.1 Análises Cromatográficas do “Screening” Fitoquímico das Folhas de <i>V. brasiliiana</i>	47
2.6.2 Pesquisa de Polifenóis	48
2.6.3 Pesquisa de Saponinas	51
2.6.4 Pesquisa de Alcalóides	51
2.6.5 Pesquisa de Monoterpenos e Sesquiterpenos	51
2.6.6 Pesquisa de Terpenóides e Esteróides	52
2.6.7 Pesquisa de Iridóides	53
2.6.8 Pesquisa de Açúcares Redutores	54
2.7 Isolamento do Acetato de $\beta$ - amirina (Molécula B)	56
2.7.1 Isolamento de dois Flavonóides (Molécula C1 e E2)	57
2.7.2 Caracterização das Moléculas C1, E2 e B	58
Capítulo II – Atividade Biológica de <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce	
1. Atividade Antimicrobiana	80
1.1 Revisão da Literatura	80
1.2 Materiais e Métodos	81
1.2.1 Microrganismos	81
1.2.2 Solventes e Padrões Primários	82
1.2.3 Meios de Cultura	82
1.2.4 Extratos Vegetais	82
1.3 Metodologia	83
1.3.1 Preparação dos Extratos Brutos	83
1.3.2 Preparação dos Inóculos Microbianos	84
1.3.3 Semeio	84

1.3.4 Leitura	85
1.4 Resultados e Discussão	85
2. Atividade Farmacológica	91
2.1 Revisão da Literatura	91
2.2 Materiais e Métodos	93
2.2.1 Animais	93
2.2.2 Extratos Vegetais	93
2.2.3 Drogas e Reagentes	93
2.2.4 Equipamentos e Materiais	94
2.3 Metodologia	94
2.3.1 Experimentos <i>in vivo</i>	94
2.3.1.1 Observações Gerais e Toxicidade Aguda	94
2.3.1.2 Atividade Antiinflamatória	95
2.3.1.3 Atividade Antiálgica	95
2.4 Resultados e Discussão	96
3. Conclusão Geral	97
Referências Bibliográficas	99
Anexos	105

## LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt – Acetato de etila

AcOH- Ácido acético

AlCl<sub>3</sub> – Cloreto de Alumínio

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CDCl<sub>3</sub> – Clorofórmio Deuterado

°C – Graus Celsius

cf. – Conferir

C – Centro

D – Direita

DAUFPE – Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco

E – Esquerda

EBM – Extrato Bruto Metanólico

EM – Espectro de Massas

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – Ácido Bórico

HCOOH –Ácido Fórmico

IC – Isolado clínico

IPA – Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária

IV – Infravermelho

*J* – Constante de Acoplamento

MeOH – Metanol

mg - miligrama

mL – Mililitro

mm – Milímetro

NaOAc – Acetato de Sódio

NaOMe- Metóxido de Sódio

nBuOH – Butanol Normal

NEU – Difenilborinatodeamino2etila

nm - Nanômetros

P1 – Padrão

P2 - Padrão

pH – Potencial hidrogeniônico

ppm – partes por milhão

Rf – Relação de Frente

RNM <sup>1</sup> H – Ressonância Nuclear Magnética Protônica

Tab. – Tabela

TMS - Tetrametilsilano

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UI – Unidade Internacional

U.V – Ultravioleta

$\lambda_{\text{máx}}$  – Lâmbda Máximo (máximo comprimento de onda)

$\beta$  - Beta

$\alpha$  - Alfa

$\mu\text{g}$  – Micrograma

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade Antimicrobiana dos Extratos Brutos de <i>Vernonia brasiliensis</i> .	86
Tabela 2 – Atividade Antimicrobiana dos Flavonóides C 1, E2 , Nistatina e Anfotericina B.	87

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Componentes químicos encontrados em diversas espécies de <i>Vernonia</i> .	35
Quadro 1.1 – Estruturas de algumas substâncias descritas no gênero <i>Vernonia</i>	37
Quadro 2– Fases móveis e reveladores utilizados para identificação de metabólitos secundários em <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce	42
Quadro 3 – Metabólitos secundários encontrados no extrato bruto metanólico das folhas de <i>Vernonia brasiliiana</i>	47



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce - A. ramo vegetativo; B. ramo florífero; C. inflorescência capítulo; D. estilopódio; E. brácteas involucreais pilosas; F. receptáculo; G. cipsela.	33
Figura 2 – <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce - . A. pecíolo; B. raiz; C. caule; D. nervura principal; E. epiderme adaxial com tricoma glandular capitado (seta); F. epiderme abaxial com tricomas e estômatos anomocíticos; G. mesofilo; H. margem foliar; I. tricoma não-glandular.	34
Figura 3 – Hábito Geral de <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce .	22
Figura 3.1 - Inflorescência de <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce	23
Figura 3.2 -Galha com presença de cecidias <i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce	23
Figura 4 - Cromatograma mostrando polifenóis encontrados em <i>V. brasiliiana</i> , no detalhe a molécula característica de derivado cinâmico	48
Figura 5 - Cromatograma no ultravioleta, mostrando os flavonóides encontrados em <i>V. brasiliiana</i>	49
Figura 5.1 - Cromatograma no visível, mostrando os flavonóides encontrados em <i>V. brasiliiana</i>	49
Figura 6 - Cromatograma no ultravioleta de agliconas de flavonóides encontradas nas folhas de <i>V. brasiliiana</i> .	50
Figura 7- Cromatograma de Mono e Sesquiterpenos encontrados em <i>V. brasiliiana</i>	52
Figura 8- Cromatograma de Terpenóides, padrão de $\beta$ - amirina e padrão de $\beta$ - sitosterol	53
Figura 9 – Cromatograma de Iridóides encontrados nas folhas de <i>V. brasiliiana</i> .	54
Figura 10 – Cromatograma de Açúcares (visível) e padrão glicose	55
Figura 11 - Flavonóide – origem das absorções no ultravioleta	58
Figura 12 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula C1 em MeOH	61

Figura 13 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula C1 em MeOH/NaOMe.	61
Figura14 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula C1 em MeOH/ AlCl <sub>3</sub>	62
Figura 15 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula C1 em MeOH /NaOAc	62
Figura 16 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula C1 em MeOH/ AlCl <sub>3</sub> + HCl	63
Figura17 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula C1 em MeOH/ NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	63
Figura 18 - Espectro de <sup>1</sup> H RMN, CDCl <sub>3</sub> , TMS, 300MHz da Molécula C1	64
Figura 19 - 5-hidroxi -7,4' - dimetiléter flavona (Molécula C1)	65
Figura 20 – Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula E2 em MeOH.	68
Figura 21 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula E2 em MeOH / NaOMe	68
Figura 22 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula E2 em MeOH /NaOAc	69
Figura 23 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula E2 em MeOH /AlCl <sub>3</sub>	69
Figura 24 - Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula E2 em MeOH /AlCl <sub>3</sub> + HCl	70
Figura 25- Espectro de Absorção na região do Ultravioleta da Molécula E2 em MeOH/NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	70
Figura 26 - Espectro de <sup>1</sup> H RMN ,CDCl <sub>3</sub> , TMS, 300MHz da Molécula E2 .	71
Figura 27 – Espectro Ampliado de <sup>1</sup> H RMN ,CDCl <sub>3</sub> , TMS, 300MHz da Molécula E2 .	72
Figura 28 – 5,8,4'-trihidroxi-3,6,7-trimetiléter flavonol (Molécula E2)	73
Figura 29 – Espectrometria de Massas da Molécula B	75
Figura 30 - Principais fragmentos no Espectro de Massas da Molécula B	76

Figura 31 - Espectro de Absorção na região do Infravermelho da Molécula B	77
Figura 32 - Espectro de <sup>1</sup> H RMN, CDCl <sub>3</sub> , TMS, 300 MHz da Molécula B	78
Figura 33 – Estrutura do Acetato de β - Amirina.	79
Figura 34 - Atividade Antifúngica das Frações Flavanoídicas sobre <i>Candida albicans</i> (DAUFPE 1007 e IC) e <i>Candida krusei</i> (A, B, C e D)	89
Figura 34.1 - Atividade Antifúngica das Frações Flavanoídicas sobre <i>Candida albicans</i> (DAUFPE e IC) e <i>Candida krusei</i> ( E, F, G, H, I )	90

## RESUMO

*Vernonia brasiliiana* (L.) Druce – Asteraceae, é um arbusto comumente encontrado em áreas ruderais do grande Recife e restos da Mata Atlântica do estado de Pernambuco, sendo vulgarmente conhecida como “Tramanhem”, guardando parentesco com inúmeros “Assa-Peixes” do gênero *Vernonia*. De longa data suas folhas são empregadas na medicina popular, para inibir o reumatismo inflamatório, cólicas hepáticas e em casos de hemorragia. O presente trabalho esboça um estudo farmacognóstico com as folhas do vegetal, onde os aspectos Farmacobotânicos e Farmacoquímicos são aprofundados, fornecendo subsídios à caracterização da matéria prima e correlação com atividade antimicrobiana encontrada frente às bactérias Gram positivas, *Micrococcus flavus* e *Staphylococcus aureus*, e leveduras, *Candida albicans* e *Candida krusei*, frente às duas moléculas polifenólicas isoladas (metoxiflavonas) e caracterizadas por análise espectroscópica (UV, RMN <sup>1</sup> H e EM). Estas moléculas apresentaram atividade antifúngica, inibindo até 23 mm. Igualmente, foi isolado e caracterizado o Acetato de β-amirina, triterpeno sem correlação com as indicações etnofarmacológicas. Ensaio de toxicidade, antiedema e analgesia também foram efetuados, sem apresentarem um significado maior. Um “screening” cromatográfico com extrato foliar metanólico mostrou a presença de polifenóis (glicosídeos de flavonóides, derivados cinâmicos e agliconas), terpenóides (triterpenos, sesquiterpenos, monoterpênicos, incluindo dois iridóides) e açúcares redutores, ausência de cumarinas, fenilpropanoglicosídeos, taninos (proantocianidinas condensadas e gálicos), saponósidos e alcalóides.

## ABSTRACT

*Vernonia brasiliiana* (L.) Druce – Asteraceae, is a shrub, scattered in the Atlantic forests of the State of Pernambuco and around the city of Recife. It is known locally as Tramanhem. Its leaves are utilized in folk medicine for the treatment of rheumatoid arthritis, inflammation, hepatic colic and in the case of bleeding. The main interest of present work outlined on pharmacognostic study, where the emphasis was placed on pharmacobotany and pharmacochemistry aspect of its leaves. On antibacterial study, its inhibitory properties on gram positive strain and yeasts were observed. Two polyphenol molecules were isolated (methoxyflavonoids), and characterized by spectroscopy (UV, NMR, Mass). These molecules revealed antifungus activity. Also from the leaves were isolated and characterized  $\beta$ -amirine acetate, an triterpene without obvious correlation with popular use. The methanolic extract of leaves of *Vernonia brasiliiana* did not reveal any toxic effect up to 2 g/kg of body weight, nor display analgesic or antinflammatory properties in rats. Chromatography screening of methanolic extract of leaves, demonstrate the presence of polyphenols (glycosides, flavonoids and aglicons), terpenoids (triterpenes, sesquiterpenes, monoterpenes, including two iridoids) and sugar reducers, but absence of coumarins, phenylpropanoglycosides, tannins (proanthocyanidins, gallics), saponins and alkaloids.