

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Estudo toxicológico e farmacológico da
Vernonia brasiliiana (L) Druce.

DANIELLI CÂNDIDA DE OLIVEIRA

RECIFE - PE
Fevereiro, 2007

DANIELLI CÂNDIDA DE OLIVEIRA

Estudo toxicológico e farmacológico da
Vernonia brasiliiana (L) Druce.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Avaliação e Obtenção de Produtos Bioativos e Naturais.

RECIFE - PE

Fevereiro, 2007

Oliveira, Danielli Cândida de
Estudo toxicológico e farmacológico da Vernonia
brasiliiana (L) Druce / Danielli Cândida de Oliveira. –
Recife: O Autor, 2007.
viii, 82 folhas : il.,fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2007.

Inclui bibliografia.

Farmacologia – Vernonia brasiliiana (L.) Druce. 2.
Vernonia brasiliiana (L.) Druce - Toxicidade. 3. Vernonia
brasiliiana (L.) Druce – Estudo farmacológico. I. Título.

615.01
615.1

CDU (2.ed.) UFPE
CDD (22.ed.) C

CCS2007-79



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

Recife, 14 de fevereiro de 2007.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 14 de fevereiro de 2007 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Ivone Antonia de Souza (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: Ivone Souza

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Simone Sette Lopes Lafayette (Deptº de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: Simone Sette

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Edvaldo Rodrigues de Almeida (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: Edvaldo Rodrigues de Almeida

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

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilsom Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Jane Sheila Higino

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Samuel Daniel de Souza Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Pedro José Rolim Neto

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Beat Saegesser Santos

**“Tudo vale a pena
quando a alma não é pequena”.**

Fernando Pessoa

Dedico este trabalho aos meus pais, Gelmires C. de Oliveira (in memoriam) e Laudicéa M^a de Oliveira, a minha avó Maria Luiza e aos meus queridos mestres.
A todos vocês minha eterna admiração e gratidão!

AGRADECIMENTOS

Ao meu maravilhoso Deus, por me suster nessa longa jornada. A Ele toda a honra e toda a glória!

Aos meus pais, os quais nunca mediram esforços para propiciar minha maior riqueza: a educação!

A minha família e amigos, principalmente ao meu irmão Demétrio pela “paciência” e auxílio (por pura e espontânea pressão!) com os experimentos nos fins de semana e feriados.

A minha orientadora Prof. Ivone de Souza, pela paciência, incentivo, presença, carinho, amizade e total apoio.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. George Jimenez (DFMA – UFRPE), pela atenção, conselhos e pelo sacrifício sobre-humano na finalização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Catão Barbosa (Dept. de Biofísica/UFPE), agradeço a amizade, apoio e incentivo.

Aos meus amigos de graduação Ísis Amorim (Maga), Wagner Lira (Mago) e Andreza Barros (Dêza), obrigada pela amizade sincera e por tantos momentos maravilhosos do nosso quarteto.

As Professoras Fálba Bernadete dos Anjos (Dept. de Histologia e Embriologia/UFPE), Eugênia Barza (Centro de Ciências Jurídicas/UFPE) e Rita de Cássia Carvalho (Instituto de Ciências Biológicas/UPE). Agradeço por tudo, principalmente pelo incentivo nos momentos mais difíceis.

Ao meu querido mestre Prof. Severino do Monte Prazeres “Biu” (*in memoriam*) – Dept. de Botânica/UFPE, pela amizade, conselhos e lições de vida.

Aos funcionários do Dept. de Histologia e Embriologia: Maria de Fátima do Nascimento, Edna G. da Silva, Marco Antônio F. de Amorim e Marlene S. do Nascimento. Agradeço pelo carinho, amizade e por todos os momentos alegres, os quais tanto me ajudaram. Também pela colaboração técnica (e paciência) de D. Fátima para realização deste trabalho.

Agradeço aos amigos companheiros de laboratório Janilsom Félix,

Karla Mirella, Evandro Valentim, Isla Bastos, Karina Kanuto, Maria Gabriela, Cosme Castro, Vanessa Dória, Thiago Araújo e Welington Fontes.

À minha amiga Bete (Elisabete Moreira) e aos “fiéis escudeiros” Renato Gomes (Pôia) e Sérgio Nóbrega pelo apoio incondicional, principalmente nos finais de semana e feriados.

Aos novos amigos que adquiri, companheiros da Pós-graduação: M^a Rita de Kássia C. de Farias, Cecília Castelo Branco, Laurymar, Jackeline Silva, Ana Pávla, Elisângela Silva, Aldo Passilongo, Rômulo Valente, José Ferreira, Jovita Braga e José Justino.

Ao Prof. Dr. Parviz Afiatpour e a técnica Rejane Silva do Dept. de Fisiologia e Farmacologia pelo auxílio, orientação e incentivo.

À grande paciência e apoio do técnico Alex B. da Silveira (Dept. de Ciências Farmacêuticas/UFPE).

Aos Professores Dr. Roberto José V. de Mello (Dept. de Patologia/UFPE), Dr. Diógenes L. da Mota (Dept. de Histologia e Embriologia/UFPE) e a técnica Silvana T. Paz (Dept. de Patologia/UFPE) pela colaboração na realização deste trabalho.

Ao meu amigo Luiz Henrique G. Dore (mestrado em Biometria/UFRPE), pelo apoio e esclarecimentos.

As amizades “além do Campus” de Neide e Beto.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Gostaria novamente de agradecer aos Mestres: Catão Barbosa, Severino Prazeres (*in memoriam*), Ivone Souza, George Jimenez, Parviz Afiatpour e ao Prof. Dr. Romildo A. Nogueira (DFMA – UFRPE). Foi com a simplicidade e a paixão que vocês sempre demonstraram pela vida científica que pude realmente conhecer o significado da palavra “Mestre”!

Muito obrigada a todos vocês!! Que Deus lhes abençoe sempre!!

SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS	III
	LISTA DE FIGURAS	IV
	LISTA DE TABELAS.....	V
	RESUMO	VI
	ABSTRACT.....	VII
1.	INTRODUÇÃO	01
2.	REVISÃO DA LITERATURA	05
2.1.	ESTUDOS SOBRE A <i>Vernonia brasiliana</i> (L.) Druce.....	06
2.1.1	BOTÂNICO.....	06
2.1.2	FITOQUÍMICO.....	08
2.1.3	FARMACOLÓGICO.....	09
2.1.4	TOXICOLÓGICO.....	12
3.	OBJETIVO	13
3.1.1	GERAL	14
3.1.2	ESPECÍFICO.....	14
4.	ARTIGO I: AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA <i>Vernonia brasiliana</i> (L.) Druce	15
	RESUMO.....	16
	INTRODUÇÃO.....	17
	METODOLOGIA.....	18
	RESULTADOS.....	19
	DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	21
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
5.	ARTIGO II: AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE <i>Vernonia brasiliana</i> (L.) Druce	30
	RESUMO.....	31
	INTRODUÇÃO.....	32
	METODOLOGIA.....	34
	RESULTADOS.....	35
	DISCUSSÃO.....	36
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
6.	ARTIGO III: ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA DA <i>Vernonia brasiliana</i> (L.) Druce ...45	
	RESUMO.....	46
	INTRODUÇÃO.....	47
	METODOLOGIA.....	48
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51

	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
7.	CONCLUSÃO.....	66
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

AN	Área necrótica.
°C	Graus Celsius
CD	Células disformes
CG	Células gigantes
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DL ₅₀	Dose letal de 50%
DS	Dilatação da parede sinusoidal
EHE	Extrato hidroetanólico
g/Kg	Grama por quilograma
GC _c	Grupo controle portadores de Carcinoma de Ehrlich
GC _s	Grupo controle portadores do Sarcoma 180
GP _c	Grupo Padrão Carcinoma de Ehrlich
GP _s	Grupo Padrão Sarcoma 180
GT _c	Grupo portador de Carcinoma tratado com EHE
GT _s	Grupo portador de Sarcoma 180 tratado com EHE
HE	Hematoxilina-Eosina
I	Invasão de tecidos
mg/Kg	Miligrama por quilograma
ml	Mililitro
O ₂ .l.h ⁻¹ .Kg ⁻¹	Litros de oxigênio por hora
%	Porcentagem
p/v	Peso por volume
S	Sinusóides
TXM	Taxa Metabólica Específica
TW%	Percentual de inibição tumoral
v.i.p.	Via intraperitoneal

LISTA DE FIGURAS

	Revisão da Literatura	
Figura 1	<i>Vernonia brasiliiana</i> (L.) Druce.	07
Figura 2	Saponinas triterpênicas isoladas da <i>Vernonia brasiliiana</i>	09
	Artigo I	
Figura 1	Cortes de fígados de camundongos machos (<i>Mus musculus</i>).....	29
	Artigo II	
Gráfico 1	Representação das curvas de variação que descrevem o efeito do EHE das folhas de <i>V. brasiliiana</i> nas dose de 50, 75 e 100mg/kg, via intraperitoneal, no volume do edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar machos adultos.....	43
Gráfico 2	Representação das curvas de variação que descrevem o efeito dos fármacos padrões indometacina (10mg/Kg), dexametasona (2mg/Kg) e nimesulida (10mg/Kg), via intraperitoneal, no volume do edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar machos adultos.....	43
Gráfico 3	Relação de equivalência entre as médias dos volumes do edema de pata induzido por carragenina de ratos Wistar machos tratados com 2mg/Kg de dexametasona e 150mg/Kg do EHE das folhas de <i>V. brasiliiana</i>	44
	Artigo III	
Gráfico 1	Comparação dos Percentuais de Inibição Tumoral (TW%) em camundongos albinos Swiss machos, portadores de Sarcoma 180, tratados com o extrato de <i>V. brasiliiana</i> nas dose de 31,25mg/kg (GT _{1s}), 62,5mg/kg (GT _{2s}) e Metotrexato (GP _s), por via intraperitoneal. (n=5/grupo).....	61
Gráfico 2	Comparação dos Percentuais de Inibição Tumoral (TWI%) em camundongos albinos Swiss machos, portadores de Carcinoma de Ehrlich, tratados com o extrato de <i>V. brasiliiana</i> nas dose de 31,25mg/kg (GT _{1c}), 62,5mg/kg (GT _{2c}), 100mg/kg (GT _{3c}) e Metotrexato (GP _c), por via intraperitoneal. (n=5/grupo).....	62
Gráfico 3	Razão entre as Taxas Metabólicas Específicas do Sarcoma 180 e a do animal portador (TXM _{TS} /TXM _{AS}) em função das doses do extrato de <i>V. brasiliiana</i>	62
Gráfico 4	Razão entre as Taxas Metabólicas Específicas do Carcinoma de Ehrlich e a do animal portador (TXM _{TC} /TXM _{AC}) em função das doses do extrato de <i>V. brasiliiana</i>	63
Gráfico 5	Comparação entre as respostas metabólicas dos tumores Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich ao extrato de <i>V. brasiliiana</i>	63
Figura 1	Fotomicrografias obtidas de Sarcoma 180 de camundongos albinos Swiss (<i>Mus Muculus</i>) dos grupos Controle (A), Padrão (B) e Tratados com o extrato de <i>V. brasiliiana</i> nas doses de 31,25mg/Kg (C) e 62,5mg/Kg (D).....	64
Figura 2	Fotomicrografias obtidas de Carcinoma de Ehrlich de camundongos albinos Swiss (<i>Mus Muculus</i>) dos grupos Controle (A), Padrão (B) e Tratados com o extrato de <i>V. brasiliiana</i> nas doses de 31,25 mg/Kg (C), 62,5 mg/Kg (D e E) e 100 mg/Kg.....	65

LISTA DE TABELAS

	Artigo I	
Tabela 1	Sinais clínicos de toxicidade observada em camundongos albinos Swiss (<i>Mus musculus</i>) tratados com o extrato hidroetanólico de <i>Vernonia brasiliana</i> , v.i.p, com doses que não ocasionaram óbitos.....	27
Tabela 2	Sinais clínicos de toxicidade observada em camundongos albinos Swiss (<i>Mus musculus</i>) tratados com o extrato hidroetanólico de <i>Vernonia brasiliana</i> , v.i.p, com doses que ocasionaram óbitos.....	28
	Artigo II	
Tabela I	Volumes dos edemas induzido por injeção subplantar de carragenina nas patas de ratos Wistar machos.....	42
Tabela II	Comparação dos tempos de efeito máximo (T_{max}) da resposta antiinflamatória dos tratamentos com o EHE de <i>V. brasiliana</i> , indometacina, dexametasona e nimesulida no modelo do edema de pata induzido por carragenina, v.i.p.....	42
	Artigo III	
Tabela 1	Média e desvio padrão dos pesos dos animais (PA_S) (camundongos <i>Mus Musculus</i> albinos Swiss), dos Sarcomas 180 (PT_S) e da relação PT_S/PA_S dos grupos Controle (GC_S), Padrão (GP_S) e Tratados com o extrato de <i>V. brasiliana</i> (GT_{1S} e GT_{2S}), todas as drogas administradas intraperitonalmente.....	60
Tabela 2	Média e desvio padrão dos pesos dos animais (PA_C) (camundongos <i>Mus Musculus</i> albinos Swiss), dos Carcinomas de Ehrlich (PT_C) e da relação PT_C/PA_C dos grupos Controle (GC_C), Padrão (GP_C) e Tratados com o extrato de <i>V. brasiliana</i> (GT_{1C} , GT_{2S} e GT_{3C}), todas as drogas administradas intraperitonalmente.....	60
Tabela 3	Média e desvio padrão das Taxas Metabólicas Específicas dos animais (TXM_{AS}), dos tumores Sarcoma 180 (TXM_{TS}) e da razão entre TXM_{TS}/TXM_{AS} dos grupos Controle (GC_S), Padrão (GP_S) e Tratados com o extrato de <i>V. brasiliana</i> (GT_{1S} e GT_{2S}).....	60
Tabela 4	Média e desvio padrão das Taxas Metabólicas Específicas dos animais (TXM_{AC}), dos tumores Carcinoma de Ehrlich (TXM_{TC}) e da razão entre TXM_{TC}/TXM_{AC} dos grupos Controle (GC_C), Padrão (GP_C) e Tratados com o extrato de <i>V. brasiliana</i> (GT_{1C} , GT_{2C} e GT_{3C}).....	61
Tabela 5	Valores obtidos da razão entre a Taxa Metabólica Especifica do tumor e a do animal (TXM_T/TXM_A) para as linhagens tumorais sarcoma e carcinoma, em função do tratamento com o extrato hidroetanólico (EHE) das folhas da <i>V. brasiliana</i>	61

RESUMO

Vernonia brasiliiana é um arbusto perene que varia entre 0,5 e 2,5m de altura – conhecida popularmente por assa-peixe, hervea-prêa ou tramanhêm – utilizada principalmente no tratamento de doenças do sistema respiratório e digestivo. Estudos científicos já comprovaram atividades antimalárica e antimicrobiana deste vegetal. O nosso trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda e as atividades farmacológicas (antiinflamatória e antineoplásica em roedores) das folhas da *V. brasiliiana*. Foram realizados ensaios de toxicidade aguda, por via intraperitoneal, com notificação das alterações comportamentais resultantes da administração de cada dose. Os animais tratados apresentaram reações tóxicas, sendo as reações comportamentais excitatórias e estimulantes os efeitos mais pronunciados. Verificamos também efeitos depressores e a taxa de mortalidade cresceu progressivamente com o aumento da dose. Os dados histológicos demonstraram que todos os animais que receberam o EHE de *V. brasiliiana* apresentaram fígado com algum grau de congestão vascular. O aparecimento de novos efeitos adversos após 24h da administração e a permanência de vários sintomas (72h) demonstraram que a droga possui reações cumulativas. De acordo com a DL₅₀ obtida, o extrato de *V. brasiliiana* pode ser considerado moderadamente tóxico quando administrado por via intraperitoneal. Na avaliação da atividade antiinflamatória utilizou-se o modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratos, com administração do extrato por via intraperitoneal. Os resultados encontrados apresentaram indicativos de combate ao processo inflamatório numa ação tardia, que foi conferido a partir da 5ª hora após administração da maior dose estudada (150mg/Kg). Em relação a atividade antineoplásica frente as linhagens Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich, o extrato produziu significativa redução dos tumores, com 93,88% de inibição tumoral para os animais portadores do Sarcoma 180 (31,25mg/kg) e 86,70% para os portadores do Carcinoma de Ehrlich (62,5 mg/Kg). A análise histopatológica demonstrou que o extrato ocasionou um maior número de áreas necróticas, em ambas as linhagens. Ao analisarmos a especificidade tumor-hospedeiro de cada linhagem em relação às diferentes doses de *V. brasiliiana*, observamos que o extrato apresentou efeito mais significativo frente ao Sarcoma 180 do que sobre o Carcinoma de Ehrlich.

Palavras-chave: *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce; Asteraceae; Toxicidade Aguda; DL₅₀; Hepatotoxicidade; Atividade Antiinflamatória; Câncer; Sarcoma; Carcinoma.

ABSTRACT

Vernonia brasiliiana is a perennial shrub that varies between 0,5 and 2,5m of height - known popularly by assa-peixe, hervea-préa or tramanhém - used mainly in the treatment of illnesses of the respiratory and digestive system. Scientific studies already proved antimalarial and antimicrobial activities of this plant. The objective of this work was to evaluate the acute toxicity and the pharmacological activities (anti-inflammatory and antineoplastic in rodents) of leaves of the *V. brasiliiana*. Acute toxicity assays were accomplished, by intraperitoneal administration, with notification of the alterations in the behavior's reactions that were resulting of the administration of each dose. The treated animals presented toxic reactions, and the behavior's reactions excitatory and stimulants were the most pronounced effects. We also verified depressors effects and the mortality rate grew progressively with the increase of the dose. The histologic data demonstrated that all the animals that received EHE of *V. brasiliiana* presented liver with some degree of vascular congestion. The appearance of new adverse effect after 24h of the administration and the permanence of some symptoms (72h) demonstrated that the drug possess cumulative reactions. In accordance with the gotten DL_{50} , the extract of *V. brasiliiana* can be considered moderately toxic when administered intraperitoneally. In the evaluation of the anti-inflammatory activity was used a carrageenan-induced by rat paw model, with intraperitoneal administration of the extract. The found results presented indicative of combat to the inflammatory process in a later action, beginning in the 5th hour after administration of the biggest studied dose (150mg/Kg). In relation to antineoplastic activity in the tumor cell lines Sarcoma 180 and Ehrlich's Carcinoma, the extract presented significant reduction of the tumors, with 93,88% of tumoral inhibition percentage for the bearers animals of the Sarcoma 180 (31,25mg/kg) and 86,70% for the bearers of the Ehrlich's Carcinoma (62,5 mg/Kg). The histopathologic analysis demonstrated that there were a great number of necrotic areas in both lines. When analyzing the tumor-host specificity of each line in relation to the different doses of *V. brasiliiana*, it was observed that the extract presented effect more significant front to the Sarcoma 180 than on the Ehrlich's Carcinoma.

Keywords: *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce; Asteraceae; Acute Toxicity; DL_{50} ; Hepatotoxicity; Anti-inflammatory Activity; Cancer; Sarcoma; Carcinoma.

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. Em todas as fases do desenvolvimento de várias civilizações pode-se observar que sempre prevaleceu uma estreita relação entre o homem e as plantas (David & David 2002, Veiga Junior & Pinto 2005).

O primeiro relato de estudo sistemático de plantas medicinais ocorreu no império de Shennung, realizado em cerca de 2700 a.C. Dentre as 365 drogas mencionadas no Inventário de Shennung, várias substâncias são conhecidas e utilizadas atualmente para os mesmos propósitos, como exemplos temos a morfina (*Papaver somniferum*) utilizada para analgesia, a efedrina (encontradas em espécies tais como *Ephedra*) no tratamento de asma e o óleo de rícino (*Ricinus communis*) como purgativo (David & David 2002).

O Papiro Médico Egípcio de Smith, datado de aproximadamente 1600 a.C. também é um importante registro sobre o uso específico de drogas vegetais. Já o Papiro de Ebers (1550 a.C.) lista algo como 700 remédios, suas preparações e aplicabilidade, onde essas preparações variavam desde místico (osso da coxa de um homem enforcado) a drogas bastante familiares, como o ópio e o óleo de rícino (Sutter & Walker 1999).

A cultura grega antiga muito contribuiu para o desenvolvimento da farmácia e das drogas. A influência de Galeno (130-201 d.C.) na medicina persistiu até os anos de 1500 e ainda pode ser sentida hoje com o emprego de misturas herbáticas. Já os romanos organizaram e regularizaram a prática médica, incluindo o uso de drogas. Teofrastos (372-287 a.C.) relacionou tudo que era conhecido sobre plantas medicinais e Dioscorides (57 d.C.), o cirurgião de Nero, utilizou esta lista como base para o compêndio de substâncias utilizadas como medicamento que descreveu aproximadamente 500 plantas e como preparar remédios a partir delas (Sutter & Walker 1999).

Há evidências de que o homem ainda na idade Antiga reconheceu a

relação dose-efeito das plantas, principalmente devido à utilização destas com fins medicinais, de rituais de magia e em envenenamento como exemplos da *Mandragora officinarum* (mandrágora), *Atropa belladonna* (beladona) e *Hyoscyamus niger* (meimendro), conhecidas fontes de atropina e escopolamina (David & David 2002, Sutter & Walker 1999).

Muitos fármacos atuais derivaram direta ou indiretamente de substâncias produzidas por plantas superiores. É evidente o ressurgimento do interesse do segmento industrial por produtos naturais como fonte de modelos de fármacos e como matéria-prima para desenvolvimento de fitoterápicos (Shu 1998, Harvey 2000, David & David 2002, Schenkel et al. 2001). A grande quantidade e o progresso de pesquisas clínicas, principalmente na área dos agentes anticancerígenos (taxol, podofilotoxina e camptotecinas) e dos antimaláricos (artemisinina) reforçam a importância do estudo de produtos naturais, principalmente utilizando-se os conhecimentos etnobotânicos (Sutter & Walker 1999).

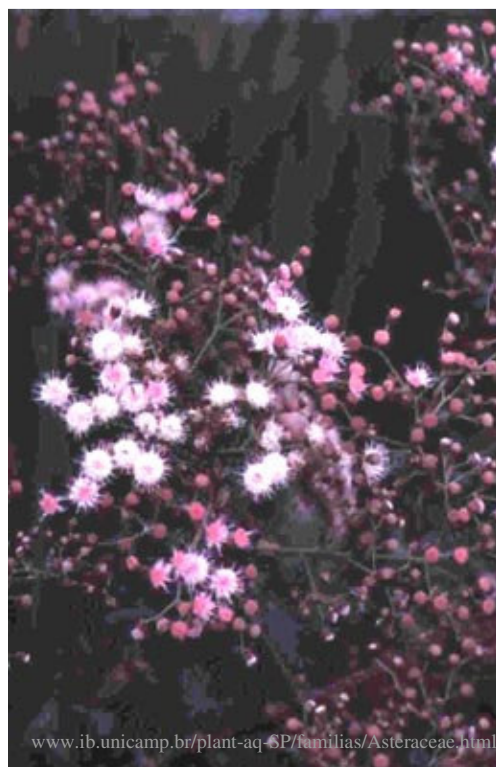
O Brasil é o país com maior diversidade genética e vegetal, com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350-550.000 (Dias 1996). O mercado para terapias à base de plantas medicinais movimenta em nosso país cerca de US\$ 500 milhões, que é relativamente pequeno ao se comparar com os valores publicados para a Europa e Estados Unidos no ano de 2000: US\$ 8,5 e 6,3 bilhões, respectivamente (Simões & Schenkel 2002).

Nos países em desenvolvimento, bem como nos mais desenvolvidos, os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam diariamente, prometendo saúde e vida longa, com base no argumento de que plantas usadas há milênios são seguras para a população (Veiga Junior & Pinto 2005).

O uso popular, e mesmo o tradicional são insuficientes para validar eticamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros, onde a autorização do seu uso não difere de qualquer outro xenobiótico sintético e sua preconização, ou autorização oficial de uso medicamentoso, devem ser fundamentados em evidências experimentais comprobatórias de que o risco que se expõem àqueles que a utilizam é suplantado pelos

benefícios que possam advir (Brasil 1995).

As plantas medicinais da flora nativa brasileira são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes (Veiga Junior & Pinto 2005).



2. *Revisão da*

Literatura

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Estudos sobre a *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce

2.1.1. Botânico

A família Asteraceae é cosmopolita, sendo a maior dentre as angiospermas (Bremer 1994) com cerca de 1535 gêneros e, aproximadamente, 23000 espécies (Bremer 1996). Esta família encontra-se melhor representada nas regiões temperadas e subtropicais do mundo (Ritter & Baptista 2005), com grande importância no estrato herbáceo e arbustivo dos cerrados brasileiros (Ratter et al. 1997, Batalha & Mantovani 2001).

No Brasil são relatados cerca de 180 gêneros da família Asteraceae (Barroso et al. 1991) e das 557 espécies pertencentes a esta família registradas no nordeste brasileiro no inventário realizado por Matos (2005b), 75 pertencem ao gênero *Vernonia*.

O gênero *Vernonia* possui aproximadamente 900 espécies (Cronquist 1988) que se encontram amplamente distribuídas em toda a região norte e nordeste como ervas, arbustos e rastejantes (Leitão Filho 1972).

Dentre inúmeros espécimes da família Asteraceae utilizados na medicina caseira está a *Vernonia brasiliiana*, conhecida popularmente como assa-peixe, hervea-préa, pau de múquem, manjerição de cavalo, matias e tramanhém. Em alguns casos encontrar-se identificada equivocadamente como *Vernonia scabra* (Barroso 1991, Matos 2005a). Este vegetal é utilizado no tratamento de cólicas hepáticas, hemorragias (cama de sangue), corizas fortes e hematomas (César 1956).

A primeira citação da *V. brasiliiana* no Estado de Pernambuco foi realizada pelos naturalistas Guilherme Piso e Jorge Marcgrave na cidade do Recife, entre os anos de 1637 e 1638 (Pickel 1949).

Trata-se de um arbusto perene que varia entre 0,5 e 2,5 m de

altura, com caule muito ramificado de ramos de contorno circular (verdes a amarronzados) e tricomas abundantes. Possui folhas alternas, simples e pecioladas com estípulas persistentes. O pecíolo se apresenta achatado, inserido marginalmente, biconvexo e com base arredondada. Possui lâmina lanceolada, membranácea, delgada, com margem lisa e nervação penínérvea. O limbo é de consistência membranácea, contudo, algumas espécies apresentam ápice agudo, geralmente truncado, base arredondada e bordo liso. Suas flores são reunidas em inflorescências do tipo capítulo, racemiformes e congestas, de coloração violácea-pálida (figura 1) (Filizola et al. 2003).

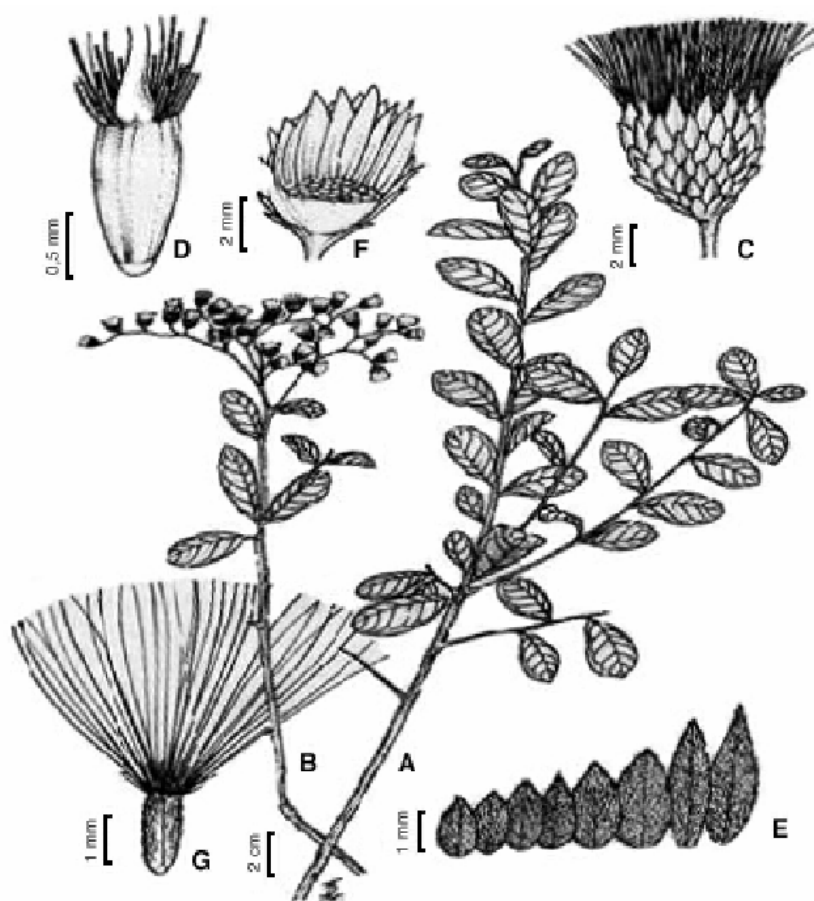


Figura 1. *Vernonia brasiliana* (L.) Druce. A. ramo vegetativo; B. ramo florífero; C. inflorescência capítulo; D. estilopódio; E. brácteas involucrais pilosas; F. receptáculo; G. cipsela (Filizola et al. 2003).

Na cidade do Recife e Região Metropolitana além da *V. brasiliiana* (L.) Druce, destacam-se ainda as espécies *V. cinerea* Less, *V. condensata* Baker e *V. scorpioides* Pers (Filizola et al. 2003).

2.1.2. Fitoquímico

A composição química e atividade biológica de muitos espécimes da família Asteraceae vêm sendo extensivamente estudadas, resultando no desenvolvimento de novos fármacos, inseticidas, entre outros (Zomlefer 1994).

Estudos demonstram que o gênero *Vernonia* certamente abriga um vasto perfil fitoquímico, com representantes de todos os grupos de metabólitos secundários conhecidos, com predomínio dos triterpenos, esteróides, sesquiterpenos e flavonóides (Alves et al. 1997, Filizola 2003).

Inúmeros trabalhos científicos realizados com espécies desta família resultaram em isolamentos de vários metabólitos secundários (tabela 1), destacando-se os flavonóides, os quais são apontados como importantes marcadores quimiotaxonômicos (Emerenciano et al. 2005), além de sua reconhecida importância no campo médico no tratamento e prevenção de várias doenças (Zuanazzi & Montanha 2004, Harborne et al. 2005).

Alves e cols (1997) isolaram das folhas de *V. brasiliiana* os triterpenos lupeol, β -amirina (oleanos) e gemanicol (figura 2). O Screening cromatográfico do extrato metanólico de suas folhas realizado por Filizola (2003) demonstrou ainda a presença de metabólitos terpênicos (triterpenos, sesquiterpenos, monoterpenos, incluindo dois iridóides), polifenólicos (glicosídeos de flavonóides, esteróides, derivados cinâmicos e agliconas) e açúcares redutores. Este trabalho também resultou na identificação de duas moléculas: um flavonol (5,8,4'-trihidroxi-3,6,7-trimetiléter flavonol) e uma flavona (5-hidroxi-7,4'-dimetiléter flavona).

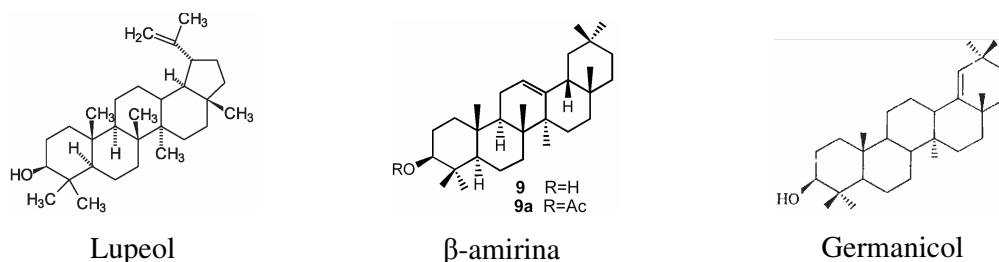


Figura 2 – Saponinas triterpênicas isoladas da *Vernonia brasiliiana*.

Os sesquiterpenos e monoterpenos lactônicos (iridóides) (Filizola 2003) são considerados os compostos terpênicos mais freqüentes encontrados nos óleos voláteis (Simões & Spitzer, 2004), sendo os iridóides indicados como importantes marcadores quimiotaxonômico (Sampaio-Santos & Kaplan 2001, Reis et al. 2004).

2.1.3. Farmacológico

A *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce tem sido utilizada ao longo dos anos com várias indicações, incluindo hemorragias gastrintestinais, corizas fortes, cólicas hepáticas e hematomas (César 1956). Entretanto, estudos científicos sobre *V. brasiliiana* ainda são escassos, destacando-se os de atividade antimalárica (Carvalho & Krettli 1991, Carvalho et al. 1991, Alves et al. 1997).

A atividade antimalárica da *V. brasiliiana* foi atribuída ao triterpeno lupeol (Alves et al. 1997), entretanto, Ziegler e cols (2002) demonstraram que esta substância atua promovendo alterações na morfologia de eritrócitos, tornando estas células inviáveis como hospedeiras do *Plasmodium falciparum*.

A literatura científica relata que triterpenos pentacíclicos (lupeol, β -amirina e gemanicol), em geral, exibem uma larga escala de atividades farmacológicas que incluem atividade antiinflamatória, antioxidante, anti-alérgica, antitumoral, antibacteriana, efeitos gastroprotetores e hepatoprotetores (Oliveira et al. 2004).

Extratos de *V. brasiliiana* apresentaram atividade antimicrobiana (D’Albuquerque et al. 1961, Filizola 2003) e moluscicida (Cunha et al. 2000). Contudo, os ensaios realizados com o extrato bruto metanólico das folhas de *V. brasiliiana* não apresentaram atividades antiinflamatória nem antiálgica, por via oral e intraperitoneal, respectivamente (Filizola 2003).

Apesar de serem poucos os trabalhos científicos sobre a *V. brasiliiana*, a composição química e atividade biológica de muitos espécimes do gênero *Vernonia* vêm sendo alvo de importantes estudos (tabela 1).

Tabela 1 – Estudos realizados com representantes do gênero *Vernonia*.

ATIVIDADE	ESPÉCIE	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
Antitumoral	<i>V. scorpioides</i> <i>V. anthelmintica</i> <i>V. cinerea</i> <i>V. condensata</i> <i>V. lasiopus</i> <i>V. hymenolepis</i> <i>V. chinensis</i> <i>V. pachyclada</i> <i>V. amygdalina</i>	Pagno et al. 2006. Lambertini et al. 2004. Kuo et al. 2003. Ferreira 2006. Koul et al. 2003. Kupchan et al. 1968, Kupchan et al. 1969. Chen et al. 2005. Williams et al. 2005. Kupchan et al. 1969, Jisaka et al. 1993, Obaseiki-Ebor et al. 1993, Izevbigie 2003, Izevbigie et al. 2004.
Antimicrobiana	<i>V. amygdalina</i> <i>V. colorata</i> <i>V. brasiliiana</i> <i>V. cinerea</i> <i>V. arborea</i>	Taiwo et al. 1999, Erasto et al. 2006. Kelmanson et al. 2000, Rabe et al. 2002, Stafford et al. 2005. D’Albuquerque et al. 1961, Filizola 2003. Gupta et al. 2003. Krishna Kumari et al. 2003.

Antiparasitária/ Inseticida/ Larvicida/ Moluscicida	<i>V. amygdalina</i> <i>V. anthelmintica</i> <i>V. brasiliana</i> <i>V. ammophila</i> <i>V. subuligera</i> <i>V. salzmanni</i> <i>V. brasiliana</i>	Jisaka et al.1992, Tadesse et al. 1993, Alawa 2003, Huffman 2003. Hordegen et al. 2003. Rojas et al. 1995. Macedo et al. 1997. Freiburghaus et al.1996. Consoli et al. 1988. Cunha et al. 2000
Antimalárica	<i>V. colorata</i> <i>V. cinerea</i> <i>V. guineensis</i> <i>V. lasiopus</i> <i>V. brachycalyx</i> <i>V. amygdalina</i> <i>V. brasiliana</i>	Kraft et al. 2003, Benoit et al. 1996. Chea et al. 2006. Tchinda et al. 2002. Muregi et al. 2003. Oketch-Rabah et al. 1998. Abosi & Raseroka 2003, Masaba et al. 2000, Tona et al. 2004, Krief et al. 2004. Alves et al. 1997, Carvalho & Krettli 1991, Carvalho et al. 1991.
Toxicidade	<i>V. condensata</i> <i>V. rubricaulis</i> <i>V. nudiflora</i> <i>V. squarrosa</i> <i>V. mollissima</i>	Monteiro et al. 2001, Ferreira 2005. Tokarnia & Döbereiner 1982, Brum et al. 2002. Döbereiner & Tokarnia 1984, Miolo 1996. Tokarnia & Döbereiner 1983. Döbereiner et al. 1976, Tokarnia et al. 1986, Gava et al. 1987, Stolf et al. 1987.
Analgésica/ Antipirética/ Antiinflamatória	<i>V. cinerea</i> <i>V. colorata</i> <i>V. condensata</i>	Latha et al. 1998, Gupta et al. 2003, Iwalewa et al. 2003, Mazumder et al. 2003. Cioffi et al. 2004. Frutuoso et al. 1994, Valverde et al. 2001.
Isolamento de compostos	<i>V. patula</i> <i>V. anthelmintica</i> <i>V. guineensis</i> <i>V. saligna</i> <i>V. galamensis</i> <i>V. cinerascens</i> <i>V. herbacea</i> <i>V. fastigiataled</i> <i>V. fasciculata</i> <i>V. flexuosa</i> <i>V. altissima</i> <i>V. travancorica</i> <i>V. fruticulosa</i> <i>V. triflosculosa</i>	Liang & Min 2003. Tian et al. 2004. Tchinda et al. 2003. Huang et al. 2003. Fahlstadius & Hamberg 1989. Abdel-Sattar et al. 2000. Dias-Tagliacozzo et al. 1996. Vogler et al.1998. Narain et al.1977. Kisiel. 1975 (Part I), Kisiel. 1975 (Part II). Rowe et al.1955. Seetharaman & Petrus 2004. Barbosa et al. 2004. Kos et al. 2006.
Modulação gênica	<i>V. amygdalina</i>	Howard et al. 2003.
Anti-agregante plaquetária	<i>V. amygdalina</i>	Laekeman et al. 1983, Laekeman et al. 1985.

Anti-oxidante	<i>V. amygdalina</i>	Oboh & Akindahunsi.2004.
Hepatoprotetora	<i>V. amygdalina</i>	Babalola et al. 2001.
Imunomoduladora	<i>V. kotschyana</i>	Nergard et al. 2004, Nergard et al. 2005.
Cicatrizante	<i>V. scorpioides</i>	Leite et al. 2002.
Vasoativa	<i>V. polyanthes</i>	Romanezi da Silveira et al. 2003.
	<i>V. liatroides</i>	Campos et al. 2003.
Hipoglicemiante	<i>V. colorata</i>	Sy et al. 2004, Sy et al. 2005

2.1.4. Toxicológico

A toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública, entretanto, muitas dessas plantas têm o seu potencial tóxico completamente desconhecido (Schenkel et al. 2004, Veiga Junior & Pinto 2005).

Casos de toxicidade de plantas medicinais recentemente divulgados alerta para o uso indiscriminado de *Croton cajucara* e *Copaifera sp*, duas plantas medicinais amplamente utilizadas na Região Amazônica (Veiga Junior & Pinto 2005).

Algumas espécies do gênero *Vernonia* são apontadas como responsáveis por mortes de bovinos, ovinos e caprinos (Döbereiner et al. 1976, Tokarnia & Döbereiner 1982, Gava et al. 1987, Stolf et al. 1987, Brum et al. 2002).

Segundo Filizola (2003), resíduos de extratos brutos metanólicos (20%) das folhas de *V. brasiliiana* (0,25 a 2,0g/Kg), via intraperitoneal, não apresentou toxicidade aguda.

3. Objetivos

3. OBJETIVO

3.1. Geral

Este projeto teve o objetivo contribuir para o estudo toxicológico e farmacológico da espécie *Vernonia brasiliiana* (L) Druce.

3.2 Específicos

- Identificação botânica do vegetal;
- Estimar o valor de DL₅₀ do extrato hidroetanólico em camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), por via intraperitoneal;
- Realizar o estudo histológico do fígado de camundongos submetidos ao tratamento agudo do extrato hidroetanólico das folhas da *V. brasiliiana*;
- Averiguar a atividade antiinflamatória do extrato da *Vernonia brasiliiana*;
- Avaliar a atividade antineoplásica do extrato da *V. brasiliiana* em camundongos, através de análise quantitativa e histopatológica em Carcinoma de Ehrlich e Sarcoma 180.

4. *Artigo I*

Artigo submetido à *Revista Brasileira de Farmacognosia*

Avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroetanólico da *Vernonia brasiliiana* (L) Druce.

Danielli Cândida de Oliveira¹, Maria Rita de Kássia Costa de Farias¹, Diógenes Luís da Mota², Fálba Bernadete Ramos dos Anjos², Ivone Antônia de Souza^{3*}.

¹Dept. de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco; ²Dept. de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco; ^{3*}Dept. de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

Resumo

A *Vernonia brasiliiana* é bastante utilizada por populares principalmente no tratamento de doenças do sistema respiratório e digestivo, entretanto, são poucas as pesquisas científicas sobre este vegetal. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda, as reações comportamentais e a histologia do fígado de camundongos tratados com o extrato hidroetanólico (EHE) das folhas da *V. brasiliiana*, administrado por via intraperitoneal. Os animais tratados apresentaram inúmeros sinais clínicos de intoxicação, sendo as reações comportamentais excitatórias e estimulantes os efeitos mais pronunciados. Entretanto, também apresentaram comportamentos depressores e a taxa de mortalidade cresceu progressivamente com o aumento da dose. Os dados histológicos demonstraram que todos os animais que receberam o EHE de *V. brasiliiana* apresentaram fígado com algum grau de congestão vascular. O aparecimento de novos efeitos adversos após 24h da administração e a permanência dos sintomas até o término do período de observação (72h) demonstraram que a droga possui reações cumulativas. De acordo com a DL₅₀ obtida, o extrato de *V. brasiliiana* pode ser considerado moderadamente tóxico quando administrado por via intraperitoneal.

Unitermos: *Vernonia brasiliiana*; Asteraceae; Toxicidade Aguda; DL₅₀; Hepatotoxicidade.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. As plantas medicinais da flora nativa brasileira são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. A toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública, entretanto, muitas dessas plantas têm o seu potencial tóxico completamente desconhecido. (Schenkel et al., 2004; Veiga Junior & Pinto, 2005).

Diferentes espécies do gênero *Vernonia* (Asteraceae) têm sido utilizadas na medicina popular no tratamento de processos inflamatórios e distúrbios gastrintestinais, além do uso como antipirético, antimalárico, dentre outros (Benoit et al., 1996; Latha et al., 1998; Masaba, 2000; Monteiro et al., 2001; Iwalewa et al., 2003; Cioffi et al., 2004; Nergard et al., 2004).

Particularmente, a *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce é bastante utilizada principalmente no tratamento de distúrbios do sistema respiratório e digestivo (César, 1956). Contudo, são poucos os estudos científicos sobre *V. brasiliiana*, destacando-se os de atividade antimalárica (Carvalho & Krettli, 1991; Carvalho et al., 1991; Alves et al., 1997).

De acordo com Filizola (2003), camundongos albinos Swiss (machos e fêmeas) tratados com resíduos de extratos brutos metanólicos (20%) das folhas de *V. brasiliiana* (0,25 a 2,0g/Kg), por via intraperitoneal, não apresentaram sintomas de toxicidade aguda.

Apesar da importância, estudos sobre os efeitos tóxicos deste gênero são escassos. Monteiro e cols (2001) demonstraram que o extrato aquoso da *V. condensata* apresentava baixa toxicidade aguda e não possuía riscos teratogênicos nem mutagênicos. A *V. condensata* ('assa-peixe', 'falso alcachofra' ou 'alumã') é um vegetal bastante utilizado por populares (Rizzo et al., 1985) e com algumas atividades farmacológicas comprovadas (Frutuoso et al., 1994; Valverde et al., 2001).

De acordo com Ferreira (2005), o extrato hexânico de *V. condensata* (1000 a 3000mg/Kg) administrado por via intraperitoneal em camundongos demonstrou sinais clínicos de intoxicação. Contudo, não houve óbito de nenhum animal dentro de um período de observação de 48h.

Entretanto, a *V. molissima*, a *V. squarrosa* e a *V. rubricaulis* são hepatotóxicas e

produzem quadro clínico-patológico caracterizado por necrose hepática (Tokarnia & Döbereiner, 1983), sendo responsáveis por mortes de bovinos, ovinos e caprinos (Döbereiner et al., 1976; Tokarnia & Döbereiner, 1982; Gava et al., 1987; Stolf et al., 1987; Brum et al., 2002).

A administração única, por via oral, do pó dos brotos de *V. molissima*, (0.25–6.0 g/kg) em coelhos ocasionou nefrotoxicidade, além da alta hepatotoxicidade, e óbito da maioria dos organismos (Tokarnia et al., 1986). Respostas tóxicas também foram obtidas experimentalmente em caprinos (Stolf et al. 1987), em bovinos e ovinos (Gava et al. 1987).

Estudos demonstraram que a *V. nudiflora*, apresentou reação tóxica moderada sobre o sistema digestivo (Dobereiner & Tokarnia, 1984; Miolo, 1996).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda, as reações comportamentais e a histologia do fígado de camundongos tratados com o extrato hidroetanólico (EHE) das folhas da *Vernonia brasiliana*, por via intraperitoneal.

2. METODOLOGIA

2.1. Material Botânico

As folhas de *Vernonia brasiliana* (L.) Druce foram coletadas no município de Vicência, Pernambuco - Brasil, no período de setembro a novembro de 2004. Uma exsicata do vegetal foi identificada pela botânica Dr^a. Marlene Barbosa e depositada no herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco, sob número 36.772.

2.2. Obtenção do Extrato

Após a secagem das folhas, estas foram trituradas em moinho mecânico e o pó misturado à solução hidroetanólica (1:1), agitado em temperatura ambiente durante 8 horas, repetindo-se o procedimento por três vezes. Em seguida o material foi filtrado, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida e liofilizado. O rendimento médio foi calculado de acordo com Anjos (1995).

2.3. Animais

Nos experimentos foram utilizados camundongos machos albinos Swiss (*Mus Musculus*) adultos provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram divididos em grupos (n=6) e

mantidos em gaiolas de polietileno com água e ração *ad libitum*, em ambiente climatizado ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo circadiano de 12 horas. O protocolo experimental utilizado está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

2.4. Avaliação da Toxicidade Aguda e Determinação da DL_{50}

Os animais foram privados de ração por 08 horas antes da realização dos ensaios e receberam água *ad libitum*. Em seguida, o extrato hidroetanólico (EHE) das folhas de *V. brasiliiana* foi solubilizado em soro fisiológico (0,9%) e administrado, por via intraperitoneal (v.i.p.), nas doses de 100 a 2000 mg/Kg. O grupo controle recebeu solução fisiológica (0,9%), v.i.p. Após administração das respectivas doses, os animais confinados e dispostos em uma superfície plana foram observados durante 120 minutos. Posteriormente foram realizadas observações em intervalos regulares, durante 72 horas. As alterações comportamentais foram notificadas segundo os critérios propostos por Malone (1977). O número de óbitos foi notificado para cada grupo e a determinação da toxicidade aguda foi realizada segundo o método preconizado por Karber & Behrens (1964).

2.5. Avaliação Histológica dos Fígados de Camundongos Tratados com EHE de *V. brasiliiana*

Baseando-se nos ensaios toxicológicos, foram estabelecidas as doses: 62,5; 250; 500 e 1000mg/Kg para o estudo histológico de fígados de camundongos machos albinos Swiss, submetidos a doses agudas do EHE de *V. brasiliiana* (v.i.p). O grupo controle recebeu solução fisiológica 0,9% (v.i.p). Dois animais, por dose, foram sacrificados por deslocamento cervical uma hora após a administração e os respectivos fígados retirados e fixados em solução de Bouim. Após a fixação foram lavados e processados para inclusão em parafina líquida. Foram efetuados cortes de 5 μm de espessura, corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina e observados em microscopia óptica (Beçak & Paulete, 1976).

3.0. RESULTADOS

3.1. Toxicidade Aguda e Determinação da DL_{50}

O extrato hidroetanólico das folhas de *V. brasiliiana* apresentou um rendimento médio de 14,17%. O tratamento por via intraperitoneal com o EHE produziu vários sinais

clínicos de intoxicação nos primeiros 120 minutos de observação, como demonstrados nas tabelas 01 e 02. De acordo com os dados destas tabelas observou-se que os efeitos mais pronunciados foram reações comportamentais excitatórias e estimulantes, tais como piloereção, exoftalmia, movimentos circulares, reação de fuga, movimentos estereotipados, ereção de cauda, movimento de vibrissas, postura de ataque, dentre outros.

Além dos sinais referidos, os animais também apresentaram comportamentos depressores, tais como diminuição da frequência respiratória, dispnéia, alteração na marcha, abaixamento de trem posterior e prostração.

Outros sinais também foram detectados como marcha lateralizada (500, 750 e 850mg/Kg), postura estática, hiperemia e cianose (1500 e 2000mg/Kg). Os animais alternaram entre o estado de depressão e agitação. Alterações visuais, tais como irritação na conjuntiva, fotofobia e exoftalmia unilateral também foram observadas.

Observou-se que os animais apresentaram irritação do globo ocular com severa fotofobia, respiração visceral, edema de focinho, cianose e intensa piloereção 24h após a administração das doses superiores a 750mg/Kg do EHE. A permanência destes sintomas foi observada até o encerramento dos ensaios (72h após a administração).

A taxa de mortalidade do EHE cresceu progressivamente com o aumento da dose (tabela 02). A menor dose capaz de produzir a maioria dos efeitos adversos sem ocasionar óbito (D_1) foi a de 500mg/Kg, já com 2000mg/kg todos os animais morreram (D_2).

Baseando-se nos achados, foi calculada a DL_{50} do EHE de *V. brasiliana*, v.i.p., que foi de 1208,33mg/Kg de peso do animal.

3.2. Avaliação Histológica dos Fígados de Camundongos

Dois animais, um que recebeu a dose de 62,5 e outro 1000mg/Kg apresentaram veias centrolobulares e sublobulares congestionadas, onde se encontravam hemácias em grande quantidade na luz destes vasos. O parênquima de ambos os animais apresentou aspecto semelhante aos dos animais controle, salvo análise mais profunda e quantificação para morfometria.

Os animais tratados, quando comparados com os do grupo controle, apresentaram áreas extensas com sinusóides com luz aumentada em seu diâmetro e dilatação da parede sinusoidal (Figura 1).

4.0. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Segundo Brum e cols (2002), os principais sinais clínicos de bovinos intoxicados por *V. rubricaulis* foram agressividade, numa primeira fase, e posteriormente depressão, salivação, gemidos, incoordenação, retração de abdômen, fezes ressecadas com muco e hemólise. Outros sinais como piloereção, tremores musculares, fraqueza, olhar fixo, bradipnéia, bradicardia, lacrimejamento, retração de globo ocular e marcha lenta também foram observados. A evolução clínica da doença variou entre 12 e 48 horas. A principal alteração histológica foi observada no fígado, com severa necrose de coagulação hepatocelular, predominantemente centrolobular associada à congestão e hemorragias acentuadas.

Como pode ser observado nas tabelas 01 e 02, muito dos sinais apresentados por intoxicação com *V. rubricaulis* foram verificados na administração do EHE da espécie *V. brasiliiana*, v.i.p.

Os autores atribuíram o quadro clínico patológico observado pela intoxicação com *V. rubricaulis* com o de insuficiência hepática aguda. Segundo Kelly (1993) e Radostits e cols (2000) afecções hepáticas difusas são, normalmente, acompanhadas de manifestações neurológicas variadas e não específicas, como hiperexcitabilidade, convulsões, coma, tremores musculares, fraqueza, abatimento, dificuldade de responder a sinais, movimentos estereotipados e alienação ao ambiente.

Nos nossos ensaios, os dados histológicos demonstraram que todos os animais que receberam o EHE de *V. brasiliiana* apresentaram algum grau de congestão vascular. De acordo com Engelman e colaboradores (2001), este quadro provavelmente se deve a congestão hepática por insuficiência cardíaca congestiva, que provavelmente levaria à dilatação das veias centro-lobulares e dos sinusóides hepáticos.

Alves e cols (1997) isolaram das folhas de *V. brasiliiana* os triterpenóides lupeol, β -amirina e gemanicol. Estudos fitoquímicos realizados por Filizola (2003) demonstraram a presença predominante de metabólitos polifenólicos (flavonóides) e terpênicos nas folhas deste vegetal. Visto que o EHE de *V. brasiliiana* trata-se de um composto contendo várias substâncias, provavelmente as observações notificadas nas tabelas 01 e 02 venha ser devido à predominância de um destes compostos, ou mesmo da interação de dois a mais destes, possivelmente por diferentes mecanismos farmacológicos.

A permanência de alguns sintomas e o aparecimento de novos efeitos adversos, observados num período de 72h, demonstraram que a droga possui reações cumulativas.

Segundo os ensaios de toxicidade aguda realizados por Filizola (2003), os animais submetidos aos resíduos dos extratos brutos metanólicos de *V. brasiliiana* não revelaram qualquer alteração que os diferenciasssem dos animais controle durante o período de observação (07 dias).

De acordo com a DL_{50} obtida em nossos ensaios, o EHE das folhas de *V. brasiliiana* pode ser considerado moderadamente tóxico quando administrado por v.i.p. (Schuartsman, 1980).

AGRADECIMENTOS

Aos moradores do município de Vicência Sr. Luís e Sr. Zino, pelo auxílio na obtenção do material botânico. Aos técnicos de histologia M^a de Fátima do Nascimento, Alex B. da Silveira e Silvana T. Paz, da Universidade Federal de Pernambuco.

**Autor para correspondência:*

Prof^a. Dr^a. Ivone A. de Souza

Departamento de Antibióticos

Universidade Federal de Pernambuco

50670-901– Recife – PE

E-mail: ias10@pop.com.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alves TM, Nagem TJ, De Carvalho LH, Krettli AU, ZanI CL 1997. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliana*. *Planta Med.* 63(6): 554-555.
2. Anjos FBR 1995. *Estudo da atividade antidiabética e outros efeitos farmacológicos relativos à pata-de-vaca (Bauhinia monadra Kurz)*. Recife, 145p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco.
3. Beçak W, Paulete J 1976. *Técnicas de citologia e histologia*. Rio de Janeiro. Livros Técnicos e Científicos. vol I: 22-33.
4. Benoit F, Valentin A, Pelissier Y, Diafouka F, Marion C, Kone-Bamba D, Kone M, Mallie M, Yapo A, Bastide JM 1996. In vitro antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine. *Am J Trop Med Hyg* 54(1): 67-71.
5. Brum KB, Purisco E, Lemos RAA, Riet-Correa F 2002. Intoxicação por *Vernonia rubricaulis* em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras* 22(3):119-128.
6. Carvalho LH, Brandao MG, Santos-Filho D, Lopes JL, Krettli AU 1991. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied *in vivo in Plasmodium berghei*-infected mice and *in vitro* against *Plasmodium falciparum* in culture. *Braz J Med Biol Res* 24(11): 1113-1123.
7. Carvalho LH, Krettli AU 1991. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86(2): 181-184.
8. Frutuoso VS, Gurjao MR, Cordeiro RS, Martins MA 1994. Analgesic and anti-ulcerogenic effects of a polar extract from leaves of *Vernonia condensata*. *Planta Med* 60(1): 21-25.
9. César G 1956. Curiosidades da Nossa Flora. In: Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliana (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica*. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
10. Cioffi G, Sanogo R, Diallo D, Romussi G, De Tommasi N 2004. New Compounds from an Extract of *Vernonia colorata* Leaves with Anti-inflammatory Activity. *J Nat Prod* 67(3): 389-394.
11. Döbereiner J, Tokarnia CH 1984. Intoxicação Experimental por *Vernonia nudiflora* (Compositae) em bovinos e ovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 4 (1): 5-10.

12. Döbereiner J, Tokarnia CH, Purisco E 1976. *Vernonia mollissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul de Mato Grosso. *Pesq. Agropec. Bras* 11: 49-58, apud *Pesq. Vet. Bras.* 22(3):119-128, 2002.
13. Engelman MFB, NetoJG, Andrade CHV, Hernandez R, Goulart LBNT 2001. Estudo Morfométrico do Fígado de Ratos Submetidos a Doses Supra-Fisiológicas de Tiroxina. *Arq Bras Endocrinol Metab* 45: 2.
14. Ferreira AMMS 2005. *Estudo da toxicidade aguda e atividade antineoplásica da Vernonia condensata* Baker (Asteraceae). Recife, 40p. Monografia – Curso de Graduação em Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco.
15. Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliiana (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica*. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
16. Gava A, Peixoto PV, Tokarnia CH 1987. Intoxicação Experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras* 7(2): 33-41, apud *Vet. Bras.* 22(3):119-128.
17. Iwalewa EO, Iwalewa OJ, Adeboye JO 2003. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory effects of methanol, chloroform and ether extracts of *Vernonia cinerea* less leaf. *J Ethnopharmacol* 86 (2-3): 229-234.
18. Kelly WR 1993. The liver and biliary system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. 4ªed. Vol. 2. San Diego: Academic Press, p. 319-406.
19. Latha RM, Geetha T, Varalakshmi P 1998. Effect of *Vernonia cinerea* Less flower extract in adjuvant-induced arthritis. *Gen Pharmacol* 31(4): 601-606.
20. Malone MH 1977. Natural products drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity.
21. Masaba SC 2000. The antimalarial activity of *Vernonia amygdalina* Del (Compositae). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 94(6): 694-695.
22. Miolo JR 1996. Intoxicação experimental com Alecrim *Vernonia nudiflora* em ovinos *Ovis áries*. *Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro* 1(2/3): 33-34.
23. Monteiro MH, Gomes-Carneiro MR, Felzenszwalb I, Chahoud I, Paumgartten FJ 2001. Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia condensata*. *J Ethnopharmacol.* 74(2): 149-157.
24. Nergard CS, Diallo D, Michaelsen TE, Malterud KE, Kiyohara H, Matsumoto T,

- Yamada H, Paulsen BS 2004. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *J Ethnopharmacol* 91(1): 141-152.
25. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW 2000. Veterinary Medicine. 9th ed. W.B.Saunders, London. 1877p, apud *Pesq. Vet. Bras.* 22(3):119-128, 2002.
26. Rizzo JA, Monteiro MSR, Bitencourt C 1985. Utilização de plantas medicinais em Goiânia. Anais do XXXVI Congresso Brasileiro de Botânica. Pará, Brasil, apud *J Ethnopharmacol.* 74(2): 149-57, 2001.
27. Schenkel EL, Zannin M, Mentz LA, Bordignon SAL, Irgang B 2004. Plantas tóxicas. In: Simões, MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. (orgs.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 5ed. Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 959-993.
28. Schuartsman S 1980. *Produtos químicos de uso domiciliar – segurança e riscos toxicológicos.* São Paulo: Almed, 92 p.
29. Stolf L, Gava A, Tokarnia CH 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em caprinos. *Pesq. Vet. Brás*, apud 7(3):67-77, *Pesq. Vet. Bras.* 22(3):119-128, 2002.
30. Tokarnia, C.H., Döbereiner, J. 1982. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. *Pesq. Vet. Bras.* 2(4): 143-147, apud *Pesq. Vet. Bras.* 22(3):119-128, 2002.
31. Tokarnia CH, Döbereiner J 1983. Intoxicação experimental por *Vernonia squarrosa* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras* 3(2): 45-52.
32. Tokarnia CB, Döbereiner J, Amorin PR, Gava A, Consorte LB 1986. Intoxicação experimental por *Vernonia molissima* (Compositae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras* 6(1): 5–10, apud *J Ethnopharmacol* 74(2): 149-57, 2001.
33. Veiga Junior VF, Pinto AC 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Quim. Nova* 28 (3): 519-528.
34. Valverde AL, Cardoso GL, Pereira NA, Silva AJ, Kuster RM 2001. Analgesic and antiinflammatory activities of vernonioside B2 from *Vernonia condensata*. *Phytother Res* 15(3): 263-264.

TABELA 01 - Sinais clínicos de toxicidade observados em camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) tratados com o extrato hidroetanólico de *V. brasiliana*, v.i.p, com doses que não ocasionaram óbitos. Dados obtidos durante 120 minutos após a administração do extrato.

Parâmetros	Dose (mg/Kg)	
	100	500
Estimulantes		
↑ Frequência respiratória	++	+++
Piloereção	+++	+++
Exoftalmia	-	-
Movimentos estereotipados	-	+++
Tremores finos/grosseiros	-	+++
Ereção de cauda	-	+++
Movimentos circulares	-	+++
Movimentos de vibrissas	+	+++
Agitação	+++	+++
Fasciculações na cauda	-	-
Convulsão tônico	-	-
Postura de ataque	-	++
Saltos	-	-
Levantamento de trem posterior	+++	-
Depressores		
↓ Frequência respiratória	+	+++
Dispnéia	-	+
Prostração	-	+
Alteração de marcha	-	+++
Abaixamento de trem posterior	-	+
Outros		
Espasmos	++	+++
Hiperemia	+++	+++
Excreção fecal	-	++
Diarréia	-	+
Diurese	+++	++
Contorções abdominais	+++	++
Distensão abdominal	-	++
Refluxo	-	-
Comportamento exploratório	-	+
Reação de fuga	++	+++
Agressividade	-	++
Não responde a estímulos externos	+++	++
Fotofobia	+	-
Lacrimejamento	-	-
Irritação da conjuntiva	-	-
Exoftalmia unilateral	-	+
Convulsão focal do sist. óculo-motor	-	-
Marcha lateralizada	-	++
Palidez	+	++
Cianose	-	-
Edema de focinho	-	-
Petéquias	-	-
Respiração visceral	-	-
Hipertrofia testicular	-	-
Alternância: Depressão x Agitação	+++	+++
Óbitos	0	0

- = sem efeito + = efeito leve ++ = efeito moderado +++ = efeito acentuado

* Adaptada de Malone, 1977.

TABELA 02 - Sinais clínicos de toxicidade observados em camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) tratados com o extrato hidroetanólico de *V. brasiliana*, v.i.p, com doses que ocasionaram óbitos. Dados obtidos durante 120 minutos após a administração do extrato.

Parâmetros	Dose (mg/Kg)					
	750	850	1000	1500	1900	2000(D2)
Estimulantes						
↑ Frequência respiratória	+++	++	++	++	+++	+++
Piloereção	++	+++	+++	+	++	+++
Exoftalmia	+++	++	++	+++	+++	+
Movimentos estereotipados	++	+++	+++	+	+++	+++
Tremores finos/grosseiros	+	+++	+	++	+++	++
Ereção de cauda	++	+	+++	++	-	+++
Movimentos circulares	-	++	+	++	+++	+++
Movimentos de vibrissas	+++	++	+	++	+	+++
Agitação	+	+	++	++	++	+
Fasciculações na cauda	-	+	++	+	-	+
Convulsão tônico	-	++	-	-	-	-
Postura de ataque	++	+	+++	+++	+	+++
Saltos	+	+	+	+++	-	-
Levantamento de trem posterior	++	+	++	-	++	-
Depressores						
↓ Frequência respiratória	+++	++	+++	++	+++	+++
Dispnéia	+	+++	++	+++	+++	+++
Prostração	+	+	+++	+++	+++	+++
Alteração de marcha	-	+	++	-	+	+
Abaixamento de trem posterior	+	+	++	++	-	+++
Outros						
Espasmos	-	-	-	-	+++	++
Hiperemia	+++	++	+++	+	++	++
Excreção fecal	++	+	+	++	-	+
Diarréia	-	-	+	++	-	++
Diurese	++	-	++	+	+	+
Contorções abdominais	++	+	++	++	++	++
Distensão abdominal	+	++	-	-	-	-
Refluxo	+	+++	-	-	-	++
Comportamento exploratório	+	+	++	+	-	-
Reação de fuga	+++	+++	+++	++	++	++
Agressividade	+++	+	+++	+++	+	+++
Não responde a estímulos externos	+	+	++	-	-	++
Fotofobia	-	-	-	-	+	++
Lacrimejamento	-	++	-	-	+	-
Irritação da conjuntiva	-	+++	++	+++	+++	+++
Exoftalmia unilateral	++	++	-	-	-	-
Convulsão focal do sist. óculo-motor	-	+	-	-	+	+
Marcha lateralizada	+	+	-	-	-	-
Palidez	+++	+++	+++	++	+++	+++
Cianose	-	-	-	+++	-	+++
Edema de focinho	-	-	-	-	-	++
Petéquias	-	-	-	-	-	+++
Respiração visceral	+	-	-	+	-	-
Hipertrofia testicular	-	+++	-	+++	-	-
Alternância: Depressão x Agitação	+	+	++	++	++	++
Óbitos	01	02	03	04	05	06

- = sem efeito + = efeito leve ++ = efeito moderado +++ = efeito acentuado

* Adaptada de Malone, 1977.

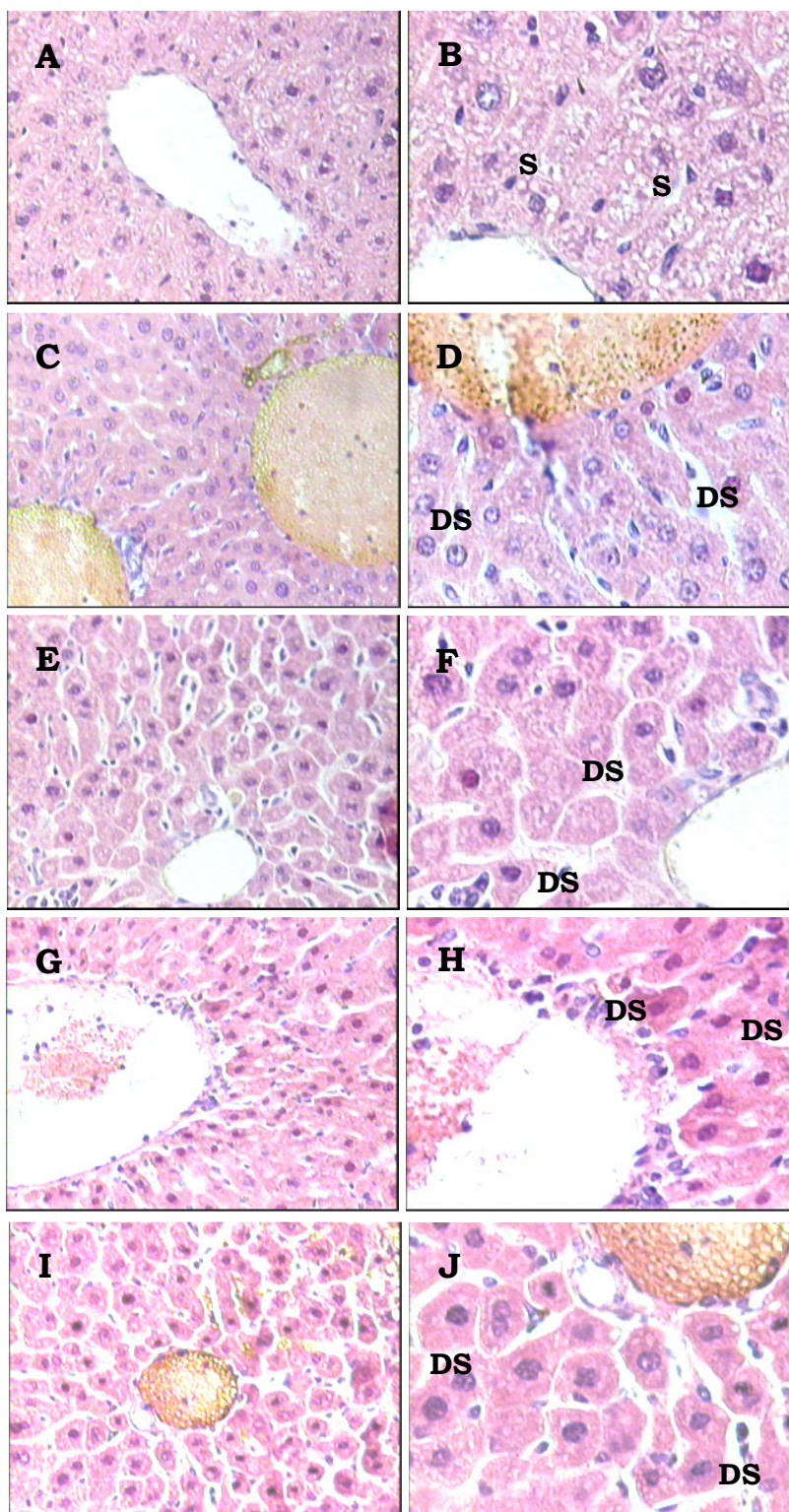


Figura 1 – Cortes de fígados de camundongos machos (*Mus musculus*). As figuras A e B são de animais controles (S = sinusóides), nas objetivas de 20x e 40x, respectivamente. Visualização das áreas com sinusóides com luz aumentada em seu diâmetro e dilatação da parede sinusoidal (DS) em animais tratados com o extrato de *V. brasiliana* nas doses: 62,5mg/Kg (C e D), 250mg/Kg (E e F), 500mg/Kg (G e H) e 1000mg/Kg (I e J). (C, E, G, I = HE 20x) (D, F, H, J = HE 40x).

5. *Artigo II*

Artigo a ser submetido à revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

Avaliação preliminar da atividade antiinflamatória do extrato hidroetanólico de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce.

Danielli Cândida de Oliveira, George Chaves Jimenez, Aldo César Passilongo da Silva, Elisangela Christhianne Barbosa da Silva, Elisabete de Jesus Moreira, Ivone Antônia de Souza*.

*Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo descrever os resultados da atividade antiinflamatória do extrato hidroetanólico (1:1) das folhas de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce, utilizando o modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar machos. A análise de regressão revelou que o ponto de efeito máximo e o ponto de corte da curva de variação do edema no grupo controle dos animais tratados com 150mg/Kg do extrato de *V. brasiliiana* foram similares aos dos animais tratados com 2mg/Kg de dexametasona. Os dados sugerem que, possivelmente, os efeitos antiinflamatórios observados possam ter ocorrido pelas mesmas vias farmacológicas da dexametasona, ou seja, por inibição da fosfolipase A₂, enzima responsável pelo início das opções da cascata do ácido araquidônico.

1. INTRODUÇÃO

Diferentes espécies do gênero *Vernonia* (Asteraceae) têm sido utilizadas na medicina popular em problemas gastrintestinais, cicatrizantes, antipiréticos, antiinflamatórios, dentre outros (Latha et al. 1998, Monteiro et al. 2001, Iwalewa et al. 2003, Cioffi et al. 2004, Nergard et al. 2004).

Estudos demonstram que este gênero abriga um vasto perfil fitoquímico, com representantes de todos os grupos de metabólitos secundários conhecidos, com predomínio dos triterpenos, esteróides, sesquiterpenos e flavonóides (Filizola 2003).

Especificamente, a *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce (conhecida como assa-peixe ou hervea-préa) tem sido utilizada ao longo dos anos com várias indicações, incluindo hemorragias gastrintestinais, corizas fortes, cólicas hepáticas e hematomas (César 1956). Entretanto, estudos científicos sobre *V. brasiliiana* ainda são escassos, destacando-se os de atividade antimalárica (Carvalho & Krettli 1991, Carvalho et al. 1991, Alves et al. 1997).

Ensaio realizado com resíduos de extratos brutos metanólicos (20%) das folhas de *V. brasiliiana* nas doses de 500 e 1000 mg/kg não apresentaram atividades antiinflamatória nem antiálgica, por via oral e intraperitoneal, respectivamente (Filizola 2003).

Alves e cols (1997) isolaram das folhas de *V. brasiliiana* os triterpenóides pentacíclicos lupeol, β -amirina e gemanicol. Triterpenos pentacíclicos, em geral, exibem uma larga escala de atividades farmacológicas que incluem atividade antiinflamatória, antioxidante, antialérgica, antitumoral, antibacteriana, efeitos gastroprotetores e hepatoprotetores (Oliveira et al. 2004).

A atividade antimalárica da *V. brasiliiana* foi atribuída ao lupeol (Alves et al. 1997). Ziegler e cols (2002) demonstraram que esta substância atua promovendo alterações na morfologia de eritrócitos, tornando estas células inviáveis como hospedeiras do *Plasmodium falciparum*.

Agarwal & Rangari (2003) constataram atividade antiinflamatória dose-dependente do lupeol, possivelmente devido ao mesmo impedir a produção de alguns mediadores pró-inflamatórios (Fernandez et al. 2001).

Estudos fitoquímicos realizados por Filizola (2003) demonstraram a presença predominante de metabólitos polifenólicos (flavonóides) e terpenícos nas folhas deste vegetal.

Vários efeitos biológicos têm sido atribuídos aos flavonóides, tais como inibição da peroxidação de lipídeos e da agregação de plaquetas, alterações de sistemas enzimáticos, incluindo a inibição de ciclooxygenases, lipoxigenases e da fosfolipase A₂ (Landolfi et al. 1984, Brody 1994, Tsuda et al. 1994, Silva et al. 2002, Zuanazzi & Montanha 2004).

Dentre os terpenóides, as lactonas sesquiterpênicas constitui-se um grupo de grande ocorrência no gênero *Vernonia* (Lopes 1991). Estudos demonstraram que o Verolepin, uma lactona sesquiterpênica isolada de *V. amygdalina*, apresentou antagonismo competitivo com a histamina, atividade desagregante plaquetária, inibiu a produção do fator de necrose tumoral (TNF- α), interferiu na liberação de ATP e inibiu a agregação de plaquetas induzidas por ácido araquidônico, ADP e colágeno (Laekeman et al. 1985, Noldin et al. 2003).

Vários trabalhos têm sido realizados na tentativa de descobrir novos fármacos antiinflamatórios mais potentes, seletivos e seguros (Lages et al. 1998, Reitz et al. 1994). Espécimes de *Vernonia* têm sido alvo de diversos estudos por apresentarem atividades analgésica, antipirética, antiinflamatória e imunomoduladora (Frutuoso et al. 1994, Latha et al. 1998, Valverde et al. 2001, Gupta et al. 2003, Iwalewa et al. 2003, Mazumder et al. 2003, Cioffi et al. 2004, Nergard et al. 2005).

A *V. cinérea* demonstrou significativa atividade antiinflamatória aguda e crônica e, assim como a *V. brasiliiana*, este vegetal possui flavonóides e terpenos como os seus maiores constituintes (Latha et al. 1998, Iwalewa et al. 2003, Mazumder et al. 2003).

Visto a importância etnofarmacológica da *V. brasiliiana* e seu grande potencial fitoquímico, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a

ação do extrato hidroetanólico (EHE) das folhas de *V. brasiliiana* na reversão da fase aguda do processo inflamatório do edema de pata induzido por carragenina.

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta do Material e Obtenção do Extrato

As folhas de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce foram coletadas no município de Vicência, Pernambuco - Brasil, no período de setembro a novembro de 2004. A exsicata da espécie vegetal foi identificada pela botânica Dr^a. Marlene Barbosa, e depositada no herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco, sob número 36.772. Depois de secas, as folhas foram trituradas em moinho mecânico e o pó misturado à solução hidroetanólica (1:1), agitado em temperatura ambiente durante 8 horas, repetindo-se o procedimento por três vezes. Em seguida o material foi filtrado, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida e liofilizado.

2.2 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) com três meses de idade, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em caixas de polietileno (n=6), em ambiente climatizado ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) com ciclo circadiano de 12 horas. Todos receberam água *ad libitum*, permanecendo em jejum por 12 horas antes do ensaio. O protocolo experimental foi de acordo com os princípios éticos da experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

2.3 Edema de Pata Induzido por Carragenina

O ensaio foi realizado de acordo com a metodologia de Ugo Basile Itália 7150 e Winter e cols (1962) que se baseia na medida do volume das patas traseiras dos animais usando pletismômetro em intervalos de tempo pré-determinado. A indução da inflamação aguda foi obtida através da administração subplantar de 0,1ml de solução de carragenina (0,1% p/v) na pata posterior esquerda.

As drogas foram administradas por via intraperitoneal (v.i.p), dose única, trinta minutos após a indução do edema. O grupo controle recebeu solução fisiológica (0,9%). Aos padrões foram administradas as seguintes substâncias: indometacina (10mg/kg) e dexametasona (2mg/kg). Os grupos de animais tratados receberam o extrato hidroetanólico (EHE) das folhas de *V. brasiliana*, em solução fisiológica (0,9%), nas doses: 50; 75 e 150mg/Kg, as quais foram estabelecidas baseando-se na DL₅₀ do extrato.

O volume da pata de cada animal foi medido após administração das drogas, em intervalos constantes de 60 minutos, por um período de seis horas.

2.5. Análise Estatística

Os valores foram expressos como média $\pm$ desvio padrão e as respectivas variações do edema mediante os diferentes tipos de tratamentos foram avaliados por análise de regressão, segundo planilha estatística do programa Excel® da Microsoft®, versão 2003.

3.0. RESULTADOS

Na tabela 1 estão notificadas os volumes de edema de pata induzido por carragenina com as doses administradas. No gráfico 1 verifica-se as curvas dose/resposta do edema mediado por diferentes doses de *V. brasiliana* quando comparados com os animais do grupo controle. Neste

gráfico foi observado que nos tempos iniciais todos os extratos administrados provocaram edemas maiores do que o do grupo controle. O extrato de *V. brasiliiana* na dose de 150mg/Kg, além de ter produzido um edema menor do que as outras doses do extrato, aproximadamente a partir da 5^ah provocou uma redução de edema muito mais rapidamente em relação ao grupo controle.

No gráfico 2 pode ser observada a variação de volume de edemas ao longo do tempo mediante o tratamento com indometacina e dexametasona em relação ao grupo controle.

Com as funções de variação de edema ao longo do tempo, visualizadas nos gráficos 1 e 2, após a derivação, procurou-se determinar o tempo de efeito máximo (T_{max}) de cada tratamento (tabela 2).

Observando a tabela 2 verificou-se que os tempos de resposta máxima produzidos pelo extrato nas concentrações de 50 e 150mg/Kg foram praticamente os mesmos encontrados quando da administração de dexametasona na concentração de 2mg/Kg.

Mesmo considerando que a dexametasona pode reduzir o edema de forma mais significativa após 4h de administração e o extrato de *V. brasiliiana* a 150mg/Kg possa fazer esta mesma redução a partir da 5^a hora, procurou-se estabelecer uma relação de equivalência entre ambos (gráfico 3). Mediante a equação obtida $y = 0,6424x + 0,3613$ no gráfico 3, para um coeficiente de determinação (R^2) de 0,7069, verificou-se que 150mg/Kg de *V. brasiliiana* equivale a 96,72mg/Kg de dexametasona.

4.0. DISCUSSÃO

A princípio, parece ser mais vantajoso a escolha da dexametasona em relação à 150mg/Kg do extrato de *V. brasiliiana*, uma vez que o fármaco padrão reduziu em cerca de uma hora mais rapidamente o edema em relação o extrato vegetal com uma dose de 2mg/Kg. Mas, considerando-se os efeitos adversos dos corticoesteróides sobre o organismo, bem como a amplitude de impacto dos mesmos sobre

diferentes aspectos do metabolismo animal (Macedo & Oliveira 2002), em administração crônica observou-se que a *V. brasiliiana* pode ser uma opção interessante, embora essa reciprocidade possa ser explicada pela relação linear obtida em 71%.

Também é importante destacar que considerando o ponto de efeito máximo e o ponto de corte da curva de variação do edema do grupo controle como similares é possível admitir que os efeitos antiinflamatórios observados possam ser sugestivos pelas mesmas ações farmacológicas, ou seja, por inibição da fosfolipase A₂, enzima esta responsável pelo início das opções da cascata do ácido araquidônico (Macedo & Oliveira 2002).

Atividade antiinflamatória semelhante foi observada por Geetha e Varalakhmi (2001) com o triterpeno lupeol, um dos constituintes da *V. brasiliiana* (Alves et al. 1997). Visto que o EHE de *V. brasiliiana* se trata de um vegetal com várias substâncias, possivelmente o lupeol é um dos componentes responsável pela atividade antiinflamatória observada em nossos estudos.

Os resultados que foram encontrados na espécie *V. brasiliiana* apresentaram indicativos de combate ao processo inflamatório numa ação tardia, que foi conferido a partir da 5ª hora após administração.

Segundo a literatura, os antiinflamatórios não hormonais não alteram a hiperalgesia e a dor causada pela ação direta das prostaglandinas, o que é compatível com o conceito de que os efeitos analgésicos desses medicamentos são devidos à inibição da síntese das prostaglandinas. Diante das ações verificadas em nossos estudos, a espécie *V. brasiliiana* simula atividade a prazo mais prolongado que vai de encontro aos antiinflamatórios de ação curta. A ação tardia da espécie *V. brasiliiana* abre perspectivas às novas investigações pela resposta antinociceptiva central e possivelmente periférica, imbricado no mecanismo da inflamação.

AGRADECIMENTOS

Aos moradores do município de Vicência Sr. Luís e Sr. Zino, pelo auxílio na obtenção do material botânico. A pesquisadora Jovita M^a de Farias Braga e ao graduando em Ciências Biomédicas Renato Sá Barreto O. Gomes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agarwal RB, Rangari VD 2003. Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19a-h lupeol isolated from *Strobilanthus callosus* and *Strobilanthus ixiocephala* roots. *Indian J. Pharm* 35: 384-387.
2. Alves TM, Nagem TJ, De Carvalho LH, Krettli AU, Zani CL 1997. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliana*. *Planta Med* 63(6): 554-555.
3. Brody T 1994. Nutritional biochemistry. In Silva RR, Oliveira TT, Nagem TJ, LEÃO MA 2002. Efeito de flavonóides no metabolismo do Ácido Araquidônico. *Medicina Ribeirão Preto* 35: 127-133.
4. Carvalho LH, Brandao MG, Santos-Filho D, Lopes JL, Krettli AU 1991. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied *in vivo* in *Plasmodium berghei*-infected mice and *in vitro* against *Plasmodium falciparum* in culture. *Braz J Med Biol Res* 24(11): 1113-1123.
5. Carvalho LH, Krettli AU 1991. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86 (2): 181-184.
6. César G 1956. Curiosidades da Nossa Flora. In Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliana (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica*. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 104pp.
7. Cioffi G, Sanogo R, Diallo D, Romussi G, De Tommasi N 2004. New Compounds from an Extract of *Vernonia colorata* Leaves with Anti-inflammatory Activity. *J Nat Prod* 67(3): 389-394.
8. Fernandez, M.A., de las Heras B, Garcia MD, Saenz MT, Villar A 2001. New insights into the mechanism of action of the antiinflammatory triterpene lupeol. In: Agarwal RB, Rangari VD 2003. Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19a-h lupeol isolated from *Strobilanthus callosus* and *Strobilanthus ixiocephala* roots. *Indian J. Pharm* 35: 384-387.
9. Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliana (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica*. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 104pp.
10. Frutuoso VS, Gurjao MR, Cordeiro RS, Martins MA 1994. Analgesic and anti-ulcerogenic effects of a polar extract from leaves of *Vernonia condensata*. *Planta Med* 60(1): 21-25.
11. Geetha T, Varalakshmi P, Latha RM 2001. Antiinflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. *J Ethnopharmacol* 76: 77-80.
12. Gupta M, Mazumder UK, Manikandan L, Bhattacharya S, Halder PK, Roy S

2003. Evaluation of antipyretic potential of *Vernonia cinerea* extract in rats. *Phytother Res* 17(7): 804-806.
13. Iwalewa EO, Iwalewa OJ, Adeboye JO 2003. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory effects of methanol, chloroform and ether extracts of *Vernonia cinerea* less leaf. *J Ethnopharmacol* 86 (2-3): 229-234.
14. Lages AS, Romeiro NC, Fraga CAM, Barreiro EJ 1998. Inibidores seletivos de Prostaglandina Endoperóxido Sintase-2 (PGHS-2): nova estratégia para o tratamento da inflamação. *Quim. Nova* 21(6): 761-771.
15. Laekeman GM, de Clerck F, Vlietinck AJ, Herman AG 1985. Vernolepin: an antiplatelet compound of natural origin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 331(1): 108-113.
16. Landolfi R, Mower RL, Steiner, M 1984. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem Pharmacol* 33: 1525-1530.
17. Latha RM, Geetha T, Varalakshmi P 1998. Effect of *Vernonia cinerea* Less flower extract in adjuvant-induced arthritis. *Gen Pharmacol* 31(4): 601-606.
18. Lopes JL 1991. Sesquiterpene lactones from *Vernonia*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86 (2): 227-230.
19. Macedo JMS, Oliveira IR 2002. Corticosteróides. In Silva P 2002. *Farmacologia*, 6th ed, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. p. 826-841.
20. Mazumder UK, Gupta M, Manikandan L, Bhattacharya S, Halder PK, Roy S 2003. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Vernonia cinerea* Less. extract in rats. *Phytomedicine* 10(2-3): 185-188.
21. Monteiro MHD, Gomes-Carneiro MR, Felzenszwalb I, Chahoud I, Paumgarten FJR 2001. Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia Condensata*. *J Ethnopharmacol* 74: 149-157.
22. Noldin VF, Cechinel Filho, V, Monache FD, Benassi JC, Christmann IL, Pedrosa RC, Yunes RA 2003. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (Alcachofra) cultivada no Brasil. *Quim. Nova* 26(3): 331-334.
23. Nergard CS, Diallo D, Michaelsen TE, Malterud KE, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H, Paulsen BS 2004. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *J Ethnopharmacol* 91(1): 141-152.
24. Nergard CS, Matsumoto T, Inngjerdigen M, Inngjerdigen K, Hokputsa S, Harding SE, Michaelsen TE, Diallo D, Kiyohara H, Paulsen BS, Yamada H 2005. Structural and immunological studies of a pectin and a pectic arabinogalactan from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. (Asteraceae).

Carbohydr Res 340(1): 115-130.

25. Oliveira et al. 2004. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. In Soldi C, Zuchinali A, Pizzolatti MG, Moresco HH, Dias M, Brighente IMC 2006. Atividade citotóxica de derivados do triterpeno amirina, bioensaio com larvas de *Artemia salina*. 29a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. <http://sec.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T0599-2.pdf>, acessada em novembro de 2006.
26. Reitz DB, Li JJ, Norton MB, Reinhard EJ, Collins JT, Anderson GD, Gregory SA, Koboldt CM, Perkins WE, Seibert K, Isakson PCJ 1994. In: Lages AS, Romeiro NC, Fraga CAM, Barreiro EJ 1998. Inibidores seletivos de Prostaglandina Endoperóxido Sintase-2 (PGHS-2): nova estratégia para o tratamento da inflamação. *Quim. Nova* 21(6): 761-771.
27. Silva RR, Oliveira TT, Nagem TJ, Leão MA 2002. Efeito de flavonóides no metabolismo do Ácido Araquidônico. *Medicina Ribeirão Preto* 35: 127-133.
28. Tsuda T, Watanabe M, Ohshimak Norinobu S, Chol SW, Kawakishi S, Osawa T 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-b-D-glucoside and cyanidin. *J Agricult Food Chem* 42: 2407-2410.
29. Valverde AL, Cardoso GL, Pereira NA, Silva AJ, Kuster RM 2001. Analgesic and antiinflammatory activities of vernonioside B2 from *Vernonia condensata*. *Phytother Res* 15(3): 263-264.
30. Ziegler HL, Stærk D, Christensen J, Hviid L, Hägerstrand H, Jaroszewski JW 2002. *In vitro Plasmodium falciparum* drug sensitivity assay: inhibition of parasite growth by incorporation of stomatocytogenic amphiphiles into the erythrocyte membrane. *Antim Agents Chem* 46(5): 1441-1446.
31. Zuanazzi JAS, Montanha JA 2004. Flavonóides. In Simões, MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Florianópolis, Brasil. p. 577-614.
32. Winter CA, Risley EA, Nuss GW 1962. Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine* 111: 544 - 547.

Tabela I – Volumes dos edemas induzido por injeção subplantar de carragenina nas patas de ratos Wistar machos. Médias, e os respectivos desvios padrões, dos tratamentos com indometacina (10 mg/kg), dexametasona (2mg/kg) e o EHE de *V. brasiliiana* nas doses de 50, 75 e 100mg/kg, via intraperitoneal. O grupo Controle recebeu solução salina 0,9%. (n=6/grupo).

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	MÉDIA $\pm \sigma$ (ml)						
		0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
Controle	-	0,633 $\pm$ 0,172	0,833 $\pm$ 0,189	0,775 $\pm$ 0,214	0,842 $\pm$ 0,231	0,808 $\pm$ 0,248	0,792 $\pm$ 0,211	0,733 $\pm$ 0,218
EHE	50	0,525 $\pm$ 0,140	1,017 $\pm$ 0,202	1,000 $\pm$ 0,207	1,008 $\pm$ 0,203	1,000 $\pm$ 0,164	0,867 $\pm$ 0,117	0,758 $\pm$ 0,136
EHE	75	0,483 $\pm$ 0,133	1,025 $\pm$ 0,160	1,058 $\pm$ 0,153	1,083 $\pm$ 0,218	1,017 $\pm$ 0,144	0,917 $\pm$ 0,209	0,825 $\pm$ 0,270
EHE	150	0,542 $\pm$ 0,196	0,975 $\pm$ 0,262	0,942 $\pm$ 0,235	0,850 $\pm$ 0,184	0,892 $\pm$ 0,237	0,725 $\pm$ 0,178	0,650 $\pm$ 0,257
Indometacina	10	0,567 $\pm$ 0,137	1,033 $\pm$ 0,211	0,958 $\pm$ 0,132	0,942 $\pm$ 0,159	0,775 $\pm$ 0,209	0,658 $\pm$ 0,111	0,633 $\pm$ 0,137
Dexametasona	02	0,242 $\pm$ 0,102	0,858 $\pm$ 0,120	0,883 $\pm$ 0,175	0,725 $\pm$ 0,133	0,658 $\pm$ 0,116	0,692 $\pm$ 0,092	0,683 $\pm$ 0,087

Tabela II – Comparação dos tempos de efeito máximo (T_{max}) da resposta antiinflamatória dos tratamentos com o EHE de *V. brasiliiana*, indometacina e dexametasona no modelo do edema de pata induzido por carragenina, v.i.p. O grupo Controle recebeu solução fisiológica (0,9%) (n=6/grupo).

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	T_{max} (h)
Controle	-	5,091
EHE	50	2,301
EHE	75	2,180
EHE	150	2,273
Indometacina	10	3,863
Dexametasona	02	2,300

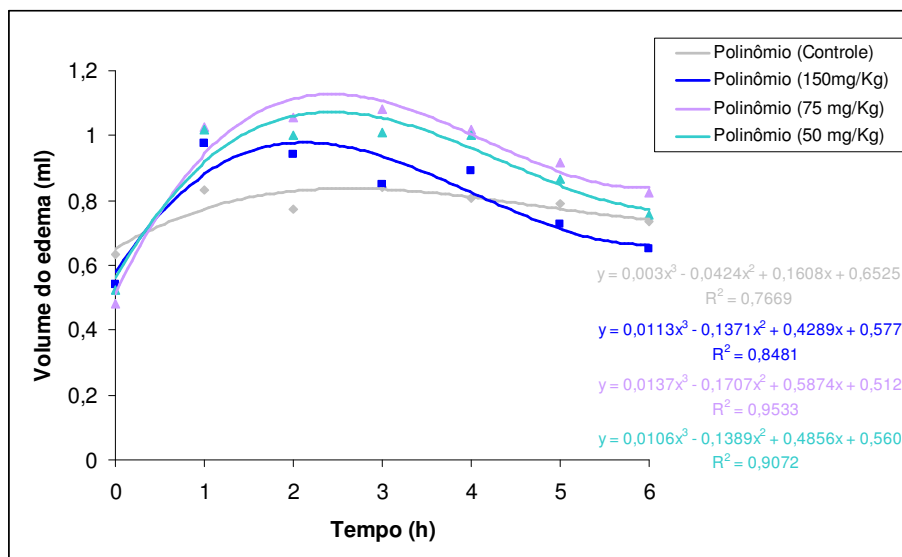


Gráfico 1 – Representação das curvas de variação que descrevem o efeito do EHE das folhas de *V. brasiliiana* nas doses de 50, 75 e 100mg/kg, via intraperitoneal, no volume do edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar machos adultos. O grupo Controle recebeu solução salina 0,9%. (n=6/grupo).

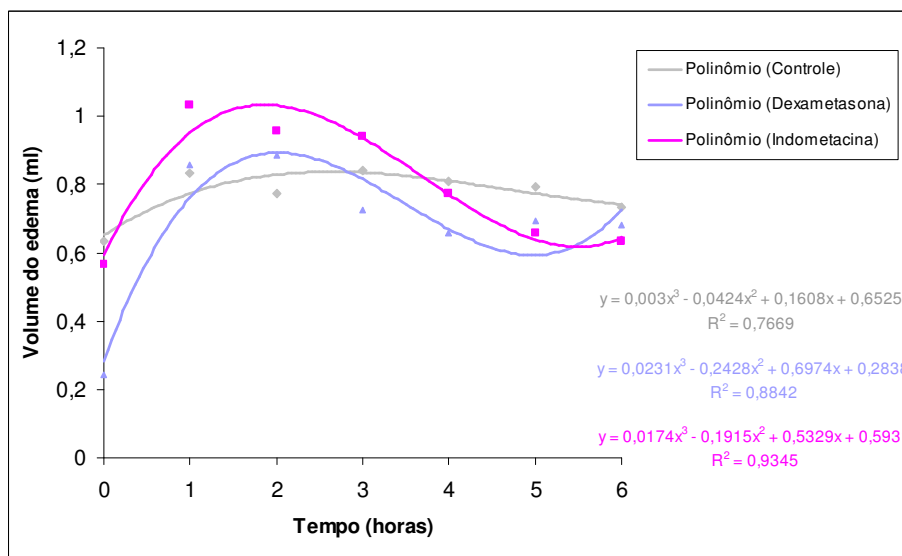


Gráfico 2 – Representação das curvas de variação que descrevem o efeito dos fármacos padrões indometacina (10mg/Kg) e dexametasona (2mg/Kg), via intraperitoneal, no volume do edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar machos adultos. O grupo Controle recebeu solução salina 0,9%. (n=6/grupo).

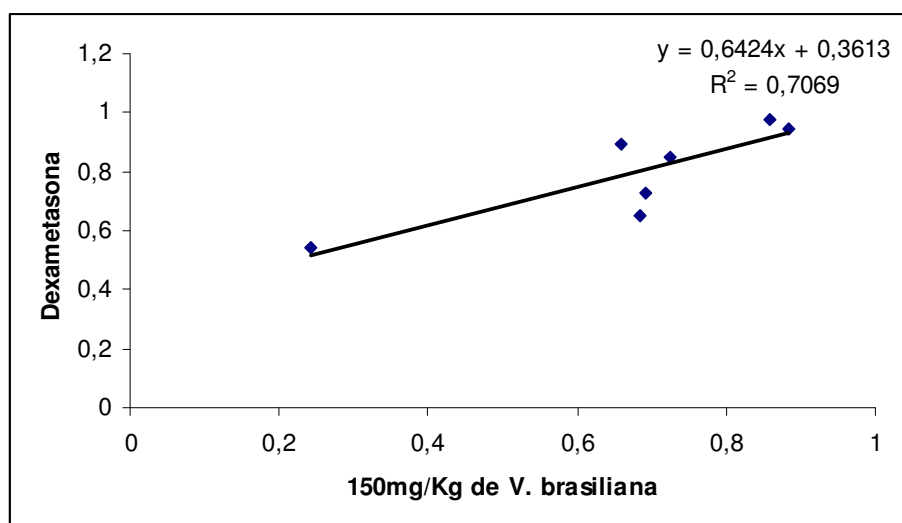


Gráfico 3 – Relação de equivalência entre as médias dos volumes do edema de pata induzido por carragenina de ratos Wistar machos tratados com 2mg/Kg de dexametasona e 150mg/Kg do EHE das folhas de *V. brasiliana*, via intraperitoneal (n=6/grupo).

6. *Artigo III*

Artigo a ser submetido à revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

Atividade antineoplásica da *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce

Danielli Cândida de Oliveira, Elisabete de Jesus Moreira, George Chaves Jimenez, Fálba Bernadete Ramos dos Anjos, Roberto José Vieira de Mello, Ivone Antônia de Souza*.

*Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Resumo

Vernonia brasiliiana é uma planta de uso popular, utilizada nas doenças do sistema respiratório e digestivo. Estudos científicos demonstraram notável ação antimalárica e antimicrobiana deste vegetal. Neste trabalho, investigamos a atividade antineoplásica do extrato hidroetanólico de suas folhas nas linhagens Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich. A análise da razão das taxas metabólicas específicas do animal e a do tumor demonstrou que em ambas as linhagens houve variação de acordo com a dose do extrato empregada. Entretanto, esta variação apresentou um ponto crítico, que assinalou o efeito máximo, aproximadamente associado à dose 30mg/Kg para o Sarcoma e 60mg/Kg no Carcinoma. A partir destes pontos, a razão decaiu com o aumento da dose. Estes resultados estão de acordo com o maior percentual de inibição tumoral obtido, nos quais os animais induzidos com o tumor sarcomatoso apresentou 93,88% de inibição tumoral com a dose 31,25mg/kg e o carcinomatoso 86,70% com a dose 62,5mg/Kg. A avaliação histopatológica demonstrou que houve um maior número de áreas necróticas nos dois tumores. Quanto à especificidade tumor/hospedeiro de cada linhagem em relação às diferentes doses de *V. brasiliiana*, observou-se que o extrato apresentou melhor efeito sobre o Sarcoma 180 do que sobre o Carcinoma de Ehrlich.

Palavras chave: *Vernonia brasiliiana*, Asteraceae, Câncer, Sarcoma, Carcinoma.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença sombria e devastadora que afeta a humanidade. Do número total de óbitos, um em cada cinco é causado pela doença; tem havido avanços, mas na maior parte ainda se perde muito na guerra contra o câncer. Um dos principais motivos é que a medicina convencional há muito tem ignorado a maior capacidade restauradora dos produtos simples encontrados na natureza (Murray et al. 2005)

Após a descoberta do triterpeno paclitaxel, composto natural capaz de inibir a divisão celular pela despolimerização dos microtúbulos, diferentes grupos de pesquisadores voltaram à atenção para a busca de novos produtos naturais, visando uma nova perspectiva para obtenção de potentes agentes quimioterápicos (Souza 2003).

A composição química e a atividade biológica de muitos espécimes da família *Asteraceae* vêm sendo extensivamente estudadas, resultando no desenvolvimento de novos fármacos, inseticidas, entre outros (Zomlefer 1994). Dentre estes, espécimes do gênero *Vernonia* têm sido alvo de importantes estudos *in vitro* de atividades imunomoduladora, antimicrobiana e antitumoral (Kupchan *et al.* 1969(b), Taiwo et al. 1999, Kelmanson et al. 2000, Rabe et al. 2002, Gupta et al. 2003, Krishna Kumari et al. 2003, Lambertini et al. 2004, Nergard et al. 2004, Stafford et al. 2005, Williams et al. 2005, Chen et al. 2005, Erasto et al. 2006).

O gênero *Vernonia* abriga um vasto perfil fitoquímico, com representantes de todos os grupos de metabólicos secundários conhecidos, com predomínio dos triterpenos, esteróides, sesquiterpenos e flavonóides (Almeida et al. 1997, Filizola 2003).

Particularmente, a *Vernonia brasiliiana* é um importante vegetal utilizado na medicina popular para o tratamento de distúrbios digestivos e respiratórios (César 1956) e com significativa atividade antimalárica (Carvalho & Krettli 1991, Carvalho et al. 1991, Alves et al. 1997). Trata-se de uma planta arbustiva, conhecida como herba-préa, matias ou tramanhém, que, em alguns casos, encontra-se identificada

equivocadamente como *Vernonia scabra* (Barroso 1991, Matos 2005).

A *V. brasiliana* apresentou notável atividade antimicrobiana (D'Albuquerque et al. 1961, Filizola 2003) e o Screening cromatográfico do extrato metanólico de suas folhas demonstrou a presença de metabólitos terpênicos (monoterpenos, triterpenos, sesquiterpenos), polifenólicos (glicosídeos de flavonóides, esteróides, derivados cinâmicos e agliconas) e açúcares redutores (Filizola 2003).

A comprovação da atividade antineoplásica *in vitro* de diversos compostos deste gênero (Kupchan et al. 1968, Kupchan et al. 1969(a), Jisaka et al. 1993, Obaseiki-Ebor et al. 1993, Izevbigie 2003, Koul et al. 2003, Kuo et al. 2003, Liang & Min 2003, Izevbigie et al. 2004) e o potencial fitoquímico da *V. brasiliana* nos levaram a investigar a atividade antitumoral do extrato hidroetanólico das folhas deste vegetal nas linhagens de tumores sólidos Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich implantados em camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*).

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta do Material e Obtenção do Extrato

As folhas de *Vernonia brasiliana* (L.) Druce foram coletadas no município de Vicência, Pernambuco - Brasil, no período de setembro a novembro de 2004. A identificação botânica foi realizada pela Dr^a. Marlene Barbosa e depositada no herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco, sob número 36.772.

Após secagem, o material botânico foi triturado em moinho mecânico e o pó misturado à solução hidroetanólica (1:1), agitado em temperatura ambiente durante 8 horas. O material concentrado foi acondicionado em rotaevaporador sob pressão reduzida e liofilizado.

2.2 Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss adultos (*Mus Musculus*) machos com faixa etária de 60 dias e peso entre 25-35g, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em caixas de polietileno (n=5), em ambiente climatizado ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), ciclo circadiano de 12 horas e receberam água *ad libitum*. O protocolo experimental foi de acordo com os princípios éticos da experimentação animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

2.3 Implantação dos Tumores

O procedimento do transplante (Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich) foi utilizado em animal doador para retirada da massa tumoral, de acordo com preconizado por Stock e cols (1955) e Komiyama & Funayama (1992).

2.4 Tratamento (Inibição Tumoral)

O ensaio com os animais transplantados foi dividido em 03 grupos (n=5/grupo): Controle, Padrão e Teste respectivamente com solução fisiológica, Metotrexato e o extrato de *V. brasiliiana*. No caso do sarcoma foram usadas doses de 31,25; 62,5 e 125mg/Kg. Para o Carcinoma de Ehrlich as doses foram de: 31,25; 62,5 e 100mg/Kg de peso do animal, administradas diariamente, por via intraperitoneal, por 09 e 08 dias, respectivamente. O tratamento teve início 48 horas após o transplante dos tumores. Após o tratamento os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os tumores retirados, pesados e calculados de acordo com a fórmula:

$$\text{TW\%} = C - T/C \times 100$$

Onde: TW% = % de inibição tumoral; C= média dos pesos dos tumores do grupo controle; T = média dos pesos dos tumores do grupo tratado.

2.4 Análise da Taxa Metabólica Específica (TXM)

As taxas metabólicas dos animais e dos tumores foram determinadas de acordo com a fórmula (Taylor et al. 1970):

$$TXM = 0,676 \times m^{-0,25}$$

Onde: TXM = Taxa Metabólica Específica; m = peso (animal ou tumor) em Kg.

*Resultados expressos em litros de O₂.h⁻¹.Kg⁻¹.

Para análise foi aplicada a razão entre a TXM do tumor e a do animal (TXM_T /TXM_A) como resposta ao tratamento com a *V. brasiliiana*.

2.6 Avaliação Histopatológica

Após a realização dos cálculos foram separados 03 tumores de cada grupo que foram fixados em formalina a 10%, lavados e processados para inclusão em parafina. Os cortes 5 µm de espessura foram corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina e as observações em microscopia óptica (Beçak & Paulete 1976).

2.7. Análise Estatística

A média e o desvio padrão foram avaliados por análise de variância (ANOVA) mediante o teste de Tukey, considerando-se significativo os valores para um valor de p< 0,01 (Christman 1985). A variação da razão entre as taxas metabólicas em função da dose foi avaliada por análise de regressão do programa Excel®, versão 2003, da Microsoft®.

3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Percentuais de Inibição Tumoral (TW%)

Nas tabelas 1 e 2 estão representadas as médias e os desvios padrões do peso dos animais (PA) e dos tumores (PT). A razão entre PT/PA foi obtida para os grupos experimentais. O teste estatístico ($p < 0,01$) demonstrou que as razões obtidas nos grupos tratados e padrão apresentaram diferença significativa frente ao grupo controle.

Nos gráficos 1 e 2 estão demonstrados os valores dos percentuais de inibição tumoral (TW%) com os respectivos tumores nos grupos tratados e padrão. De acordo com o gráfico 1 o maior percentual de inibição para o Sarcoma 180 foi de 93,88% com a dose de 31,25mg/kg, quando comparado ao grupo controle. A dose de 62,5mg/Kg apresentou TW% de 75,69%, enquanto que o grupo padrão foi capaz de inibir significativamente, em 83,36%, o crescimento do tumor. Apenas 01 animal tratado com 125mg/Kg resistiu até o término do tratamento.

Como observado no gráfico 2, a inibição mais expressiva (86,70%) do Carcinoma de Ehrlich foi observada com a dose de 62,5mg/Kg do extrato de *V. brasiliiana*. Nas demais doses de 31,25mg/Kg e 100mg/Kg verificou-se TW% de 75,77% e 74,25%, respectivamente. O fármaco padrão foi capaz de inibir 91,29% do crescimento tumoral.

3.2 Análise das Taxas Metabólicas Específicas (TXM)

Na tabela 3 foram observados os valores referentes à média e desvio padrão da taxa metabólica específica (TXM), em $O_2.l.h^{-1}.Kg^{-1}$, tanto do tumor (TXM_{TS}) como do tecido do animal (TXM_{AS}) dos grupos portadores de Sarcoma 180. Uma razão entre as taxas metabólicas do tumor e a do animal também foi obtida (TXM_{TS}/TXM_{AS}). Observou-se que, num primeiro plano, a TXM da massa tumoral dos grupos tratados e padrão foi maior do que no grupo controle, o que sugere consumo de O_2 das células tumorais

mais elevado nestes grupos.

Vale salientar que a estimativa da TXM do animal foi aproximada, uma vez que dentro das condições experimentais empregadas não havia condições de se saber quantas células no tumor estariam realmente em fase de divisão celular. Mas, em comparação com os diferentes tratamentos empregados, verificou-se que ocorriam alterações importantes no Sarcoma 180 à medida que as doses de *V. brasiliiana* foram aumentadas (tabela 3).

A razão entre as Taxas Metabólicas Específicas do Tumor e a do Animal (TXM_{TS}/TXM_{AS}) em função da dose foi descrita por uma equação do segundo grau do tipo $y = 0,0015x^2 + 0,1059x + 1,8937$, para um coeficiente de determinação (R^2) = 1. Onde x = extrato de *V. brasiliiana* e y = TXM_{TS}/TXM_{AS} (gráfico 3).

Segundo a expressão acima, pode ser observada que a razão entre as TXM_{TS}/TXM_{AS} variou de acordo com a dose do extrato administrada, mas que esta variação apresentou um ponto crítico associado à dose de 30mg/Kg, que assinalou o efeito máximo, sendo que a partir deste ponto a razão decai conforme o aumento da dose.

Foi reduzida a quantidade de pontos obtidos experimentalmente, o que pode ter influenciado no formato da função obtida. Para ser aferida a TXM relacionada ao tumor seria necessária uma metodologia mais sofisticada, condição esta não disponível para realização deste trabalho, daí a necessidade de se estimar a TXM da massa tumoral pelas equações de Taylor (1970).

Na tabela 4 pode ser observado os valores médios e os respectivos desvios padrões da TXM, em $O_2.l.h^{-1}.Kg^{-1}$, tanto do tumor Carcinoma de Ehrlich (TXM_{TC}) como do tecido do animal portador (TXM_{AC}). Nesta tabela foi verificado que a razão entre as taxas metabólicas específicas do tumor e a do animal (TXM_{TC}/TXM_{AC}) obtida para o grupo controle foi diferente significativamente em relação aos demais.

Para o nível de significância estabelecido neste trabalho não foi possível aceitar como significativos às diferenças observadas para a razão TXM_{TC}/TXM_{AC} em relação ao tratamento com as diferentes dosagens de *V.*

brasiliiana, embora com a dose de 62,5mg/Kg pode ser observado o efeito máximo (tabela 4).

Mesmo considerando que estas diferenças entre as dosagens de *V. brasiliiana* frente o Carcinoma de Ehrlich não foram significantes, verificou-se que a razão TXM_{TC}/TXM_{AC} podia ser descrita por uma função do tipo $y = 0,0003x^2 + 0,0352x + 1,9481$, para $R^2 = 0,99$. Onde x = extrato de *V. brasiliiana* e $y = TXM_{TC}/TXM_{AC}$ (gráfico 4).

Uma vez obtidas as funções que descreveram a variação da razão TXM_T/TXM_A tanto para Carcinoma de Ehrlich como para Sarcoma 180 em relação à dose do extrato empregada, foram encontradas as derivadas dessas funções (tabela 5) que representam, respectivamente, a taxa de variação infinitesimal dessas razões acima assinaladas (uma relação específica da relação tumor-hospedeiro) e construímos o gráfico 5.

No gráfico comparativo da variação infinitesimal da razão TXM_T/TXM_A de ambos os tumores, verificou-se que a função obtida foi do tipo linear, embora com o coeficiente angular de 0,2, significou que as alterações observadas quanto ao Carcinoma de Ehrlich corresponderam a aproximadamente 20% das observações visualizadas quanto ao Sarcoma 180, ou seja, *V. brasiliiana* têm efeito mais significativo sobre o Sarcoma 180 do que sobre o Carcinoma de Ehrlich.

3.3 Análise Histopatológica

A análise histopatológica para o Sarcoma 180 revelou que os tumores do grupo controle (GCs) apresentaram alto poder invasivo, com hipercelularidade, núcleos grandes (disformes, acidófilos e com aspecto vesiculoso), grande quantidade de figuras mitóticas e várias áreas necróticas (figura 1A).

Observou-se também que nos grupos GT_{1S} e GT_{2S} o poder invasivo das células tumorais persistiram, conservando as características das células do GCs. Entretanto, demonstrou-se que estes grupos apresentaram uma maior proporção de células necróticas, principalmente

o GT_{1S} (figuras 1C e 1D).

Os tumores tratados com a substância padrão (GPs) apresentaram alterações morfológicas, tais como retrações nucleares e aumento no número de aberrações nucleares (dismorfismo, hipermorfismo).

A análise dos tumores Carcinoma revelou que no grupo controle (GC_C) e em todos os grupos tratados (GT_{1C}, GT_{2C} e GT_{3C}) os tumores apresentaram alto poder invasivo, hipercelularidade, células gigantes multinucleares (com núcleos disformes e acidófilos) e áreas necróticas (figura 2).

Os tumores tratados com o metotrexato (GP_C) apresentaram um maior número de células gigantes multinucleadas, contudo, ainda apresentaram poder invasivo.

Todas as doses administradas com o extrato e a do metotrexato nos tumores Carcinoma produziram um maior número de áreas necróticas em relação ao grupo controle, entretanto, não diferiram entre si quanto ao padrão morfológico.

As análises dos tumores sarcomatosos foram de acordo com Affolter & Moore (2002) e dos carcinomatosos com McCluggage e cols (2002).

As linhagens tumorais aplicadas nesta investigação foram empregadas para avaliação de agentes quimioterápicos, para tumores de crescimento rápido e de comportamento agressivo (Oettel & Wilhelm 1955, Stock et al. 1955, Levi-Montalcini 1986, Ajith & Janardhanan 2003). Nada havia sido relatado sobre os efeitos antineoplásico da *Vernonia brasiliiana* frente aos tumores Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich.

De acordo com Ferreira (2006), 50mg/Kg do extrato hexânico da *V. condensata*, por via intraperitoneal, foi capaz de inibir 76,25% do desenvolvimento do Carcinoma de Ehrlich.

Em nossos estudos, os dados obtidos referentes às análises das taxas metabólicas específicas do animal (TXM_A) e a do tumor (TXM_T), verificou-se que a razão TXM_T/TXM_A variou de acordo com a dose do extrato. Entretanto, esta variação apresentou um ponto crítico, o qual assinalou o efeito máximo, para dose de 30mg/Kg para Sarcoma 180 e

60mg/Kg para Carcinoma de Ehrlich. Foi observado que esta razão a partir destes pontos decaiu com o aumento da dose.

A análise histopatológica demonstrou que todas as doses testadas do extrato, nas duas linhagens tumorais, produziram um maior número de áreas necróticas em relação ao grupo controle. Entretanto, os grupos de animais com Carcinoma tratados com várias doses do extrato não diferiram entre si.

Vale salientar que, embora o tratamento tenha sido mais prolongado nos animais portadores do Sarcoma 180, quando analisada a relação específica tumor-hospedeiro de cada linhagem tumoral de acordo com a dose do extrato de *V. brasiliiana*, através das funções que descrevem a variação da razão TXM_T/TXM_A , observou-se que o extrato apresentou efeito mais significativo sobre o Sarcoma 180 do que sobre o Carcinoma de Ehrlich.

As diferenças demonstradas acima ocorreram não só relacionadas às variedades de cada tipo de tumor em relação ao hospedeiro, mas principalmente à presença de substâncias específicas (Filizola 2003). O extrato de *V. brasiliiana* demonstrou que houve diferenças sobre o organismo hospedeiro, com perspectivas futuras para conferir se os componentes terpênicos e/ou fenólicos seriam os verdadeiros responsáveis pelas alterações observadas.

AGRADECIMENTOS

Aos graduandos Sérgio Nóbrega, Renato Gomes e Isla Bastos. As alunas de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas Ana Pavla D. Gurgel e Jackeline G. da Silva. Aos técnicos de histologia M^a de Fátima do Nascimento, Alex B. da Silveira e Silvana T. Paz, da UFPE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Affolter VK, Moore PF 2002. Localized and Disseminated Histiocytic Sarcoma of Dendritic Cell Origin in Dogs. *Vet Pathol* 39: 74–83.
2. Ajith TA, Janardhanan KK 2003. Cytotoxic and antitumor activities of a polypore macrofungus, *hellinusrimosus* (Berk) Pilat. *J Ethnopharmacol* 84: 157-162.
3. Almeida VL, Leitão A, Reina LCB, Montanari CA, Donnici CL 2005. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não-específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim. Nova* 28(1): 118-129.
4. Alves TM, Nagem TJ, De Carvalho LH, Krettli AU, Zani CL 1997. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliana*. *Planta Med* 63(6): 554-555.
5. Aratanechemuge Y, Hibasami H, Sanpin K, Katsuzaki H, Imai K, Komiya T 2004. Induction of apoptosis by lupeol isolated from mokumen (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *Oncology reports* 11: 289-292.
6. Barroso GM, Peixoto AL, Ichaso CL, Costa CG, Guimarães EF, Lima HC 1991. *Sistemática das angiospermas do Brasil*. Ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. vol. 3, p: 184-185.
7. Beçak W, Paulete J 1976. *Técnicas de citologia e histologia*. Rio de Janeiro. Livros Técnicos e Científicos.
8. Carvalho LH, Brandão MG, Santos-Filho D, Lopes JL, Krettli AU 1991. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied in vivo in *Plasmodium berghei*-infected mice and in vitro against *Plasmodium falciparum* in culture. *Braz J Med Biol Res* 24(11): 1113-1123.
9. Carvalho LH, Krettli AU 1991. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86 (2): 181-184.
10. César G 1956. Curiosidades da Nossa Flora. In: Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliana* (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
11. Chen X, Zhan ZJ, Zhang XW, Ding J, Yue JM 2005. Sesquiterpene lactones with potent cytotoxic activities from *Vernonia chinensis*. *Planta Med* 71(10): 949-954.
12. Christman RV 1985. *Estatística aplicada*, 2ed, Ed. Edgard Blücher, Rio de Janeiro, p: 118-123.

13. D'Albuquerque IL, Lima, OG, Navarro MCP 1961. Substâncias Antimicrobianas de Plantas Superiores. Comunicação XIX, Ocorrência de antimicrobianos nas folhas do Tramandê da Praia (*Vernonia scabra*) Ver. *Inst. Antib* 3: 1.
14. Erasto P, Grierson DS, Afolayan AJ 2006. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *J Ethnopharmacol* 106(1):117-120.
15. Ferreira AMMS 2005. *Estudo da toxicidade aguda e atividade antineoplásica da Vernonia condensata Baker (Asteraceae)*. Recife, 40p. Monografia – Curso de Graduação em Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco.
16. Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliana (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica*. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
17. Gupta M, Mazumder UK, Manikandan L, Halder PK, Bhattacharya S, Kandar CC 2003. Antibacterial activity of *Vernonia cinerea*. *Fitoterapia* 74: 148-150.
18. Izevbigie EB 2003. Discovery of water-soluble anticancer agents (edotides) from a vegetable found in Benin City, Nigeria. *Exp Biol Med (Maywood)* 228(3): 293-298.
19. Izevbigie EB, Bryant JL, Walker A 2004. A Novel Natural Inhibitor of Extracellular Signal-Regulated Kinases and Human Breast Cancer Cell Growth. *Experim. Biol. Medicine* 229: 163-169.
20. Jisaka M, Ohigashi H, Takegawa K, Huffman MA, Koshimizu K 1993. Antitumoral and antimicrobial activities of bitter sesquiterpene lactones of *Vernonia amygdalina*, a possible medicinal plant used by wild chimpanzees. *Biosci Biotechnol Biochem* 57(5): 833-834.
21. Kelmanson JE, Jager AK, Van Staden J 2000. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 69(3): 241-246.
22. Komiyama K, Funayama S 1992. Antitumor agents. In: The search for bioactive compounds from microorganisms. Ed. Satoshi Omura, Springer-Verlag, New York. cap. 5, p: 79 – 97.
23. Koul JL, Koul S, Singh C, Taneja SC, Shanmugavel M, Kampasi H, Saxena AK, Qazi GN 2003. In vitro cytotoxic elemanolides from *Vernonia lasiopus*. *Planta Med* 69(2): 164-166.
24. Krishna Kumari GN, Masilamani S, Ganesh MR, Aravind S, Sridhar SR 2003. Zaluzanin D: a fungistatic sesquiterpene from *Vernonia arborea*. *Fitoterapia* 74(5): 479-82.

25. Kuo YH, Kuo YJ, Yu AS, Wu MD, Ong CW, Yang Kuo LM, Huang JT, Chen CF, Li SY 2003. Two novel sesquiterpene lactones, cytotoxic vernolide-A and -B, from *Vernonia cinerea*. *Chem Pharm Bull* 51(4): 425-426.
26. Kupchan SM, Hemingway RJ, Werner D, Karim A, Mcphail AT, Sim GA 1968. Vernolepin, a novel elemanolide dilactone tumor inhibitor from *Vernonia hymenolepis*. *J Am Chem Soc* 90(13): 3596-3597.
27. (a)Kupchan SM, Hemingway RJ, Karim A, Werner DJ 1969. Tumor inhibitors. XLVII. Vernodaline and vernomygdin, two new cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia amygdalina* Del. *Org Chem* 34(12): 3908-3911.
28. (b)Kupchan SM, Hemingway RJ, Werner D, Karim A 1969. Tumor inhibitors. XLVI. Vernolepin, a novel sesquiterpene dilactone tumor inhibitor from *Vernonia hymenolepis* A. Rich. *J Org Chem* 34(12): 3903-3907.
29. Lambertini E, Piva R, Khan MT, Lampronti I, Bianchi N, Borgatti M, Gambari R 2004. Effects of extracts from Bangladeshi medicinal plants on in vitro proliferation of human breast cancer cell lines and expression of estrogen receptor alpha gene. *Int J Oncol* 24(2): 419-423.
30. Levi-Montalcini R 1986. The Nerve Growth Factor: Thirty-Five Years Later. *Nobel lecture*, 349-369. <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1986/levi-montalcini-lecture.html>, acessado em Janeiro de 2006.
31. Liang QL, Min ZD 2003. Studies on the constituents from the herb of *Vernonia patula*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 28(3): 235-237.
32. Matos FJA 2005. Checklist das Plantas do Nordeste. Disponível em: <http://umbuzeiro.cnip.org.br/db/pnechk/taxa/6748.html> Acessado: 16/05/2005
33. McCluggage WG, Lyness RW, Atkinson RJ, Dobbs SP, Harley I, McClelland HR, Price JH 2002. Morphological effects of chemotherapy on ovarian carcinoma. *J. Clin. Pathol* 55: 27-31.
34. Murray M, Birdsall T, Pijzorno JE, Reilly P 2005. *Como prevenir e tratar câncer com medicina natural*. Ed. Best Seller. Rio de Janeiro. p: 73-74.
35. Nergard CS, Diallo D, Michaelsen TE, Malterud KE, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H, Paulsen BS 2004. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *J Ethnopharmacol* 91(1): 141-152.
36. Obaseiki-Ebor EE, Odukoya K, Telikepalli H, Mitscher LA, Shankel DM 1993. Antimutagenic activity of extracts of leaves of four common edible vegetable plants in

- Nigeria (west Africa). *Mutat Res* 302(2): 109-117.
37. Oettel H, Wilhelm G 1955. Tests of compounds against Ehrlich Ascites Tumor, Sarcoma 180 and Walker Carcino-Sarcoma 256. *Cancer Research* Sup. nº2: 129-144.
38. Rabe T, Mullholland D, Van Staden J 2002. Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. *J Ethnopharmacol* 80(1): 91-94.
39. Silva ACP 2006. *Abordagem da atividade biológica do látex de Euphorbia tirucalli Linn. (Euphorbiaceae)*. Recife, 99p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
40. Souza, MVN 2004. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. *Quim. Nova* 27(2): 308-312.
41. Stafford GI, Jager AK, Van Staden J 2005. Effect of storage on the chemical composition and biological activity of several popular South African medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 97(1): 107-115.
42. Stock CC, Clarke DA, Philips FS, Barclay RK 1955. Sarcoma 180 inhibition screening data. *Cancer Research* Sup. Nº2: 179-331.
43. Taiwo O, Xu HX, Lee SF 1999. Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. *Phytother Res* 13(8): 675-679.
44. Taylor CR, Schmidt-Nielsen K, Raab JL 1970. Scaling of the energetic cost of running body size in mammals. *Am. J. Physiol* 219: 1104 – 1107.
45. Zomlefer W B 1994. *Guide to flowering plant families*. Chapel Hill & London: Carolina, USA.
46. Williams RB, Norris A, Slebodnick C, Merola J, Miller JS, Andriantsiferana R, Rasamison VE, Kingston DG 2005. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia pachyclada* from the Madagascar rainforest. *J Nat Prod* 68(9): 1371-1374.

Tabela 1 – Média e desvio padrão dos pesos dos animais (PA_S) (camundongos *Mus Musculus* albinos Swiss), dos Sarcomas 180 (PT_S) e da relação PT_S/PA_S dos grupos Controle (GC_S), Padrão (GP_S) e Tratados com o extrato de *V. brasiliana* (GT_{1S} e GT_{2S}), todas as drogas administradas intraperitonealmente.

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	PA _S (g)	PT _S (mg)	PT _S /PA _S
GC _S	-	45,60 ±0,57	3,29 ±0,58	7,22 ±1,29
GT _{1S}	31,25	39,46 ±6,66	0,20 ±0,08*	0,52 ±0,22*
GT _{2S}	62,5	39,84 ±7,40	0,80 ±0,28*	2,05 ±0,90*
GP _S	05	32,16 ±4,34	0,55 ±0,38*	1,70 ±0,94*

*diferença estatística significativa para p < 0.01 (ANOVA). (n=5/grupo).

Tabela 2 – Média e desvio padrão dos pesos dos animais (PA_C) (camundongos *Mus Musculus* albinos Swiss), dos Carcinomas de Ehrlich (PT_C) e da relação PT_C/PA_C dos grupos Controle (GC_C), Padrão (GP_C) e Tratados com o extrato de *V. brasiliana* (GT_{1C}, GT_{2S} e GT_{3C}), todas as drogas administradas intraperitonealmente.

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	PA _C (g)	PT _C (mg)	PT _C /PA _C
GC _C	-	40,98 ±2,60	2,73 ±0,49	6,69±1,30
GT _{1C}	31,25	38,30 ±5,85	0,66 ±0,41*	1,78±1,199*
GT _{2C}	62,5	39,44 ±3,38	0,36 ±0,12*	0,93 ±0,32*
GT _{3C}	100	37,76 ±3,27	0,70 ±0,38*	1,95 ±1,13*
GP _C	05	29,72 ±4,55	0,24 ±0,12*	0,81 ±0,38*

*diferença estatística significativa para p < 0.01 (ANOVA). (n=5/grupo)

Tabela 3 – Média e desvio padrão das Taxas Metabólicas Específicas dos animais (TXM_{AS}), dos tumores Sarcoma 180 (TXM_{TS}) e da razão entre TXM_{TS}/TXM_{AS} dos grupos Controle (GC_S), Padrão (GP_S) e Tratados com o extrato de *V. brasiliana* (GT_{1S} e GT_{2S}).

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	TXM _{AS} (O ₂ .l.h ⁻¹ .Kg ⁻¹)	TXM _{TS} (O ₂ .l.h ⁻¹ .Kg ⁻¹)	TXM _{TS} / TXM _{AS}
GC _S	-	1,49 ±0,01	2,82 ±0,14	1,89 ±0,11
GT _{1S}	31,25	1,52 ±0,06	5,67 ±0,56*	3,74 ±0,44*
GT _{2S}	62,5	1,52 ±0,07	4,02 ±0,43*	2,64 ±0,27**
GP _S	05	1,60 ±0,05	4,42 ±0,61*	2,76 ±0,36*

*diferença estatística significativa para p < 0.01 em relação ao controle.

** diferença estatística significativa para p < 0.01 em relação ao Padrão (ANOVA) (n=5/grupo)

Tabela 4 – Média e desvio padrão das Taxas Metabólicas Específicas dos animais (TXM_{AC}), dos tumores Carcinoma de Ehrlich (TXM_{TC}) e da razão entre TXM_{TC}/TXM_{AC} dos grupos Controle (GC_c), Padrão (GP_c) e Tratados com o extrato de *V. brasiliana* (GT_{1c} , GT_{2c} e GT_{3c}).

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	TXM_{AC} ($O_2.l.h^{-1}.Kg^{-1}$)	TXM_{TC} ($O_2.l.h^{-1}.Kg^{-1}$)	TXM_{TC} / TXM_{AC}
GC_c	-	1,53 ±0,03	2,96 ±0,13	1,93 ±0,09
GT_{1c}	31,25	1,53 ±0,06	4,21 ±0,76	2,74 ±0,47*
GT_{2c}	62,5	1,52 ±0,03	4,90 ±0,57	3,22 ±0,41*
GT_{3c}	100	1,54±0,03	4,15 ±0,55	2,69 ±0,38*
GP_c	05	1,63±0,06	5,44 ±0,73	3,34 ±0,50*

*diferença estatística significativa para $p < 0.01$ em relação ao controle (ANOVA). (n=5/grupo)

Tabela 5 – Valores obtidos da razão entre a Taxa Metabólica Específica do tumor e a do animal (TXM_T/TXM_A) para as linhagens tumorais sarcoma e carcinoma, em função do tratamento com o extrato hidroetanólico (EHE) das folhas da *V. brasiliana*.

EHE (mg/ Kg)	SARCOMA 180	CARCINOMA DE EHRLICH
0	0,1059	0,0352
20	0,0459	0,0232
40	-0,0141	0,0112
60	-0,0741	-0,0008
80	-0,1341	-0,0128
100	-0,1941	-0,0248

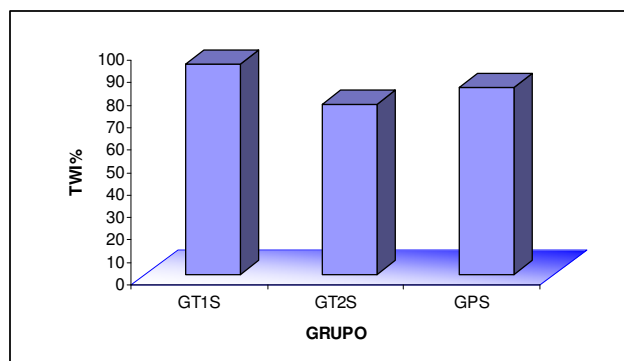


Gráfico 1 – Comparação dos Percentuais de Inibição Tumoral (TW%) em camundongos albinos Swiss machos, portadores de Sarcoma 180, tratados com o extrato de *V. brasiliana* nas dose de 31,25mg/kg (GT_{1s}), 62,5mg/kg (GT_{2s}) e Metotrexato (GP_s), por via intraperitoneal. (n=5/grupo).

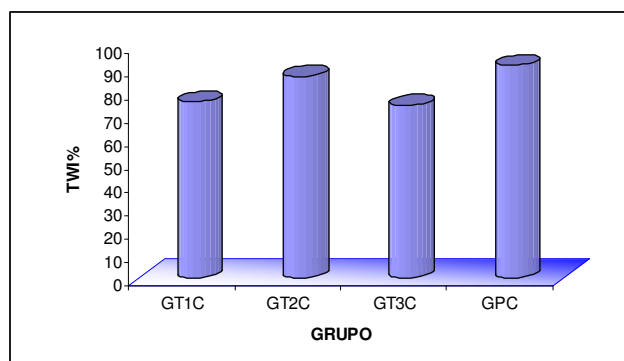


Gráfico 2 – Comparação dos Percentuais de Inibição Tumoral (TWI%) em camundongos albinos Swiss machos, portadores de Carcinoma de Ehrlich, tratados com o extrato de *V. brasiliiana* nas dose de 31,25mg/kg (GT_{1C}), 62,5mg/kg (GT_{2C}), 100mg/kg (GT_{3C}) e Metotrexato (GP_C), por via intraperitoneal. (n=5/grupo).

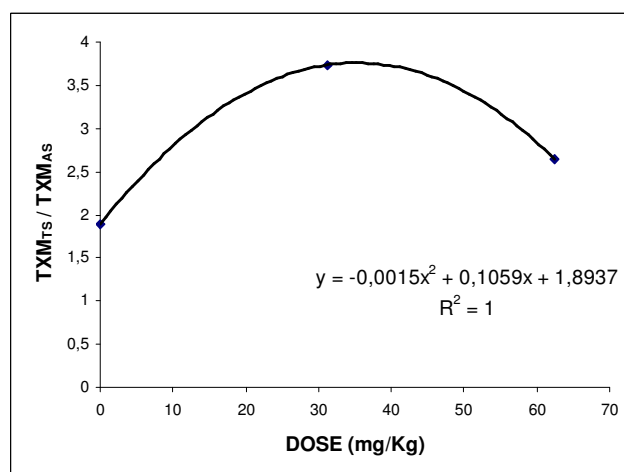


Gráfico 3 – Razão entre as Taxas Metabólicas Específicas do Sarcoma 180 e a do animal portador (TXM_{TS} / TXM_{AS}) em função das doses do extrato de *V. brasiliiana*.

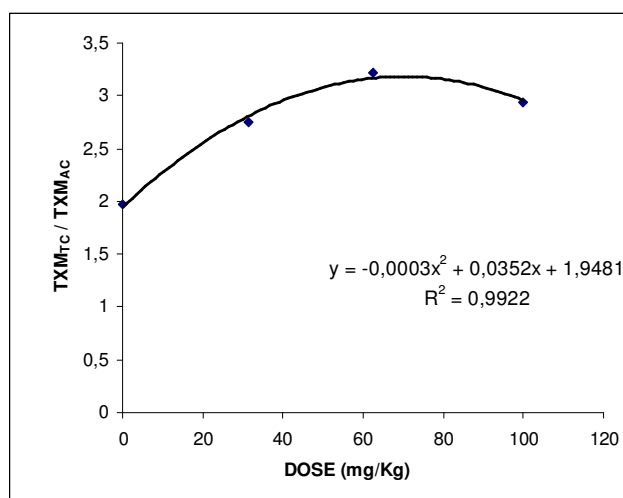


Gráfico 4 – Razão entre as Taxas Metabólicas Específicas do Carcinoma de Ehrlich e a do animal portador (TXM_{TC} /TXM_{AC}) em função das doses do extrato de *V. brasiliana*.

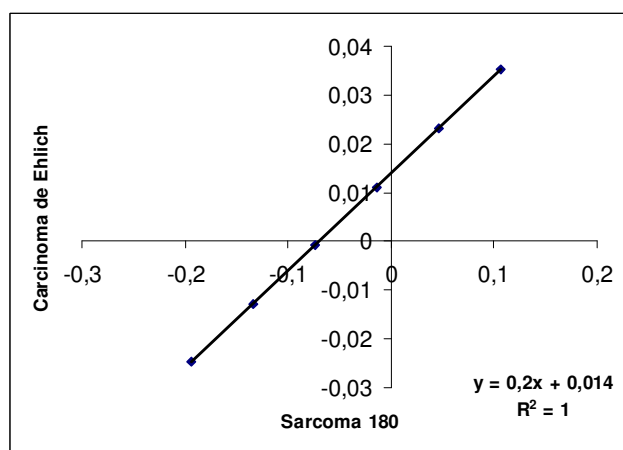


Gráfico 5 – Comparação entre as respostas metabólicas dos tumores Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich ao extrato de *V. brasiliana*.

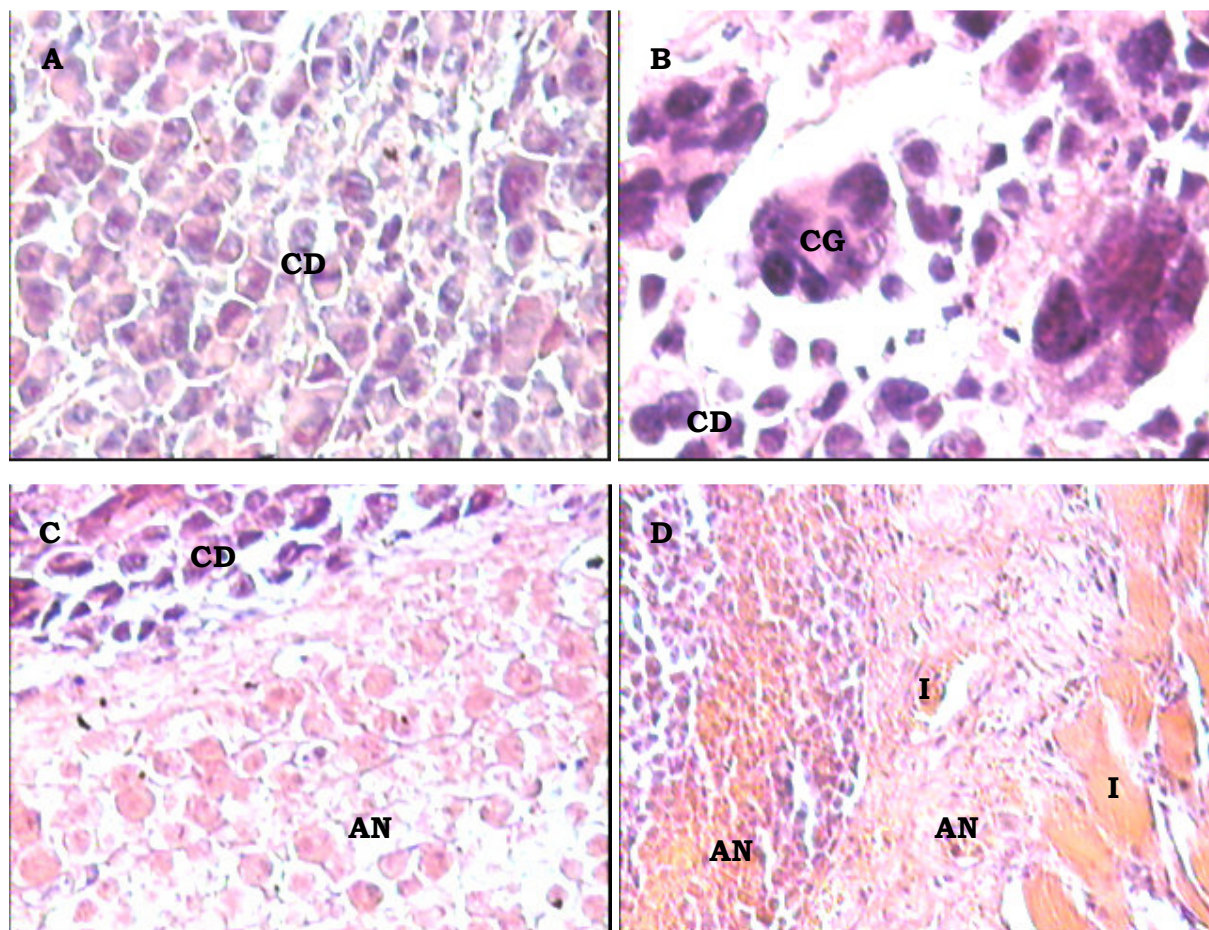


Figura 1 – Fotomicrografias obtidas de Sarcoma 180 de camundongos albinos Swiss (*Mus Muculus*) dos grupos Controle (A), Padrão (B) e Tratados com o extrato de *V. brasiliiana* nas doses de 31,25mg/Kg (C) e 62,5mg/Kg (D).
* CD = células disformes; CG = células gigantes; I = invasão de tecidos; AN = área necrótica.
(A,B e C = HE 40x) (D = HE 20x).

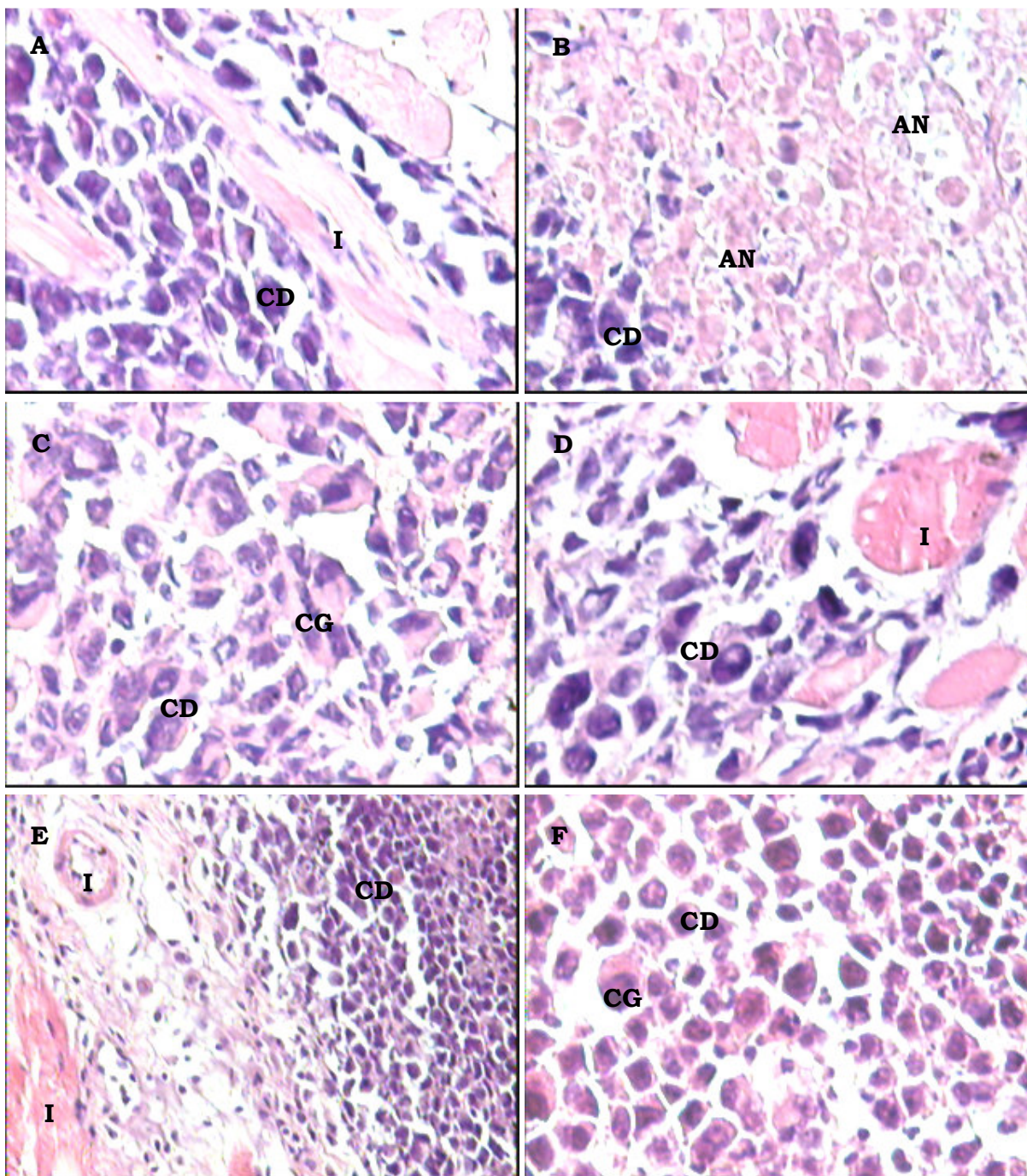


Figura 2 – Fotomicrografias obtidas de Carcinoma de Ehrlich de camundongos albinos Swiss (*Mus Muculus*) dos grupos Controle (A), Padrão (B) e Tratados com o extrato de *V. brasiliiana* nas doses de 31,25 mg/Kg (C), 62,5 mg/Kg (D e E) e 100 mg/Kg (F).

* CD = células disformes; CG = células gigantes; I = invasão de tecidos; AN = área necrótica.

(A,B, C e F = HE 40x) (E = HE 20x).

7. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, concluímos que:

- ✓ De acordo com a DL₅₀, o EHE de *V. brasiliiana* pode ser considerado moderadamente tóxico quando administrado por via intraperitoneal.
- ✓ O aparecimento de novos efeitos adversos após 24h da administração e a permanência de vários sintomas (72h) demonstraram que a droga possui reações cumulativas.
- ✓ Os dados histológicos demonstraram que todos os animais que receberam o EHE de *V. brasiliiana* apresentaram fígado com algum grau de congestão vascular.
- ✓ A avaliação das propriedades antiinflamatórias do EHE apresentou indicativos de combate ao processo inflamatório numa ação tardia, que foi conferido a partir da 5ª hora após administração, por via intraperitoneal.
- ✓ O EHE de *V. brasiliiana* apresentou significativa atividade antineoplásica frente às linhagens tumorais estudadas, sendo mais ativo contra o Sarcoma 180.
- ✓ A análise histopatológica demonstrou aumento das áreas necróticas em ambas as linhagens tumorais tratadas com o EHE.

8. *Referências* *Bibliográficas*

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdel-Sattar E, Mossa JS, El-Askary HI 2000. Hirsutinolides from *Vernonia cinerascens*. *Pharmazie* 55(2):144-145.
2. Abosi AO, Raseroka BH 2003. In vivo antimalarial activity of *Vernonia amygdalina*. *Br J Biomed Sc* 60(2): 89-91.
3. Affolter VK, Moore PF 2002. Localized and Disseminated Histiocytic Sarcoma of Dendritic Cell Origin in Dogs. *Vet Pathol* 39: 74-83.
4. Agarwal RB, Rangari VD 2003. Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19a-h lupeol isolated from *Strobilanthus callosus* and *Strobilanthus ixiocephala* roots. *Indian J. Pharm* 35: 384-387.
5. Ajith TA, Janardhanan KK 2003. Cytotoxic and antitumor activities of a polypore macrofungus, *hellinusrimosus* (Berk) Pilat. *J Ethnopharmacol* 84: 157-162.
6. Alawa CB, Adamu AM, Gefu JO, Ajanusi OJ, Abdu PA, Chiezey NP, Alawa JN, Bowman DD 2003. In vitro screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Vet Parasitol* 113(1): 73-81.
7. Almeida VL, Leitão A, Reina LCB, Montanari CA, Donnici CL 2005. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não-específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim. Nova* 28(1): 118-129.
8. Alves TM, Nagem TJ, De Carvalho LH, Krettli AU, Zani CL 1997. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliiana*. *Planta Med* 63(6): 554-555.
9. Anjos FBR 1995. *Estudo da atividade antidiabética e outros efeitos farmacológicos relativos à pata-de-vaca (Bauhinia monandra Kurz)*. Recife, 145p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco.
10. Aratanechemuge Y, Hibasami H, Sanpin K, Katsuzaki H, Imai K, Komiya T 2004. Induction of apoptosis by lupeol isolated from *mokumen* (*Gossampinus malabarica* L. Merr) in human promyelotic leukemia HL-60 cells. *Oncology reports* 11: 289-292.
11. Babalola OO, Anetor JI, Adeniyi FA 2001. Amelioration of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by terpenoid extract from leaves of *Vernonia amygdalina*. *Afr J Med Med Sci* 30(1-2): 91-93.
12. Barbosa LC, Costa AV, Pilo-Veloso D, Lopes JL, Hernandez-Terrones MG, King-Diaz B, Lotina-Hennsen B 2004. Phytogrowth-inhibitory lactones derivatives of glaucolide B. *Z Naturforsch* 59(11-12): 803-810.

13. Barroso GM, Peixoto AL, Ichaso CL, Costa CG, Guimarães EF, Lima HC 1991. *Sistemática das angiospermas do Brasil*. Ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. vol. 3, p: 184-185.
14. Batalha MA, Mantovani W 2001. Floristic composition of the Cerrado in the Pé-de-Gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, Southeastern Brazil). *Acta bot. Bras* 15(3): 289-304.
15. Beçak W, Paulete J 1976. *Técnicas de citologia e histologia*. Rio de Janeiro. Livros Técnicos e Científicos.
16. Benoit F, Valentin A, Pelissier Y, Diafouka F, Marion C, Kone-Bamba D, Kone M, Mallie M, Yapo A, Bastide JM 1996. In vitro antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine. *Am J Trop Med Hyg* 54(1): 67-71.
17. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº6 de 31.1.95. *Diário Oficial da União*, v.200, Seção I, p.1523-1524, 6.2.1995.
18. Bremer K 1994. Asteraceae: cladistics and classification. In: Almeida AM, Fonseca CR, Prado PI, Almeida-Neto M, Diniz S, Kubota U, Braun MR, Raimundo RLG, Anjos LA, Mendonça TG, Futada SM, Lewinsohn TM 2005. Diversidade e ocorrência de Asteraceae em cerrados de São Paulo. *Biota Neotropica* 5:2.
19. Bremer K 1996. Major clades and grades of the Asteraceae. In: Filizola LRS, Pimentel RMM, Randau KP, Xavier HS 2003. Anatomia dos Órgãos Vegetativos de *Vernonia brasiliana* (L.) Druce. *Acta Farm. Bonaerense* 22 (4): 299-303.
20. Brody T 1994. Nutritional biochemistry. In Silva RR, Oliveira TT, Nagem TJ, LEÃO MA 2002. Efeito de flavonóides no metabolismo do Ácido Araquidônico. *Rev. Medicina Ribeirão Preto* 35: 127-133.
21. Brum KB, Purisco E, Lemos RAA, Riet-Correa F 2002. Intoxicação por *Vernonia rubricaulis* em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras* 22(3): 119-128.
22. Campos M, Oropeza M, Ponce H, Fernandez J, Jimenez-Estrada M, Torres H, Reyes-Chilpa R 2003. Relaxation of uterine and aortic smooth muscle by glaucolides D and E from *Vernonia liatroides*. *Biol Pharm Bull* 26(1): 112-115.
23. Carvalho LH, Brandao MG, Santos-Filho D, Lopes JL, Krettli AU 1991. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied *in vivo* in *Plasmodium berghei*-infected mice and *in vitro* against *Plasmodium falciparum* in culture. *Braz J Med Biol Res* 24(11): 1113-1123.
24. Carvalho LH, Krettli AU 1991. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86 (2): 181-184.
25. César G 1956. Curiosidades da Nossa Flora. In: Filizola LRS 2003. *Estudo*

Farmacognóstico de Vernonia brasiliiana (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.

26. Chea A, Hout S, Long C, Marcourt L, Faure R, Azas N, Elias R 2006. Antimalarial activity of sesquiterpene lactones from *Vernonia cinerea*. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 54(10): 1437-1439.
27. Chen X, Zhan ZJ, Zhang XW, Ding J, Yue JM 2005. Sesquiterpene lactones with potent cytotoxic activities from *Vernonia chinensis*. *Planta Med* 71(10): 949-954.
28. Christman RV 1985. *Estatística aplicada*, 2ed, Ed. Edgard Blücher, Rio de Janeiro, p: 118-123.
29. Cioffi G, Sanogo R, Diallo D, Romussi G, De Tommasi N 2004. New Compounds from an Extract of *Vernonia colorata* Leaves with Anti-inflammatory Activity. *J Nat Prod* 67(3): 389-394.
30. Consoli RA, Mendes NM, Pereira JP, Santos BDE, Lamounier MA 1988. Effect of several extracts derived from plants on the survival of larvae of *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) in the laboratory. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83(1): 87-93.
31. Cronquist A 1988. The evolution and classification of flowering plants. In: Filizola LRS, Pimentel RMM, Randau KP, Xavier HS 2003. Anatomia dos Órgãos Vegetativos de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce. *Acta Farm. Bonaerense* 22 (4): 299-303.
32. Cunha WR, Lopes JLC, Souza CP 2000. Quimioprofilaxia da esquistossomose: atividade moluscicida de "*Vernonia brasiliiana* e *Lychnophora rupertris*". *Revista Científica da Universidade de Franca* 2 (2): 48-51.
33. D'Albuquerque IL, Lima, OG, Navarro MCP 1961. Substâncias Antimicrobianas de Plantas Superiores. Comunicação XIX, Ocorrência de antimicrobianos nas folhas do Tramanhém da Praia (*Vernonia scabra*) Ver. *Inst. Antib* 3: 1.
34. David JPL, David JM 2002. Plantas medicinais. Fármacos derivados de plantas. In: Silva P 2002. *Farmacologia*, 6th ed, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. p: 135-145.
35. Dias-Tagliacozzo GM, Dietrich SM, Mello-Aires M 1996. Measurement of glomerular filtration rate using inulin prepared from *Vernonia herbacea*, a Brazilian native species. *Braz J Med Biol Res* 29(10): 1393-1396.
36. Döbereiner J, Tokarnia CH 1984. Intoxicação Experimental por *Vernonia nudiflora* (Compositae) em bovinos e ovinos. *Pesq. Vet. Bras* 4 (1): 5-10.
37. Döbereiner J, Tokarnia CH, Purisco E 1976. *Vernonia mollissima*, planta tóxica responsável por mortandades de bovinos no sul de Mato Grosso. *Pesq. Agropec. Bras* 11: 49-58, apud *Pesq. Vet. Bras.* 22(3): 119-128, 2002.

38. Emerenciano VP, Militão JSLT, Campos CC, Romofe P, Kaplan MAC, Zambon M, Brant AJC 2001. In: Verdi LG, Brighente IMC, Pizzolatti MG 2005. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Quim. Nova* 28(1): 85-94.
39. Engelman MFB, Neto JG, Andrade CHV, Hernandez R, Goulart LBNT 2001. Estudo Morfométrico do Fígado de Ratos Submetidos a Doses Supra-Fisiológicas de Tiroxina. *Arq Bras Endocrinol Metab* 45: 2.
40. Erasto P, Grierson DS, Afolayan AJ 2006. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *J Ethnopharmacol* 106(1):117-120.
41. Fahlstadius P, Hamberg M 1989. A gas-liquid chromatographic method for steric analysis of epoxy acids. *Chem Phys Lipids* 51(1): 15-22.
42. Fernandez MA, de las Heras B, Garcia MD, Saenz MT, Villar A 2001. New insights into the mechanism of action of the antiinflammatory triterpene lupeol. In: Agarwal RB, Rangari VD 2003. Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19a-h lupeol isolated from *Strobilanthes callosus* and *Strobilanthes ixiocephala* roots. *Indian J. Pharm* 35: 384-387.
43. Ferreira AMMS 2005. *Estudo da toxicidade aguda e atividade antineoplásica da Vernonia condensata* Baker (Asteraceae). Recife, 40p. Monografia – Curso de Graduação em Biomedicina, Universidade Federal de Pernambuco.
44. Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliiana* (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade biológica. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
45. Filizola LRS, Pimentel RMM, Randau KP, Xavier HS 2003. Anatomia dos Órgãos Vegetativos de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce. *Acta Farm. Bonaerense* 22 (4): 299-303.
46. Freiburghaus F, Ogwal EN, Nkunya MH, Kaminsky R, Brun R 1996. In vitro antitrypanosomal activity of African plants used in traditional medicine in Uganda to treat sleeping sickness. *Trop Med Int Health* 1(6): 765-771.
47. Frutuoso VS, Gurjao MR, Cordeiro RS, Martins MA 1994. Analgesic and anti-ulcerogenic effects of a polar extract from leaves of *Vernonia condensata*. *Planta Med* 60(1): 21-25.
48. Gava A, Peixoto PV, Tokarnia CH 1987. Intoxicação Experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras* 7(2): 33-41, apud *Vet. Bras.* 22(3):119-128.
49. Geetha T, Varalakshmi P, Latha RM 2001. Antiinflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats. *J Ethnopharmacol* 76: 77-80.

50. Gupta M, Mazumder UK, Manikandan L, Bhattacharya S, Haldar PK, Roy S 2003. Evaluation of antipyretic potential of *Vernonia cinerea* extract in rats. *Phytother Res* 17(7): 804-806.
51. Gupta M, Mazumder UK, Manikandan L, Haldar PK, Bhattacharya S, Kandar CC 2003. Antibacterial activity of *Vernonia cinerea*. *Fitoterapia* 74: 148-150.
52. Harborne JB, Willians CA 2000. In: Verdi LG, Brighente IMC, Pizzolatti MG 2005. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Quim. Nova* 28(1): 85-94.
53. Harvey A 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Discovery Today* 5(7): 294-300. In: Simões CMO, Schenkel EP 2002. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Rev. Bras. Farmacognosia* 12(1): 35-40.
54. Hordegen P, Hertzberg H, Heilmann J, Langhans W, Maurer V 2003. The anthelmintic efficacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs. *Vet Parasitol* 117(1-2): 51-60.
55. Howard CB, Stevens J, Izevbigie EB, Walker A, Mcdaniel O 2003. Time and dose-dependent modulation of phase 1 and phase 2 gene expression in response to treatment of MCF-7 cells with a natural anti-cancer agent. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 49(7): 1057-1065.
56. Huang Y, Ding ZH, Liu JK 2003. A new highly oxygenated flavone from *Veronia saligna*. *Z Naturforsch* 58(5-6): 347-350.
57. Huffman MA 2003. Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants. *Proc Nutr Soc* 62(2): 371-381.
58. Izevbigie EB 2003. Discovery of water-soluble anticancer agents (edotides) from a vegetable found in Benin City, Nigeria. *Exp Biol Med (Maywood)* 228(3): 293-298.
59. Izevbigie EB, Bryant JL, Walker A 2004. A Novel Natural Inhibitor of Extracellular Signal-Regulated Kinases and Human Breast Cancer Cell Growth. *Experim. Biol. Medicine* 229: 163-169.
60. Iwalewa EO, Iwalewa OJ, Adeboye JO 2003. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory effects of methanol, chloroform and ether extracts of *Vernonia cinerea* less leaf. *J Ethnopharmacol* 86 (2-3): 229-234.
61. Jisaka M, Kawanaka M, Sugiyama H, Takegawa K, Huffman MA, Ohigashi H, Koshimizu K 1992. Antischistosomal activities of sesquiterpene lactones and steroid glucosides from *Vernonia amygdalina*, possibly used by wild chimpanzees against parasite-related diseases. *Biosci Biotechnol Biochem* 56(5): 845-846.
62. Jisaka M, Ohigashi H, Takegawa K, Huffman MA, Koshimizu K 1993.

Antitumoral and antimicrobial activities of bitter sesquiterpene lactones of *Vernonia amygdalina*, a possible medicinal plant used by wild chimpanzees. *Biosci Biotechnol Biochem* 57(5): 833-834.

63. Kelly WR 1993. The liver and biliary system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. 4^aed. Vol. 2. San Diego: Academic Press, p. 319-406.
64. Kelmanson JE, Jager AK, Van Staden J 2000. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 69(3): 241-246.
65. Kisiel W 1975. Phytochemical examination of *Vernonia flexuosa* Sims. Part I. Isolation of 5,4'-dihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone. *Pol J Pharmacol Pharm* 27(3): 339-343.
66. Kisiel W 1975. Phytochemical investigations of *Vernonia flexuosa* Sims. Part II. Vernoflexuoside and vernoflexin--new sesquiterpene lactones. *Pol J Pharmacol Pharm* 27(4): 461-467.
67. Komiyama K, Funayama S 1992. Antitumor agents. In: *The search for bioactive compounds from microorganisms*. Ed. Satoshi Omura, Springer-Verlag, New York. cap. 5, p. 79 - 97.
68. Kos O, Castro V, Murillo R, Poveda L, Merfort I 2006. Ent-kaurane glycosides and sesquiterpene lactones of the hirsutinolide type from *Vernonia triflosculosa*. *Phytochemistry* 67(1): 62-69.
69. Koul JL, Koul S, Singh C, Taneja SC, Shanmugavel M, Kampasi H, Saxena AK, Qazi GN 2003. In vitro cytotoxic elemanolides from *Vernonia lasiopus*. *Planta Med* 69(2): 164-166.
70. Kraft C, Jenett-Siems K, Siems K, Jakupovic J, Mavi S, Bienzle U, Eich E 2003. In vitro antiplasmodial evaluation of medicinal plants from Zimbabwe. *Phytother Res* 17(2): 123-128.
71. Krief S, Martin M, Grellier P, Kasenene J, Sévène T 2004. Novel Antimalarial Compounds Isolated in a Survey of Self-Medicative Behavior of Wild Chimpanzees in Uganda. *Antimicrob. Agents Chemother* 48: 3196 - 3199.
72. Krishna Kumari GN, Masilamani S, Ganesh MR, Aravind S, Sridhar SR 2003. Zaluzanin D: a fungistatic sesquiterpene from *Vernonia arborea*. *Fitoterapia* 74(5): 479-482.
73. Kuo YH, Kuo YJ, Yu AS, Wu MD, Ong CW, Yang Kuo LM, Huang JT, Chen CF, Li SY 2003. Two novel sesquiterpene lactones, cytotoxic vernolide-A and -B, from *Vernonia cinerea*. *Chem Pharm Bull* 51(4): 425-426.
74. Kupchan SM, Hemingway RJ, Werner D, Karim A, Mcphail AT, Sim GA 1968. Vernolepin, a novel elemanolide dilactone tumor inhibitor from *Vernonia hymenolepis*. *J Am Chem Soc* 90(13): 3596-3597.
75. (a) Kupchan SM, Hemingway RJ, Karim A, Werner DJ 1969. Tumor inhibitors. XLVII. Vernodalin and vernomygdin, two new cytotoxic

- sesquiterpene lactones from *Vernonia amygdalina* Del. *Org Chem* 34(12): 3908-3911.
- 76.(b)Kupchan SM, Hemingway RJ, Werner D, Karim A 1969. Tumor inhibitors. XLVI. Vernolepin, a novel sesquiterpene dilactone tumor inhibitor from *Vernonia hymenolepis* A. Rich. *J Org Chem* 34(12): 3903-3907.
- 77.Laekeman GM, Mertens J, Totte J, Bult H, Vlietinck AJ, Herman AG 1983. Isolation and pharmacological characterization of vernolepin. *J Nat Prod* 46(2): 161-169.
- 78.Laekeman GM, Clerck F, Vlietinck AJ, Herman AG 1985. Vernolepin: an antiplatelet compound of natural origin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 331(1): 108-113.
- 79.Lages AS, Romeiro NC, Fraga CAM, Barreiro EJ 1998. Inibidores seletivos de Prostaglandina Endoperóxido Sintase-2 (PGHS-2): nova estratégia para o tratamento da inflamação. *Quim. Nova* 21(6): 761-771.
- 80.Lambertini E, Piva R, Khan MT, Lampronti I, Bianchi N, Borgatti M, Gambari R 2004. Effects of extracts from Bangladeshi medicinal plants on in vitro proliferation of human breast cancer cell lines and expression of estrogen receptor alpha gene. *Int J Oncol* 24(2): 419-423.
- 81.Landolfi R, Mower RL, Steiner, M 1984. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem Pharmacol* 33: 1525-1530.
- 82.Latha RM, Geetha T, Varalakshmi P 1998. Effect of *Vernonia cinerea* Less flower extract in adjuvant-induced arthritis. *Gen Pharmacol* 31(4): 601-606.
- 83.Leitão Filho HF 1972. Contribuição ao conhecimento taxonômico da tribo *Vernonieae* no estado de São Paulo. In: Filizola LRS, Pimentel RMM, Randau KP, Xavier HS 2003. Anatomia dos Órgãos Vegetativos de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce. *Acta Farm. Bonaerense* 22 (4): 299-303.
- 84.Leite SN, Palhano G, Almeida S, Biavatti MW 2002. Wound healing activity and systemic effects of *Vernonia scorpioides* extract in guinea pig. *Fitoterapia* 73(6): 496-500.
- 85.Levi-Montalcini R 1986. The Nerve Growth Factor: Thirty-Five Years Later. *Nobel lecture*, 349-369. <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1986/levi-montalcini-lecture.html> acessado em Janeiro de 2006.
- 86.Liang QL, Min ZD 2003. Studies on the constituents from the herb of *Vernonia patula*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 28(3): 235-237.
- 87.Lopes JL 1991. Sesquiterpene lactones from *Vernonia*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86 (2): 227-230.
- 88.Macedo ME, Consoli RA, Grandi TS, Anjos AM, Oliveira AB, Mendes NM,

- Queiroz RO, Zani CL 1997. Screening of Asteraceae (*Compositae*) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: *Culicidae*). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92(4): 565-570.
89. Macedo JMS, Oliveira IR 2002. Corticosteróides. In Silva P 2002. *Farmacologia*, 6th ed, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. p. 826-841.
90. Malone MH 1977. Natural products drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity.
91. Masaba SC 2000. The antimalarial activity of *Vernonia amygdalina* Del (Compositae). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 94(6): 694-695.
92. Matos FJA 2005. Checklist das Plantas do Nordeste. Disponível em: <http://umbuzeiro.cnip.org.br/db/pnechk/taxa/6748.html> Acessado: 16/05/2005
93. Matos FJA 2005a. Checklist das Plantas do Nordeste. Disponível em: <http://umbuzeiro.cnip.org.br/db/pnechk/taxa/6748.html> Acessado: 16/05/2005
94. Matos FJA 2005b. Checklist das Plantas do Nordeste. Disponível em: <http://umbuzeiro.cnip.org.br/db/pnechk/fam/f20.html> Acessado: 18/11/2006
95. Mazumder UK, Gupta M, Manikandan L, Bhattacharya S, Haldar PK, Roy S 2003. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Vernonia cinerea* Less. extract in rats. *Phytomedicine* 10(2-3): 185-188.
96. McCluggage WG, Lyness RW, Atkinson RJ, Dobbs SP, Harley I, McClelland HR, Price JH 2002. Morphological effects of chemotherapy on ovarian carcinoma. *J. Clin. Pathol* 55: 27-31.
97. Miolo JR 1996. Intoxicação experimental com Alecrim *Vernonia nudiflora* em ovinos *Ovis áries*. *Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro* 1(2/3): 33-34.
98. Monteiro MHD, Gomes-Carneiro MR, Felzenszwalb I, Chahoud I, Paumgartten FJR 2001. Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia Condensata*. *J Ethnopharmacol* 74: 149-157.
99. Muregi FW, Chhabra SC, Njagi EN, Lang'at-Thoruwa CC, Njue WM, Orago AS, Omar SA, Ndiege IO 2003. In vitro antiplasmodial activity of some plants used in Kisii, Kenya against malaria and their chloroquine potentiation effects. *J Ethnopharmacol* 84(2-3): 235-239.
100. Murray M, Birdsall T, Pijzorno JE, Reilly P 2005. Como prevenir e tratar câncer com medicina natural. Ed. Best Seller. Rio de Janeiro. p: 73-74.
101. Narain NK 1977. Flavonoids from *Vernonia fasciculata* Michx. Isolation of genkwanin and a new flavone disaccharide, fasciculatin. *J Chem Soc* 9: 1018-1020.

102. Nergard CS, Diallo D, Michaelsen TE, Malterud KE, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H, Paulsen BS 2004. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *J Ethnopharmacol* 91(1): 141-152.
103. Nergard CS, Matsumoto T, Inngjerdingen M, Inngjerdingen K, Hokputsa S, Harding SE, Michaelsen TE, Diallo D, Kiyohara H, Paulsen BS, Yamada H 2005. Structural and immunological studies of a pectin and a pectic arabinogalactan from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. (Asteraceae). *Carbohydr Res* 340(1): 115-130.
104. Noldin VF, Cechinel Filho, V, Monache FD, Benassi JC, Christmann IL, Pedrosa RC, Yunes RA 2003. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (Alcachofra) cultivada no Brasil. *Quim. Nova* 26(3): 331-334.
105. Obaseiki-Ebor EE, Odukoya K, Telikepalli H, Mitscher LA, Shankel DM 1993. Antimutagenic activity of extracts of leaves of four common edible vegetable plants in Nigeria (west Africa). *Mutat Res* 302(2): 109-117.
106. Oboh G, Akindahunsi AA 2004. Change in the ascorbic acid, total phenol and antioxidant activity of sun-dried commonly consumed green leafy vegetables in Nigeria. *Nutr Health* 18(1): 29-36.
107. Oettel H, Wilhelm G 1955. Tests of compounds against Ehrlich Ascites Tumor, Sarcoma 180 and Walker Carcino-Sarcoma 256. *Cancer Research Sup.* n°2: 129-144.
108. Oketch-Rabah HA, Brogger Christensen S, Frydenvang K, Dossaji SF, Theander TG, Cornett C, Watkins WM, Kharazmi A, Lemmich E 1998. Antiprotozoal properties of 16,17-dihydrobrachycalixolide from *Vernonia brachycalyx*. *Planta Med* 64(6): 559-562.
109. Oliveira et al. 2004. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. In: Soldi C, Zuchinali A, Pizzolatti MG, Moresco HH, Dias M, Brighente IMC 2006. Atividade citotóxica de derivados do triterpeno amirina, bioensaio com larvas de *Artemia salina*. 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. <http://sec.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T0599-2.pdf>, acessada em novembro de 2006.
110. Pagno T, Blind LZ, Biavatti MW, Kreuger MRO 2006. Cytotoxic activity of the dichloromethane fraction from *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae) against Ehrlich's tumor cells in mice. *Braz J Med Biol Res* 39: 1483-1491.
111. Pickel DBJ 1949. Piso e Marcgrave na Botânica Brasileira – para o tricentenário de sua chegada ao Brasil. In: Filizola LRS 2003. *Estudo Farmacognóstico de Vernonia brasiliiana* (L.) Druce (Asteraceae) e determinação de sua atividade Biológica. Recife, 104p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
112. Rabe T, Mullholland D, Van Staden J 2002. Isolation and identification of

- antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. *J Ethnopharmacol* 80(1): 91-94.
113. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW 2000. Veterinary Medicine. 9th ed. W.B.Saunders, London. 1877p, apud *Pesq. Vet. Bras.* 22(3): 119-128, 2002.
114. Ratter JA, Ribeiro JF, Bridgwater S 1997. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. In: Almeida AM, Fonseca CR, Prado PI, Almeida-Neto M, Diniz S, Kubota U, Braun MR, Raimundo RLG, Anjos LA, Mendonça TG, Futada SM, Lewinsohn TM 2005. Diversidade e ocorrência de Asteraceae em cerrados de São Paulo. *Biota Neotropica* 5:2.
115. Reis MS, Mariot A, Steenbock W 2004. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: Simões MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. (orgs.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ed. Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 45-74.
116. Reitz DB, Li JJ, Norton MB, Reinhard EJ, Collins JT, Anderson GD, Gregory SA, Koboldt CM, Perkins WE, Seibert K, Isakson PCJ 1994. In: Lages AS, Romeiro NC, Fraga CAM, Barreiro EJ 1998. Inibidores seletivos de Prostaglandina Endoperoxídeo Sintase-2 (PGHS-2): nova estratégia para o tratamento da inflamação. *Quim. Nova* 21(6): 761-771.
117. Ritter MR, Baptista LRM 2005. Levantamento florístico da família Asteraceae na “Casa de Pedra” e áreas adjacentes, Bagé, Rio Grande do Sul. *Iheringia, Sér. Bot* 60(1): 5-10.
118. Rizzo JA, Monteiro MSR, Bitencourt C 1985. Utilização de plantas medicinais em Goiânia. Anais do XXXVI Congresso Brasileiro de Botânica. Pará, Brasil, apud *J Ethnopharmacol*. 74(2): 149-57, 2001.
119. Rojas de Arias A, Ferro E, Inchausti A, Ascurra M, Acosta N, Rodriguez E, Fournet A 1995. Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. *J Ethnopharmacol* 45(1): 35-41.
120. Romanezi da Silveira R, Foglio MA, Gontijo JA 2003. Effect of the crude extract of *Vernonia polyanthes* Less. on blood pressure and renal sodium excretion in unanesthetized rats. *Phytomedicine* 10(2-3): 127-131.
121. Rowe EJ, Hardwood AA, Myers DB 1955. The isolation of three inositols from *Vernonia altissima*. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc* 44(5): 308-310.
122. Saleem M, Afaq F, Adhami VM, Mukhtar H 2004. Lupeol modulates NF- κ B and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice. *Oncogene* 23: 5203-5214.
123. (a) Saleem M, Kaur S, Kweon M, Adhami VM, Afaq F, Mukhtar H 2005. Lupeol, a fruit and vegetable based triterpene, induces apoptotic death of human pancreatic adenocarcinoma cells via inhibition of Ras signaling pathway. *Carcinogenesis* 26(11): 1956-1964.

124. (b) Saleem M, Kweon M, Yun J, Adhami VM, Khan N, Syed DN, Mukhtar H 2005. A Novel Dietary Triterpene Lupeol Induces Fas-Mediated Apoptotic Death of Androgen-Sensitive Prostate Cancer Cells and Inhibits Tumor Growth in a Xenograft Model. *Cancer Res* 65: 11203-11213.
125. Sampaio-Santos MI, Kaplan MAC 2001. Biosynthesis Significance of Iridoids in Chemosystematics. *J. Braz. Chem. Soc* 12(2): 144-153.
126. Schenkel EP, Gosmann G, Petrovick PR 2001 In: Simões CMO, Schenkel EP 2002. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Rev. Bras. Farmacognosia* 12(1): 35-40.
127. Schenkel EL, Zannin M, Mentz LA, Bordinon SAL, Irgang B 2004. Plantas tóxicas. In: Simões MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. (orgs.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ed. Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 959-993.
128. Schenkel EP, Gosmann G, Petrovick PR 2004. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (orgs.) 2004. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. (5ed) Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, Porto Alegre/ Florianópolis. p.371-400.
129. Schuartsman S 1980. *Produtos químicos de uso domiciliar – segurança e riscos toxicológicos*. São Paulo: Almed, 92 p.
130. Seetharaman TR, Petrus AJ 2004. Novel acylkaempferol glycoside from the endemic species, *Vernonia travancorica* Hook. f. *Journal Asian Nat Prod Res* 6(4): 295-299.
131. Shu YZ 1998. Recent natural products based drug development: A pharmaceutical industry perspective. In: Simões CMO, Schenkel EP 2002. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Rev. Bras. Farmacognosia* 12(1): 35-40.
132. Silva ACP 2006. *Abordagem da atividade biológica do látex de Euphorbia tirucalli Linn. (Euphorbiaceae)*. Recife, 99p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
133. Silva RR, Oliveira TT, Nagem TJ, Leão MA 2002. Efeito de flavonóides no metabolismo do Ácido Araquidônico. *Medicina Ribeirão Preto* 35: 127-133.
134. Simões CMO, Schenkel EP 2002. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. *Rev. Bras. Farmacognosia* 12(1): 35-40.
135. Simões CMO, Spitzer V 2004. Óleos voláteis. In: Simões MO, Schenkel

- EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. (orgs.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ed. Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, p. 467-496.
136. Souza MVN 2004. Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. *Quim. Nova* 27(2): 308-312.
137. Stafford GI, Jager AK, Van Staden J 2005. Effect of storage on the chemical composition and biological activity of several popular South African medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 97(1): 107-115.
138. Stock CC, Clarke DA, Philips FS, Barclay RK 1955. Sarcoma 180 inhibition screening data. *Cancer Research Sup.* n°2: 179-331.
139. Stolf L, Gava A, Tokarnia CH 1987. Intoxicação experimental por *Vernonia mollissima* (Compositae) em caprinos. In: Brum KB, Purisco E, Lemos RAA, Riet-Correa F 2002. Intoxicação por *Vernonia rubricaulis* em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras* 22(3): 119-128.
140. Sutter MC, Walker MJA 1999. Historia da Farmacologia. In: Page CP, Curtis MJ, Sutter MC, Walker MJA, Hoddman BB 1999. *Farmacologia integrada*, 1th ed, Ed. Manole, São Paulo, Brasil. p. 6-9.
141. Sy GY, Nongonierma RB, Sarr M, Cisse A, Faye B 2004. Antidiabetic activity of the leaves of *Vernonia colorata* (Willd.) Drake (Compositae) in alloxan-induced diabetic rats. *Dakar Med* 49(1): 36-39.
142. Sy GY, Cisse A, Nongonierma RB, Sarr M, Mbodj NA, Faye B 2005. Hypoglycaemic and antidiabetic activity of acetonic extract of *Vernonia colorata* leaves in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 98(1-2): 171-175.
143. Tadesse A, Gebre-Hiwot A, Asres K, Djote M, Frommel D 1993. The in vitro activity of *Vernonia amygdalina* on *Leishmania aethiopica*. *Ethiop Med J* 31(3): 183-189.
144. Taiwo O, Xu HX, Lee SF 1999. Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. *Phytother Res* 13(8):675-679.
145. Taylor CR, Schmidt-Nielsen K, Raab JL 1970. Scaling of the energetic cost of running body size in mammals. *Am. J. Physiol* 219: 1104 – 1107.
146. Tchinda AT, Tsopmo A, Tane P, Ayafor JF, Connolly JD, Sterner O 2002. Vernoguinoesterol and vernoguinoside, trypanocidal stigmastane derivatives from *Vernonia guineensis* (Asteraceae). *Phytochemistry* 59(4): 371-374.
147. Tchinda AT, Tane P, Ayafor JF, Connolly JD 2003. Stigmastane derivatives and isovaleryl sucrose esters from *Vernonia guineensis* (Asteraceae). *Phytochemistry* 63(7): 841-846.
148. Tian G, Zhang U, Zhang T, Yang F, Ito Y 2004. Separation of flavonoids from the seeds of *Vernonia anthelmintica* Willd by high-speed counter-

- current chromatography. *J Chromatogr A* 1049: 219-22.
149. Tokarnia CH, Döbereiner J 1982. Intoxicação de bovinos por *Vernonia rubricaulis* (Compositae) em Mato Grosso. In: Brum KB, Purisco E, Lemos RAA, Riet-Correa F 2002. Intoxicação por *Vernonia rubricaulis* em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras* 22(3): 119-128.
 150. Tokarnia CH, Döbereiner J 1983. Intoxicação experimental por *Vernonia squarrosa* (Compositae) em ovinos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras* 3(2): 45-52.
 151. Tokarnia CB, Döbereiner J, Amorin PR, Gava A, Consorte LB 1986. Intoxicação experimental por *Vernonia molissima* (Compositae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras* 6(1): 5-10, apud *J Ethnopharmacol* 74(2): 149-57, 2001.
 152. Tona L, Cimanga RK, Mesia K, Musuamba CT, Bruyne T, Apers S, Hernans N, Van Miert S, Pieters L, Totte J, Vlietinck AJ 2004. In vitro antiplasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo. *J Ethnopharmacol* 93(1): 27-32.
 153. Tsuda T, Watanabe M, Ohshimak Norinobu S, Chol SW, Kawakishi S, Osawa T 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-b-D-glucoside and cyanidin. *J Agricult Food Chem* 42: 2407-2410.
 154. Valverde AL, Cardoso GL, Pereira NA, Silva AJ, Kuster RM 2001. Analgesic and antiinflammatory activities of vernonioside B2 from *Vernonia condensata*. *Phytother Res* 15(3): 263-264.
 155. Veiga Junior VF, Pinto AC 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Quim. Nova* 28 (3): 519-528.
 156. Vogler B, Klaiber II, Roos G, Walter CU, Hiller W, Sandor P, Kraus W 1998. Combination of LC-MS and LC-NMR as a Tool for the Structure Determination of Natural Products. *J Nat Prod* 61(2): 175-178.
 157. Williams RB, Norris A, Slebodnick C, Merola J, Miller JS, Andriantsiferana R, Rasamison VE, Kingston DG 2005. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia pachyclada* from the Madagascar rainforest. *J Nat Prod* 68(9): 1371-1374.
 158. Winter CA, Risley EA, Nuss GW 1962. Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine* 111: 544 - 547.
 159. Ziegler HL, Stärk D, Christensen J, Hviid L, Hägerstrand H, Jaroszewski JW 2002. In vitro *Plasmodium falciparum* drug sensitivity assay: inhibition of parasite growth by incorporation of stomatocytogenic amphiphiles into the erythrocyte membrane. *Antim Agents Chem* 46(5): 1441-1446.
 160. Zomlefer W B 1994. *Guide to flowering plant families*. Chapel Hill &

London: Carolina, USA.

161. Zuanazzi JAS, Montanha JA 2004. Flavonóides. In: Simões MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Florianópolis, Brasil. p.577-561.