

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Vernonia polyanthes*
(“ASSA-PEIXE”)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

Fonte do Recurso: DAF/ SCTIE/ MS

Brasília

2014

FICHA DE CATALOGAÇÃO

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração de exsicata de espécime de <i>Vernonia polyanthes</i> .	11
Figura 2 – Epiderme adaxial de folha de <i>Vernonia polyanthes</i> (visão frontal).	14
Figura 3 – Diferentes tipos de tricomas da <i>Vernonia polyanthes</i> .	14
Figura 4 – Epiderme abaxial de folha de <i>Vernonia polyanthes</i> (visão frontal).	15
Figura 5 – Ilustração de secção transversal do pecíolo de <i>Vernonia polyanthes</i> .	15
Figura 6 – Ilustração de secção transversal da nervura principal de <i>Vernonia polyanthes</i> .	16
Figura 7 – Fotomicrografias de grãos de pólen de <i>Vernonia polyanthes</i> .	16
Figura 8 – Estruturas químicas de agliconas derivadas de <i>Vernonia polyanthes</i> .	20
Figura 9 – Estruturas químicas de compostos obtidos de partes aéreas de <i>Vernonia polyanthes</i> .	26
Figura 10 – Estruturas químicas de compostos derivados de extrato de lavagem foliar de <i>Vernonia polyanthes</i> .	28
Figura 11 – Cromatogramas gasosos analíticos de frações saponificáveis derivadas de extratos de diferentes farmacógenos de <i>Vernonia polyanthes</i>	31
Figura 12 – Cromatogramas gasosos analíticos de frações insaponificáveis derivadas de extratos de diferentes farmacógenos de <i>Vernonia polyanthes</i> .	33
Figura 13 – Cromatograma analítico obtido por CLAE-DAD-EM de extrato de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> .	35
Figura 14 – Estruturas químicas de substâncias identificadas no extrato hidrometanólico de <i>Vernonia polyanthes</i> .	35
Figura 15 – Cromatogramas analíticos comparativos obtidos por CLAE-DAD-EM de extrato de folhas de <i>Vernonia polyanthes</i> , das lagartas de <i>Chlosyne lacinia</i> cultivadas em <i>V. polyanthes</i> e das fezes da lagarta.	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Resultados da investigação fitoquímica de diferentes farmacógenos de <i>Vernonia polyanthes</i> .	21
Quadro 2 – Compostos identificados de frações saponificáveis de extratos de diferentes farmacógenos de <i>Vernonia polyanthes</i> .	32
Quadro 3 – Compostos identificados de frações insaponificáveis de extratos de diferentes farmacógenos de <i>Vernonia polyanthes</i> .	34
Quadros 4 – Dados de uso popular e tradicional relatados para a espécie <i>Vernonia polyanthes</i> .	39
Quadro 5 – Testes farmacológicos <i>in vitro</i> para a espécie <i>Vernonia polyanthes</i> .	43
Quadro 6 - Testes farmacológicos <i>in vivo</i> para a espécie <i>Vernonia polyanthes</i> .	50

Tabela 1 – Valores dos teores de cinzas para os diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes*. 20

Tabela 2 – Valores dos teores de substâncias solúveis em água e etanol para diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes*. 23

Tabela 3 – Valores de pH, condutividade e potencial osmótico dos extratos aquosos dos diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes*. 25

BHI	<i>Brain heart infusion (Infusão cérebro e coração)</i>
CCD	<i>Cromatografia em camada delgada</i>
CG-EM	<i>Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas</i>
CIM	<i>Concentração inibitória mínima</i>
CIM _{90%}	<i>Concentração inibitória mínima para inibir crescimento de 90% da população avaliada</i>
CL ₅₀	<i>Concentração letal para morte de 50% da população avaliada</i>
CLAE	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência</i>
CLAE-DAD-EM	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector de arranjo de diodos acoplada à espectrometria de massas</i>
CMM	<i>Concentração microbicida mínima</i>
DAD	<i>Detector de arranjo de diodos</i>
DHM	<i>Dose hemorrágica mínima</i>
DL ₅₀	<i>Dose letal para morte de 50% da população avaliada</i>
DMSO	<i>Dimetilsulfóxido</i>
ED ₅₀	<i>Dose efetiva 50 %</i>
EM	<i>Espectrometria de massas</i>
HCl	<i>Ácido clorídrico</i>
IC ₅₀	<i>Concentração inibitória para inibir crescimento de 50% da população avaliada</i>
IV	<i>Infravermelho</i>
MTT	<i>Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio</i>
NaOH	<i>Hidróxido de sódio</i>
PDA	<i>Potato dextrose agar (Agar batata dextrose)</i>
RMN	<i>Ressonância magnética nuclear</i>
SAB	<i>Sabouraud dextrose</i>
UFC	<i>Unidade formadora de colônia</i>
UV	<i>Ultravioleta</i>

SUMÁRIO

1 IDENTIFICAÇÃO	10
1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA	10
1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA	10
1.3 FAMÍLIA	10
1.4 FOTO DA PLANTA	10
1.5 NOMENCLATURA POPULAR	11
1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	11
1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS	12
2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS	13
2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL	13
2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	13
2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	13
2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES	16
3 CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE	18
3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL	18
3.1.1 Caracteres organolépticos	18
3.1.2 Requisitos de pureza	18
3.1.2.1 <i>Perfil de contaminantes comuns</i>	18
3.1.2.2 <i>Microbiológico</i>	18
3.1.2.3 <i>Teor de umidade</i>	19
3.1.2.4 <i>Metal pesado</i>	19
3.1.2.5 <i>Resíduos químicos</i>	19
3.1.2.6 <i>Cinzas</i>	19
3.1.3 Granulometria	20
3.1.4 Prospecção fitoquímica	20
3.1.5 Testes físico-químicos	21
3.1.6 Testes de identificação	21
3.1.7 Testes de quantificação	22
3.1.7.1 <i>Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não</i>	22
3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade	22
3.2 DERIVADO VEGETAL	23
3.2.1 Descrição	23
3.2.2 Método de obtenção	23
3.2.3 Caracteres organolépticos	24
3.2.4 Requisitos de pureza	24
3.2.4.1 <i>Perfil de contaminantes comuns</i>	24
3.2.4.2 <i>Microbiológico</i>	24
3.2.4.3 <i>Teor de umidade</i>	24
3.2.4.4 <i>Metal pesado</i>	24
3.2.4.5 <i>Resíduos químicos</i>	24
3.2.5 Testes físico-químicos	25
3.2.6 Prospecção fitoquímica	26
3.2.7 Testes de identificação	28
3.2.7.1 <i>Cromatografia em camada delgada</i>	29

3.2.7.2 Cromatografia gasosa	30
3.2.7.3 Cromatografia líquida de alta eficiência	34
3.2.8 Testes de quantificação	36
3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não	36
3.3 PRODUTO FINAL	36
3.3.1 Forma farmacêutica	36
3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica	36
3.3.3 Requisitos de pureza	36
3.3.4 Resíduos químicos	36
3.3.5 Prospecção fitoquímica	37
3.3.6 Testes de identificação	37
3.3.7 Testes de quantificação	37
3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não	37
4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA	38
4.1 USOS POPULARES E/ OU TRADICIONAIS	38
4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANTIRÁRIAS BRASILEIRAS	41
4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS	41
4.3.1 Estudos toxicológicos	41
4.3.1.1 Toxicidade aguda	41
4.3.1.2 Toxicidade subcrônica	41
4.3.1.3 Toxicidade crônica	42
4.3.1.4 Genotoxicidade	42
4.3.1.5 Sensibilização dérmica	42
4.3.1.6 Irritação cutânea	42
4.3.1.7 Irritação ocular	42
4.3.2 Estudos farmacológicos	42
4.3.2.1 Ensaio <i>in vitro</i>	42
4.3.2.2 Ensaio <i>in vivo</i>	49
4.3.2.3 Ensaio <i>ex vivo</i>	54
4.4 ESTUDOS CLÍNICOS	54
4.4.1 Fase I	54
4.4.2 Fase II	54
4.4.3 Fase III	54
4.4.4 Fase IV	54
4.4.5 Estudos observacionais	54
4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO	55
4.5.1 Vias de Administração	55
4.5.2 Dose Diária	55
4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)	55
4.5.4 Período de Utilização	55
4.5.5 Contra Indicações	5
4.5.6 Grupos de Risco	56
4.5.7 Precauções de Uso	56
4.5.8 Efeitos Adversos Relatados	56
4.5.9 Interações Medicamentosas	56
4.5.9.1 Descritas	56

<i>4.5.9.2 Potenciais</i>	56
4.5.10 Informações de Superdosagem	57
<i>4.5.10.1 Descrição do quadro clínico</i>	57
<i>4.5.10.2 Ações a serem tomadas</i>	57
5 INFORMAÇÕES GERAIS	58
5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA	58
5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS	58
5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO	58
5.4 ROTULAGEM	58
5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS	58
5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL	58
5.7 DIVERSOS	59

1 IDENTIFICAÇÃO

1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

Vernonia polyanthes Less. (1, 2).

1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

Vernonia psittacorum DC, *Vernonia patens* Less. (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.), *Vernonia corcovadensis* Gardner, *Vernonia brasiliensis* Mart. ex DC, *Chrysocoma phosphorica* Vell. *Chrysocoma arborea* Vell. *Cacalia polyanthes* (Less.) Kuntze e *Vernonanthura phosphorica* (Vell.) H.Rob. (1-4).

1.3 FAMÍLIA

Asteraceae (1, 5).

1.4 FOTO DA PLANTA



Figura 1 – Ilustração de exsicata de espécime de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura phosphorica* [Vell.] H.Rob.), depositada no Herbário RB do Jardim Botânico do Rio de Janeiro/RJ (RB00581453). Fonte: Herbário Virtual Re flora - Jardim Botânico do Rio de Janeiro (6).

1.5 NOMENCLATURA POPULAR

“Assa-Peixe”, “Assa-Peixe-Branco”, “Cambará-Branco”, “Cambará-Açú”, “Alecrim-do-Campo”, “Assa-Peixe-Roxo”, “Chamarrita”, “Assa-Peixe-do-Pará”, Erva-Preá”, “Cambará-Guaçu”, “Cambarazinho”, “Casca-Preta”, “Tramanhém”, “Erva-de-Mula”, “Mata-Pasto”, “Salsa-da-Praia” (5, 7-9).

1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Apresenta distribuição por diferentes países como México, Belize, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá, Venezuela, Bolívia, Colômbia, Equador Paraguai e Peru (10, 11).

Sendo nativa no Brasil, possui ampla ocorrência nas regiões sul, sudeste e centro-oeste, sendo comum em áreas do cerrado, como em São Paulo, Mato Grosso, Minas Gerais e Goiás, e na orla Atlântica (5, 8, 9, 12).

1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS

Espécies do gênero com características semelhantes são *Vernonia ferrugínea* Less. e *Vernonia tweedieana* Baker (9).

2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL

Diferentes são as formas de utilização da espécie *Vernonia polyanthes* Less., bem como diferem as partes da planta ou farmacógenos empregados. Para usos populares tradicionais destaca-se o uso de folhas, brotos e partes aéreas (13-18).

Além destas, outras partes como caules, raízes, e eventualmente a planta toda tem sido utilizada em preparações de uso popular (18-20).

2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

A espécie *V polyanthes* se apresenta como uma planta arbustiva ou arbórea, com média de 2,5 m de altura, amplamente ramificada, cujos ramos são sulcados, glabrescentes, angulosos e densamente pilosos (5, 8, 11).

Possui folhas simples alternadas, lanceoladas, pecioladas, cujos pecíolos apresentam comprimento variado, com base atenuada e ápice agudo ou acuminado. As margens inteiras ou levemente serradas na parte apical, com comprimento de até 18 cm e 6 cm de largura, e nervuras duplamente proeminentes (sendo mais na face dorsal). Apresenta face adaxial áspera, esparso-estrigosa, glandulosa e face abaxial pilosa, estrigosa, glandulosa. De cor verde, sendo esta mais clara na face abaxial (5, 8, 11, 21).

Sua inflorescência é formada por flores brancacentas, alvas ou rosada, disposta no ápice dos ramos, com capítulos pequenos, sésseis ou curtamente pedunculados, formados por 10 a 15 flores reunidas em panículas escorpioides. O grande volume das inflorescências, com flores geralmente brancacentas e aromáticas é característico da espécie (5, 8).

Apresenta também caule lenhoso e muito ramificado. A raiz é principalmente pivotante, com extenso sistema radicular (5).

2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

A lâmina foliar é dorsoventral, hipostomática, com tricomas em ambas as faces, sendo estes pluri, homo e heterocelulares. A face adaxial possui epiderme uniestratificada cujas

células apresentam paredes retas ou levemente curvas, contendo estômatos, tricomas simples, pluricelulares (Figura 2) (8, 21).

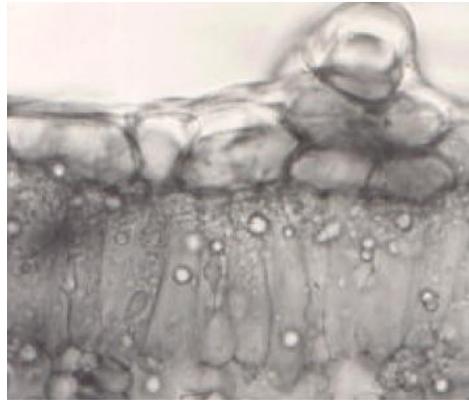


Figura 2 – Epiderme adaxial de folha de *Vernonia polyanthes* (visão frontal), contendo tricoma simples do tipo pluricelular inserido. Fonte: Alves e Nevez (2003) (8).

Os estômatos são anomocíticos situados nas proximidades das nervuras. Há grande quantidade de drusas em toda a região parenquimática. Os tricomas caracterizam-se por apresentarem células com diferentes graus de espessamento, sendo a apical longa, com paredes finas e de extremo afilado (Figura 3A), enquanto a célula basal exhibe secção ampuliforme, com paredes espessadas e cutinizadas. O parênquima paliçádico é unisseriado, constituído por células altas e estreitas. Já o parênquima lacunoso apresenta células de secção lobada. O mesófilo dorsiventral possui uma ou duas camadas de parênquima paliçádico, e se observam tubos de látex, retos e de grande calibre. Também são encontrados grãos de amido e gotículas de óleo (8, 21).

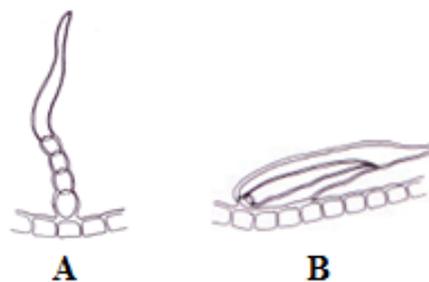


Figura 3 – Diferentes tipos de tricomas da *Vernonia polyanthes*; **A.** Tricoma simples pluricelular; **B.** Tricoma secretor do tipo bigorna. Fonte: adaptado de Alves e Nevez (2003) (8).

A face abaxial possui epiderme uniestratificada contendo células fundamentais de dimensões bastante variáveis, com paredes delgadas, onduladas, e tricomas simples pluricelulares, do tipo bigorna (Figura 3B) e capitados. Apresenta ainda, tricoma glandular de

cabeça arredondada, grande, unicelular, inserido diretamente em depressões da epiderme (sem pedúnculo). A epiderme abaxial exibe células com paredes de contorno sinuoso (Figura 4). Os estômatos são do tipo anomocítico (8, 21).

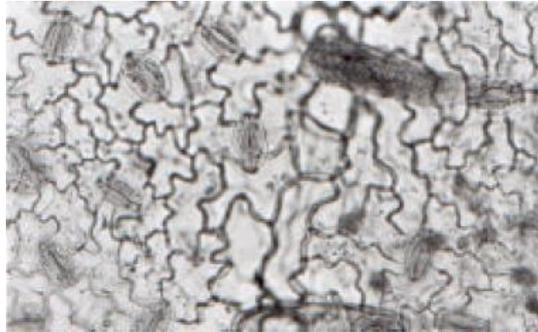


Figura 4 – Epiderme abaxial de folha de *Vernonia polyanthes* (visão frontal), contendo estômatos do tipo anomocíticos. Fonte: Alves e Nevez (2003) (8).

Apresenta bordo foliar fletido com células de paredes espessadas. Pode conter também tricomas simples pluricelulares e capitados. O pecíolo (Figura 5) possui epiderme uniestratificada podendo ser detectados tricomas como os contidos no bordo foliar. O sistema condutor é composto por um conjunto de 5 a 8 feixes, do tipo colateral, cujos calibres são variados, onde os feixes mais calibrosos se dispõem na porção central (8).



Figura 5 – Ilustração de secção transversal do pecíolo de *Vernonia polyanthes*. Fonte: Alves e Nevez (2003) (8).

A nervura principal (Figura 6) exibe contorno biconvexo, com colênquima do tipo angular e com parênquima contendo cristais prismáticos e drusas de oxalato de cálcio. O sistema condutor é formado por 3 a 6 feixes vasculares colaterais, individualizados, recobertos por casquetes de fibras, tendo os três feixes centrais mais calibrosos (8, 21).

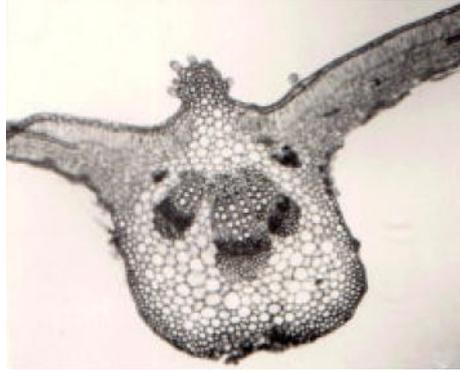


Figura 6 – Ilustração de secção transversal da nervura principal de *Vernonia polyanthes*. Fonte: Alves e Nevez (2003) (8).

As flores, aproximadamente 15 a 20, possuem corola tubulosa, tubo de 4 mm, lobos glabros, com anteras de base sagitada, calcarada, ápice lanceolado a oval-lanceolado. Os ramos do estilete são lineares, pilosos abaixo do ponto de bifurcação. Exibe pápus cerdoso e ápice espessado. Em relação ao pólen, apresenta diâmetro polar de $46,5 \pm 0,2 \mu\text{m}$ e diâmetro equatorial $51,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$ (Figura 7). A medida de colpo de $24,3 \mu\text{m}$ de largura e $5,2 \mu\text{m}$ de comprimento (11, 22).

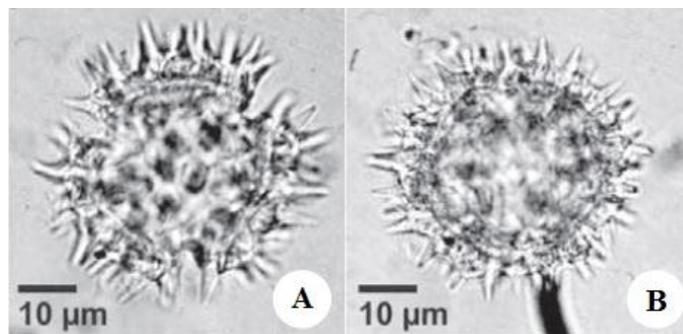


Figura 7 – Fotomicrografias de grãos de pólen de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura phosphorica* [Vell.] H.Rob.) em microscópio de luz; **A**. Visão polar; **B**. Visão equatorial. Fonte: adaptado de Mendonça e colaboradores (2009)(22).

2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES

Dentre as espécies similares que é usualmente confundida com *Vernonia polyanthes* está *Vernonia rubriramea*, confusão que se dá devido à semelhança na disposição dos capítulos nos ramos e no formato da folha. Entretanto, é possível diferenciá-las por esta (*V. rubriramea*) possuir capítulos mais robustos e ramos contendo sulcos mais profundos quando comparados àquela (11).

Outra espécie que pode ser confundida com *V. polyanthes* é a *Vernonia westiniana* (*Vernonanthura westiniana*), uma vez que as duas apresentam pólen considerados de médio porte com uma forma esferoidal oblata (22). No entanto, Malhem e colaboradores (2003) (23) sugerem que a *V. polyanthes* (*Vernonanthura phosphorica*) possui pólen de grande porte, e a *V. westiniana* apresenta uma forma esférica, sendo assim um meio para diferenciá-las.

A espécie *V. polyanthes* também se parece com a *Vernonia mariana* Mart. ex Baker, mas diferenciando-se por ter suas folhas ferrugíneo tomentosa, além de apresentar capítulos com menos flores e cipsela setosa. Além dessas, possui semelhança com as espécies *Vernonia missionis* Gardner e *Vernonia ruficoma* Schlechtd. ex Baker, mas ambas as duas apresentando folhas glabrescentes, involúcro globoso campanulado, fortemente imbricado (12).

3 CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE

3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL

3.1.1 Caracteres organolépticos

A análise organoléptica consiste em um método simples e rápido para a avaliação de qualidade da amostra, em especial quanto à sua identidade e pureza, podendo ser observados parâmetros como coloração, consistência, sabor e/ou odor (24).

Em trabalho realizado por Côrrea e colaboradores (2004) (25), em que se avaliou a influência de diferentes métodos de secagem sobre as características organolépticas de folhas de *Vernonia polyanthes*, observou-se que independente do método de secagem empregado (secagem mista, secagem em estufa, secagem à sombra e em secador solar), as folhas apresentaram coloração predominante verde-escura na face adaxial, e verde-clara na face abaxial.

Por outro lado, quanto ao odor constatou-se que a secagem à sombra conservou melhor o cheiro característico das folhas, o qual se manteve forte. Para as demais técnicas de secagem as folhas apresentaram odor suave (25).

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Não foram encontradas informações acerca da avaliação do perfil de contaminantes comuns de droga vegetal para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.1.2.2 Microbiológico

Não foram encontradas informações acerca da avaliação microbiológica de droga vegetal para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.1.2.3 Teor de umidade

A análise do teor de umidade das partes aéreas secas de *V. polyanthes* (*Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob.), em que foram avaliados separadamente flores, folhas e ramos, mostrou valores respectivos de umidade residual de $8,60 \pm 0,06\%$, $10,00 \pm 0,03\%$ e $8,50 \pm 0,06\%$ (26).

Estudo avaliando a influência diferentes processos de secagem (secagem mista, secagem em estufa, secagem à sombra e em secador solar) sobre as folhas de *V. polyanthes* demonstrou que o teor de umidade observado foi semelhante para as diferentes técnicas, cujo valor médio foi $70,0 \pm 2,3\%$ (25).

Fonseca e colaboradores (2012) (27), em estudo sobre os aspectos da germinação de sementes de *V. polyanthes*, avaliaram o teor de umidade inicial nas sementes o qual foi de 10,51%.

3.1.2.4 Metal pesado

Não foram encontradas informações acerca da presença ou ausência de metais pesados na droga vegetal para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.1.2.5 Resíduos químicos

Não foram encontradas informações acerca da presença ou ausência de resíduos químicos na droga vegetal para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.1.2.6 Cinzas

A determinação do teor de cinzas realizada por Santana e colaboradores (2013) (26), que avaliaram os teores de cinzas totais, cinzas insolúveis em HCl e cinzas solúveis em água em diferentes farmacógenos, mostrou que os valores (Tabela 1) variaram entre 6,40 e 11,00%, 0,03 e 4,30% , e entre 1,10 e 2,80%, respectivamente.

Tabela 1 – Valores dos teores de cinzas para diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.).

Parâmetro (%)	Farmacógeno		
	Flores ^a	Folhas ^a	Ramos ^a
Cinzas totais	7,10 ± 0,11	11,00 ± 0,25	6,40 ± 0,19
Cinzas insolúveis em HCl	0,03 ± 0,01	4,30 ± 0,03	0,20 ± 0,02
Cinzas solúveis em água	2,80 ± 0,13	1,10 ± 0,09	2,60 ± 0,15

^a. Valores expressos como média ± desvio padrão. Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (26).

3.1.3 Granulometria

Não foram encontradas informações acerca da granulometria de droga vegetal para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.1.4 Prospecção fitoquímica

As partes aéreas de *V. polyanthes* foram extraídas com clorofórmio, seguido de metanol, obtendo-se uma mistura flavonoídica, a qual foi extraída com solução aquosa de éter etílico e acetato de etila. A fração acetato de etila foi submetida a fracionamento por cromatografia empregando celulose, com fase móvel composta de solução aquosa de ácido acético 30%; ou sílica gel com fase móvel composta de acetato de etila: metanol: água (100:16,5:13,5), permitindo a obtenção das agliconas quercetina (1), luteolina (2) e kaempferol (3) (Figura 8). Além destes, foram obtidos dois glicosídeos de quercetina, mas que não foram completamente caracterizados devido à baixa concentração e má separação dos mesmos (28).

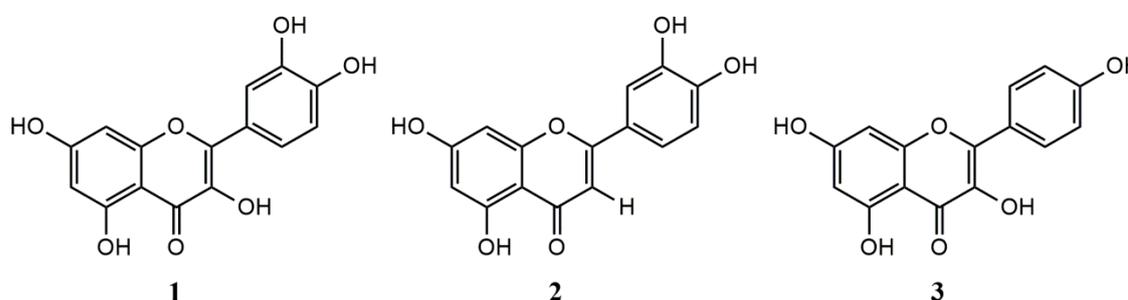


Figura 8 – Estruturas químicas de agliconas derivadas de *Vernonia polyanthes* (*Vernonia patens* H.B.K.); (1) quercetina; (2) luteolina; (3) kaempferol; Fonte: Calderón-Montaña et al., 2011 (29); Igual et al., 2013 (30).

3.1.5 Testes físico-químicos

Não foram encontradas informações acerca de testes físico-químicas para droga vegetal da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.1.6 Testes de identificação

Santana e colaboradores (2013) (26) realizaram a investigação fitoquímica de flores, folhas e ramos de *V. polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.), avaliando extratos etéreo, alcoólico e aquoso. Foi detectada a possível presença de catequinas, lactonas, triterpenos, esteroides, fenóis, taninos, aminoácidos, saponinas e flavonoides (Quadro 1).

Foram observadas diferenças nos resultados entre os farmacógenos, havendo variação na intensidade e na cor da reação em alguns testes. Para as flores, dentre os componentes que se apresentam em maior concentração estariam as catequinas, lactonas, aminoácidos, compostos redutores e saponinas. Já para as folhas, foram observados resultados negativos para saponinas, lactonas e compostos redutores. Para os caules, os resultados negativos foram para saponinas e compostos redutores (26).

Quadro 1 – Resultados da investigação fitoquímica de diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.).

Metabólito	Farmacógeno		
	Flores	Folhas	Ramos
Extrato etéreo			
<i>Alcaloides</i>	-	-	-
<i>Lactonas e cumarinas</i>	-	-	-
<i>Triterpenos e esteroides</i>	+	+	+
Extrato alcoólico			
<i>Catequinas</i>	+	+	++
<i>Compostos redutores</i>	-	-	+
<i>Lactonas</i>	-	±	+
<i>Triterpenos e esteroides</i>	+	+	+
<i>Saponinas</i>	-	-	-
<i>Fenóis e taninos</i>	+(verde)	+(verde)	+(verde)
<i>Aminoácidos</i>	±	±	+
<i>Quinonas</i>	-	-	-
<i>Flavonoides</i>	-	+(amarelo)	+(amarelo)
<i>Antocianidinas</i>	-	-	-
<i>Alcaloides</i>	-	-	-
<i>Resinas</i>	-	-	-

Extrato aquoso			
<i>Alcaloides</i>	-	-	-
<i>Taninos</i>	+ (azul)	+ (vinho)	+ (verde)
<i>Flavonoides</i>	+ (vermelho)	+ (amarelo)	+ (vermelho)
<i>Compostos redutores</i>	-	-	+
<i>Saponinas</i>	-	-	++
<i>Mucílagos</i>	-	-	-

Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (26).

3.1.7 Testes de quantificação

3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Côrrea e colaboradores (2004) (25) avaliaram da influência da secagem das folhas sobre o teor de óleos essenciais e demonstraram que o rendimento foi de 0,0182; 0,0357; 0,0385 e 0,0426%, respectivamente para os métodos de secagem mista ($\pm 27,2$ °C), secagem em estufa ($\pm 35,0$ °C), secagem à sombra ($\pm 25,1$ °C) e em secador solar ($\pm 32,3$ °C). Observou-se diferença estatisticamente significativa no teor de óleos quando empregado secagem em estufa, sendo o valor menor comparado aos demais métodos. Esse valor reduzido pode ser resultado da ação da circulação forçada de ar somada à temperatura mais elevada, acarretando na maior liberação de compostos voláteis e consequente redução do teor de óleos essenciais observados.

3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

A determinação do teor de substâncias solúveis em água e em etanol, avaliados em flores, folhas e ramos de *V. polyanthes*, apresentou valores (Tabela 2) variando entre 3,10 a 6,10 e entre 0,80 e 2,10, respectivamente para água e etanol (26).

Tabela 2 – Valores dos teores de substâncias solúveis em água e etanol para diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.).

Parâmetro avaliado (%)	Farmacógeno		
	Flores ^a	Folhas ^a	Ramos ^a
Substâncias solúveis em água	6,10 ± 0,03	3,70 ± 0,08	3,10 ± 0,01
Substâncias solúveis em etanol	2,10 ± 0,01	0,80 ± 0,00	1,20 ± 0,00

^a. Valores expressos como média ± desvio padrão. Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (26).

Em estudo sobre aspectos da germinação de sementes de *V. polyanthes*, em que se avaliou a germinação e vigor (primeira contagem e velocidade de germinação) das sementes frente à exposição a diferentes condições de temperatura e luz, foi observado que os maiores valores de germinação iguais entre si para as temperaturas de 20, 25 e 30 °C e baixas nas temperaturas de 15 e 35 °C enquanto na presença e na ausência de luz, e que a 40 °C ocorreu perda da viabilidade das sementes. Para o índice de velocidade de germinação na presença de luz o maior valor obtido foi a 25 °C, também não sendo observada germinação a 40 °C e luz constante. Sendo assim, as maiores porcentagens de germinação e níveis de vigor de sementes foram obtidas em temperaturas de 25 °C constante e de 15-25 °C alternada, na presença de luz, mostrando que as sementes da espécie são fotoblásticas preferenciais, com a germinação favorecida pela presença de luz (27).

3.2 DERIVADO VEGETAL

3.2.1 Descrição

Tem-se utilizado e estudado uma variedade de preparações derivadas de *Vernonia polyanthes*, dentre as quais estão o extrato líquido, extrato bruto, extratos secos, seja ele bruto ou de farmacógenos em separado, além de óleos essenciais (10, 30-34).

3.2.2 Método de obtenção

Dentre as formas de obtenção dos derivados vegetais relatados na literatura para a espécie *V. polyanthes*, com exceção de estudo sobre os óleos essenciais, cuja técnica de obtenção é por arraste de vapor d'água com auxílio de aparelho de Clevenger (34), os demais trabalhos envolvem métodos de obtenção a frio por maceração, variando o tempo de extração de horas a semanas bem como a frequência de renovação do líquido extrator (10, 17, 32, 35).

Quanto ao líquido extrator utilizado para a preparação dos derivados vegetais, utiliza-se majoritariamente metanol, seja absoluto ou como solução aquosa (10, 17, 30, 31, 34, 36). Além deste, são empregados também como líquido extrator o clorofórmio, éter de etílico e éter de petróleo em mistura, etanol (em solução aquosa) e água (32-36).

3.2.3 Caracteres organolépticos

Não foram encontradas informações acerca de caracteres organolépticos de derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.2.4 Requisitos de pureza

3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns

Não foram encontradas informações acerca da avaliação de contaminantes comuns de derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.2.4.2 Microbiológico

Não foram encontradas informações acerca da avaliação microbiológica de derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.2.4.3 Teor de umidade

Não foram encontradas informações acerca da avaliação do teor de umidade de derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.2.4.4 Metal pesado

Não foram encontradas informações acerca da avaliação da presença ou ausência de metais pesados em derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.2.4.5 Resíduos químicos

Não foram encontradas informações acerca da avaliação da presença ou ausência de resíduos químicos em derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.2.5 Testes físico-químicos

Em estudo realizado por Souza Filho e colaboradores (1996) (32), em que se avaliaram os efeitos de extratos aquosos das partes aéreas, raízes e sementes de “assa-peixe” (*V. polyanthes*) sobre a germinação e o desenvolvimento da radícula de três espécies de *Braquiaria*, foram determinados pH, condutividade elétrica e potencial osmótico para os extratos, cujos valores estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de pH, condutividade e potencial osmótico de extrato aquoso de diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes*.

Parâmetro avaliado	Extrato por farmacógeno		
	Partes aéreas	Raízes	Sementes
pH	5,96	5,47	5,34
Condutividade (mmHo)	6,05	2,71	1,36
Potencial osmótico (mPa)	0,32	0,23	0,13

Fonte: adaptado de Souza Filho e colaboradores (1996) (32).

Segundo os autores, os valores obtidos de pH para os extratos aquosos estão fora da faixa que poderia comprometer a germinação e desenvolvimento da radícula (de valores inferiores a 3,0 e superiores a 9,0), e portanto, o pH não deve ser considerado como interferente frente aos fatores observados. Da mesma forma, os valores de condutividade elétrica estão abaixo de 20 mmHo, valor que poderia afetar a germinação, e também não deve ser considerada (a condutividade elétrica) com interferente. Entretanto, torna-se necessário descontar a contribuição do potencial osmótico na redução total promovida pelos extratos, sempre que houver efeito significativo do potencial osmótico sobre os fatores analisados (32).

Silva e colaboradores (2012) (34), em estudo para a avaliação da atividade antimicrobiana e análise fitoquímica dos extratos brutos metanólicos e óleos essenciais de diferentes espécies, dentre as quais a *V. polyanthes*, determinaram o peso seco do extrato, e a densidade e rendimento dos óleos essenciais. Obteve-se 62,5 mg/mL como valor de peso seco para o extrato metanólico bruto. Já os óleos essenciais apresentaram densidade de 856,0 mg/mL e rendimento de 0,15%.

3.2.6 Prospecção fitoquímica

Empregando técnicas cromatográficas de CLAE e CCD, Bohlmann e colaboradores (1983) (33) purificaram diferentes compostos a partir da espécie *V. polyanthes*. Para tanto, as frações polares (fração éter etílico e éter etílico: metanol na proporção 20:1) obtidas por cromatografia em coluna a partir do extrato bruto das partes aéreas de *V. polyanthes* foram submetidas à CCD (em sílica gel e com eluente éter etílico: éter de petróleo na proporção 3:1), permitindo a purificação de 6 compostos (**4-9**) (Figura 9).

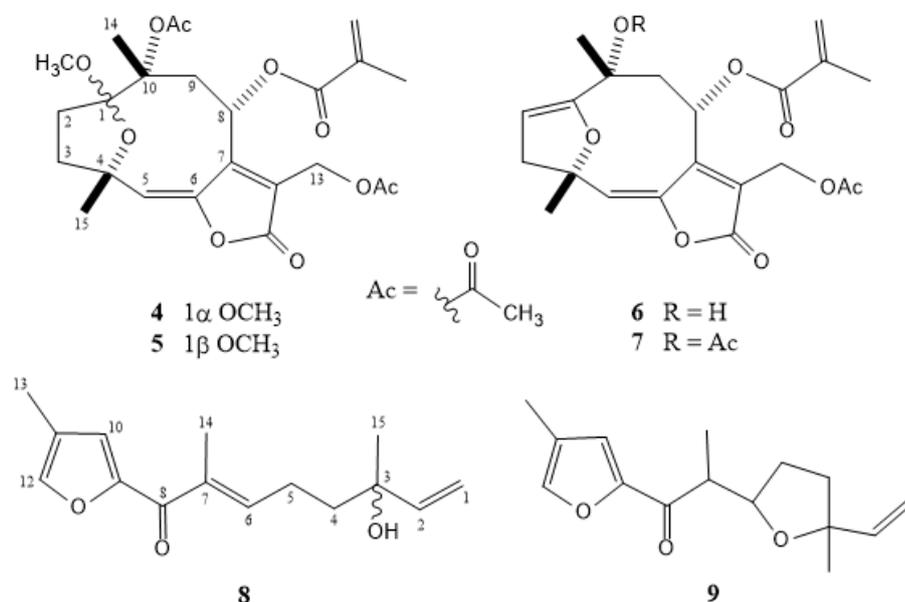


Figura 9 – Estruturas químicas de compostos obtidos de partes aéreas de *Vernonia polyanthes*; (**4**) 10 α -acetoxi-8 α -metacriloxi-1 α - e (**5**) 1 β -metoxihirsutinolídeo-13-O-acetato; (**6**) 8 β -(2-metilacrilóxi)-isohirsutinolídeo e (**7**) seu derivado acetilado; (**8**) 6,7 E -dehidrovernopolianthofurano e (**9**) seu derivado epóxido; Fonte: adaptado de Bohlmann e colaboradores (1983) (33); Bohlmann e colaboradores (1978) (37); Bohlmann e colaboradores (1981) (38).

Para enriquecimento do composto **4** proveniente da mistura de **4** e **5**, empregou-se técnica cromatográfica de CLAE (utilizando coluna de fase reversa C8 e eluente composto pela mistura de metanol: água na proporção 13:7). A caracterização destes compostos se deu por meio do emprego de técnica espectroscópica de RMN, por IV e por EM (33).

Em estudo realizado Igual e colaboradores (2013) (30) a partir de extrato bruto metanólico obtido por lavagem foliar de *V. polyanthes*, foram purificados 12 diferentes compostos (**10-21**) descritos na Figura 10. O extrato da lavagem das folhas foi fracionado por CLAE preparativa (em equipamento Shimadzu SLC-10 Avp equipada com VP Classe software, v 5.02 e SPD 10 Avp detector por arranjo de diodos, utilizando coluna Luna C-18 250 x 21,2

mm, Phenomenex). As amostras foram preparadas em metanol: água (1:1), filtradas através de uma membrana de 0,45 µm de PTFE (Millipore) e o volume de injeção foi de 1,0 mL, com fluxo de 10 mL/min, usando como eluente A água e B acetonitrila. Empregou-se eluição gradiente 0-44 min, 10-100% B. Foram selecionados quatro picos. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida a 37 °C e as porções aquosas restantes foram liofilizadas, obtendo-se os compostos **10** (19,7 min, 25 mg), **11** (22,7 min, 24 mg), **12** (30,0 min, 1,5 g) e **13** (31,5 min; 1,2 g) (Figura 10).

O mesmo extrato em bruto foi suspenso em solução de metanol: água (1:1) e submetido à partição líquido-líquido com *n*-hexano, diclorometano e acetato de etila, cujos rendimentos das frações foram de 14,6 g, 5,5 g e 7,5 g, respectivamente. Cinco gramas da fração de acetato de etila foram suspensos em metanol, sendo previamente centrifugado e o sobrenadante fracionado por Sephadex LH20, utilizando metanol como eluente, obtendo-se 98 frações. As frações foram analisadas por CCD (sílica gel utilizando eluente *n*-butanol: ácido acético: água na proporção 60:15:25). As frações com perfis cromatográficos semelhantes em UV e em ácido sulfúrico a 30 % foram combinados oferecendo 17 frações. As frações 9 (1,67 g), 11 (294,8 mg), 14 (30,9 mg) e 17 (5,9 mg) foram identificados como compostos **14,15, 16** e **17**, respectivamente (Figura 10) (30).

A fração 5 (227,4 g) foi refracionada por Sephadex LH20, utilizando metanol como eluente, originando 16 frações. Estas frações foram reunidas usando o mesmo protocolo sistemático, resultando em mais três subfrações. A subfração 5.2 e parte das frações iniciais 10 e 12 foram submetidas à CCD preparativa (eluente clorofórmio: metanol: ácido fórmico na proporção 90:10:1) originando os compostos **18** (11,0 mg), **19** (15,5 mg), **20** (3,4 mg) e **21** (16,9 mg) (Figura 10). Todos os compostos isolados foram analisados por meio de espectrometria de massas e espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C, e os dados foram comparados com os descritos na literatura (30).

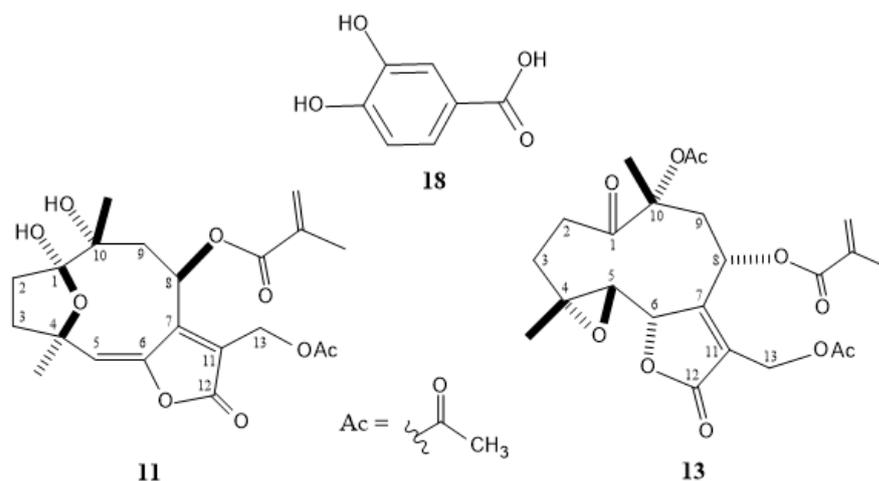
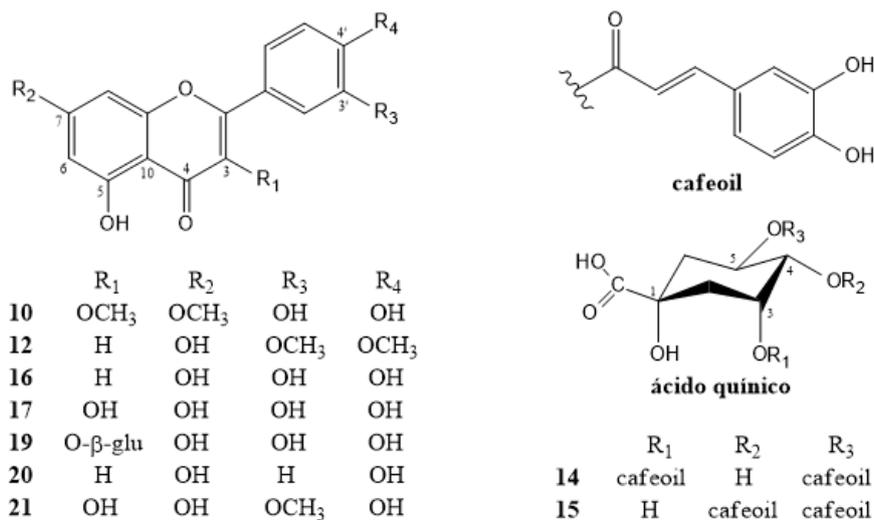


Figura 10 – Estruturas químicas de compostos derivados de extrato de lavagem foliar de *Vernonia polyanthes*. **(10)** 3,7-dimetoxi-5,3',4'-trihidroflavona; **(11)** piptocarfina A; **(12)** 3',4'-dimetoxiluteolina; **(13)** glaucolideo A; **(14)** ácido 3,5-di-O-(*E*)-cafeoilquínico e **(15)** ácido 4,5-di-O-(*E*)-cafeoilquínico; **(16)** luteolina; **(17)** quercetina; **(18)** ácido protocatecuico; **(19)** quercetina-3-O-β-glucosídeo; **(20)** apigenina e **(21)** isoramnetina;

Fonte: adaptado de Igual e colaboradores (2013) (30).

3.2.7 Testes de identificação

Silva e colaboradores (2012) (34), na avaliação da atividade antimicrobiana e análise fitoquímica de extratos brutos metanólicos e óleos essenciais de diferentes espécies, incluindo-se a *V. polyanthes*, realizaram a análise qualitativa dos extratos brutos frente à presença de esteróides, triterpenos, saponinas, ácidos fortes fixos, compostos fenólicos, amins quaternárias e alcaloides. A investigação fitoquímica qualitativa dos extratos brutos metanólicos de *V. polyanthes* identificou a presença de compostos fenólicos, taninos, chalconas, auronas, flavonoides, ácidos fortes fixos, saponinas, esteroides livres, quinonas e flavononóis.

Em estudo para a avaliação dos efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório de extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* em modelos animais, Temponi e colaboradores (2012)

(35) investigaram, por meio de reações específicas, a presença de alcaloides, flavonoides, antraquinonas, cumarinas, saponinas, terpenos e taninos nos extratos. De acordo com a pesquisa fitoquímica dos extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* identificou-se a possível presença de flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides, esteroides, saponinas e alcaloides (35).

Na investigação *in vitro* das atividades antileishmanicida e antifúngica de extratos metanólicos brutos de 20 espécies utilizadas tradicionalmente no Brasil, dentre elas a espécie *V. polyanthes*, Braga e colaboradores (2007) avaliaram a presença de alcaloides, triterpenoides, esteróis, taninos, saponinas, cumarinas, flavonoides e antraquinonas nos extratos (17). O estudo fitoquímico indicou a presença de alcaloides, triterpenoides, cumarinas e flavonoides no extrato metanólico bruto de *V. polyanthes* (17).

3.2.7.1 Cromatografia em camada delgada

Na investigação fitoquímica de extratos metanólico e clorofórmio de *V. polyanthes*, em estudo para a avaliação das propriedades antiulcerogênicas de ambos os extratos obtidos a partir das partes aéreas, foram analisados os extratos por CCD (Fluka placas Si-gel em vidro, 20 × 20 cm × 0,25 mm, empregando eluente *n*-butanol: ácido acético: água na proporção 4:1:1 [v/v/v]) (36).

Para a pesquisa de alcaloides utilizou-se reação com iodo platinado de Dragendorff; Para antraquinonas foi utilizado hidróxido de potássio a 10% em metanol; para flavonoides observação de fluorescência intensa no visível ou UV e pela reação com Natural Products/polietileno glicol (NP/PEG); os compostos fenólicos foram detectados após a exposição das placas a vapores de amoníaco e imediatamente observadas as manchas fluorescentes sob luz UV; Para saponinas e triterpenos empregou-se anisaldeído sulfúrico, que produziu uma gama de cores depois de aquecer por 5 minutos a 100 °C; Os taninos foram detectados com uma solução de cloreto férrico a 5% em metanol, com solução de gelatina a 1 % e com vapores de iodo. Somada e estes, foram preparadas soluções padrão de (+)-catequina, rutina, isoquercitrina, quercetina, kaempferol, ioimbina, ácido gálico, ácido tanino, lupeol e friedelina, todas em metanol (36).

O perfil fitoquímico em CCD apontou a presença de triterpenos e lactonas sesquiterpênicas como os principais constituintes do extrato clorofórmio; e flavonoides como os compostos majoritários encontrados no extrato metanólico (36).

3.2.7.2 Cromatografia gasosa

Na avaliação da atividade antimicrobiana e análise fitoquímica de extratos brutos metanólicos e óleos essenciais de diferentes espécies, incluindo-se a *V. polyanthes*, Silva e colaboradores (2012) (34) analisaram a composição química dos óleos essenciais para a espécie. Para isso, utilizou-se CG-EM em cromatógrafo Shimadzu (modelo QP5050A), com uma coluna capilar de CBP-5, 50 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de película. A temperatura do injetor e da interface foi 250 °C, com detector operado em modo EI a 70 eV e tendo Hélio foi o gás de arraste.

A análise cromatográfica por CG dos óleos essenciais de *V. polyanthes* indicou a presença de Germacreno D (27,79%), ε-Cariofileno (16,20%), Germacreno B (15,01%) (34).

Em estudo para a investigação da composição química de talos, flores, e das frações lipídicas das folhas de *V. polyanthes* (*Vernonanthura patens*) (10), os extratos etanólicos de cada farmacógeno, após secos, foram fracionados por coluna cromatográfica (de com sílica ativada 60-200 mesh, na proporção de 3:1, em peso do resíduo e eluente por ordem de polaridade crescente iniciando por *n*-hexano a 100%).

Para as folhas, as frações de aspecto ceroso foram reunidas, mostrando-se com uma coloração laranja intenso e posteriormente se separaram espontaneamente em duas frações, uma cera branca, e uma cor de laranja, separadas e analisadas de forma independente. Essas frações, assim como para os talos e flores, foram submetidas ao processo de saponificação com NaOH 1N durante 2 horas, em seguida, os ácidos graxos foram separados dos compostos insaponificáveis. As frações de ácidos graxos foram metilados, como um prelúdio para a caracterização por CG-EM. As frações dos compostos saponificáveis (ácidos graxos) e insaponificáveis foram analisadas em cromatógrafo gasoso Agilent 6890 acoplado a espectrômetro de massas 5973N, com as seguintes condições de trabalho: coluna Ultra de 2 a 12 m x 0,20 mm x 0,33 µm, temperatura inicial de 60 °C por 3 min, incrementando 10 °C/min até 300 °C por 5 min. Tempo de análise de 32 min. Espectrômetro de massas operado a 70 eV em modo Full Scan de 50 até 600 unidades de massa. Temperatura da fonte foi 230 °C, temperatura do quadrupolo foi 150 °C. Temperatura do injetor foi 280 °C, volume de injeção 2 µL com Hélio como gás de arraste a 1 mL/min. As atribuições das estruturas foram realizados por comparação dos espectros de massa dos compostos em banco de dados do computador, selecionando aqueles que excederam 90% de confiabilidade (10).

Os cromatogramas para as frações cerosas das folhas (ceras branca e laranja), para as frações dos talos e das flores de *V. polyanthes* estão apresentados na Figura 11. Na fração cerosa branca foi observada a presença de 23 picos cromatográficos; com um majoritário

(correspondente ao ácido hexadecanoico), tendo o restante dos compostos menor intensidade nos picos. A fração cerosa laranja mostrou 25 picos, dos quais o pico cromatográfico de maior intensidade foi ácido hexadecanoico, e com relativa abundância o ácido 7,8,11-octadecatrienóico, sendo o restante com baixa intensidade mas em maior concentração que na cera branca. O cromatograma da fração de ácidos graxos dos talos demonstrou a presença de 23 compostos sendo o ácido hexadecanoico o de maior abundância, considerando os demais como minoritários. Para as flores, o cromatograma mostrou a presença de 18 compostos sendo o ácido hexadecanoico o majoritário novamente (10).

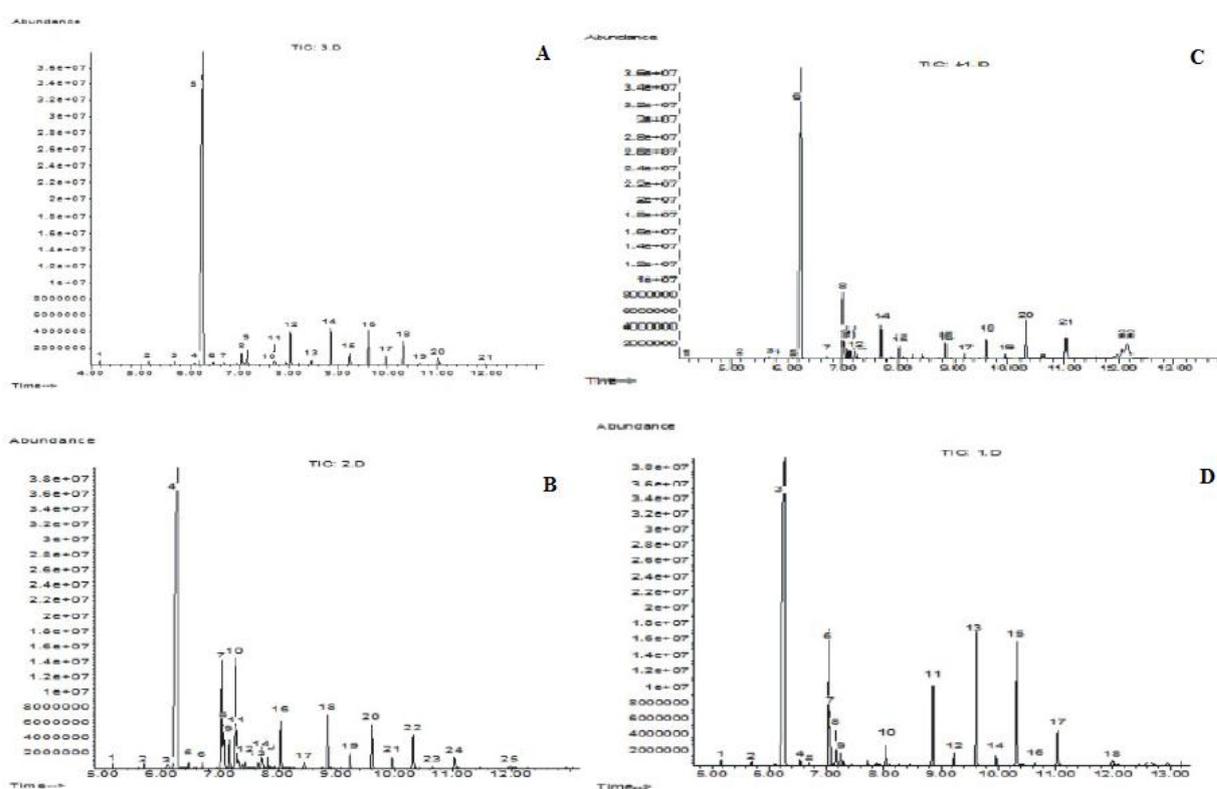


Figura 11 – Cromatogramas gasosos analíticos de frações saponificáveis derivadas de extratos de diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthurra patens* [Kunth] H. Rob.); **A**, fração cerosa branca derivada das folhas; **B**, fração cerosa laranja derivada das folhas; **C**, fração derivada dos talos; **D**, fração derivada das flores. Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (10).

Foram identificadas as estruturas de 29 compostos, destes, 23 presentes nas folhas, 18 nos talos, e 18 nas flores. O ácido graxo de maior abundância em todos os farmacógenos foi o hexadecanoico (ácido palmítico), sendo encontrado em maior abundância nas folhas e flores. Foram detectados 6 ácidos graxos somente nas folhas, 1 nos talos e 2 nas flores. Os compostos saponificáveis estão descritos detalhadamente no Quadro 2 (10).

Quadro 2 – Compostos identificados de frações saponificáveis de extratos de diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.).

Composto		Percentual de abundância relativa			
		Extrato por farmacógeno			
		Folhas		Talos	Flores
		Fração cerosa branca	Fração cerosa laranja		
1	Dimetil-éter de ácido nonanodioico	0,37	-	0,01	-
2	Ácido tetradecanoico	0,31	0,26	0,03	0,23
3	Ácido pentadecanoico	0,31	0,24	0,06	0,15
4	Ácido 9-hexadecanoico	0,33	0,45	0,04	-
5	Ácido hexadecanoico	74,24	57,74	13,31	47,50
6	Etil éster de ácido hexadecanoico	-	-	-	0,26
7	Ácido (Z)-9-hexadecanoico	0,22	-	-	-
8	Ácido 2-hexadecanoico	-	0,29	-	-
9	Ácido heptadecanoico	0,21	0,27	0,06	0,11
10	Ácido 8,11-octadecadienoico	-	-	-	7,52
11	Ácido 7,8,11-octadecatrienoico	-	6,10	-	-
12	Ácido 11-octadecenoico	1,15	2,60	-	-
13	Ácido 8-octadecenoico	-	-	0,40	-
14	Ácido octadecanoico	2,36	1,71	0,43	1,32
15	Ácido nonadecanoico	0,05	-	-	-
16	Ácido 9,12-octadecadienoico	-	1,82	1,41	0,56
17	Ácido 9,11-octadecadienoico	-	0,33	0,18	-
18	Ácido 9,12,15-octadecatrienoico	-	0,33	-	2,14
19	Ácido 9,13,15-octadecatrienoico	-	0,72	-	-
20	Ácido eicosanoico	3,26	2,66	0,17	0,88
21	Ácido heneicosanoico	0,38	0,34	-	-
22	Ácido docosanoico	3,86	2,88	0,40	3,70
23	Ácidotricosanoico	1,20	0,90	0,11	0,56
24	Ácido tetracosanoico	3,69	2,70	0,54	7,24
25	Ácido pentacosanoico	0,93	0,71	0,11	0,46
26	Ácido hexacosanoico	2,79	2,17	0,95	7,32
27	Ácido heptacosanoico	0,24	0,17	-	0,19
28	Ácido octacosanoico	0,87	0,89	0,79	2,25
29	Ácido triacontanoico	0,10	0,33	0,37	0,47

Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (10).

Os compostos não saponificáveis presentes nas frações lipídicas também foram analisados. Os cromatogramas (Figura 12) das frações das folhas mostraram pouca complexidade, sendo detectados 2 picos, que comparados com o banco de dados foram

identificados com sendo β -amirina e lupeol. A fração dos talos apresentou cromatograma mais complexo que das folhas, com a presença de 6 picos, sendo o majoritário o pico correspondente a mistura de α -amirina e lupeol. Para a flores, o cromatograma apresentou 5 componentes, sendo o majoritário a α -amirina. Os compostos saponificáveis estão descritos detalhadamente no Quadro 3 (10).

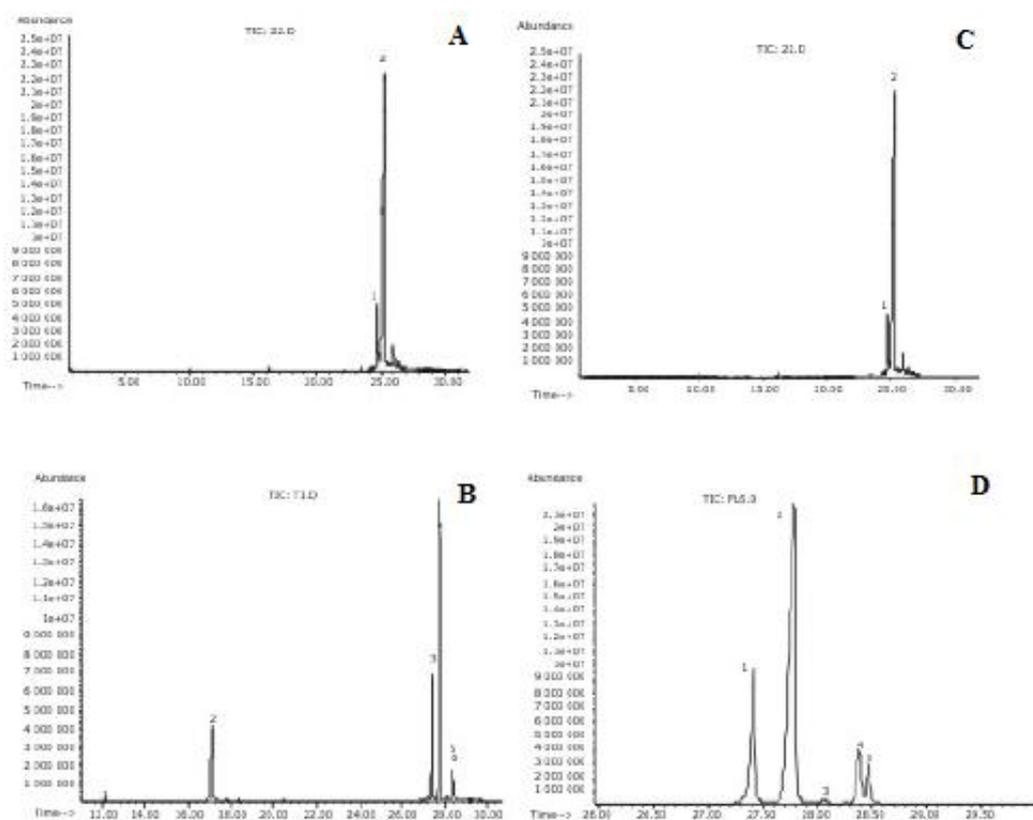


Figura 12 – Cromatogramas gasosos analíticos de frações insaponificáveis derivadas de extratos de diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.); **A**: fração cerosa branca derivada das folhas; **B**: fração cerosa laranja derivada das folhas; **C**: fração derivada dos talos; **D**: fração derivada das flores. Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (10).

Quadro 3 – Compostos identificados de frações insaponificáveis de extratos de diferentes farmacógenos de *Vernonia polyanthes* (*Vernonanthura patens* [Kunth] H. Rob.).

Composto		Percentual de abundância relativa			
		Extrato por farmacógeno			
		Folhas		Talos	Flores
		Fração cerosa branca	Fração cerosa laranja		
1	β -amirina	2,45	15,52	28,50	19,80
2	α -amirina	-	-	-	66,83

3	Lupeol	97,50	88,48	-	0,49
4	α -amirina e lupeol (mistura)	-	-	55,59	-
5	Glutanol	-	-	2,70	-
6	Acetato de taraxasterol	-	-	1,93	-
7	Taraxasterol	-	-	-	7,90
8	Neoganmacer 22(29)- em-3-ol	-	-	-	4,90

Fonte: adaptado de Santana e colaboradores (2013) (10).

3.2.7.3 Cromatografia líquida de alta eficiência

Em estudo realizado por Martucci (2012) (31), para a investigação da metabolização, excreção e/ou sequestro de metabólitos secundários de *V. polyanthes* por *Chlosyne lacinia* durante a fase larval e conservação na fase adulta, analisou-se a composição química de extrato hidrometanólico (1:1) de folhas de *V. polyanthes*.

O extrato de *V. polyanthes* foi analisado por CLAE-DAD-EM, sendo injetado 10 μ L, com fluxo de 1,4 mL/min sendo usado eluente composto de (A) solução aquosa de ácido acético a 1% e (B) solução de ácido acético a 1% em acetonitrila, com detector de DAD sendo selecionados os comprimentos de onda de 230, 270 e 350 nm. Quanto aos parâmetros de EM, utilizou-se fluxo de gás de 6,0 mL/min e temperatura de secagem de 250 °C. Os cromatogramas foram avaliados quanto à relação carga/massa (m/z), na faixa de 50 a 1200 m/z . Os picos dos cromatogramas foram avaliados com base nos dados de UV e EM obtidos na análise do extrato e pela comparação com os dados da literatura (31).

Na análise de CLAE-DAD-EM do extrato de *V. polyanthes* foi observada a presença de metabólitos secundários pertencentes às classes dos ácidos clorogênicos, flavonoides e lactonas sesquiterpênicas. A Figura 13 ilustra o cromatograma obtido a partir da análise de CLAE-DAD-EM, e as substâncias identificadas no extrato de *V. polyanthes* a partir da análise cromatográfica estão apresentadas na Figura 14 (31).

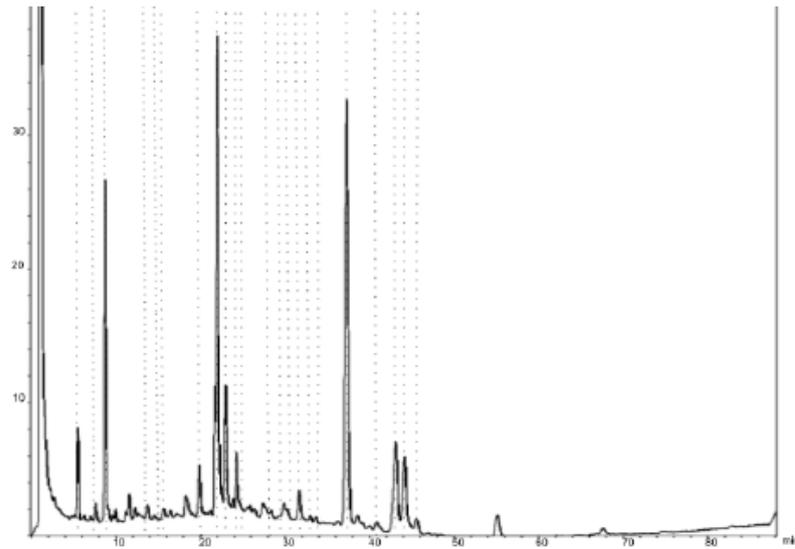


Figura 13 – Cromatograma analítico obtido por CLAE-DAD-EM de extrato de folhas de *Vernonia polyanthes* (registrado em 270 nm). Fonte: adaptado de Martucci 2012 (31).

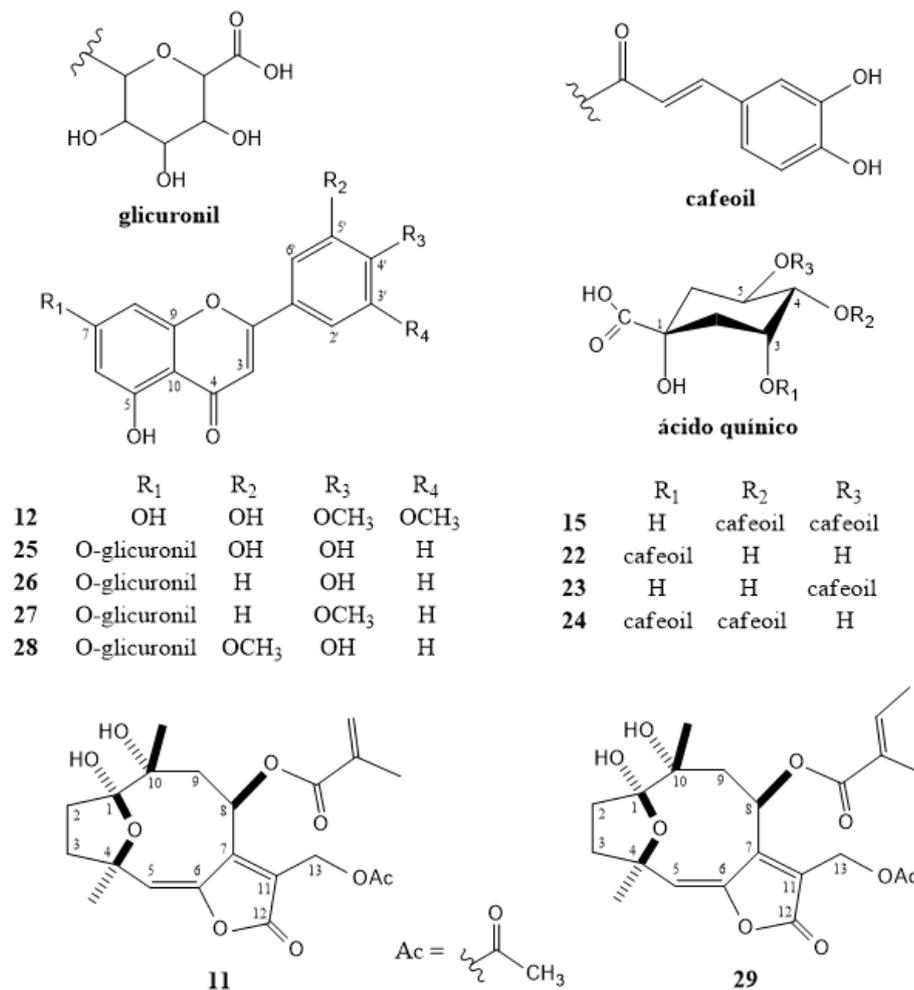


Figura 14 - Estruturas químicas de substâncias identificadas no extrato hidrometanólico de *Vernonia polyanthes*. (**12**) 3',4'-dimetoxiluteolina; (**25**) luteolina-7-O-glicurônio; (**26**) apigenina-7-O-glicurônio; (**27**) acetina-7-O-glicurônio; (**28**) crisoeriol-7-O-glicurônio; (**15**) 4,5-di-O-(*E*)-cafeoilquínico; (**22**) ácidos 3-O-(*E*)-cafeoilquínico; (**23**) 5-O-(*E*)-cafeoilquínico; (**24**) 3,4-di-O-(*E*)-cafeoilquínico; (**11**) piptocarfina A e (**29**) piptocarfina B. Fonte: adaptado de Martucci (2012) (31).

3.2.8 Testes de quantificação

3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Não foram encontradas informações acerca de testes de quantificação de derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3 PRODUTO FINAL

3.3.1 Forma farmacêutica

Não foram encontradas informações acerca de forma farmacêutica, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Não foram encontradas informações sobre testes específicos por forma farmacêutica, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3.3 Requisitos de pureza

Não foram encontradas informações acerca da avaliação de requisitos de pureza, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3.4 Resíduos químicos

Não foram encontradas informações acerca da investigação de resíduos químicos, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3.5 Prospecção fitoquímica

Não foram encontradas informações acerca da prospecção fitoquímica, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3.6 Testes de identificação

Não foram encontradas informações acerca de testes de identificação, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

3.3.7 Testes de quantificação

3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Não foram encontradas informações acerca de testes de quantificação, uma vez que não foram encontrados relatos de produto final a partir da espécie *Vernonia polyanthes*.

4 INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

4.1 USOS POPULARES E/ OU TRADICIONAIS

A espécie *Vernonia polyanthes* tem sido empregada na medicina tradicional no Brasil para o tratamento de malária, reumatismo, bronquite, tosse e febre (30, 36, 39).

Como já mencionado anteriormente, para o uso popular e tradicional da *V. polyanthes* destacam-se o uso de folhas, brotos e partes aéreas. Dentre as alegações e finalidades de uso relatadas para a espécie, principalmente, está seu uso no tratamento de doenças do trato respiratório, tais como gripe, tosse, bronquite, pneumonia e resfriado (13-18, 20, 39, 40).

As diferentes formas de utilização mencionadas para a *V. polyanthes* estão apresentadas com maiores detalhes no Quadro 4.

Quadro 4 - Dados de uso popular e tradicional relatados para a espécie *Vernonia polyanthes*.

Farmacógeno	Modo de preparo	Posologia e modo de usar	Via de administração	Uso adulto ou infantil	Utilização/Finalidade	Contraindicações	Efeitos adversos	Referência
Folhas	Xarope, infusão e suco.	N.D.	Oral.	N.D.	Gripe, tosse, tuberculose, sinusite.	N.D.	N.D.	(13)
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	Bronquite e diurético.	N.D.	N.D.	(14)
	Maceração das folhas.	Utilizar as folhas mastigadas por uma mulher grávida de seu primeiro filho e dar ao bebê juntamente com o leite materno.	Oral.	Infantil.	"Pujo" (para tratar problemas de má visão).	N.D.	N.D.	(15)
	Maceração das folhas em água, infusão e xarope.	Maceração das folhas em água, infusão e xarope.	Oral.	N.D.	Bronquite, asma, gripe e pneumonia.	N.D.	N.D.	(16)
Folhas e Raízes								
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	Reumatismo, bronquite e tosse.	N.D.	N.D.	(17)
Folhas, Raízes e Flores								
		N.D.	N.D.	N.D.	Pneumonia, gripe e resfriado.	N.D.	N.D.	(18)
Folhas e Caules								
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	Antipirético.	N.D.	N.D.	(41)
Brotos								
	Decocção dos brotos.	Beber um copo do decocto.	Oral.	N.D.	Retenção placentária (para expulsar placenta retida).	N.D.	N.D.	(15)
	Maceração dos brotos em água	Usar o macerado para banho.	Tópica.	N.D.	Cicatrizante da pele.	N.D.	N.D.	(16)
Planta toda								
	Decocção e infusão.	N.D.	N.D.	N.D.	Antipirético, bronquite, pneumonia, gripe, resfriado e tosse.	N.D.	N.D.	(20)

N.D. Não descrito.

Quadro 4 - Dados de uso popular e tradicional relatados para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Farmacógeno	Modo de preparo	Posologia e modo de usar	Via de administração	Uso adulto ou infantil	Utilização/Finalidade	Contraindicações	Efeitos adversos	Referência
Não especificado								
	N.D..	N.D.	N.D.	N.D.	Abortivo, bronquite, dor de estômago, diarreia, dor nas pernas, gripe, inflamação, problemas estomacais, problemas hepáticos, problemas pulmonares, reumatismo, sinusite, tosse e tuberculose.	N.D.	N.D.	(40)
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(42)
	N.D..	N.D.	N.D.	N.D.	Reumatismo, bronquite e tosse.	N.D.	N.D.	(39)

N.D. Não descrito.

4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS

Não foram encontradas informações acerca de notificações de droga vegetal para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Temponi e colaboradores (2012) (35) avaliaram a toxicidade aguda da espécie *V. polyanthes* em estudo de avaliação dos efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório de extratos etanólicos de folhas de *V. polyanthes* em modelos animais.

Neste estudo foram utilizados 60 camundongos *Swiss* albino machos pesando entre 25 e 30 g e com idade entre 50 e 70 dias (Provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Juiz de Fora). Os animais foram divididos em grupos de dez camundongos que receberam as diferentes doses de extrato de *V. polyanthes*, com o grupo controle recebendo o veículo (solução salina). Observaram-se os grupos durante 48 horas, sendo avaliada a mortalidade no final deste período e a DL₅₀, a qual foi determinada pelo teste de probit utilizando o log da dose *versus* probit. Os animais receberam por via oral, em dose única, as doses de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 3,0 g de extrato de folhas de *V. polyanthes*/kg de peso corporal de animal (35).

No período avaliado no estudo os animais não apresentaram cianose, piloereção, contorções, ptose, tremores, convulsões, ataxia, hipnose, urina vermelha ou diarreia. Não houve alteração quando considerados os parâmetros de atividade motora, respiração, reflexos na córnea, endireitamento e de retirada, o tom do corpo e a quantidade de tapinhas. Valor para DL₅₀ foi 2,78 g/ kg (95% intervalo de confiança 1,67-4,64 g/ kg) (35).

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

Não foram encontradas informações acerca de estudos toxicológicos de toxicidade subcrônica para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3.1.3 Toxicidade crônica

Não foram encontradas informações acerca de estudos toxicológicos de toxicidade crônica para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3.1.4 Genotoxicidade

Não foram encontradas informações acerca de estudos toxicológicos de genotoxicidade para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3.1.5 Sensibilização dérmica

Não foram encontradas informações acerca de estudos toxicológicos de sensibilização dérmica para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3.1.6 Irritação cutânea

Não foram encontradas informações acerca de estudos toxicológicos de irritação cutânea para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3.1.7 Irritação ocular

Não foram encontradas informações acerca de estudos toxicológicos de irritação ocular para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.3.2 Estudos farmacológicos

4.3.2.1 Ensaios *in vitro*

As informações referentes a estudo farmacológicos de ensaios *in vitro* relatados na literatura para a espécie *V. polyanthes* estão apresentados no Quadro 5.

Quadro 5 – Testes farmacológicos *in vitro* para a espécie *Vernonia polyanthes*.

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Concentração testada	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Leishmanicida.	Extrato metanólico (1:12) seco obtido por maceração durante 5 dias.	N.D.	As formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> foram cultivadas em meio de Warren e promastigotes de <i>L. chagasi</i> foram mantidas em Medium, ambos suplementados com 10 % de soro fetal de bovino a 24 °C. A triagem foi realizada em placas de 96 poços de cultura de tecidos de plástico de fundo plano, mantido a 24 °C. Formas promastigotas de uma cultura fase logarítmica foram suspensas para rendimento de 2 milhões de células/mL (<i>L. amazonensis</i>) ou 3 milhões de células/mL (<i>L. chagasi</i>) e contadas em câmara de Neubauer. Cada poço foi preenchido com 100 µL da suspensão e as placas foram incubadas a 24 °C durante 1 h antes da adição da amostra. O extrato a ser testado foi dissolvido em DMSO e adicionado a cada poço. A viabilidade dos promastigotas, para ambas as espécies, foi testada pelo método colorimétrico de MTT. Os resultados foram expressos em IC ₅₀ . A anfotericina B foi utilizada como o medicamento de referência e os valores de IC ₅₀ de 0,9 e 1,9 µg/mL sobre as formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e <i>L. chagasi</i> , respectivamente. Os valores de IC ₅₀ no intervalo de confiança de 95% foram calculados usando curva de regressão não-linear, utilizando o software estatístico GraFit 5.	Formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> (MHOM/Br/75/Josefa) e <i>Leishmania chagasi</i> (MHOM/Br/74/PP75). Meios de cultura Warren (infusão de cérebro coração mais hemina e o ácido fólico) e Medium 199 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) suplementados com 10 % de soro fetal de bovino a 24 °C. Amostras dissolvidas em DMSO. Reagente para teste de viabilidade utilizado o MTT. Fármaco de referência utilizado a Anfotericina B. Experimento realizado em triplicata.	Foram avaliados os valores de IC ₅₀ com o ensaio sendo realizado com 3 dias de incubação.	O extrato apresentou IC ₅₀ de 4 µg/mL para formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e IC ₅₀ > 250 µg/mL para <i>L. chagasi</i> .	(17)
Citotóxica, antitumoral e intercalação de DNA.	Extratos secos obtidos de extração sucessiva com diclorometano (ou clorofórmio), metanol e água.	Para a avaliação da atividade de intercalação do DNA testou-se o extrato na concentração de 1 mg/mL. Para os demais testes não foram citadas as concentrações.	Toxicidade por <i>Artemia salina</i> . Valores de CL ₅₀ foram calculadas usando o método de Probit. Teste de disco de batata (antitumoral) sendo o extrato é considerado ativo quando duas ou mais determinações apresentaram inibição de tumor acima de 20% quando comparado com o controle. A atividade de intercalação do DNA, as soluções de DNA foram preparadas no meio de água (0,1 mg/mL) e mantida no refrigerador (4 °C). O extrato e compostos padrão foram dissolvidos em água ou metanol (1 mg/mL). A coluna foi equilibrada com solução de água:metanol (80:20). As amostras de teste (0,25 mg/mL) e as soluções de DNA foram então introduzidas na coluna com a injeção de uma mistura das soluções de DNA e de amostra de teste (1:1, v/v) para um circuito de amostra (10 mL) sem incubação. O fluxo foi mantida a 1 mL/min e eluiu-se o DNA livre a partir da coluna em cerca de 1-2 minutos. Depois do aparecimento do pico de DNA, lavou-se a coluna com metanol a 100% durante 20 min, para eluir a mistura da amostra. Em todos os experimentos, o tamanho do pico do DNA foi comparado com o obtido a partir de procedimento análogo realizado somente com DNA. O extrato foi considerado ativo se deu uma redução de pico de DNA acima de 30%. No estudo da toxicidade <i>in vitro</i> foi avaliada por um ensaio clonogênico depois de 2 h de tratamento com o extrato de culturas V79 em suspensão infundidos com ar ou nitrogênio. O extrato foi considerado ativo se ele diminui a fração de sobrevivência abaixo de 10%.	Para o teste de toxicidade <i>in vitro</i> , as células V79 [fibroblastos de pulmão de hamster chinês foram obtidas a partir de ECACC (European Collection of Cell Culture animal)] e mantidas em crescimento de fase logarítmica em monocamadas confluentes por tripsinização e subcultura de 1-2x10 ⁴ células/cm ² duas vezes por semana. O meio de crescimento foi EMEM contendo 10% v/v de soro fetal bovino e penicilina/estreptomicina 100 U/100 µg/mL. A suspensão da cultura celular possui de 1-2x10 ⁴ células/cm ² .	Para toxicidade por <i>Artemia salina</i> foram avaliados os valores de CL ₅₀ . Para o teste de disco de batata avaliou-se a inibição de tumor, sendo ativo acima de 20% de inibição. Para a atividade de intercalação do DNA foi avaliada a redução de pico de DNA, sendo ativo com redução superior a 30%. No estudo da toxicidade <i>in vitro</i> foi avaliada a diminuição da fração de sobrevivência, sendo ativo com valores abaixo de 10%. Experimentos realizados em triplicata.	O extrato apresentou valor para avaliação da intercalação do DNA que foi 34,7 ± 1,1%; Para o teste de disco de batata apresentou valores de -56, -42, -72 de inibição; Para o teste de toxicidade <i>in vitro</i> os valores foram 116 e 100%, respectivamente para a fração de sobrevivência aeróbica e hipóxica. Para teste de toxicidade por <i>Artemia salina</i> o valor de CL ₅₀ foi 62 (39-93, intervalo de confiança 95%).	(41)

Quadro 5 – Testes farmacológicos *in vitro* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Concentração testada	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Antimicrobiana.	Extrato hidroetanólico 70% seco obtido por maceração durante 15 dias, à temperatura ambiente.	Concentrações de 36,02; 72,04; 108,06; 144,08; 180,1 e 216,12 mg/mL de extrato..	A atividade antimicrobiana foi avaliada seguindo a técnica de difusão em Ágar Mueller – Hinton. A diferenciação celular foi realizada em meio de cultivo quimicamente definido. Cerca de 106 células foram incubadas juntamente com doses crescentes do extrato, a 28 °C por 48 horas. Pelo menos 200 células foram examinadas em cada preparação. O crescimento foi estimado pela contagem das células em câmara de Neubauer. As leituras dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano foram medidas em milímetros (mm), com auxílio de um paquímetro. Para os ensaios da CIM e CMM foram realizadas diluições seriadas em tubos e plaqueadas em meio BHI, para bactérias e meio SAB para fungos. Foi utilizada estatística descritiva.	Foram utilizadas as seguintes amostras microbianas: <i>Herpetomonas samuelsooi</i> (ATCC 30252), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778), <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633), <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231), <i>Cryptococcus neoformans</i> (ICC107 – sorotipo B), <i>Enterobacter aerogenes</i> (ATCC 13048), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883), <i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341), <i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 25933), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 25619), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ATCC 2601), <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 14028), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) e <i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615). O inóculo foi obtido a partir de culturas em fase logarítmica e comparável com o tubo 0,5 da Escala de Mac Farland, aproximadamente 1,5x10 ⁸ células/mL para bactérias e 1x10 ⁶ células/mL para leveduras. Experimentos realizados em duplicata e repetidos ao menos duas vezes.	Avaliação dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano medido em mm, com auxílio de um paquímetro. Ensaio realizado com 48 horas de incubação.	O extrato nas concentrações que variaram de 36,02 mg/mL a 720,4 mg/mL não causou o aparecimento percentualmente significativo de forma opistomastigota. Na ação antimicrobiana do extrato apresentaram halo de inibição das cepas bacterianas de <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. aureus</i> e <i>S. pyogenes</i> . As cepas de <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. cerevisiae</i> e <i>S. epidermidis</i> não apresentaram halos de inibição nos testes de difusão em ágar, indicando resistência dos microrganismos. Quanto à CIM, o extrato apresentou efeito bacteriostático sobre <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. mirabilis</i> , nas concentrações de 180,1; 144,08 e 72,04 mg/mL, respectivamente. Contudo, não houve efeito bacteriostático para <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> e <i>S. pyogenes</i> . Nenhuma bactéria Gram-positiva, Gram-negativa ou levedura utilizada no estudo apresentou CMM, ou seja, efeito bactericida.	(43)
Antifúngica.	Extrato metanólico seco de folhas.	Concentrações de 100 e 200 mg de extrato/mL em DMSO.	O extrato bruto foi fracionado por coluna cromatográfica de sílica com solventes de polaridade crescente de ordem: hexano 100%, mistura hexano/acetato de etila 90:10, 80:20 e 30:70 (v/v), acetato de etila 100% e mistura de acetato de etila/metanol 70:30 (v/v). Para avaliar a atividade antifúngica empregou-se método de difusão em ágar, em placas de meio PDA, adicionando em poços de 5 mm de diâmetro 20 mL das frações obtidas dissolvidas em DMSO e 20 mL de DMSO, como controle negativo. As avaliações foram feitas aos 15 e 21 dias de incubação a 22 °C. A atividade foi expressa como percentagem de inibição (%). Para avaliar as diferenças estatisticamente, foi utilizada a análise de variância com pós teste de Tukey.	A cepa de <i>Fusarium oxysporum</i> isolado de <i>Pinus radiata</i> , raiz nua das plantas; e <i>Penicillium notatum</i> obtida da laranja, fruta da oitava região do Chile. Experimento realizado em triplicata.	Avaliou-se a percentagem de inibição (%) para interpretação da atividade. Os parâmetros foram avaliados em dois períodos, após 15 e após 21 dias de incubação.	As frações do extrato apresentaram atividade contra os patógenos <i>F. oxysporum</i> e <i>P. notatum</i> . A fração de 1 (100% hexano) apresentou atividade antifúngica com percentagem de inibição de 57,6 e 80,2% contra o <i>P. notatum</i> e 64,8 e 81,5% contra <i>F. oxysporum</i> nas concentrações de 100 e 200 µg, respectivamente. Além disso, demonstrou-se que o DMSO não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana.	(44)

Quadro 5 – Testes farmacológicos *in vitro* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Concentração testada	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Nematicida.	Folhas secas (rasuradas ou cominuídas).	N.D.	O estudo foi realizado em dois bioensaios (experimentos independentes realizados em datas diferentes). No primeiro, as folhas secas foram cortadas manualmente em peças a cerca de 1 cm, enquanto que no segundo bioensaio as folhas foram trituradas mecanicamente para passar em tamis de 1 mm. Para ambos os bioensaios, brometo de metilo (80 cm ³ /m ³) tratou uma mistura 1:1 de solo (este latossolo vermelho amarelo) e a areia foi usada como substrato para o crescimento vegetal do tomateiro. O material vegetal foi misturado com o solo seco, na proporção de 5 g/kg de solo, o que equivale a 10 ton/ha. Para a mistura, 2 kg de solo e as folhas foram colocadas num saco de plástico de capacidade 5 L, e depois de amarrado, o saco foi agitado vigorosamente manualmente. Solo sem alterações que serviram como controle. Em seguida, o solo foi colocado em vasos com capacidade de 2 L, onde foi infestado pela mistura de 5 mL de uma suspensão contendo 5000 ovos do nemátodo. O solo foi regado e mantida a capacidade de campo por 7 dias, antes de transplantar uma muda de tomate da cv. "Santa Cruz Kada" (de uma semana de idade) para cada pote. Os potes foram organizados em um banco de estufa de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado, com sete repetições. As plantas foram adubadas e irrigadas, conforme necessário. Durante o primeiro bioensaio, a média máxima e as temperaturas mínimas médias foram de 30 °C e 14 °C, respectivamente, e foram 27 °C, 9 °C, respectivamente, durante o segundo bioensaio. Os dados dos parâmetros observados foram submetidos a análise variância de uma via (ANOVA), e quando necessário, foram comparadas utilizando o teste LSD de Fisher. A análise estatística utilizou-se software STATISTICA.	O inoculo de <i>Meloidogyne javanica</i> consistiu de ovos extraídos de uma população pura do nemátodo levantada e mantida no tomate em uma estufa. Os ovos foram extraídos a partir das raízes. Experimento realizado e réplicas.	Os dados de peso de raiz fresca, número de galhas e número de ovos/raiz dos dois bioensaios foram avaliados. Os dados parâmetros foram avaliados 60 dias após o transplante	O extrato nas concentrações que No primeiro bioensaio, as alterações do solo com nenhuma das peças das folhas não teve afeto sobre o peso da raiz de plantas de tomateiro, nem número da galhada ou o número de ovos/sistema radicular do tomate. Por outro lado, quando o solo foi alterado com folhas moídas, o número de galhas por sistema radicular foi significativamente (p<0,05) menor do que nas plantas controle.	(45)
Micobacteriana.	Extrato hidroetanólico 30%.	N.D.	Foram obtidas curvas do tempo de morte de forma seriada, diluições decimais (10 ⁻¹ a 10 ⁻⁴) de <i>M. tuberculosis</i> preparados a partir de 10 ⁶ UFC/mL da cultura em caldo Middlebrook 7H9; 1 mL das diluições bacterianas 10 ⁻¹ e 10 ⁻² foram misturados em 9 mL do extrato, dando concentrações bacterianas finais de 10 ⁻³ e 10 ⁻⁴ , respectivamente. A mistura foi mantida sob agitação por períodos de meia, 3, 6, 12 e 24 horas, após o qual 0,1 mL de amostra foi inoculado em meio Lowenstein - Jensen inclinado e incubado a 35-37 °C por 21 dias, sob observação semanal. Para controlar a viabilidade das bactérias, 0,1 mL das diluições 10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ e 10 ⁻⁵ também foram cultivadas no mesmo meio e incubada do mesmo modo. A influência do álcool presente nos extratos também foi avaliada através da determinação da atividade antimicobacteriana. A isoniazida foi utilizada como uma droga de referência para ensaiar a sensibilidade bacteriana.	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv - ATCC 27294 foi. A bactéria foi armazenada em meio Lowenstein Jensen até sua utilização. Experimento realizado em triplicata.	Avaliado o método de tempo de morte com culturas de <i>M. tuberculosis</i> em meio Löwenstein-Jensen, sendo observados os valores de UFC/mL das diferentes diluições da cultura micobacteriana. Foram 21 dias de incubação, sendo realizadas observações diárias.	O extrato mostrou atividade promissora contra <i>M. tuberculosis</i> , mesmo depois de descontado o efeito venenoso do álcool contra células viáveis de <i>M. tuberculosis</i> . Nos tempos de exposição de trinta minutos à uma hora os extratos hidroetanólicos reduziram em 2log ₁₀ a multiplicação bacilar (determinada em UFC/mL). A ausência de crescimento bacteriano foi verificada a partir da terceira hora de exposição da bactéria ao extrato.	(46)

Quadro 5 – Testes farmacológicos *in vitro* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Concentração testada	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Fototóxica e antibacteriana.	Extratos (hexânico, acetato de etila e metanólico) secos de caules e folhas.	Para avaliação da atividade antibacteriana foram testadas as concentrações de 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; ou 4,00 mg/ mL.	Para atividade fototóxica analisou-se a presença de componentes ativos por CCD, confirmando-se com análise no UV, sendo posteriormente irradiado luz UV. Para a avaliação da atividade antibacteriana os extratos de caules e folhas foram testados contra <i>B. subtilis</i> e <i>E. coli</i> . O ensaio foi realizado pelo método de difusão em disco de papel, sendo utilizadas placas de Petri com ágar contendo uma concentração bacteriana de 10 ⁶ UFC. As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 horas. Ampicilina anidra (0,05 mg) foi utilizada como um controlo positivo.	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC-6633) e <i>Escherichia coli</i> (ATCC-6051) foram empregados na avaliação antibacteriana dos extratos, sendo a Ampicilina anidra (0,05 mg) (Sigma) utilizada como um controlo positivo. Experimentos realizados em triplicata.	Para ambas as atividades, fototóxica e antibacteriana, foram avaliados os valores do halo de inibição. O período de incubação para a avaliação da atividade antibacteriana foi de 24 horas.	Para atividade fototóxica os caules foram ativos, com um halo de inibição de 7,9 mm (39,5%) a uma concentração de 0,25 mg/mL, e 8,9 mm (44,5%) a uma concentração de 1,00 mg/mL, em comparação ao controle, que apresentou um halo de 20 mm (100%) a uma concentração de 0,05 mg/mL. Para a atividade antibacteriana, para o extrato hexânico das folhas não apresentaram atividade contra <i>B. subtilis</i> . Já os caules apresentaram atividade nas concentrações de 0,25 e 1,00 mg/mL, com halo de inibição de 10,8 mm (54%) e 15 mm (75%), respectivamente. Caules e folhas não apresentam atividade contra <i>E. coli</i> . Para o extrato em acetato de etila, as folhas apresentaram atividade contra <i>B. subtilis</i> na concentração de 4,00 mg/mL (halo de inibição de 7 mm - 35%), e contra <i>E. coli</i> para as concentrações de 1,00; 2,00 e 4,00 mg/mL (halo de inibição de 6, 7 e 8 mm, respectivamente, 30, 35 e 40% de inibição). Já os caules apresentaram halo de inibição de 7,2 mm (36%) na concentração de 4,00 mg/mL contra <i>B. subtilis</i> , e contra <i>E. coli</i> apresentaram halo de inibição de 6,3; 6,5; 7,6; 7,9 e 9,6 mm, para as concentrações de 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 e 4,00 mg/mL, respectivamente. Para o extrato em metanol, as folhas produziram halo de inibição contra <i>B. subtilis</i> de 9,3 e 10 mm (46,5 e 50%) para concentrações de 2,00 e 4,00 mg mL, respectivamente. Contra <i>E. coli</i> o halo de inibição foi de 8,9 mm (2,00 mg/mL) e 9,2 mm (4,00 mg/mL). Já os caules apresentaram halo de 7, 8 e 10,3 mm, nas concentrações de 1,00; 2,00 e 4,00 mg/mL, respectivamente, contra <i>B. subtilis</i> . Contra <i>E. coli</i> , o halo é 6,3 a 9,9 mm em concentrações de 0,25 a 4,00 mg/mL.	(47)

Quadro 5 – Testes farmacológicos *in vitro* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Concentração testada	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Antifúngica (oídio).	Extrato hidroetanólico 95% seco obtido por maceração durante 4 horas. O extrato seco foi diluído em 20 mL de solução de hidroetanólica 10% (v/v) para obtenção de uma concentração de 500 mg de tecido fresco por mL (1:2) e, finalmente, as diluições de concentração inferior (1:4 e 1:8) foram preparadas sucessivamente.	A concentração testada 250 mg/mL foi obtida da diluição de 1:4 do extrato seco diluído em solução hidroetanólica 10%.	Para a avaliação do potencial de inibição de formação do oídio, os espécimes de pepino foram tratados na primeira verdadeira fase de crescimento da folha (ou seja, 12-14 dias após a sementeira). O extrato foi aplicado na superfície adaxial de ambos os cotilédones e primeiras folhas (c. 1 mL/planta). Após o tratamento, as plantas foram mantidas na estufa livre de oídio até inoculação. O isolado de <i>S. fuliginea</i> foi mantida nas plantas de pepino jovens cv. 'Safira'. Um dia antes os conídios foram selecionados como inóculo, folhas fortemente esporuladas foram sacudidas para deslocar conídios velhos e garantir alta viabilidade de conídios. Na fase de triagem inicial, as plantas foram transferidas para outra estufa na segunda fase do crescimento da folha e os conídios do patógeno foram homogeneamente espalhados nas plantas do pepino por toque nas folhas infectadas cerca de 30 cm acima deles. Na fase de triagem final, as plantas foram inoculadas artificialmente com uma suspensão de 8×10^4 de conídios/mL na segunda etapa o crescimento da folha e incubadas em estufa até a avaliação. Em cada teste de triagem, 3 a 7 extratos dispostos em um delineamento experimental foram avaliados. Após 6 dias foram avaliados o número, o diâmetro e a taxa de esporulação diária de colônias de oídio. Para estimar a taxa de esporulação, discos de 110 mm de diâmetro das folhas foram retirados a partir das áreas das folhas internervais secundárias e o número de colônias sobre eles foi contados. Apenas as áreas com mais de três colônias foram escolhidos para o ensaio. Imediatamente após a contagem, os discos de folha foram colocados em superfície adaxial com mais de 500 µL de água destilada estéril em frascos de vidro de 10 mL. Depois de um tempo de incubação de 48 horas, sob luz natural, a 25 °C, os discos foram virados e os frascos foram, em seguida, rapidamente agitada durante 2 minutos, para libertar os conídios em água. Depois disso, a concentração de conídios em cada frasco foi determinada por contagem dos esporos em hemocitômetro em câmara de Neubauer. Finalmente, a esporulação foi calculada e expressa em número de conídios/colônia/dia. Análise estatística foi ANOVA. Para o rastreio inicial, a significância das diferenças entre as médias de tratamento e o extrato controle em cada teste foi determinada utilizando o teste t de Student. Realizada ANOVA seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para os outros experimentos. Quando necessário, as transformações apropriadas dos valores foram realizadas para normalizar os dados e estabilizar a variância ao longo do intervalo de dados antes da análise de variância.	Foi empregado o isolado CNPMA-1999-1 de <i>Sphaerotheca fuliginea</i> foi mantida nas plantas de pepino jovens cv. 'Safira'. Foram inoculadas artificialmente com uma suspensão de 8×10^4 de conídios/mL. Experimentos realizados em triplicata.	O número de colônias de oídio, tanto folhas primária (tratado) quanto secundária (não tratadas) foi contado 7 dias após a inoculação. Quando a gravidade da doença era muito alta, a porcentagem de área foliar doente foi estimada. A severidade da doença foi expressa em porcentagem dos valores de gravidade das plantas controle. Os critérios de seleção foram o grau de efeito sistêmico, ou seja, a redução da doença sobre a folha secundária; e a dose necessária para obter tal efeito. Apenas extratos diferindo estatisticamente dos controles foram selecionados na triagem inicial. Os extratos selecionados na triagem inicial foram comparados em um conjunto de três experimentos independentes adicionais (fase de triagem final). Para este fim, as plantas do pepino foram cultivadas e tratou-se na primeira fase de crescimento da folha com o extrato diluído 1:4 (v/v). As plantas foram inoculadas com uma suspensão de conídios na segunda fase de crescimento da folha e incubadas em estufa livre de doença.	Todos os extratos que mostram efeito sistêmico causando uma redução significativa na formação do oídio sobre estágio primário da folha. O extrato reduziu o número de colônias de oídio na folha não tratada (efeito sistêmico). Portanto, esse extrato foi usado para a mesma diluição (1: 4) e comparada novamente em outro experimento (triagem final). Entretanto, o extrato não afetou significativamente o oídio, tal como tinha sido observado na triagem inicial. O extrato sobre folha secundária (não tratada) do pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) apresentou uma valor de número de colônias de oídio (<i>S. fuliginea</i>) de 117; valor de diâmetro da colônia igual a 1,9 mm; e uma taxa de esporulação de 725.	(48)

Quadro 5 – Testes farmacológicos *in vitro* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Concentração testada	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Antibacteriana.	Extrato metanólico bruto e óleos essenciais de folhas.	As concentrações foram inicialmente estabelecidas variando de 2 a 44% para o extrato bruto e de 0,05 a 3% para os óleos essenciais, e convertido para mg/mL usando densidade do extrato bruto e dos óleos.	Os ensaios de susceptibilidade foram realizados contra 32 cepas pelo método de diluição em ágar de produtos naturais em Agar Mueller Hinton, com adição de 0,2% de Tween 80, num total de 20 mL de ágar nas placas de Petri. Placas de Petri de controle positivo foram preparadas para o crescimento normal de bactérias. As cepas foram inoculadas em suspensão bacteriana padronizada (0,5 McFarland Escala) de 10^5 - 10^6 CFU/mL e incubadas a 37 °C/18-24 horas. Os valores de CIM foram registrados por presença ou não de colônias e a CIM _{90%} foram calculados. Os resultados de CIM foram analisados por teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparar tratamentos independentes, com a análise significativa (p <0,05 e p <0,001). Testes de Dunn e Student-Newman-Keuls foram aplicados para as comparações múltiplas entre os tratamentos.	Para os ensaios de susceptibilidade foram utilizadas 16 cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e 16 cepas de <i>Escherichia coli</i> , isoladas de espécimes humanos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. As cepas foram identificadas e mantidas em Ágar Nutriente. As cepas foram inoculadas em suspensão bacteriana padronizada (0,5 McFarland Escala) de 10^5 - 10^6 CFU/mL. Ensaio realizado em duplicata	Os valores de CIM e CIM _{90%} foram calculados. Ensaio realizado com período de incubação de 18 a 24 horas.	Os valores de CIM _{90%} para o extrato foram de 3,3 mg/mL contra <i>S. aureus</i> e 26,9 mg/mL contra <i>E. coli</i> . Já para os óleos essenciais, os valores de CIM _{90%} foram 2,8 mg/mL contra <i>S. aureus</i> e 24,1 mg/mL contra <i>E. coli</i> .	(34)

N.D. Não descrito.

4.3.2.2 *Ensaaios in vivo*

Os diferentes relatos na literatura referentes às informações de estudos farmacológicos de ensaios *in vivo* para a espécie *V. polyanthes* estão apresentados no Quadro 6.

Quadro 6 – Testes farmacológicos *in vivo* para a espécie *Vernonia polyanthes*.

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Posologia	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Anti-hemorrágica.	Extrato aquoso (10%) liofilizado obtido por infusão em água destilada a 37 °C.	Doses de 10 mg e 40 mg de extrato em 200 µg de veneno de <i>B. asper</i> . Administração por via tópica	Selecionou-se 7 concentrações (2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0 e 60,0 mg) de extrato pré-incubadas por 30 min a temperatura ambiente com 200 µg/mL de veneno de <i>B. asper</i> para obtenção de relação extrato/veneno. Posteriormente, 100 µL de sobrenadante foram injetados na pele do abdômen dos animais, correspondendo a 10 DHM de veneno (1 DHM = 2 µg). O diâmetro de hemorragia foi medido na pele. Os controles de veneno (10 DHM = 20 µg) e o extrato foram realizados da mesma maneira. A atividade anti-hemorrágica foi expressa em porcentagem, usando o diâmetro de veneno, como 100 %. A capacidade neutralizante foi expressa como a ED ₅₀ , definida como a faixa de mg de extrato/200 µg de veneno. Os dados foram expressos como médio ± desvio padrão. Utilizou-se o teste t de Student para comparar os dados dos grupos e do controle com nível de significância de p<0,05 e p<0,01.	Avaliados 4 grupos de camundongos <i>Swiss Webster</i> , pesando entre 20 e 22 g.	A atividade foi expressa em porcentagem, usando o diâmetro de veneno, como 100 %. A capacidade neutralizante foi expressa como ED ₅₀ , definida como a faixa de mg de extrato/200 µg de veneno, na qual o diâmetro da área hemorrágica foi reduzida em 50 % quando se compara com as lesões induzidas pelo veneno.	Os extratos neutralizaram significativamente o efeito hemorrágico nas concentrações de 10 mg extrato/200 µg veneno e 40 mg extrato/200 µg veneno em 1 mL, com uma porcentagem de inibição de 18,63 e 22,07%, respectivamente.	(19)
Vasodilatadora e normotensora.	Extrato hidroetanólico 70% seco obtido por refluxo durante 1,5 horas (resíduo reextraído outras 2 vezes).	Doses diárias de 0,5 ou 1,0 g de extrato/kg de peso corporal de animal. Administração via oral por gavagem realizadas 2 vezes por dia, durante 7 dias consecutivos.	O experimento consistiu de uma semana de controle seguida por uma semana de administração do extrato ou de água (4 ml/rato/dia). A pressão arterial foi avaliada semanalmente em ratos conscientes contidos, empregando o método de cauda-manguito, usando um electroesfigmomanômetro. Antes (0) e 7 dias após o início da administração do extrato, os ratos foram pesados e alojados em gaiolas metabólicas individuais. Testes de função renal também foram realizados. 14 horas antes do exame renal 60 mmol LiCl/100 g peso corporal foram administrados por gavagem. Os ratos foram posteriormente alojados individualmente em gaiolas metabólicas com livre acesso à água da torneira, mas não alimentos. O experimento foi realizado ao mesmo tempo, para cada grupo. Depois de um jejum de um dia, cada animal não anestesiado recebeu água por gavagem (5 % de peso corporal), seguido de uma segunda carga do mesmo volume 1 hora depois. 20 minutos após a segunda carga, a urina vertida espontaneamente foi recolhida em intervalos de 30 minutos durante um período de 2 horas. A urina vertida foi passada para um tubo de centrifuga graduado. Ao final do experimento, as amostras de sangue foram retiradas da veia da cauda ou por punção cardíaca. As concentrações no plasma e na urina de sódio, potássio e lítio foram medidas por fotometria de chama, enquanto que a creatinina foi determinada espectrofotometricamente utilizando picrato alcalino. A análise estatística dos dados foi realizada empregando análise de variância de uma-via para medições repetidas. Quando os resultados foram significativos, pós teste de Bonferroni foi utilizado para determinação das diferenças existentes. O valor de p < 0,05 foi considerado significância.	Ratos Wistar-Hannover machos (300 a 400 g), divididos em 2 grupos: 1. grupo controle (n=18); e 2. grupo tratado (n=10).	Foram avaliados os valores de pressão arterial após administração do extrato bruto, bem como analisadas as concentrações de sódio, potássio, lítio e creatinina no plasma e na urina. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão por 100 g de peso corporal. Para avaliação da pressão arterial, foram duas semanas (uma antes, e uma depois da administração do extrato).	O extrato reduziu a pressão sanguínea arterial de forma dose-dependente de 134 ± 2,6 mmHg para 125 ± 3,4 e 94 ± 4,3 mmHg (p < 0,05), respectivamente. A pressão arterial não teve alteração significativa para o grupo controle durante as três semanas do estudo. As taxas de fluxo urinário ao longo dos estudos de manipulação tubular renal de sódio não diferiram significativamente entre os grupos de administração do extrato e o grupo controle. A taxa de filtração glomerular estimada pelo clearance de creatinina reduziu significativamente quando comparado aos controles do 30 ° min (de 348,6 ± 15,8 µL/min/100 g de peso corporal para 544,8 ± 84,9 µL/min/100 g; em 60 min: de 292,0 ± 29,0 µL/min/100 g para 442,6 ± 60,8 µL/min/100 g) para o 90 ° minuto do intervalo experimental (de 269,4 ± 14,0 µL/min/100 g para 347,6 ± 55,2 µL/min/100 g), depois de uma semana de tratamento com extrato. Clearance de creatinina nos ratos controle não teve alteração. O extrato causou um decréscimo sustentado e significativo na excreção renal de sódio fracionário ao longo dos estudos de manuseio renal de sódio por 7 dias após tratamento oral. A excreção de sódio proximal não se alterou de forma significativa nos grupos controle ou grupos tratados com extrato. Os resultados foram acompanhados por um aumento marcante na excreção urinária de potássio fracionário de 0,09 ± 0,01% para 0,18 ± 0,03% e de 0,09 ± 0,01 para 0,16 ± 0,02% em animais tratados com extrato quando comparados ao grupo controle.	(49)

Quadro 6 – Testes farmacológicos *in vivo* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Posologia	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Antiulcerogênica.	Extratos clorofórmio e metanólico secos.	<p>Para o teste de ulcera induzida por etanol foram testadas as concentrações de 50; 100; 250 e 500 mg/kg para extrato metanólico; e 12,5; 25; 50 e 100 mg/kg para extrato clorofórmio.</p> <p>Para o teste de ulcera induzida por AINES foram testadas as concentrações de 250; 500 e 1000 mg/kg para extrato metanólico e para extrato clorofórmio. Administração por via oral em dose única.</p>	<p>A atividade protetora gástrica dos extratos foi avaliada por lesão induzida por etanol e por AINES. A melhor dose do extrato mais eficaz foi escolhida para testar mecanismos de ação. No final de cada experimento, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, o seu estômago removido, aberto ao longo da grande curvatura e fixada entre duas placas de vidro. A superfície interna do estômago foi examinada com um microscópio de dissecação e fotografada para análise computacional posterior. A área ulcerada total no corpus estômago foi medida por software de análise de imagem. Foram realizado teste de úlceras induzidas por etanol, úlcera gástrica foi induzida por piroxicam, determinação de muco no conteúdo gástrico, teste de avaliação do NO endógeno e dos sulfidrilos endógenos sobre proteção gástrica, teste de lesões da mucosa gástrica induzida por etanol em ratos pré-tratados com N_o-nitro-L-arginina-metilester e lesão induzida por N-etilmaeimida. Os resultados foram expressos como a média ± desvio adrão. A significância estatística foi determinada por análise de variância de uma-via (ANOVA), seguida de Dunnett ou teste post-hoc de Tukey, com o nível mínimo de significância de p<0,05.</p>	<p>Ratos Wistar machos (180-250 g), usados nos testes de lesão gástrica induzida por etanol, para determinação de muco no conteúdo gástrico, teste de avaliação do NO endógeno e dos sulfidrilos endógenos sobre proteção gástrica. Camundongos <i>Swiss</i> machos (25-35 g), utilizados para os testes de lesão gástrica induzida por AINES. Os animais foram avaliados em 3 grupos para cada teste: (1) grupo amostra; (2) grupos controle, e (3) grupo referência. O número de animais por grupo variou conforme experimento. A cimetidina (100 mg/ kg), lansoprazol (30 mg/ kg) ou carbenoxolona (200 mg/ kg) foram utilizados como os fármacos de referência.</p>	<p>Avaliou-se superfície interna do estômago em microscópio de dissecação e fotografada para análise computacional. A área ulcerada total no corpus estômago foi medida com software de análise de imagem. Para teste determinação de muco no conteúdo gástrico emulsão resultante da extração de corante teve absorvência da camada aquosa medida em UV a 580 nm. O tempo de avaliação variou conforme experimento. Para teste de úlceras induzidas por etanol avaliou-se 1 h após a administração de etanol. Para teste de úlceras induzidas por AINES, avaliou-se 4 h após a indução da úlcera. Para determinação de muco no conteúdo gástrico, avaliou-se após um total de 9 h (sendo total de horas divididas em diferentes etapas) após administração do extrato. Para teste de lesões da mucosa gástrica induzida por etanol em ratos pré-tratados com N_o-nitro-L-arginina-metilester e lesão induzida por N-etilmaeimida, avaliou-se 1 h após administração de etanol.</p>	<p>Ambos os extratos metanólico e clorofórmico mostraram um efeito dose-dependente gastroprotetor contra lesões gástricas induzidas por etanol e piroxicam. Para investigar o papel dos diferentes fatores gastroprotetores o melhor extrato e sua melhor dose foi escolhido. O extrato clorofórmico, rico em terpenoides, protegeu a mucosa gástrica em uma dose menor (50 mg/kg), quando comparado com o extrato metanólico (250 mg/kg), o que levou ao estudo de seus mecanismos de proteção. O tratamento com extrato clorofórmico (50 mg/kg), aumentou a produção de muco (22,4%) e não alterou o pH gástrico quando comparado com o grupo controle. Além disso, a atividade antiúlcera do extrato clorofórmico foi ligeiramente atenuado com ambos os pré-tratamentos, com NEM e L-NAME. A gastroproteção do extrato clorofórmico reduziu de 85,5% para 65,0%, com pré-tratamento de NEM e de 91,2% para 71,7% com o pré-tratamento de L-NAME, respectivamente.</p>	(36)

Quadro 6 – Testes farmacológicos *in vivo* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Posologia	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Mutagênica	Extrato hidroetanólico 70% seco obtido por maceração durante 15 dias, à temperatura ambiente.	Foram avaliadas as concentrações do extrato de 250, 500, 750, 1000, 1500 e 2000 mg/kg de peso corporal de animal. Administração via oral por gavagem para controle negativo e para as amostras; Para controle positivo administração via intraperitoneal.	Utilizada técnica utilizada para a obtenção das células de medula óssea para o estudo da frequência de micronúcleos. O extrato foi testado separadamente empregando-se 3 doses, levando-se em consideração os dados obtidos na metodologia empregada para se estabelecer a DL ₅₀ (i.e., 80%DL ₅₀ , 50%DL ₅₀ e 25%DL ₅₀ , ou ainda, ≤ 2.000 mg/kg na inexistência de letalidade), e ensaiados em 3 doses (1000, 1500 e 2000 mg/kg de peso corporal), selecionadas de acordo com as doses mínima e máxima que poderiam ser utilizadas em humanos. Foram analisados ± 2000 eritrócitos policromáticos por animal, para cada tempo de coleta (24 e 48 h) de tratamento, quanto à presença de micronúcleos. Os resultados obtidos nos ensaios de mutagenicidade foram empregados tratamentos estatísticos de Análise de Variância em esquema fatorial, considerando sexo, tempo e tratamento (2x2x5), com três repetições e um delineamento casualizado. As médias foram comparadas utilizando o Teste de Tukey-Kramer (2%).	Camundongos <i>Swiss albinus</i> (27-36 g) divididos em seis grupos de camundongos (n=10 animais/grupo). Cada ensaio foi realizado empregando-se 5 grupos de animais, cada grupo constituído por 3 machos e 3 fêmeas: (1) controle negativo (NaCl 0,9%); (2) controle positivo (50 mg/kg de Etil-Nitroso-Ureia); (3) tratamento 01 (1000 mg/kg); (4) tratamento 02 (1500 mg/kg); (5) tratamento 03 (2000 mg/kg).	Foram analisados eritrócitos policromáticos por animal quanto à presença de micronúcleos. A relação entre o número total de eritrócitos policromáticos e normocromáticos, obtidos da medula óssea, também foi avaliada. Avaliados 24 e 48 após administração das amostras, sendo avaliadas para DL ₅₀ após 7 dias de administração das mesmas.	Quanto a DL ₅₀ , não se verificaram mortes após a administração do extrato, mesmo nas concentrações mais elevadas (2000 mg/kg), por via oral, desde as primeiras 72 horas até o 7º dia, sugerindo ausência de DL ₅₀ nas concentrações analisadas. A avaliação mutagênica/mitogênica do extrato revelou ausência (1.000 mg/kg e 1.500 mg/kg) e moderado (2.000 mg/kg) efeito clastogênico e/ou aneugênico nas dosagens de 1000 e > 1500 mg/kg, respectivamente, independentemente do tempo de tratamento (24/48h) e sexo do animal.	(43)
Anti-inflamatória.	Extratos (hexânico, acetato de etila e metanólico) secos de caules e folhas.	Testada a concentração 0,05 mg/μL. Administração por via tópica e em dose única.	O ensaio foi realizado empregando teste do edema da orelha de rato induzido por TPA (12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato. Para cada determinação, 10 mL de uma solução etanólica de TPA foram aplicados na superfície da orelha direita. A mesma quantidade de etanol (controle) foi aplicada na orelha esquerda. Dez minutos após a aplicação de TPA, 20 μL dos extratos foram aplicados topicamente (1 mg em etanol). Após 4 h, os camundongos foram sacrificados e uma secção da orelha (7 mm) foi cortada e pesada. Os aumentos de peso da orelha direita em comparação com a esquerda indica inchaço. Quando correspondentes, os resultados foram analisados por teste t de Student e as diferenças foram consideradas significativas ou altamente significativa quando apresentaram valores de $p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,01$, respectivamente.	Camundongos CDI machos (25-30 g), divididos em grupos de 3 camundongos para cada determinação. Indometacina (0,046; 0,085; 0,15 mg/orelha) foi usado como droga referência.	Foram avaliados os aumentos de peso da orelha direita (teste) em comparação com a esquerda (controle) indicando inchaço, sendo a percentagem de inibição de edema calculado por comparação com o controle. Foram considerados 10 min para formação do edema de orelha e 4 h (após aplicação dos extratos) para a avaliação da percentagem de redução do edema.	Os valores de porcentagem de inibição do edema para os caules foram de 74,8; 21,9 e 80,2%, para os extratos hexânico, acetato de etila e metanólico, respectivamente. Para as folhas, a inibição do edema foi de 31,1%, utilizando o extrato hexano; 57,5%, utilizando o extrato de acetato de etila, e 50,1% utilizando o extrato metanólico. Estes resultados realçam a atividade anti-inflamatória dos extratos.	(47)
Natriurética e hipotensora.	Extrato aquoso (10%) de folhas obtido por infusão.	Não foram descritas as concentrações testadas. Administração por via tópica e em dose única.	Após anestesiados os ratos, iniciou-se o procedimento para canulação da traquéia, para melhor ventilação do animal, da artéria carótida, cuja cânula era conectada a um manômetro de mercúrio, para observação e registro da pressão arterial e a bexiga urinária para a coleta da urina, sendo o volume determinado gravimetricamente. O experimento foi dividido em 3 etapas: equilíbrio, controle, experimental. A etapa de equilíbrio foi de 45 min e a urina coletada foi descartada. A etapa controle de 30 min e a urina coletada indicava o fluxo urinário basal do animal. Em seguida iniciando a etapa experimental, na qual o fluxo urinário era avaliado a cada 30 min (D1, D2, D3 e D4). As amostras de urina foram congeladas para posterior análise da concentração de sódio. A concentração urinária de sódio foi determinada por fotometria de chama e a carga excretada de sódio foi calculada em função da carga urinária de sódio e fluxo urinário. Além da coleta de urina, a pressão arterial foi observada e anotada a cada 10 min a partir do início da etapa de controle até o final do experimento. A significância dos resultados foi avaliada pelo Teste-t de Student pareado e independente.	Utilizados ratos Wistar machos (peso médio 250 g), divididos em 2 grupos: 1. grupo controle (n=10); e 2. grupo tratado (n=12).	Avaliaram-se a concentração urinária de sódio, a carga excretada de sódio e a pressão arterial observada e anotada a cada 10 min a partir do início da etapa de controle até o final da etapa experimental, nos ratos do grupo 1 e 2. O experimento foi dividido em etapa de equilíbrio com duração de 45 min, seguida da etapa de controle com duração de 30 min, e seguida da etapa experimental com total de 2 horas (divididos em 4 períodos de 30 min cada).	O fluxo urinário e a carga excretada de sódio não sofreram alteração estatisticamente significativa ($p > 0,05$) no grupo controle. Já para os ratos tratados com 1 mL de infusão apresentaram alteração significativa ($p < 0,05$) para estes parâmetros após 30 min da administração (D1). A pressão arterial dos animais do grupo controle manteve-se próxima ao valor basal (110 mmHg), mesmo após administração de salina. Entretanto, após ingestão do infuso observou-se redução gradativa da pressão arterial, mas sendo estatisticamente significativo ($p < 0,05$) apenas no último período D4 (após duas horas da administração), ou seja, nas últimas 3 medições.	(50)

Quadro 6 – Testes farmacológicos *in vivo* para a espécie *Vernonia polyanthes* (continuação).

Atividade avaliada	Tipo de derivado vegetal	Posologia	Método	Condições	Parâmetros observados	Resultado	Referência
Anti-inflamatória e antinociceptiva.	Extrato hidroetanólico 95% de folhas obtido por maceração, durante 3 semanas, à temperatura ambiente, com renovação do solvente a cada 2 dias.	Foram avaliadas as concentrações de 100, 200, e 400 mg de extrato/kg peso corporal. Administração por via oral em dose única	Para o teste de contorção empregou-se teste indução por ácido acético com animais pré-tratados com (1); ou (2) ácido acetilsalicílico e (3) uma hora antes da administração intraperitoneal (ip) de 0,6 % de ácido acético v/v (0,1 mL/10 g). Dez minutos depois de ácido acético, foram contados o número de contorções abdominais durante os seguintes 20 minutos. Para o teste de formalina a dor foi induzida através da injeção de formalina a 2,5% na região subplantar da pata traseira direita. Os animais foram observados para avaliar o tempo de lambida, neurogênica, inflamação, após a formalina. Já para o teste de "Hot-Plate" os animais foram colocados em uma placa de aquecimento mantida a 55 ± 1 °C. A latência de resposta nociceptiva, como lambar, sacudida de um membro posterior ou salto, foi medida. Para o teste de edema de pata induzido por carragenina o volume de edema de pata dos ratos foi medida usando um pletismômetro. Para o teste de pleurisia induzida por carragenina os ratos foram anestesiados com cetamina e xilazina (60 mg/kg e 8 mg/kg, respectivamente) e uma suspensão de uma solução salina contendo 2 % de carragenina (0,4 mL) foi injetado na cavidade pleural o macerado. Após 4 horas da injeção de carragenina, os animais foram sacrificados e os músculos da pele e peitoral foram retraídos. O exsudado foi recolhido e o volume total foi determinado. Uma alíquota de 20 µL do exsudado foi usado para determinar o número total de leucócitos em câmara de Neubauer.	Ratos Wistar machos (90–110 dias) pesando 200–240 g, usados nos testes de edema de pata e pleurisia induzidos por carragenina. Camundongos <i>Swiss</i> albino machos (50–70 dias) pesando 25–30 g, usados nos testes de contorção, formalina e "hot-plate". Para os cinco testes realizados, os animais foram divididos em 3 grupos, com n=8 em cada grupo: (1) grupos amostra recebendo macerado; (2) grupo controle, e (3) grupo referência (droga de referência variando conforme o teste realizado).	Para o teste de contorção foram contados o número de contorções abdominais durante os seguintes 20 min após 10 min da administração intraperitoneal de ácido acético. Para o teste de formalina foram avaliados o tempo de lambida, durante a primeira fase, neurogênica (0-5 minutos), e a segunda fase, inflamação (15-30 min), após a injeção de formalina. Para o teste de "Hot-Plate" foi medida a latência de resposta nociceptiva, como lambar, sacudida de um membro posterior ou salto. Para o teste de edema de pata induzido por carragenina foi avaliado o volume de edema da pata, registrada três vezes, medida a 1, 2, 3 e 4 h após a injeção de carragenina. Para o teste de pleurisia induzida por carragenina foi determinado o volume total de exsudato e o número total de leucócitos em câmara de Neubauer.	No teste de contorção, o macerado (200 e 400 mg/kg, geraram respectivamente 55,25 ± 2,39 e 45,50 ± 2,44 contrações) causou uma redução (p<0,01 e p<0,001, respectivamente) e a inibição dependente da dose em contorções abdominais produzida pelo ácido acético (inibindo 16,75 e 31,44%, respectivamente). O grupo controle produziu 66,37±2,19 contorções abdominais. Para o teste de formalina, o pré-tratamento com morfina (5 mg/kg) ou com o extrato (200 e 400 mg/kg) originou alterações de tempo de lambida da pata, na primeira fase da resposta à dor. Na segunda fase, uma redução do tempo de lambida de forma dose-dependente (p<0,05 ou p<0,001) foi observada para o macerado (100, 200 e 400 mg/kg), bem como com a indometacina (10 mg/kg) e morfina (5 mg/kg). Para o controle, o tempo gasto foi 80,87 ± 3,47 e 85,50 ± 3,19 segundo nas 1ª e 2ª fases, respectivamente. Para o teste de "Hot-Plate" após 90 min de tratamento, as doses de 100 (p<0,01), 200 (p<0,001) e de 400 mg/kg (p<0,001) aumentaram o tempo de latência no controle. Naloxona, bloqueou a ação da morfina, mas não alterou o efeito antinociceptivo do macerado. Para o teste de edema, o edema da pata foi reduzido em 16,95 e 22,03% para as doses de 200 e 400 mg/kg, respectivamente. A inibição do edema foi observada 3 e 4 h após a injeção de carragenina, nas doses de 100 mg/kg (12,50 e 16,40%, p<0,05, respectivamente), 200 mg/kg (16,41 e 27,87%, p<0,05 e p<0,01, respectivamente) e 400 mg/kg (25,78 e 31,97%, p<0,01 e p<0,001, respectivamente), comparado ao controle. A indometacina também inibiu o edema de pata (28,12 e 36,06%, respectivamente). Para o teste de pleurisia, os efeitos demonstraram que doses de 200 (p<0,05) e de 400 mg/kg (p<0,001) do macerado reduziu o volume de exsudado em 13,83 e 43,08% quando comparados ao controle. O número de leucócitos totais também foi reduzido para as doses de 200 (17,87%, p<0,001) e de 400 mg/kg (28,39%, p<0,001) em comparação ao controle. Indometacina reduziu o volume de exsudado e a migração de leucócitos	(35)

N.D. Não descrito.

4.3.2.3 Ensaaios *ex vivo*

Não foram encontradas informações acerca de estudos farmacológicos de ensaios *ex vivo* para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

4.4.1 Fase I

Não foram encontradas informações acerca de estudos clínicos de fase I para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.4.2 Fase II

Não foram encontradas informações acerca de estudos clínicos de fase II para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.4.3 Fase III

Não foram encontradas informações acerca de estudos clínicos de fase III para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.4.4 Fase IV

Não foram encontradas informações acerca de estudos clínicos de fase IV para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.4.5 Estudos observacionais

Não foram encontradas informações acerca de estudos clínicos observacionais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

A utilização da espécie *Vernonia polyanthes* para uso em humanos é relatada somente quanto ao uso popular e tradicional da planta, não sendo encontrados estudos mais detalhados quanto as ações e indicação da espécie.

Com relação às ações e indicação dos derivados de *Vernonia polyanthes*, no que diz respeito aos ensaios farmacológicos *in vitro*, foram encontrados na literatura trabalhos que abrangem a avaliação das atividades antileishmania, citotóxica e antitumoral, antimicrobiana, nematicida, antifúngica, antimicobacteriana, fototóxica e antibacteriana (17, 34, 41, 43-48).

Já para a avaliação das atividades farmacológicas *in vivo*, são encontrados estudos que envolvem a investigação das atividades antiulcerogênica, anti-hemorrágica, vasodilatadora e normotensora, mutagênica, anti-inflamatória e natriurética (19, 35, 36, 43, 47, 49, 50).

Embora tenham sido relatados diferentes estudos quanto às atividades farmacológicas pré-clínicas (maiores detalhes nos *itens 4.3.2.1 e 4.3.2.2*), não foram encontrados na literatura ensaios clínicos envolvendo a espécie *V. polyanthes*. Dessa foram, alguns dos itens a seguir serão preenchidos a partir das informações de estudos não-clínicos; e para os demais itens, estes não poderão ser preenchidos devido à ausência de informações correspondentes.

4.5.1 Vias de Administração

Administração por via oral e tópica, conforme estudos realizados em animais (19, 36, 47, 49, 50).

4.5.2 Dose Diária

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)

Dose diária única (35, 36, 43, 47, 50).

4.5.4 Período de Utilização

Dado não encontrado na literatura pesquisada.

4.5.5 Contra Indicações

Não foram encontradas informações acerca de contra indicações para derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.6 Grupos de Risco

Não foram encontradas informações acerca de grupos de risco para uso de derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.7 Precauções de Uso

Não foram encontradas informações acerca de precauções de uso envolvendo derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.8 Efeitos Adversos Relatados

Não foram encontradas informações acerca de efeitos adversos relatados para derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.9 Interações Medicamentosas

4.5.9.1 Descritas

Não foram encontradas informações acerca de interações medicamentosas descritas envolvendo derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.9.2 Potenciais

Não foram encontradas informações acerca de interações medicamentosas potenciais envolvendo derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.10 Informações de Superdosagem

4.5.10.1 Descrição do quadro clínico

Não foram encontradas informações acerca da descrição do quadro clínico no caso de superdosagem com derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

4.5.10.2 Ações a serem tomadas

Não foram encontradas informações acerca de ações a serem tomadas no caso de superdosagem com derivados vegetais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5 INFORMAÇÕES GERAIS

5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS /FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

Não foram encontradas informações acerca de formas farmacêuticas ou formulações estabelecidas para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

Não foram encontradas registros na Anvisa ou outras agências reguladoras para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Não foram encontradas informações acerca de embalagem ou armazenamento para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5.4 ROTULAGEM

Não foram encontradas informações acerca da rotulagem para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

Não foram encontradas informações de monografias em compêndios oficiais e não oficiais para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

Não foram encontradas patentes estabelecidas para a espécie *Vernonia polyanthes*.

5.7 DIVERSOS

Em estudo para a investigação da metabolização, excreção e/ou sequestro de metabólitos secundários de *Vernonia polyanthes* por *Chlosyne lacinia* durante a fase larval e conservação na fase adulta, além da análise da composição química de extrato de *V. polyanthes* foi analisada a presença dos metabólitos secundários observados no extrato de *V. polyanthes* também em extratos preparados a partir de lagarta-do-girassol, *C. lacinia*, cultivadas na *V. polyanthes* (31).

Para as análises das amostras provenientes da *C. lacinia* foram realizadas comparações com os dados obtidos das análises dos extratos por CLAE-DAD-EM (detalhes no item 3.2.7.3) considerando as informações de UV e massas (31). Foram avaliados os extratos de *C. lacinia* provenientes das fezes e do corpo da lagarta (tanto em fase larval quanto adulto). Na Figura 15 estão apresentados os cromatogramas comparativos dos extratos de *V. polyanthes*, do corpo e das fezes da lagarta de *C. lacinia* no 2º estágio de desenvolvimento (31).

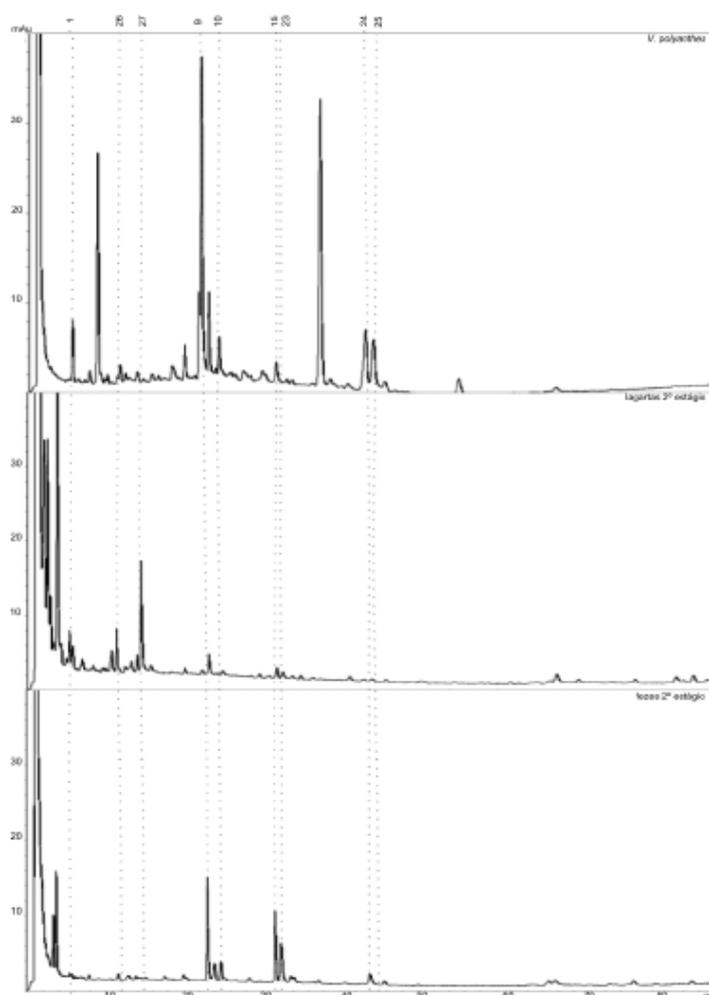


Figura 15 – Cromatogramas analíticos comparativos obtidos por CLAE-DAD-EM de extrato de folhas de *Vernonia polyanthes*, das lagartas de *Chlosyne lacinia* cultivadas em *V. polyanthes* e das fezes da lagarta (registrados em 270 nm). Fonte: Martucci 2012 (31).

No extrato das lagartas no segundo estágio cultivadas com folhas de *V. polyanthes*, observou-se apigenina-7-O-glicuronil e o ácido 3-O-(*E*)-cafeoilquínico hidroxilado. Foi observada nos extratos das fezes das lagartas no segundo estágio a presença de apigenina-7-O-glicuronil; acetina-7-O-glicuronil; crisoeriol-7-O-glicuronil, além das agliconas apigenina e acetina (31).

Segundo os autores, a presença das agliconas apigenina e acetina no extrato das fezes da lagarta pode indicar que estes sofreram metabolização prévia pela lagarta, já que no extrato das folhas de *V. polyanthes* as agliconas se apresentavam glicuronizadas. Essa clivagem do ácido glicurônico pode ser necessária para a nutrição da lagarta (31).

Já no caso do extrato das lagartas de *C. lacinia*, este apresenta o ácido 3-O-(*E*)-cafeoilquínico hidroxilado, apesar de não ser observado esse metabólito das folhas de *V. polyanthes*, indicando que seria resultado da metabolização do ácido 3-O-*E*-cafeoilquínico (presente do extrato das folhas) pela lagarta (31).

As lagartas tratadas com folhas de *V. polyanthes* viveram somente até segundo estágio de desenvolvimento. Houve ausência de lactonas sesquiterpênicas tanto nas fezes quanto nas lagartas (31).

REFERÊNCIAS

1. THEPLANTLIST.Org. The Plant List. 2015 [Citado em: 2015 31/01/2015]; versão 1.1:[Disponível em: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-29788>].
2. Flann C. Global Compositae Checklist. 2015 [Citado em: 2015 31/01/2015]; Disponível em: <http://dixon.iplantcollaborative.org/CompositaeWeb/default.aspx?Page=NameDetails&TabNum=0&NameId=5d1ec75e-5cf6-46c5-959f-3716ad7da95f>.
3. Tropicos.Org. Nomenclatural and specimen database of the Missouri Botanical Garden,. 2015 [Citado em: 2015 31/01/2015]; Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/2740084>.
4. Robinson H. A new genus *Vernonanthura* (Vernonieae, Asteraceae). *Phytologia* (USA). 1992;73(2):65-76.
5. Kissmann KG, Groth D. Plantas Infestantes e Nocivas. 2ª ed. São Paulo: BASF; 1999.
6. Forzza RC. Herbário Virtual Re flora - Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2014 [Citado em: 2014 15/10/2014]; Disponível em: <http://www.herbariovirtualreflora.jbrj.gov.br/jabot/geral/ExibeFiguraFSIUC/ExibeFiguraFSIUC.do?idFigura=3537148>.
7. BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. Biblioteca Virtual em Saúde. Descritores em Ciências da Saúde - DeCS. 2014 [Citado em: 2014 15/10/2014]; Disponível em: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>.
8. Alves V, Neves L. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). *Revista Universitária Rural, Série Ciências da Vida*. 2003;22(2):1-8.
9. Lorenzi H, Matos FJdA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2008.
10. Santana PM, Martínez MM, Porto RMdO, León TO, Payrol JA, García ELP. Estudio químico de los compuestos lipídicos de las hojas, tallos y flores de *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob.(Asteraceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2013;18(4):575-85.
11. Hattori E, Nakajima J. A família Asteraceae na Reserva Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. *Hoehnea*. 2011;38(2):165-214.

12. Hattori EKO, Nakajima JN. A família Asteraceae na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro, Perdizes, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*. 2008;59(4):687-749.
13. Albertasse PD, Thomaz LD, Andrade MA. Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu, Vila Velha, ES. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2010;12(3):250-60.
14. Silva MD, Dreveck S, Zeni ALB. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela população rural no entorno do Parque Nacional da Serra do Itajaí-Indaial-SC. *Revista Saúde e Ambiente*. 2010;10(2):54-64.
15. Ticktin T, Dalle SP. Medicinal plant use in the practice of midwifery in rural Honduras. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;96(1):233-48.
16. Lopes RdMF. Ecologia, etnoconhecimento e educação: integrando os saberes acadêmico e popular para a conservação do patrimônio natural e cultural de São Tomé das Letras, Minas Gerais [Tese de Doutorado]. Belo Horizonte, Minas Gerais: Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Minas Gerais; 2012.
17. Braga FG, Bouzada MLM, Fabri RL, Matos MO, Moreira FO, Scio E, et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(2):396-402.
18. Conde BE, Rogerio ITS, Siqueira AM, Ferreira MQ, Chedier LM, Pimenta DS. Ethnopharmacology in the Vicinity of the Botanical Garden of the Federal University of Juiz de Fora, Brazil. *Ethnobotany Research & Applications*. 2014;12:091-111.
19. Baltodano BB, Mora FC, Álvarez LJP, Castro SJ, Rodríguez GR. Efecto de plantas usadas etnomedicamente sobre la actividad hemorrágica y proteolítica inducida por *Bothrops asper*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2006;11(1):1-7.
20. Rodrigues VEG, Carvalho DAd. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*. 2001;25(1):102-23.
21. Jorge LIF, Pereira U, Silva AM. Identificação histológica das principais compostas brasileiras de emprego medicinal. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 1991;51(1/2):47-51.
22. Mendonça CBF, Gonçalves-Esteves V, Esteves RL, Nunes AD. Palynotaxonomy of *Vernonanthura* H. Rob.(Vernonieae, Asteraceae) species from southeast Brazil. *Brazilian Journal of Botany*. 2009;32(4):647-62.

23. Melhem T, Cruz Barros Md, Corrêa AdS, Makino Watanabe H, Silvestre Capelato M, Goncalves Esteves V. Variabilidade polínica em plantas de campos de Jordão (São Paulo, Brasil). *Boletim do Instituto de Botânica*. 2003;16:9-104.
24. Farias MR. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões C, Schenkel E, Gosmann G, Mello Jd, Mentz L, Petrovick P, editors. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC; 2007.
25. Corrêa RM, Bertolucci SKV, Pinto J, Reis E, Alves TL. The essential oil yield and organoleptic leaves characteristics of “assa-peixe” under various dry methods. *Ciência e Agrotecnologia*. 2004;28(2):339-44.
26. Santana PM, León TO, Martínez MM, Payrol JA, Ruíz O, García I ELP. Algunos parámetros farmacognósticos de *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob.(Asteraceae) endémica de Ecuador. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2013;18(1):131-9.
27. Fonseca PG, Nunes UR, Nunes P, Cristina S. Aspectos da germinação de sementes de assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less.). *Ciência Rural*. 2012;42(4):633-7.
28. Wagner H, Iyengar M, Seligmann O, Hörhammer L, Herz W. Flavonoides in *Vernonia* Arten. *Phytochemistry*. 1972;11(10):3086-7.
29. Calderón-Montaña JM, Burgos-Morón E, Pérez-Guerrero C, López-Lázaro M. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2011;11(4):298-344.
30. Igual MO, Martucci MEP, Da Costa FB, Gobbo-Neto L. Sesquiterpene lactones, chlorogenic acids and flavonoids from leaves of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 2013;51:94-7.
31. Martucci MEP. Análise da interação ecoquímica entre a lagarta-do-girassol *Chlosyne lacinia* (Lepidoptera: Nymphalidae) e as Asteraceae *Tithonia diversifolia* e *Vernonia polyanthes* utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas [Dissertação de Mestrado]. Ribeirão Preto, São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; 2012.
32. Souza Filho APdS, Rodrigues LRdA, Rodrigues TdJD. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. *Planta Daninha*. 1996;14(2):93-101.
33. Bohlmann F, Zdero C, King RM, Robinson H. Further hirsutinolides from *Vernonia polyanthes*. *Phytochemistry*. 1983;22(12):2863-4.

34. Silva N, Barbosa L, Seito L, Fernandes Junior A. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. *Natural Product Research*. 2012;26(16):1510-4.
35. Temponi VS, Silva JB, Alves MS, Ribeiro A, Pinho JJRG, Yamamoto CH, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Vernonia polyanthes* leaves in rodents. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012;13(3):3887-99.
36. Barbastefano V, Cola M, Luiz-Ferreira A, Farias-Silva E, Hiruma-Lima CA, Rinaldo D, et al. *Vernonia polyanthes* as a new source of antiulcer drugs. *Fitoterapia*. 2007;78(7):545-51.
37. Bohlmann F, Brindöpke G, Rastogi RC. A new type of germacranolide from *Vernonia* species. *Phytochemistry*. 1978;17(3):475-82.
38. Bohlmann F, Jakupovic J, Gupta RK, King RM, Robinson H. Allenic germacranolides, bourbonene derived lactones and other constituents from *Vernonia* species. *Phytochemistry*. 1981;20(3):473-80.
39. Toyang NJ, Verpoorte R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;146(3):681-723.
40. Medeiros PMd, Ladio AH, Albuquerque UP. Patterns of medicinal plant use by inhabitants of Brazilian urban and rural areas: A macroscale investigation based on available literature. *Journal of ethnopharmacology*. 2013;150(2):729-46.
41. Gupta MP, Monge A, Karikas GA, Cerain AL, Solis PN, De Leon E, et al. Screening of Panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, crown gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation. *Pharmaceutical Biology*. 1996;34(1):19-27.
42. Leitão F, Fonseca-Kruel VSd, Silva IM, Reinert F. Urban ethnobotany in Petrópolis and Nova Friburgo (Rio de Janeiro, Brazil). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009;19(1B):333-42.
43. Jorgetto GV, Boriolo MFG, Silva LM, Nogueira DA, José TDS, Ribeiro GE, et al. Ensaio de atividade antimicrobiana *in vitro* e mutagênica *in vivo* com extrato de *Vernonia polyanthes* Less (Assa-peixe). *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 2011;70(1):53-61.
44. Santana PM, Martínez MM, Robles CP, Payrol JA, Osorio MS, Santander VH. Aislamiento y caracterización de la fracción hexánica de las hojas de *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob. con actividad antifúngica. *Revista Cubana de Farmacia*. 2012;46(3):352-8.

45. Lopes EA, Ferraz S, Ferreira PA, Freitas LG, Dallemole-Giaretta R. Soil amendment with chopped or ground dry leaves of six species of plants for the control of *Meloidogyne javanica* in tomato under greenhouse conditions. *Ciência Rural*. 2011;41(6):935-8.
46. Oliveira D, Prince K, Higuchi C, Santos A, Lopes L, Leite C. Antimycobacterial activity of some Brazilian indigenous medicinal drinks. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2007;28(2):165-9.
47. Pérez-Amador MC, Ocotero VM, Benítez SP, Jiménez FG. *Vernonia patens* Kunth, an Asteraceae species with phototoxic and pharmacological activity. *Phyton (Buenos Aires)*. 2008;77:275-82.
48. Stadnik MJ, Bettioli W, Saito ML. Bioprospecting for plant and fungus extracts with systemic effect to control the cucumber powdery mildew. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 2003;110(4):383-93.
49. Silveira RR, Foglio M, Gontijo J. Effect of the crude extract of *Vernonia polyanthes* Less. on blood pressure and renal sodium excretion in unanesthetized rats. *Phytomedicine*. 2003;10(2):127-31.
50. Silveira R, Rúbio C, Alves M. Diuresis and arterial pressure modification in anesthetized Wistar rats, after oral administration of "assa-peixe" (*Vernonia polyanthes* Less.) infusion. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2000;2(2):31-5.