

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE MUNDO NOVO
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

LUCAS WAGNER RIBEIRO ARAGÃO

**SCREENING FITOQUÍMICO E ATIVIDADES
BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Conyza canadensis* (L.)
CRONQUIST (ASTERACEAE) QUE OCORRE NA
REGIÃO SUL DE MATO GROSSO DO SUL**

Mundo Novo - MS

09/2013

LUCAS WAGNER RIBEIRO ARAGÃO

**SCREENING FITOQUÍMICO E ATIVIDADES
BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Conyza canadensis* (L.)
CRONQUIST (ASTERACEAE) QUE OCORRE NA
REGIÃO SUL DE MATO GROSSO DO SUL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Ciências Biológicas da
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
como parte dos requisitos para obtenção do
grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Francisca Gomes da Silva

LUCAS WAGNER RIBEIRO ARAGÃO

**SCREENING FITOQUÍMICO E ATIVIDADES
BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Conyza canadensis* (L.)
CRONQUIST (ASTERACEAE) QUE OCORRE NA
REGIÃO SUL DE MATO GROSSO DO SUL**

Trabalho de Conclusão do Curso apresentada
ao curso de Ciências Biológicas da
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul,
como parte dos requisitos para obtenção do grau
de Licenciado em Ciências Biológicas.

APROVADO EM ____ de _____ de 2013

Prof^a. Dra. Ana Francisca Gomes da Silva - Orientador - UEMS _____

Prof^a. Dra. Zaira da Rosa Guterres – UEMS _____
(*Titular*)

Prof. MSc. Wagner Klein- UEMS _____
(*Titular*)

MSc. Claudia Universal Neves batista Deinizer Duarte – UEMS _____
(*Suplente*)

Dedico este trabalho a todos os esforços da minha amada família. Família Aragão.

*“Algo só é impossível até
que alguém duvide e resolva
provar ao contrário.”*

Albert Einstein

RESUMO

Conyza canadensis (Asteraceae) conhecida popularmente como “buva” é utilizada no tratamento de diversas doenças, no entanto, destaca-se por infestarem áreas abandonadas, pastagens, culturas perenes e lavouras anuais. Assim o presente trabalho objetivou realizar o estudo fitoquímico e avaliação de atividades biológicas das folhas de um espécime de *C. canadensis* coletada em Mundo Novo-MS. O extrato etanólico bruto obtido das folhas foi particionado com solventes de polaridade crescente e tanto este extrato como as frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e n-butanólica oriundas da partição foram submetidos a testes analíticos qualitativos, através de screening fitoquímico, com a finalidade de identificar as principais classes de metabólitos secundários. Posteriormente foram ainda submetidos aos ensaios biológicos de toxicidade para *Artemia salina* e atividade antioxidante com o revelador β -caroteno. Os resultados dos testes analíticos demonstraram a presença de taninos condensados, glucosídeos, triterpenos e/ou esteroides, proteínas e aminoácidos, ácidos orgânicos e depsídeos e depsidonas em todas as amostras. Cumarinas voláteis no extrato etanólico bruto, fração acetato de etila e n-butanólica, flavonoides no extrato etanólico bruto, fração hexânica e acetato de etila, saponinas no extrato etanólico bruto, fração hexânica, clorofórmica e acetato de etila, antraquinonas apenas na fração clorofórmica. O ensaio frente à *A. salina* revelou considerável toxicidade frente a esse microcrustáceo, onde os resultados mais significativos foram para o extrato etanólico bruto, fração hexânica e clorofórmica, com valores de DL_{50} 124,43, 123,18 e 171,63 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Potencial antioxidante foi observado para todas as amostras no ensaio com o revelador β -caroteno. Neste ensaio, as amostras apresentaram uma coloração caracteristicamente alaranjada típica, demonstrando ação protetora sobre o β -caroteno. Assim pode-se considerar que a *C. canadensis* possui toxicidade frente *A. salina* e atividade antioxidante, sugerindo estudos químicos e biológicos posteriores a fim de identificar os metabólitos secundários presentes na planta responsáveis por essas ações biológicas.

Palavras-chave: Buva. Fitoquímica, Plantas daninhas, Atividades biológicas.

SUMÁRIO

1. Introdução	7
2. Fundamentação teórica	7
2.1 Família Asteraceae	7
2.2 Gênero <i>Conyza</i> - <i>Conyza canadensis</i>	9
3. Objetivos	10
3.1 Objetivo geral	10
3.2 Objetivos específicos	10
4. Material e Métodos	10
4.1 Coleta e identificação do material vegetal	11
4.2 Obtenção e partição do extrato etanólico bruto das folhas de <i>C. canadensis</i>	11
4.3 Screening fitoquímico - Testes analíticos	11
4.4 Ensaio de toxicidade frente <i>Artemia salina</i>	12
4.5 Ensaio de atividade antioxidante utilizando β -caroteno	12
5. Resultados e discussão	13
5.1 Screening fitoquímico - Testes analíticos	13
5.2 Ensaio biológicos	17
5.2.1 Ensaio de toxicidade frente <i>Artemia salina</i>	17
5.2.2 Ensaio de atividade antioxidante utilizando β -caroteno	18
6. Conclusões	19
7. Referências	20

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais, que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas, uma vez que as substâncias de origem vegetal ainda desempenham papéis importantes na medicina moderna, constituindo-se na principal fonte de medicamentos ou de substâncias, que podem servir de modelos para preparação de análogos mais eficazes (NEWMAN e CRAGG, 2009; NEWMAN, CRAGG e SNADER, 2003; HOSTETTMANN, QUEIROS e VIEIRA, 2003).

Dentro deste contexto, pesquisas são desenvolvidas em muitas universidades no Brasil e no mundo. Na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, mais especificamente na Unidade Universitária de Mundo Novo são desenvolvidas pesquisas nesta área, os estudos realizados visam analisar plantas com potencialidades farmacológicas e terapêuticas, no intuito de identificar, caracterizar e isolar os metabólitos secundários bioativos. Após a identificação de substâncias que compõem os extratos brutos, estes são submetidos à ensaios biológicos visando identificar atividades e nível de toxicidade geral, citotoxicidade, genotoxicidade e atividade antioxidante, para tais análises são realizados teste com larvas de *Artemia salina* e *Drosophila melanogaster* além do teste de atividade antioxidante com β -caroteno.

Estes estudos são realizados com espécies pertencentes a famílias selecionadas, como Asteraceae, Celastraceae e Lauraceae devido ao fato de que muitas das plantas pertencentes a estas famílias serem ricas em metabólitos secundários muitos deles bioativos. Assim, foi selecionado para o presente trabalho, com a proposta de realizar a análise fitoquímica e avaliação das atividades biológicas, um espécime de *Conyza canadensis* (Asteraceae) conhecida como buva, que ocorre na região de Mundo Novo/MS. Pretendeu-se com este trabalho contribuir para o conhecimento da composição química, bem como, da atividade tóxica e antioxidante da espécie estudada e fornecer dados para pesquisas futuras nesta área.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FAMÍLIA ASTERACEAE

A família Asteraceae compreende cerca de 1.600 gêneros, com aproximadamente 25.000 espécies. Possui ampla distribuição geográfica, portanto são cosmopolitas, é bem representada em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (BREMER, 1994; JOLY, 1998). Também são muito abundantes nas regiões montanhosas. Esta família consiste na sua maior

parte de ervas, mas também incluem algumas árvores de lenha e arbustos (MONDIN, 2006; HEYWOOD, 1993). No Brasil a família esta representada por, aproximadamente, 190 gêneros e cerca de 1900 espécies, sendo bastante expressiva na flora do Cerrado brasileiro, com 540 espécies registradas (BARROSO, 1991).

O nome da família deriva da estrutura característica das plantas que compõem este clado, a inflorescência em capítulos florais. (BUKART, 1974; CRONQUIST, 1981; JOLY, 1998). A inflorescência das Asteraceas é o capítulo, que é composto de um receptáculo comum ao qual se inserem as flores, rodeadas por brácteas especializadas, as brácteas involucrais (CABRERA, 1963). Considera-se que o tipo de flor mais primitivo é a flor hermafrodita com corola tubulosa, pentadentada ou pentalobada no limbo, sendo que este é o tipo de flor que se encontra na parte interior dos capítulos da maioria das espécies de Asteraceae (CABRERA, 1963).

A ecológica desta família contribui grandemente, uma vez que são responsáveis pela grande diversidade de espécies, favorecendo a estabilidade e sustentabilidade produtiva das vegetações em áreas secas do mundo, tais como os cerrados, capoeiras, campos e semiáridos, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais (HEYWOOD, 1993).

Plantas desta família podem ser ornamentais ou daninhas, muitas de grande importância nas indústrias cosméticas, toxicológicas, alimentícias e farmacêuticas (AZEVEDO, 1999; ZOMLEFER, 1994). Um exemplo de espécie muito utilizada é a *Artemisia absinthium*, uma erva de sabor amargo conhecida popularmente como losna, com benéficas funções digestivas é usada também na fabricação da bebida absinto (JOLY, 1998).

Um outro exemplo é a *Achillea millefolium*, chamada de “mil-folhas”, utilizada há mais de 3000 anos, é empregada na medicina popular como diurética, anti-inflamatória, antiespasmódica, cicatrizante, além de tratar diarreia, hemorróidas, dispepsia, febre e como auxiliar no tratamento de gota (LORENZI, 2000; MITICH, 1990), antibacteriana, antifúngica, antitumoral e antiedematosa (CANDAN et al, 2003; SWEETMAN, 2002). *A. millefolium* também é empregada para acentuar o sabor de bebidas como vinho e cerveja, as folhas e flores são utilizadas como produtos alimentícios (TORRES e CHÁVEZ, 2001).

Em relação à composição química, já foram relatados na literatura inúmeros metabólitos secundários isolados de plantas desta família, como os flavonoides, com reconhecida importância para a medicina, usados no tratamento e prevenção de várias doenças (FAVILA, 2006; HARBORNE e WILLANS, 2000). Larga ocorrência de lactonas sesquiterpênicas é a característica química mais marcante da família. São conhecidas mais de 2500 lactonas, a maioria isoladas de Asteraceae. Muitas lactonas apresentam atividades

antitumorais, mas nenhuma com emprego clínico. Apresentam também atividade antibacteriana, antifúngica, anti-helmíntica, anti-inflamatória e antipirética (RIVERO et al., 2002). Outros compostos que podem ser encontrados são os poliacetilenos, alcaloides, monoterpenos e vários fenóis semelhantes aos flavonoides, além de óleos essenciais e terpenos (BORK et al., 1997).

2.2 GÊNERO *Conyza* - *Conyza canadensis*

Inserido na família Asteraceae, o gênero *Conyza* está presente em áreas tropicais e subtropicais (NESOM e ROBINSON, 2007; KISSMANN e GROTH, 1999). Das aproximadamente 100 espécies existentes no gênero, apenas 14 são comprovadas no Brasil, sendo ervas daninhas, das quais as que mais se destacam por seu caráter negativo são *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* (KISSMANN e GROTH, 1999) em alguns lugares há uma terceira espécie a *Conyza sumatrensis* com grande importância agrônômica como planta daninha (SANTOS et al., 2013). São plantas extremamente prolíficas, devido a presença de grande número de sementes leves, por não possuir quebra de dormência e por ser de fácil dispersão (WU e WALKER, 2004; BHOWMIK e BEKECH, 1993; DAUER et al., 2007; HOLM et al., 1997).

Das espécies, *C. canadensis* (Figura 1), é a mais difundida no mundo, podendo ser encontrada em terrenos baldios, margens de estradas, pastagens, campos nativos e lavouras de culturas anuais (THEBAUD e ABBOTT, 1995; KISSMANN e GROTH, 1999).

Figura 1. *C. Canadensis*.
Mallmann, 2012



Na medicina popular é utilizada para tratar reumatismo, gota, cistite, nefrites, dismenorréia, dor de dente, dor de cabeça (ASONGALEM et al., 2004), úlceras estomacais, anti-helmíntica, digestiva e diurética (PACCIARONI et al., 2000), anti-hemorroidal, leucemia e anemia (LOPES, 2000), atividades biológicas do gênero, como ação nematicida, antifúngica, antibacteriana, fibrinolítica, antinoceptiva e antidiarréica (DOMINGUEZ et al., 1972).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente projeto tem como objetivo realizar o estudo fitoquímico e avaliar as atividades biológicas das folhas de um espécime de *Conyza canadensis*.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar testes analíticos qualitativos, através de screening fitoquímico para identificar os principais grupos orgânicos presentes no extrato etanólico bruto obtido das folhas e nas frações derivadas da partição do extrato.
- Realizar ensaios de atividades biológicas de toxicidade para *Artemia salina* e atividade antioxidante com β -caroteno o extrato e as frações oriundas da partição.

4. MATERIAL E MÉTODOS

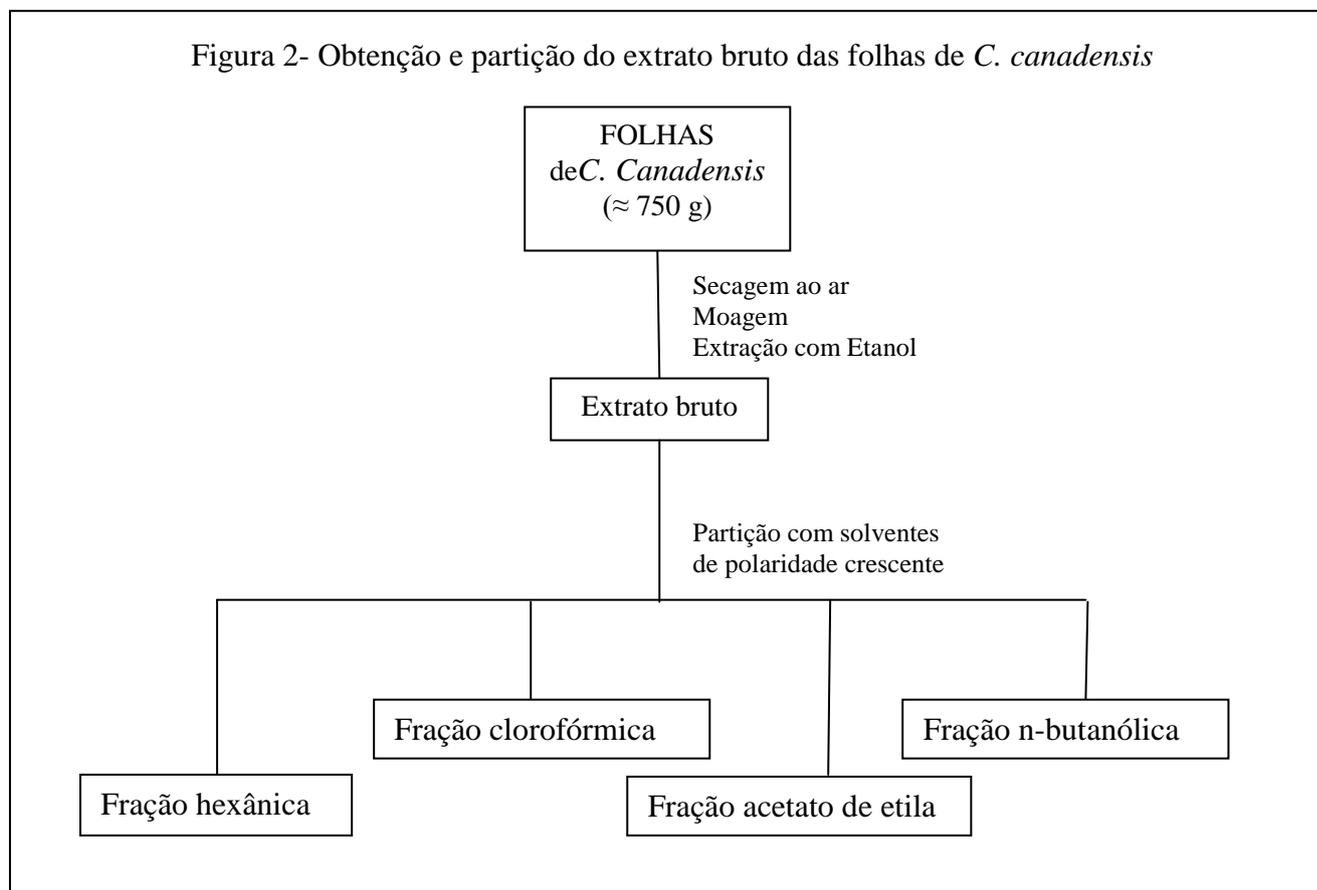
4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal (folhas aproximadamente 750 g) foi coletado, de forma aleatória em área urbana, da cidade de Mundo Novo/MS. A confirmação da espécie foi realizada pela pesquisadora da área de botânica da Unidade Universitária de Mundo Novo/UEMS, Profa. MSc. Claudia Universal Neves Batista Deinzer Duarte.

4.2 OBTENÇÃO E PARTIÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE *C. Canadensis*

As folhas foram submetidas à secagem ao ar, moídas e extraídas exaustivamente com etanol, a frio. O extrato resultante foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório, disponível na Unidade Universitária de Naviraí/UEMS, sob pressão reduzida até consistência xaroposa e posteriormente particionado com solventes de polaridade crescente (hexano,

clorofórmio, acetato de etila e n-butanol) (Figura 2). O extrato etanólico bruto, as frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila, e n-butanólica resultantes das partições foram então submetidas aos testes analíticos qualitativos (screening fitoquímico) e ao bioensaio de toxicidade frente *Artemia salina* e de atividade antioxidante com revelador de β -caroteno.



4.3 SCREENING FITOQUÍMICO - Testes analíticos

A triagem fitoquímica preliminar para detecção das principais classes de metabólitos secundários consiste em reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias (SIMÕES et al., 2004). No presente trabalho, esta triagem foi realizada primeiramente com o extrato bruto, e posteriormente com cada uma das fases oriundas da partição do mesmo.

Para realizar-se os testes analíticos foram utilizados os reativos de Bouchardat, Dragendorff, Bertrand e Mayer, os reativos de Baljet e de Kedde e reações de Keller-Kiliani, Liebermann-Burchard, hidróxido de sódio, a reação Shinoda, cloreto férrico, solução de HCl, solução de metanol, a reação de Liebermann-Burchard, a reação de Bornträger, os reagentes cloridrato de hidroxilamina e cloreto férrico, peróxido de hidrogênio, o reativo de Fehling, o

reagente Lugol, as reações de Molish e de Ninhidrina, reativo de Páscová, vanilina e ainda cloreto férrico.

4.4 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade para *A. salina* foi realizado de acordo com a técnica descrita na literatura (MCLAUGHLIN, 2008; MEYER, 1982).

Inicialmente foi preparado 1 litro de solução de sal marinho (38g/L) para incubação dos ovos de *A. salina*, que foram expostos à luz artificial (lâmpada incandescente de 100 watts) durante 48 horas para a eclosão das larvas. Para efetuar o ensaio, foram colocados, em triplicata, dez exemplares de náuplios em poços contendo 5mL de solução salina, com os extratos nas concentrações de 500, 250, 100 e 50 $\mu\text{g/mL}$. Um grupo controle também foi preparado nas mesmas condições sem a presença dos extratos. Os poços foram mantidos sob luz artificial e temperatura ambiente por um período de 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem do número de náuplios sobreviventes do grupo controle e dos grupos expostos aos extratos. Com base nos dados obtidos, estimou-se para cada extrato a $DL_{50\%}$ através do método de Análise de Probitos (FINNEY, 1971), com 95% de intervalo de confiança, usando software BioStat 2009. Foram testados nesse ensaio o extrato etanólico bruto das folhas de *C. Canadensis* e as quatro frações oriundas da partição desse extrato.

4.5 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE UTILIZANDO β -CAROTENO

O ensaio de atividade antioxidante utilizando como revelador β -caroteno foi executado de acordo com a metodologia descrita na literatura (PRATT e MILLER, 1984). Esta técnica apresenta muitas vantagens como fácil execução e compreensão, simplicidade, versatilidade e baixo custo (ZERAİK e YARIWAKE, 2008).

Neste ensaio o extrato bruto e as frações oriundas da partição do extrato foram depositados em placa de cromatografia em camada delgada de sílica gel e realizou-se a separação com um sistema de solvente apropriado. Após a secagem, o cromatograma foi vaporizado com uma solução de β -caroteno (0,05% em diclorometano). Em seguida a placa foi colocada sob luz natural até o fundo tornar-se descolorido. As substâncias com atividades anti radicais livres puderam ser observadas na forma de manchas amareladas sobre o fundo branco (PRATT e MILLER, 1984).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SCREENING FITOQUÍMICO - TESTES ANALÍTICOS

Após a preparação do extrato bruto etanólico e a realização da partição, foi possível passar a execução dos testes analíticos visando identificar as classes de metabólitos secundários presentes em *C. canadensis*, dentre os investigados, foi confirmada a presença de taninos condensados, glucosídeos, triterpenos e/ou esteroides, proteínas e aminoácidos, ácidos orgânicos, depsídeos e depsidonas, Cumarinas voláteis, flavonoides, saponinas, antraquinonas, distribuídos no extrato bruto e nas frações, sendo que taninos condensados, glucosídeos, triterpenos e/ou esteroides, proteínas e aminoácidos, ácidos orgânicos, depsídeos e depsidonas merecem destaque pois estão presentes em todas as amostras, já as antraquinonas merecem destaque justamente por estar presente em apenas uma fração estando inclusive ausente no extrato bruto. (Tabela 1).

A presença dos metabólitos secundários se deu por alteração de cor e ou precipitado. Para taninos condensados foi constatada nos testes na observação da cor verde escuro nas amostras usando o reagente cloreto férrico. A classe de glucosídeos cardiotônicos pela formação de um precipitado de cor laranja para o teste com o reativo de Baljet, precipitado de cor verde para o reativo de Liebermann-Burchard e ainda formação de um precipitado de cor amarelo para o teste com o reativo de Salkowski. Na análise de triterpenos e/ou esteroides observou-se na reação uma sucessão de cores, do azul evanescente seguido de verde persistente confirmando a presença desse tipo de composto. Quanto aos ácidos orgânicos sua presença foi comprovada por descolorarem o reativo de Páscová. As proteínas e aminoácido no teste de Molish, observou-se um anel violáceo entre as duas fases. Para identificação dos depsídios e depsidonas houve mudança de coloração usando cloreto férrico. O resultado positivo para cumarinas voláteis foi obtido através da fluorescência sob luz UV das amostras. No teste analítico de flavonoides foi possível observar a variação de cores de rosa a verde. A identificação das saponinas se deu através da observação da formação de espuma. A identificação das antraquinonas se deu pela reação de Borntraeger que consiste na alteração da coloração de uma solução de extrato com NaOH a 5%, para uma coloração roxa.

Tabela 1. Classe dos metabólitos secundários presentes no extrato bruto e nas fases oriundas da partição do mesmo extrato bruto etanólico proveniente das folhas de *C.canadensis* e os respectivos valores de DL₅₀ (µg/mL) com 95% de confiança. Resultados do teste de atividade antioxidante.

Classe de Metabólitos secundários	Extrato etanólico bruto	Fase Hexano	Fase Clorofórmio	Fase Acetato de Etila	Fase n-butanol
Taninos condensados	+++	+++	+++	+++	+++
Glucosídeos	++	+++	+	++	+
Triterpenos e/ou esteroides	+++	++	++	+	+++
Proteínas e aminoácidos	+++	++	+	+++	+++
Ácidos orgânicos	++	+++	+++	++	+++
Depsídeos e depsidonas	+++	+++	++	+++	+++
Cumarinas voláteis	++	-	-	++	+++
Flavonoides	++	++	-	+++	-
Saponinas	+++	+++	+++	+++	-
Antraquinonas	-	-	+++	-	-
Açucares redutores	-	-	-	-	-
Sesquiterperlactonas e lactonas	-	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-
Purinas	-	-	-	-	-
Polissacarídeos	-	-	-	-	-
Catequinas	-	-	-	-	-
Toxicidade para <i>A. salina</i>	124,43	123,18	171,63	350,2	415,06
Teste de atividade antioxidante	+++	++	+	+	++

+ + + fortemente positivo, + + moderadamente positivo, + fracamente positivo, - negativo.

A grande diversidade de metabolitos secundários identificadas nas folhas de *C. canadensis* pode ser justificada pelo fato das folhas utilizadas, terem sido coletadas em ambiente urbano na cidade de Mundo Novo/MS e segundo Bulbovas et. al., (2005) essas condições podem gerar estresse oxidativo nas plantas, como já prediz a teoria ecológica: “alto nível de “stress” ambiental e intensas interações com outros organismos aumenta a diversidade de compostos orgânicos das plantas” (DREYFUSS e CHAPELA, 1994). E ao se falar em grupos orgânicos, o que corrobora com os pressupostos propostos por Mariot e

Barbieri, (2007), visto que é de grande importância nesta área de pesquisa, a observação de grande diversidade química dos compostos orgânicos, encontrados nos produtos naturais (TREVISAN et al., 2003).

Segundo Cronquist (1981), as espécies da família Asteraceae armazenam carboidratos do tipo inulina, produzem poliacetilenos e óleos aromáticos terpênicos, normalmente apresentam lactonas sesquiterpênicas. Schultes e Raffauf (1990) relatam que essa família é rica em constituintes bioativos, incluindo alcalóides, sesqui e diterpenoides, óleos essenciais, triterpenos, saponinas, esteróis, carotenoides, acetilenos, polienos, tiofenóis, amidas, flavonóides e várias outras classes de substâncias. Há ainda alguns outros metabólitos isolados a partir de espécies pertencentes ao mesmo gênero que a *C. canadensis*, como óleos voláteis, flavonoides, saponinas e terpenos, principalmente terpenoides do tipo labdano, clerodano, seco-clerodano, monoterpênicos, sesquiterpenos, compostos poliacetilênicos e alicíclicos (GALAL et al., 1998). Tais considerações são importantes, pois, corroboram com os resultados obtidos na triagem preliminar realizada em *C. Canadensis* (tabela 1).

A partir de uma análise das classes de metabolitos encontrados em *C. canadensis*, pode-se pressupor uma possível relação entre a utilização popular da planta em determinados tratamentos e os resultados obtidos. Os taninos são usados no tratamento de úlceras estomacais e dor de dente, uma vez complexados com proteínas, protege a mucosa do estômago no tratamento de úlcera péptica e bloqueia a formação da placa dental através da inibição da glicosiltransferase, produzida por bactérias bucais (GONZALES et al., 2001), também é antiinflamatório e cicatrizante (MARIOT e BARBIERI, 2007).

Compostos glucosídeos identificados contêm moléculas de carboidratos, e os cardiotônicos são caracterizados pela alta especificidade e poderosa ação que exercem no músculo cardíaco (BARBOSA et al., 2008), biossintetizados em sua maior parte por vegetais, são usados na medicina para o tratamento da insuficiência cardíaca, (DEWIK, 2002). Já os triterpenos pertencem à classe dos terpenos e são utilizados como cicatrizante em queimaduras e queloides, para insuficiência venosa crônica e se destacam por sua vasta aplicação farmacêutica e complexidade estrutural (CRAKER, 1990; FIGUEIREDO, 1992).

Na planta os ácidos orgânicos são usados para regular o pH das células e produzir substâncias complexas. Assim como açúcares redutores a presença destes compostos é comum em plantas.

Existem muitas depsidonas, isoladas de líquens e plantas superiores (XU et al., 2000), que atuam na inibição de atividade enzimática (HAMANO et al., 1992), possuem

atividades antimicrobacteriana, antiinflamatória, analgésica, antitumoral, citotóxica e antiviral (ITO et al., 2001; NEAMATI et al., 1997; PERMANA et al., 2001).

As cumarinas, derivados do ácido cinâmico são amplamente distribuídos no reino vegetal e são encontradas em fungos e bactérias. A elas é atribuída uma grande variedade de atividades biológicas, como ação antimicrobiana, antiviral, antiinflamatória, antiespasmódica, carcinogênicas antitumoral e antioxidante, dentre outras, as quais podem estar relacionadas com a inibição de enzimas e com a sua capacidade de suprimir espécies ativas de oxigênio (EAO) (HOULT e PAYA, 1996; LEE et al., 1994; BECKER et al., 1993; ROBERTS et al., 1965).

Os flavonoides são polifenólicos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides e do acetato, precursores de aminoácidos alifáticos, terpenoides, ácidos graxos dentre outros (DORNAS et al., 2007). São antioxidantes efetivos devido à suas propriedades sequestrantes de radicais livres e por quelar íons metálicos (HAVSTEEN, 2002).

As saponinas são heterosídeos com propriedade de saponificar compostos hidrossolúveis, e quando agitados em solução aquosa, promovem o aparecimento de espuma, pois reduzem a tensão superficial da água. Medicinalmente apresentam atividade mucolítica, expectorante, diurética, antiséptica, laxativa antimicrobiana e antiinflamatória (RATES, 2000).

As antraquinonas proporcionam aumentam a tonicidade dos músculos lisos da parede do cólon e estimulando a secreção de água e eletrólitos para o intestino grosso. Esses agentes são indicados para a constipação em pacientes que não respondem a medicamentos mais suaves além de ser amplamente usado para a evacuação antes de intervenções diagnósticas ou cirúrgicas (ROBBERS et al., 1997). Seus pigmentos naturais são utilizados como corantes (DÖRNENBURG e KNORR, 1996) além de apresentarem atividade antifúngica (AGARWAL et al., 2000).

A ausência de catequinas reforça os relatos encontrados na literatura, visto que essas substâncias não são comumente encontradas em membros dessa família, conforme relata Schultes e Raffauf (1990) e Villareal et al. (1994). Entretanto, a ausência de lactonas sesquiterpênicas na espécie mostrou-se interessante, do ponto de vista fisiológico e fitoquímico, uma vez que vários trabalhos indicam serem essas substâncias, características das plantas da família Asteraceae, sendo encontradas em muitas espécies, (BOHLMANN et al., 1980; BOHLMANN et al., 1982; SACILOTTO et al., 2002; Azevedo, 2000).

Os alcalóides, purinas, polissacarídeos, catequina não foram identificados neste estudo. O que corrobora com a literatura, visto que vários fatores podem contribuir para

achados negativos em relação a determinados grupos de metabólitos secundários. Gobbo-Neto e Lopes (2007) relatam que variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas de metabólitos secundários em plantas podem ocorrer nos níveis climáticos, sazonais e diários e, apesar da existência de controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. Muitas vezes, as variações podem ser decorrentes também do desenvolvimento foliar e/ou surgimento de novos órgãos concomitante a uma constância no conteúdo total de metabólitos secundários. Para lactonas sesquiterpênicas são relatadas variações no conteúdo devido à sazonalidade, idade, estágio de desenvolvimento da planta e intensidade de luz (PICMAN, 1986; GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Entretanto, alguns fatores podem apresentar correlações entre si e não atuam isoladamente, podendo influir em conjunto no metabolismo secundário, como desenvolvimento e sazonalidade, índice pluviométrico e sazonalidade, temperatura e altitude, entre outros (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

5.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.2.1 ENSAIO DE TOXICIDADE

O ensaio de toxicidade frente à *A. salina* é um método eficiente, relativamente rápido, economicamente viável e exige pequenas quantidades de amostras. Este bioensaio, além de determinar a toxicidade geral, apresenta uma boa correlação com atividade citotóxica em alguns tipos de células tumorais, podendo também determinar possível propriedade larvicida e tóxica contra alguns tipos de protozoários. Dessa forma, este teste pode servir como indicador de compostos bioativos para atividades antineoplásica, antimalárica, tripanossomicida e inseticida (MCLAUGHLIN et al., 1993; PARRA et al., 2001).

Segundo Meyer et al (1982) existe uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média, DL_{50} , apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima 1000 $\mu\text{g/mL}$, estes, são considerados atóxicos. Desta forma os resultados obtidos no ensaio com *A. salina* indicam que o extrato etanólico bruto e as frações oriundas da partição deste extrato são potencialmente tóxicos, uma vez que foram encontrados valores de DL_{50} menores que 1000 $\mu\text{g/mL}$ variando entre 123,18 $\mu\text{g/mL}$, a 415,06 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 1).

Os resultados encontrados sugerem que a considerável toxicidade possa estar relacionada com a presença de compostos comprovadamente tóxicos presentes no extrato e

frações de *C. Canadensis*, tal como, certos tipos de compostos pertencentes à classe dos esteroides, flavonoides, saponinas e taninos (LIMA et al., 2009). Segundo Cuadra et al., (2005) e Pimenta et al. (2003), plantas ricas em flavonoides têm demonstrado ação tóxica frente a larvas de *A. salina*. Padmajaet al., (2002), avaliando plantas indianas, demonstrou que outros metabólitos, como taninos e esteroides, podem apresentar essa mesma ação tóxica, com valores baixos de DL₅₀.

5.2.2 ENSAIO ANTIOXIDANTE UTILIZANDO β -CAROTENO

O ensaio químico preliminar de determinação da atividade antioxidante utilizado neste trabalho apresenta boa reprodutibilidade para a pesquisa de novos compostos captadores de radicais livres e sugerem outros estudos visando à constatação do potencial antioxidante da planta (NUNES et al., 2008; MORAIS et al., 2009). Já é de conhecimento de todos que os radicais de oxigênio (radicais hidroxila e peroxila) e o ânion superóxido têm um papel importante nas reações bioquímico-fisiológicas do corpo humano. Mas existe um fator preocupante, pois se houver produção excessiva de radicais de oxigênio durante os processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais adversos e não existirem antioxidantes disponíveis *in vivo*, podem ocorrer doenças e danos profundos em tecidos (MOLYNEUX, 2004; HUANG e PRIOR, 2005).

Em função dos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, sendo principalmente, as doenças do aparelho circulatório, diabetes e neoplasias (POLÔNIO e PERES, 2009), as pesquisas têm-se voltado no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associação entre eles (SOUZA et al, 2007).

Já existem relatos literários da ação antioxidante de alguns compostos como os fenólicos tais como fenóis simples, polifenólicos (glicídeos, ésteres, catequinas, taninos condensados e hidrolisáveis, cumarinas, flavonoides e ácidos fenólicos derivados dos ácidos benzóico e cinâmico) e de diterpenos fenólicos, que são incluídos na categoria de bloqueadores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação (SOUZA et al., 2007; HOTTA et al., 2002).

De acordo com Wiseman e Halliwell (1996), proteção de antioxidantes naturais em frutas e vegetais estão relacionados a grandes grupos, como ácido ascóric, ácidoelágico e resveratrol. Apresentando ação antioxidante também pode-se citar os tocoferóis, estilbenos, lignanas e ligninas (NACZK et al., 2004), diterpenos lactônicos derivados do ácido

carosico (MARKOVIC et al., 1996), antocianinas, carotenoides (β -caroteno e licopeno) e glucosídeos (KOSINA et al., 2002).

Avaliados por autografia com β -caroteno, o extrato bruto e frações de *C. canadensis*, apresentaram uma coloração alaranjada típica, demonstrando ação protetora sobre o β -caroteno, sugerindo potencial antioxidante. Acredita-se que essa ação está diretamente ligada a presença de grupos orgânicos encontrados na planta durante teste fitoquímico como taninos, glucosídeos, flavonoides, triterpenos, ácidos orgânicos e cumarinas uma vez já relatada sua atividade antioxidante em outras literaturas.

6. CONCLUSÕES

Os testes analíticos preliminares realizados neste trabalho indicaram a presença de taninos condensados, glucosídeos, triterpenos e/ou esteróides, proteínas e aminoácidos, ácidos orgânicos, depsídeos e depsidonas, cumarinas voláteis, flavonóides, saponinas, antraquinonas, nas folhas de *C. canadensis*, a qual mostrou toxicidade frente às larvas de *Artemia salina* e ação antioxidante no ensaio com β -caroteno.

Através dos testes analíticos qualitativos realizados pode-se entender que o uso medicinal de *C. canadensis* pela população local pode estar relacionado aos tipos de metabólitos secundários encontrados nas folhas. A maioria dos metabólitos encontrados em *C. canadensis* tem algumas de suas principais atividades farmacológicas já citadas na literatura, porém para compreender melhor seu significado e aplicação, faz-se necessário o isolamento de cada um dos compostos encontrados na planta em questão e investigar seu mecanismo de ação no organismo humano.

O bioensaio utilizando *A. salina* indicou que tanto o extrato bruto etanólico quanto as frações provenientes da partição apresentam potencial citotóxico, sugerindo que poderiam apresentar ação antitumoral. No teste de atividade antioxidante com β -caroteno o extrato etanólico bruto e as frações particionadas revelaram potencial antioxidante sugerindo estudos mais específicos a fim de identificar as substâncias presentes nas folhas de *C. canadensis* que contribuem para essas ações biológicas.

7. REFERÊNCIAS

AGARWAL, S.; RAO, A. V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **CMAJ Medical Knowledge that Matters**: Canada. 2000. Vol. 163. No. 6. PP. 739 – 744.

ASONGALEM, E. A. FOYET, H. S, NGOGANG, J.; FOLEFOC, G. N.; DIMO, T.; KAMTCHOUING, P. Analgesic and antiinflammatory activities of *Erigeron floribundus*. **Journal of Ethnopharmacology**: Yaounde / Cameroon, 2004. Vol. 91, No. 2 - 3, PP. 301-308. .

AZEVEDO, A. S. **Caracterização anatômica e análise do óleo essencial de *Conyzabonariensis* (L.) Cronquist (Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado - Área de concentração em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa: Viçosa. 1999. Pag. 67.

BARBOSA FILHO, J. M.; CUNHA, R. M.; DIAS, C. S.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; MEDEIROS, I. A. Analysis and cardiovascular activity of the essential oil of *Ocotea duckei*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*: João Pessoa. 2008. Vol. 18. No. 1. PP. 37 - 41.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa / Minas Gerais: Imprensa Universitária da Uni. Federal de Viçosa. 1991. Vol. 3. Pag. 377.

BECKER, R. S.; CHAKRAVORTI, S.; GARTER, C. A. J. Photosensitizers: comprehensive photophysics/photochemistry and theory of coumarins, chromones, their homologues and thione analogues. **Chem. Soc. Faraday Trans**: Piccadilly / London 1993. Vol. 89. No. 7. PP. 1007 - 1019.

BHOWMIK, P. C.; BEKECH, N. N. Horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence, and distribution in no-till and conventional-tillage corn (*Zea mays*). **Agronomy (Trends in Agricultural Sciences)**: Florida. 1993. Vol. 1, No. 2. PP. 67 - 71.

BOHLMANN F.; SINGH P.; ZDERO, C.; RUHE A.; KING R. M.; ROBINSON H. Furanoheliangolides from two *Eremanthus* species and from *Chresta sphaerocephala*. **Phytochemistry**: Washington / U.S.A. 1982. Vol. 21. No. 7. PP. 1669 - 1673.

BOHLMANN F.; SINGH P.; ZDERO, C.; RUHE A.; KING R. M.; ROBINSON H. Furanoheliangolides from two *Eremanthus* species and from *Chresta sphaerocephala*. **Phytochemistry**: Washington / U.S.A. 1982. Vol. 21. No. 7. PP. 1669 - 1673.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M.; HAROLD R. Sesquiterpene lactones from *Eremanthus* species. **Phytochemistry**: Washington / U.S.A. 1980. Vol. 19. No. 12. PP. 2663 - 2668.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M.; HAROLD R. Sesquiterpene lactones from *Eremanthus* species. **Phytochemistry**: Washington / U.S.A. 1980. Vol. 19. No. 12. PP. 2663 - 2668.

BORK, P. M.; M. L. SCHMITZ, M. KUHNT, C. ESCHER, M., HEINRICH. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor (NF-kB). **FEBS Letters**: Freiburg / Alemanha. 1997. Vol. 402. No. 1. PP. 85 - 90.

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

BULBOVAS P.; RINALDI M.C.S.; DELITTI W.B.C.; DOMINGOS M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Revista Brasileira Botânica**: São Paulo. 2005. Vol. 28. No. 4. PP. 687 - 696.

- BURKART, A. **Flora Ilustrada de Entre Rios (Argentina)**. Tomo VI, parte 6. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA): Buenos Aires. 1974. Pag. 627.
- CABRERA, A.L. Flora de la provincia de Buenos Aires. Tomo IV, parte 6. **Colección Científica del I.N.T.A.**, Buenos Aires, 1963. Pag. 443.
- CANDAN, F.; UNLU, M.; TEPE, B.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A.; AKPULAT, H.A. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extract of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**. 2003. Vol. 83. PP. 215 – 220.
- CRAKER, L. E. **Herb and volatile oils**. The Herb Spice and Medicinal Plant Digest, Beltsville, Md, 1990, Vol. 8, No. 04, PP. 1-5.
- CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. 1981. New York: Colombia University Press. Pag. 1262.
- CUADRA, P.; FURRIANCA, M.; URRIANCA, M.; OYARZÚN, A.; YÁÑEZ, E.; GALLARDO, A.; FAJARDO, V. Biological activity of some Patagonian plants. **Fitoterapia: Punta Arenas / Chile**. 2005. Vol. 76. No. 7 – 8. PP. 718 – 721.
- DAUER, J.T.; MORTENSEN, D.A. & VANGESSEL, M.J., Temporal and spatial dynamics of long-distance *Conyzacanadensis* seed dispersal. **Journal of Applied Ecology**, Londres, Vol. 44, No.1, PP. 105–114, 2007.
- DEWIK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2ª ed. Chichester, John Wiley & Sons, 2002. Pag. 515.
- DOMINGUEZ, X. A.; QUINTERO G.; BUTRUILLE, D. Triterpenoids and triacontane from *Conyza filaginoides*. **Phytochemistry**. 1972. Vol. 11. No. 5. PP. 1855 - 1856.
- DORNAS W. C.; OLIVEIRA T. T.; RODRIGUES R. G.; SANTOS A. F.; NAGEM T. J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista Ciência Farmacêuticas Básica e Aplicada**: São Paulo. 2007. Vol. 28. No. 3. PP. 241 – 249.
- DORNENBURG, H.; KNORR, D. Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. **Critical Reviews in Plant Science**: The online platform for Taylor & Francis Group content. Vol. 15. No. 2. 1996. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/07352689.1996.10393184#.Uhv0FNL3O28>>. Acesso em: 26/07/2013.
- DREYFUSS, M. M; CHAPELA, I. H. Potential of fungi in the discovery of novel low-molecular weight pharmaceuticals. In: GULLO, V. P. **The discovery of natural products with therapeutic potential**. Boston: Butterworth-Heinemann, 1994. Cap. 3. P. 49 – 80.
- FAVILA, M. A. C. **Estudo químico e biológico de Conyzabonariensis (L.) Cronquist (ASTERACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 2006. Pag. 106.
- FIGUEIREDO, A.C. **Achillea millefolium; Produção de metabólitos secundários in vitro e em vivo**. Tese de doutorado. Lisboa: Universidade de Lisboa. 1992.
- FINNEY, D. J. **Probit Analysis**. 3 ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1971. Pag. 333.

GALAL, A. M.; ABDEL-SATTAR, E.; EL-FERALY, F. S.; MOSSA J. S.; MESELHY, M. R.; KADOTA S.; NAMBA, T. Diterpene acids from *Conyza incana*. **Phytochemistry**. 1998. Vol. 48. No. 1. P. 159 - 163.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**: Ribeirão Preto – SP / Brasil 2007. Vol. 30. No. 2. PP. 374 – 381.

GONZALES, F.G. et al. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenusaquifolium*, *Soroceabomplandii* and *Zolerniailicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.77, p.41-7, 2001.

HAMANO K, KINOSHITA-OKAMI M, HEMMI A, SATO A, HISAMOTO M, MATSUDA K, YODA K, HARUYAMA H, HOSOYA T, TANZAWA K. **Folipastatin, a new depsidone compound from *Aspergillus unguis* as an inhibitor of phospholipase A2. Taxonomy, fermentation, isolation, structure determination and biological properties.** The Journal of antibiotics.1992, Vol.45, No. 8. PP. 1195-1201.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since.**Phytochemistry**. 2000. Vol. 55. No. 6. PP. 481 - 504.

HAVSTEEN, B. N. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacol. Therapeut**: Olshausenstrasse / Germany. 2002. Vol. 96. PP. 67 - 202,
HEYWOOD, V. H.; CANTO, S. R. **Flowering plants of the world**. 2 ed. New York: Oxford University Press. 1993.

HOLM, L.; DOLL, J.; HOLM, E.; PANCHO, J.; HERBERGER, J. **World Weeds: Natural Histories and Distribution**. New York, USA: John Wiley & Sons, 1997. Pag. 1129 .

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Série de textos da Escola de Verão em Química: Princípios Ativos de Plantas Superiores**. 1º ed. São Carlos: EdUFSCar. 2003. Vol. 4.

HOTTA, H.; NAGANO, S.; UEDA, M.; TSUJINO, Y.; KOYAMA, J.; OSAKAI, T.; Higher radical scavenging activities of polyphenolic antioxidants can be ascribed to chemical reactions following their oxidation. **Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects**: Japão. 2002. Vol. 1572. No. 1. PP.123 – 132.

HOULT, J.R.S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**: London. 1996. Vol. 27. No. 4. PP. 713 – 722.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem**: Little Rock, Arkansas. 2005. Vol. 53. No. 6. PP. 1841 – 1856.

ITO, C. ITOIGAWA, M.; MISHINA, Y. ; TOMIYASU, H.; LITAUDON, M.; COSSON, J.; MUKAINAKA, T. TOKUDA, H. NISHINO, H.; FURUKAWA, H. Cancer chemopreventive agents. New depsidones from *Garcinia* plants. **Journal of natural products**: Nagoya, Japan. 2001, Vol. 64, No. 2, PP. 147-150.

JOLY, A. B. **Botânica - Introdução à taxonomia vegetal**. 12 ed. São Paulo, Editora Nacional. 1998. Pag. 777.

- KISSMAN, K. G.; GROTH, D. **Plantas Infestantes e Nocivas - Tomo II**. 2 ed. São Paulo: BASF. 1999. Vol. 2,
- KOSINA, P.; KREN, V.; GEBHARDT, R.; GRAMBAL, F.; ULRICHOVA, JWALTEROVA, D. Antioxidant properties of silybin glycosides. **Phytoterapic Research**: Olomouc / Czech Republic. 2002. Vol. 16. PP. 33 – 39.
- LEE, M.; ROLDAN, M. C.; HASKELL, M. K.; MCADAM, S. R.; HARTLEY, J. A. In vitro Photoinduced Cytotoxicity and DNA Binding Properties of Psoralen and Coumarin Conjugates of Netropsin Analogs: DNA Sequence-Directed Alkylation and Cross-Link Formation. **J. Med. Chem**: London / U. K. 1994. Vol. 37. No. 8. PP. 1208 – 1213.
- LIMA, J. M.; SILVA, C. A.; ROSA, M. B.; SANTOS, J. B.; OLIVEIRA, T. G.; SILVA, M. B. Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Planta Daninha**: Viçosa. 2009. Vol. 27. No. PP. 7 - 11.
- LOPES, A. M. V.; ÁLVARES, F. A. **Plantas Mediciniais**: Nossas Farmácias Vivas. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 1996.
- LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. FLAVONÓIDES: Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biociência & Desenvolvimento**: Brasília / DF. 2000. Vol. 3. No. 17. PP. 18 – 28.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 3ª ed. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum. 2000. Pag. 368.
- MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. Metabólitos secundários e propriedades medicinais da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *M. aquifolium* Mart.) **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**: Botucatu. 2007. Vol. 9. No.3. PP. 89 – 99.
- MARKOVIC, D A.; DJARMATI, Z.; JANKOV, R M.; MARKOVIC, D M.; IGNJATOVIC, L M. Electrochemical behaviour of 9-ethyl ether, a diterpenelactone antioxidant isolated from sage. **Mikrochimica Acta**. 1996. Vol. 124 No. 3 – 4. PP. 219 – 26.
- MCLAUGHLIN J. L. Paw paw and cancer: Annonaceous acetogenins from discovery to commercial products. **Journal of Natural Products**: Indiana. 2008. Vol. 71. No. 7. PP. 1311 - 1321
- MCLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C. J.; SMITH, C. J. Simple bench-top bioassays (brine shrimp and potato discs) for the discovery of plant antitumor compounds: Review of recent progress. In: KING-HORN, A. D.; BALANDRIN, M. F. **Human Medicinal Agents from Plants**. Washington: American Chemical Society, 1993. PP. 112 – 134.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp - a convenient general bioassay for active-plant constituents. **Planta Medica**: West Lafayette. 1982. Vol. 45. No. 5. PP. 31 - 34.
- MITICH, L. W. Intriguing world of weeds: Yarrow – the herb of Achilles. **Weed Technology**. 1990. Vol. 4. PP. 451 – 453.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarinn J. Sci. Technol**. 2004. Vol. 26. No. 2. PP. 211 – 219.

MONDIN, C. A. . Riqueza genérica e dados biogeográficos das asteráceas brasileiras. In: MARIATH J. E. A.; SANTOS. R. P. (Org.). **Os avanços da Botânica no início do século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética: Conferências Plenárias e Simpósios do 57º Congresso Nacional de Botânica**. Porto Alegre: Sociedade Botânica do Brasil, 2006. Vol. 1. PP. 209 - 211.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **RevBrasFarmacogn**: João Pessoa. 2009. Vol. 19. No.1b. PP. 315 - 320.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J. Chromatogr. A**. 2004. Vol. 1054. No. 1 – 2. PP. 95 – 111.

NEAMATI, N.; HONG, H.; MAZUMDER, A.; WANG, S.; SUNDER, S.; NICKLAUS, M. C.; MILNE, G. W. A.; PROSKA, B.; POMMIER, Y.; J. Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: discovery of novel inhibitors through 3D database searching. *J. Med. Chem.*: Maryland, USA. 1997. Vol. 40, No. 6. PP. 942 – 951.

NELSON D. L., COX M. M. **Lehninger**: princípios de bioquímica. 3ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1009 Pag.

NESOM, G. L.; ROBINSON, H. The tribe Astereae Cass .In: KADEREIT, J. W.; JEFFREY, C. **The families and genera of vascular plants**. Berlin: Springer. Vol. 8. PP. 284 - 342. 2007.

NEWMAN D. J.; CRAGG G. M. Natural product scaffolds as leads to drugs. PubMed. London, UK, Vol. 1. No. 08, 2009. Disponível em: <<http://www.future-science.com/doi/full/10.4155/fmc.09.113>> Acesso em: 05/05/2013.

NEWMAN D. J.; CRAGG G. M.; SNADER K. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, Bethesda, Maryland, 2003, Vol. 07, No. 66, PP. 1022 – 1037. Jun. 12/2003.

NUNES, G. P.; SILVA, M. F.; RESENDE, U. M.; SIQUEIRA, J. M. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **RevBrasFarmacogn**. 2003. Vol. 13. No. 2. PP. 83 - 92.

PACCIARONI, A. D. V.; MONGELL, E.; ESPINAR, L.A.; ROMANO, A.; CICCIA, G.; SILVA, G. BioactiveConstituentsof*Conyzaalbida*. **Planta Medica**, Córdoba, Argentina, Vol. 66, No. 8 PP. 720-723. 2000.

PADMAJA, R.; ARUN, P. C.; PRASHANTH, D.; DEEPAK, M.; AMIT, A.; ANJANA, M. Brine Shrimp lethality bioassay of selected Indian medicinal plants. **Fitoterapia**: Bangalore / India.2002. Vol. 73. No. 6. PP. 508 – 510.

PARRA, L. A.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, G. I.; BUELA, I. L. Comparative study of the assay of *Artemiasalina L.* and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**: Muenchen, Germany 2001. Vol. 8. No. 5. PP. 395 – 400.

PERMANA, D.; LAJIS, N. H.; MACKKEEN, M. M.; ALI, A. M.; KITAJIMA, M.; TAKAYAMA, H. Isolation and bioactivities of constituents of the roots of *Garciniaatroviridis*. *J. Nat. Prod*: Selangor/ Malaysia. 2001. Vol. 64. No. 7. PP. 976 – 979.

- PICMAN, A. Biological activities of sesquiterpenes lactones. **Biochemical Systematics and Ecology**. 1986. Vol.14. No.3. PP. 255 – 281.
- PIMENTA, L. P. S.; PINTO, G. B.; TAKAHASHI, J. A.; SILVA, L. G. F.; BOAVENTURA, M. A. D. Biological screening of Annonaceous Brazilian Medicinal Plants using Artemiasalina (Brine Shrimp Test). **Phytomedicine**. 2003.Vol. 10. No. 2. PP. 209 – 212.
- POLÔNIO, M. L.T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro. 2009. Vol. 25. No. 8. PP. 1653 – 1666.
- PRATT, D. E.; MILLER, E. E. A flavonoid antioxidant in Spanish peanuts.**Journal of the American Oil Chemists' Society**, Vol. 61, p. 1064-1068, 1984.
- RATES, S. M. K. Heterosídeos cardioativos. In. SCHENKEL, E. P.; PETROVICK, P. R.; MELLO, J. C. P.; SIMÕES, C. M. O.; GOSMANN, G., MENTZ, L. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 2ª ed. Porto Alegre/Florianópolis; BRASIL: Editora da UFRGS/Editora da UFSC. 2000. 25; 1.
- RIVERO, S. A.; ATAHUACHIL, M.; SARAVIA, E.; LOPEZ A. Diversidad Florística Medicinal y Potencial Etnofarmacológico de Las Plantas de Los Valles Secos de Cochabamba – Bolívia. **Rev. Bol. Ecol**: Cochabamba – Bolívia. 2002. No. 12. PP. 53 – 85.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. 1997.**Farmacognosia e Farmacobiocotecnologia**. São Paulo: Editora Premier, Pag. 372.
- ROBERTS, J. D.; CASERIO, M. C. **Basic Principles of Organic Chemistry**.2ª ed. New York: W.A. Benjamin, 1965. Pag. 1025.
- SACILOTTO, A.C.B.C.; SARTORI, F.T.; VICHNEWSKI, W. Chemical constituents of *Eremanthus veadeiroensis* (Asteraceae). **Biochemical systematics and Ecology**: Ribeirão Preto, SP, Brazil. 2002. Vol.30. No. 9.PP. 897 – 900.
- SACILOTTO, A.C.B.C.; SARTORI, F.T.; VICHNEWSKI, W. Chemical constituents of *Eremanthus veadeiroensis* (Asteraceae). **Biochemical systematics and Ecology**: Ribeirão Preto, SP, Brazil. 2002. Vol.30. No. 9. PP. 897 – 900.
- SANTOS G., FRANCISCHINI A. C. , BLAINSKI E., GEMELLI A., MACHADO M.F. P. S. Aspectos da Biologia e da Germinação da Buva. In: Constantin, Oliveira JR. e Neto. **Buva: fundamentos e recomendações para o manejo**. 2ª Ed. Curitiba – PR, Omnipax, 2013. Capítulo 3, 11 – 25.
- SCHULTES, R.E.; RAFFAUF, R.F. **The healing forest**: medicinal and toxic plants of the Northwest Amazonia. Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1990. Vol. 2.Pag. 484.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia - da Planta ao Medicamento**. 5ª.ed. Porto Alegre/Florianópolis, Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2004.
- SOUZA, T. M.; SEVERI, J.A.; SILVA, V.Y.A.; SANTOS, E.; PIETRO, R.C.L.R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**. 2007. Vol. 28.No. 2. PP. 221 – 226.

SWEETMAN, S. Martindale the complete drug reference. 33^a ed. London. The Pharmaceutical Press, p.1572, 2002.

THEBAUD, C.; ABBOTT, R.J. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal of Botany**, Columbus, Vol.82, No.3, PP.360-368, 1995.

TORRES, J.M.; CHÁVEZ, A.G. Alcamidasen plantas: distribución e importância. Avance y Perspectiva. v, 20, p. 377-387, 2001.

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V.; MEENT, M. V.; RHEE, I. K.; VERPOORTE, R. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova [online]**, 2003, Vol. 26, No. 3, PP. 301-304. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v26n3/15651.pdf>>. Acesso em: 20/08/2013.

VICHNEWSKI, W.; TAKAHASHI, A. M.; NASI, A. M. T.; RODRIGUES, D. C.; GONCALVES, G.; DIAS, D. A.; LOPES, J. N. C.; GOEDKEN, V. L.; GUTIÉRREZ, A. B.; HERZ, W. Sesquiterpenelactones and other constituents from *Eremanthus seidelii*, *E. goyazensis* and *Vanillosmopsis erythropappa*. **Phytochemistry**: FL / U.S.A. 1989. Vol. 28. No.5. PP. 1444 – 1451.

VILLARREAL, M. L.; ALVAREZ, L.; ALONSO, D.; NAVARRO, V.; GARCÍA, P.; DELGADO G. Citotoxic and antimicrobial screening of selected terpenoids from Asteraceae species. **Journal of Ethnopharmacology**: Morelos / Mexico. 1994. Vol. 42. No. 1. PP. 25 – 29.

WISEMAN, H.; HALLIWELL, B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. **Biochemistry Journal**. 1996. Vol. 313 No. 1. PP. 17 – 29.

WU, H.; WALKER, S., Fleabane: Fleabane biology and control. 2004. Disponível em: <http://www.weeds.crc.org.au/documents/fleabane.pdf>, acesso em 10/10/2012.

XU, Y.; CHIANG, P.; LAI, Y.; VITTAL, J. J.; WU, X.; TAN, B. K.H.; IMIYABIR, Z.; GOH, S.; J. Depsidoses prenilados citotóxicos de *Garcinia parvifolia*. **Journal of Natural Products**. American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy. 2000, Vol. 63, No. 10, PP. 1361 – 1363. Ago, 16/08/2000.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Extração de β -caroteno de cenouras: uma proposta para disciplinas experimentais de química. **Quím. Nova [online]**: São Paulo / Brasil. 2008. Vol. 31. No.5. PP. 1259 - 1262.

ZOMLEFER, W. B. **Guide to flowering plant families**. 1994. Chapel Hill & London: Carolina, USA. Pag.430.