



Universidade Federal do Rio de Janeiro



**Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum* Martius ex Colla e
Pterocaulon alopecuroides (Lamark) De Candolle**

Cristiane Silva Silveira

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum* Martius ex Colla e *Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle

Cristiane Silva Silveira

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora Coelho Kaplan e Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes.

Rio de Janeiro

Abril de 2009

**Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum* Martius ex Colla e
Pterocaulon alopecuroides (Lamark) De Candolle**

Cristiane Silva Silveira

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora Coelho Kaplan
(Presidente da Banca)

Prof. Dr. Davyson de Lima Moreira

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster

Prof.^a Dr.^a Maria Eline Matheus

Prof. Dr. José Paz Parente

Prof.^a Dr.^a Daniela Sales Alviano

Prof. Dr. Leandro Machado Rocha
(Suplente)

Prof.^a Dr.^a Gilda Guimarães Leitão
(Suplente)

FICHA CATALOGRÁFICA

Silveira, Cristiane Silva

Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum* Martius ex Colla e *Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle / Cristiane Silva Silveira. -- Rio de Janeiro: UFRJ / NPPN, 2009.

XXVII, 200 p.: il.; 31cm.

Orientadores: Maria Auxiliadora Coelho Kaplan e Fábio de Sousa Menezes.

Tese (Doutorado) -- UFRJ, NPPN, Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, 2009.

Referências Bibliográficas: f. 178-199.

1. Asteraceae. 2. *Bidens segetum*. 3. *Pterocaulon alopecuroides*. 4. Farmacologia. 5. Fitoquímica - Tese. I. Kaplan, Maria Auxiliadora Coelho. II. Menezes, Fábio de Sousa. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, NPPN. IV. Título.

RESUMO

Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum* Martius ex Colla e *Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle

Cristiane Silva Silveira

Orientadores: Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora C. Kaplan e Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes.

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

A família Asteraceae é uma das maiores famílias existentes em Angiospermae e está amplamente distribuída em todo o mundo. Mais de 5000 espécies dessa família já foram estudadas do ponto de vista químico, resultando em cerca de 7000 substâncias isoladas, sendo muitas dessas substâncias ativas farmacologicamente. Este trabalho teve como objetivo a contribuição para o estudo químico e farmacológico das espécies *Bidens segetum* Martius ex Colla e *Pterocaulon alopecuroides* (Lam.) D.C. da família Asteraceae. Foram identificados o α -Pineno, Mirceno, Limoneno, δ -Germacreno, Ácido hexadecanóico, Hexadecanoato de etila, n-Eicosano, 6,7-Diidroxicumarina, Neofitadieno, Fitol, Linoleolato de etila, 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina, 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina, 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila, 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona, Hexadecanoato de metila, Heptadecanoato de metila, 4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido, Estigmasterol, α -Amirina, 3 α -Acetato de 12-oleanenila, Taraxasterol, Ciclotetradecano, 5-Octadeceno, 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina, Quercetina e 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina. O ensaio de atividade antioxidante realizado demonstrou intensa atividade das frações em acetato de etila das duas espécies. Nos testes de atividade antimicrobiana, nenhum dos extratos testados foi capaz de inibir as cepas utilizadas pela metodologia empregada. Nenhum dos extratos apresentou atividade significativa contra adenovírus 19 nos ensaios de atividade antiviral, porém a cumarina 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina, isolada da fração em acetato de etila de *P. alopecuroides*, foi ativa contra o vírus herpes simplex tipos 1 e 2 resistentes ao aciclovir. Ao se avaliar a atividade hipoglicemiante, todos os extratos apresentaram resultados significativos ($p < 0,05$) quando comparados com o controle. Todos os três extratos testados apresentaram intenso efeito citotóxico frente a células carcinogênicas. Esses resultados oferecem evidências de que os extratos de *B. segetum* e *P. alopecuroides* podem desempenhar papel importante nas pesquisas sobre tratamento da herpes simplex, da diabetes e do câncer.

Palavras-chave: Asteraceae, *Bidens segetum*, *Pterocaulon alopecuroides*.

Rio de Janeiro
Abril de 2009

ABSTRACT

Chemical and Pharmacological research of *Bidens segetum* Martius ex Colla and *Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle

Cristiane Silva Silveira

Orientadores: Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora C. Kaplan e Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes.

Abstract da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Pterocaulon alopecuroides (Lamark) De Candolle and *Bidens segetum* Mart. ex Colla are two species belonging to the Asteraceae family, one of the biggest families of Angiospermae. This work was undertaken to evaluate the chemical constituents and pharmacological properties of two Asteraceae species, *Pterocaulon alopecuroides* and *Bidens segetum*. These compounds were identified: α -Pinene, Mircene, Limonene, δ -Germacrene, Hexadecanoic acid, Ethyl hexadecanoate, n-Eicosane, 6,7-Dihydroxycoumarin, Neophytadiene, Phytol, Ethyl linoleolate, 5-(3'-Methyl-2',3'-epoxybutyloxy)-6,7-methylenedioxy coumarin, 5-(2',3'-Dihydroxy-3'-methylbutyl)-6,7-methylenedioxy coumarin, A'-neogammacer-22(29)-enyl 3 β -acetate, 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone, Methyl hexadecanoate, Methyl heptadecanoate, 4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide, Stigmasterol, α -Amirine, 12-Oleanen-3-yl 3 α -acetate, Taraxasterol, Ciclotetradecane, 5-Octadecene, 7-(2',3'-Dihydroxy-3'-methylbutyloxy)-6-methoxycoumarin, Quercetine and 5-(2',3'-Dihydroxy-3'-methylbutyloxy)-6,7-methylenedioxy coumarin. The antioxidant assay performed here pointed out a really high activity of the ethyl acetate extracts of *B. segetum* and *P. alopecuroides*, in a general way. None of the tested extracts showed activity on antimicrobial assays. The antiviral assay of the crude ethanol extract of *P. alopecuroides* presented inhibitory activity against the herpes simplex virus HSV-2-ACVr and the isolated 7-(2',3'-Dihydroxy-3'-methylbutyloxy)-6-methoxycoumarin showed a viral inhibitory rate almost two times bigger than the *P. alopecuroides* sample for HSV-2-ACVr. The coumarin was also active against HSV-1-ACVr. *B. segetum* and *P. alopecuroides* extracts presented significant results on hipoglicemic assays when compared with control. All the extracts evaluated for cytotoxicity assay showed a very high activity against the carcinogenic cells.

Keywords: Asteraceae, *Bidens segetum*, *Pterocaulon alopecuroides*.

Rio de Janeiro
Abril de 2009

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e iluminação que me permitiram realizar esse trabalho.

Aos meus pais, Marlene e Lailo, pelo carinho, apoio e incentivo que sempre me deram.

À minha avó, Maria Ester, pela doçura, mimos, carinho e amizade que sempre dedicou às suas netas.

À minha irmã, Luciana, pela cumplicidade de irmã e pela alegria contagiante.

À amiga e irmã Aline, pelo amor e força que sempre me salvaram nos momentos mais difíceis e pela alegria e amizade sincera que compartilhamos em todos os momentos.

Às minhas crianças queridas: Rafa, Re, Ron, Trini e Cacá, pela doação, amor e pelas brincadeiras que tornam meus dias mais leves.

Às tias Neto, Mana, Dário, Ila e Iara que me deram os primos e primas: Rodrigo, Raiana, Elaine, Libiane, Kelly, Junior, Caroline, Sabrina e Suelen.

À amiga Clarice, pela descontração, cumplicidade, entusiasmo e pela ajuda imprescindível à realização desse trabalho. A prova do seu empenho e dedicação está aqui. Parabéns!

À amiga Deborah, pelas dicas importantes, pelo abrigo nas noites de festa e pela troca de experiências.

Ao amigo Nog, pela ajuda mútua nas dificuldades e por todos os momentos divertidos que tornaram nossos dias mais leves.

Aos amigos da família Laquel: Raquel, Catharina, Sidnei, Gabriel e Amanda, por transformarem o laboratório num ambiente acolhedor capaz de espantar qualquer tristeza.

À prof. ^a Dra. Suzana Guimarães Leitão, pelo apoio e atenção em todos os momentos que precisei.

À prof.^a Dra. Gilda Guimarães Leitão, pela supervisão e ajuda indispensáveis na realização de cromatografia contra-corrente.

Ao prof. Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva, ao prof. Dr. Davyson de Lima Moreira, ao Francisco de Assis Vieira dos Santos e à Maria Cristina de Holanda Pereira Lima, pelos espectros e cromatogramas.

À prof.^a Dra. Patrícia Dias Fernandes e à prof.^a Dra. Maria Eline Matheus, pela ajuda na realização dos testes de atividade hipoglicemiante.

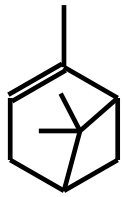
À prof.^a Dra. Celuta Sales Alviano e à prof.^a Dra. Daniela Sales Alviano, pelos testes de atividade antimicrobiana.

À prof.^a Dra. Maria Teresa Villela Romanos e à Fernanda Martins, pelos testes de atividade antiviral.

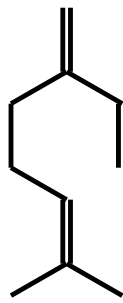
À prof.^a Dra. Helen Sheridan e à prof.^a Dra. Ingrid Hook, da School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Trinity College Dublin, pelos espectros de RMN.

E, finalmente, meu agradecimento especial aos meus orientadores prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes e prof.^a Dra. Maria Auxiliadora Coelho Kaplan, pelo incentivo e por terem compartilhado comigo suas experiências profissionais, acreditando em mim, no meu trabalho, me incentivando a cada passo, me fazendo aprender com meus erros e acertos, sempre me encorajando a continuar.

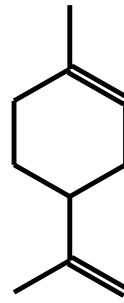
SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS EM *Bidens segetum*



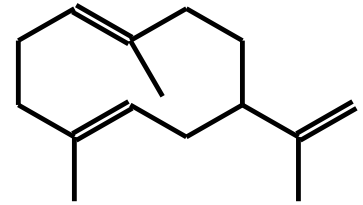
α -Pinoeno



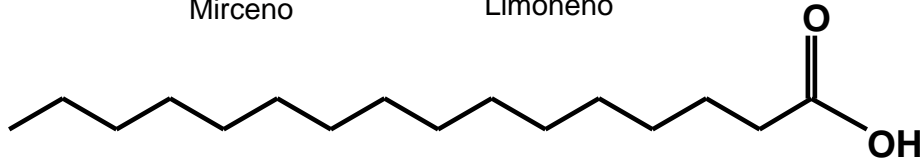
Mirceno



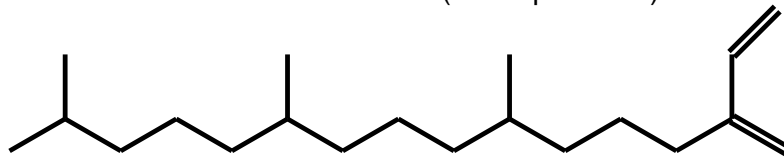
Limoneno



δ -Germacreno



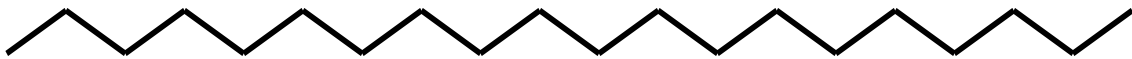
Ácido hexadecanóico (Ácido palmítico)



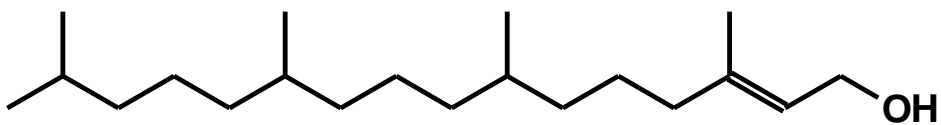
Neofitadieno



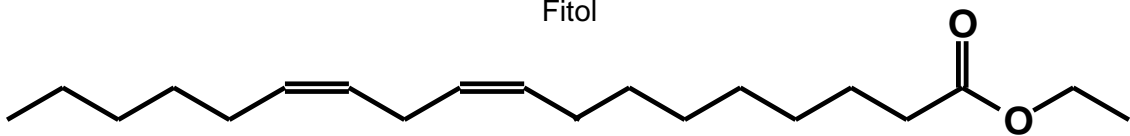
Hexadecanoato de etila (Éster etílico do Ácido palmítico)



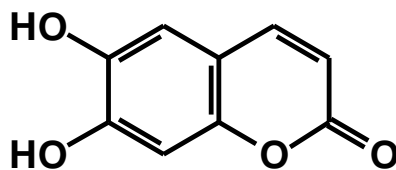
n-Eicosano



Fitol

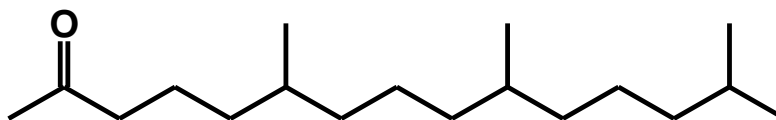


Linoleolato de etila

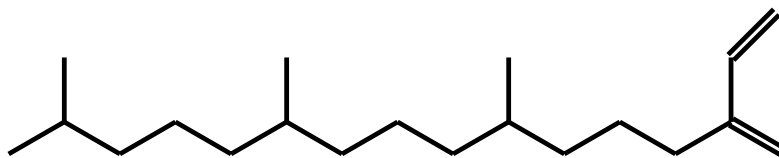


6,7-Diidroxicumarina

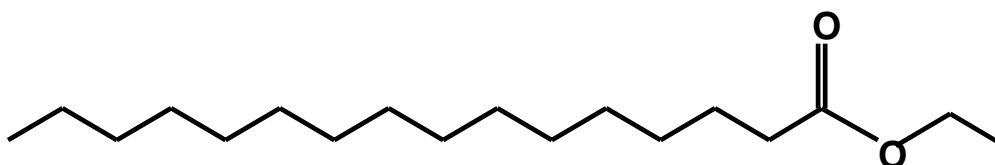
SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS EM *Pterocaulon alopecuroides*



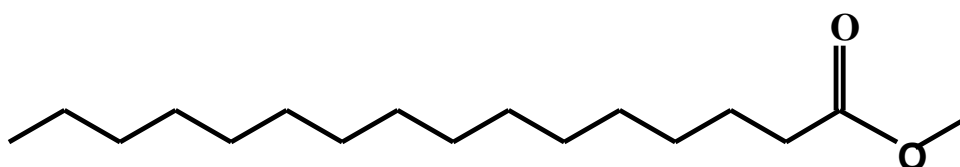
6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona



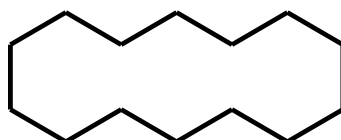
Neofitadieno



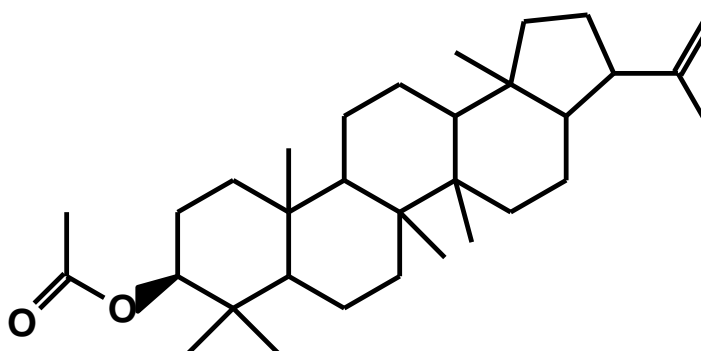
Hexadecanoato de etila (Éster etílico do Ácido palmítico)



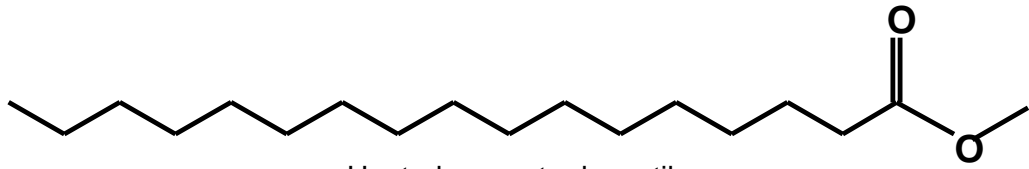
Hexadecanoato de metila (Éster metílico do Ácido palmítico)



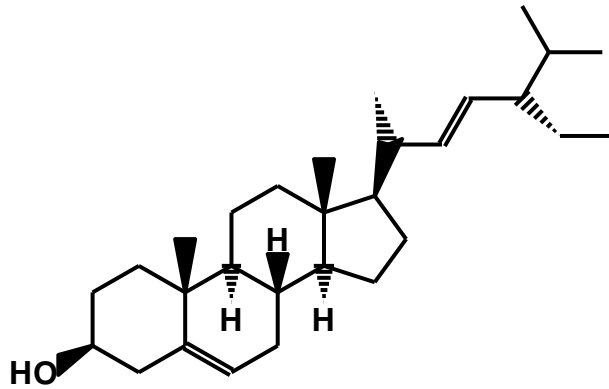
Ciclotetradecano



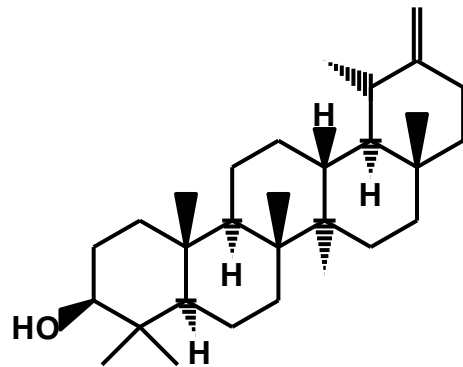
3β-Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila



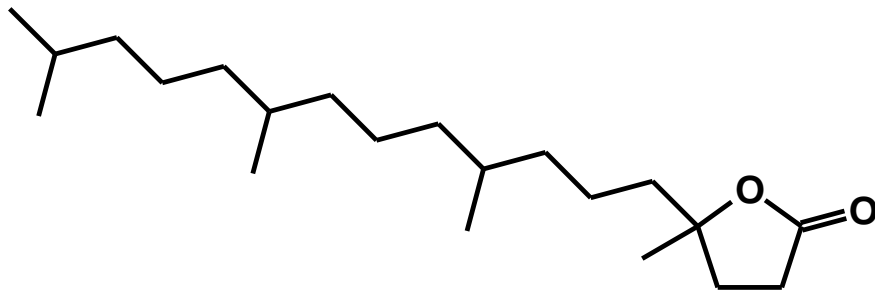
Heptadecanoato de metila



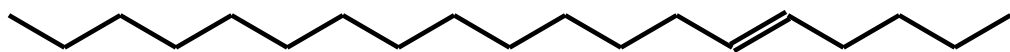
Estigmasterol



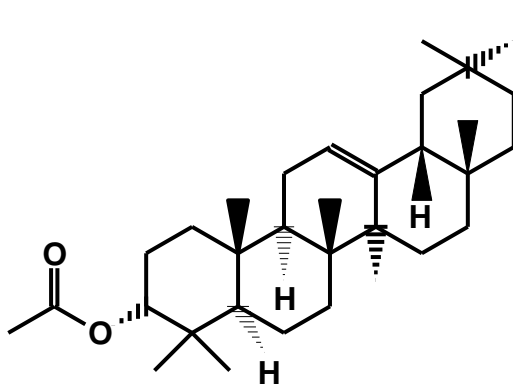
Taraxasterol



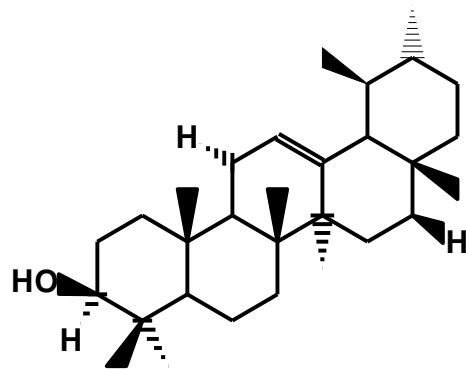
4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido



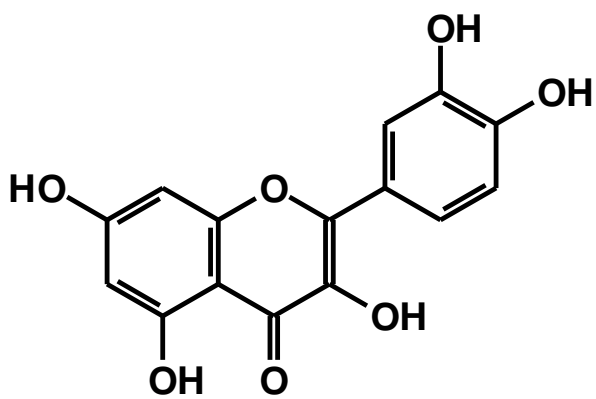
5-Octadeceno



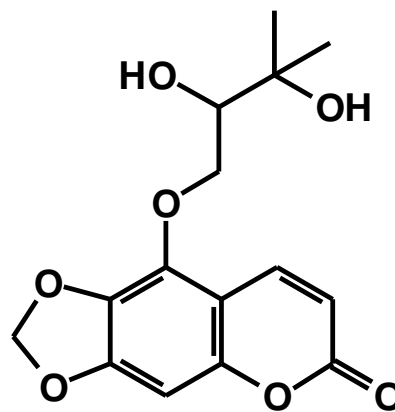
3 α -Acetato de 12-oleanenila



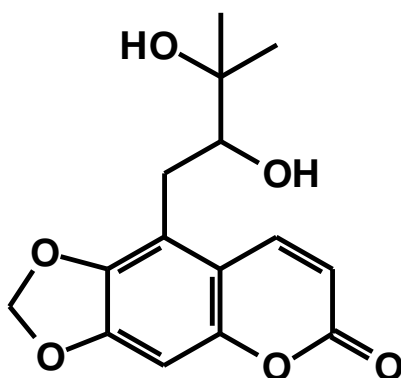
α -Amirina



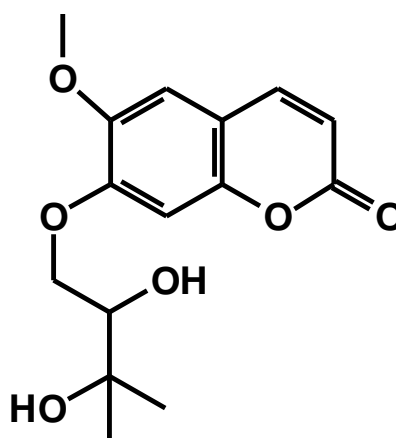
Quercetina



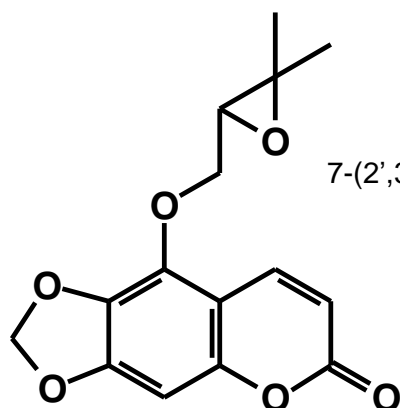
5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina



5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina



7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina



5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE FLUXOGRAMAS	XV
LISTA DE TABELAS	XVI
LISTA DE CROMATOGRAMAS	XVIII
LISTA DE ESPECTROS	XIX
LISTA DE GRÁFICOS	XXV
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XXVI
INTRODUÇÃO	1
Revisão bibliográfica	13
Atividade antioxidante	27
Atividade antimicrobiana	29
Atividade antivírus	31
Atividade hipoglicemiante	32
Atividade citotóxica	33
Objetivo geral	36
Objetivos específicos:	36
METODOLOGIA	37
FITOQUÍMICA	37
ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	79
RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
FITOQUÍMICA	90
ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	162
CONCLUSÕES	177
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	179

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gêneros ornamentais de Asteraceae. A) <i>Echinacea</i> , B) <i>Helianthus</i> , C) <i>Liatris</i> , D) <i>Symphotrichum</i> , E) <i>Rudbeckia</i> , F) <i>Coreopsis</i> , G) <i>Solidago</i> . -----	3
Figura 2: Distribuição do gênero <i>Bidens</i> no mundo, segundo dados da literatura. -----	4
Figura 3: <i>Bidens segetum</i> Martius ex Colla. -----	6
Figura 4: Distribuição do gênero <i>Pterocaulon</i> no mundo, segundo dados da literatura. -----	7
Figura 5: <i>Pterocaulon alopecuroides</i> (Lamark) De Candolle. -----	9
Figura 6: Distribuição da espécie <i>Pterocaulon alopecuroides</i> na América do Sul, segundo dados da literatura. -----	10
Figura 7: Mapa de Nova Friburgo, Rio de Janeiro. -----	11
Figura 8: Rio Macaé, em Santa Luzia. -----	12
Figura 9: Estrutura do anel cumarínico. -----	28
Figura 10: Estrutura do flavonóide Quercetina. -----	28
Figura 11: Obtenção de óleo essencial através de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. -----	43
Figura 12: Substâncias identificadas no óleo essencial das flores de <i>B. segetum</i> . -----	45
Figura 13: Substâncias identificadas na fração em hexano do extrato das flores de <i>B. segetum</i> . -----	47
Figura 14: Substância isolada na fração em diclorometano do extrato das flores de <i>B. segetum</i> . -----	49
Figura 15: Substância identificada no óleo essencial dos caules e folhas de <i>B. segetum</i> . -----	51
Figura 16: Substâncias identificadas na fração em hexano do extrato dos caules e folhas de <i>B. segetum</i> . -----	53
Figura 17: Substâncias identificadas na fração em hexano do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . -----	54
Figura 18: Substâncias isoladas por CCC da fração em diclorometano do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . -----	60

Figura 19: Substâncias identificadas nas frações principais n ^{os} 1 e 2 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> .(1/2)-----	65
Figura 20: Substâncias identificadas nas frações principais n ^{os} 1 e 2 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> .(2/2)-----	66
Figura 21: Substâncias identificadas nas frações principais n ^{os} 6 e 9 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> .-----	67
Figura 22: Substâncias isoladas da fração principal n ^o 12 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> .-----	77
Figura 23: Estruturas do 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e da Rutina. -----	80
Figura 24: Variação da intensidade de cor das soluções de extrato após 30 minutos de reação com DPPH.-----	81
Figura 25: Esquema do ensaio de citotoxicidade baseado na medida da atividade de LDH (♦). 88	
Figura 26: Esquema das duas etapas do teste enzimático de determinação da atividade de LDH.-----	89

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma I: Extração das flores de <i>Bidens segetum</i> com etanol e partição líquido-líquido do extrato etanólico.-----	40
Fluxograma II: Extração dos caules e folhas de <i>Bidens segetum</i> e partição líquido-líquido do extrato etanólico.-----	41
Fluxograma III: Extração das partes aéreas de <i>Pterocaulon alopecuroides</i> e partição líquido-líquido do extrato etanólico.-----	42
Fluxograma VI: CCC da fração em diclorometano do extrato das flores de <i>B. segetum</i> e isolamento da amostra A.-----	50
Fluxograma V: CCC da fração em diclorometano do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> e isolamento das amostras B, C e D.-----	61
Fluxograma VI: CCC da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> .e substâncias identificadas nas frações principais n ^{os} 1, 2 e 9-----	68
Fluxograma VII: CCC da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> e isolamento das amostras E, F, G, H e I da fração principal n ^o 12.-----	78

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Correlação HSQC (+) e HMBC (-) da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A) em DMSO-d6. -----	49
Tabela II: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra B) em DMSO-d6. -----	57
Tabela III: Correlação HSQC (+) e CoSy H-H (*) da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra C) em DMSO-d6. -----	58
Tabela IV: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra D) em DMSO-d6. -----	59
Tabela V: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E) em MeOD-d4. -----	72
Tabela VI: Correlação HSQC (+) e CoSy H-H (*) da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F) em MeOD-d4. -----	73
Tabela VII: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da Quercetina (amostra G) em MeOD-d4 e DMSO-d6. -----	74
Tabela VIII: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra H) em MeOD-d4 e DMSO-d6 -----	75
Tabela IX: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I) em MeOD-d4. -----	76
Tabela X: Conteúdo da placa de cultura de tecidos para ensaio de citotoxicidade. -----	87
Tabela XI: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de flores de <i>B. segetum</i> (EFBS) e suas frações em <i>n</i> -Butanol (BFBS), Acetato de etila (AEFBS) e Diclorometano (DFBS); do extrato etanólico de caules/folhas de <i>B. segetum</i> (BSLSEE) e suas frações em <i>n</i> - Butanol (BCFBS), Acetato de etila (AECFBS) e Diclorometano (DCFBS); do extrato etanólico de <i>P. alopecuroides</i> (EPA) e suas frações em <i>n</i> - Butanol (BPA), Acetato de etila (AEPA) e Diclorometano (DPA) e do padrão de <i>Ginkgo biloba</i> EGb 761 usado como controle. -----	164

Tabela XII: Concentração Máxima Não Tóxica (CMNT), Índice de Inibição Viral (IIV) e Porcentagem de Inibição (PI) para extrato etanólico de *Pterocaulon alopecuroides*, extratos etanólicos de *Bidens segetum* e para a cumarina isolada (amostra E), contra o vírus herpes simplex tipos 1 e 2 e contra adenovírus 19. ----- 170

Tabela XIII: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), nas doses de 50mg/kg, 100mg/kg e 200mg/kg sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001. ----- 171

Tabela XIV: Efeito citotóxico (EC) de extratos etanólicos de *Pterocaulon alopecuroides* e *Bidens segetum*. ----- 176

LISTA DE CROMATOGRAMAS

Cromatograma 1: Cromatograma do óleo essencial das flores de <i>Bidens segetum</i> . _____	90
Cromatograma 2: Cromatograma da fração em hexano do extrato das flores de <i>Bidens segetum</i> . _____	93
Cromatograma 3: Cromatograma da amostra A obtida da fração em diclorometano do extrato das flores de <i>Bidens segetum</i> . _____	96
Cromatograma 4: Cromatograma do óleo essencial dos caules e folhas de <i>Bidens segetum</i> . _____	100
Cromatograma 5: Cromatograma da fração em hexano do extrato dos caules e folhas de <i>Bidens segetum</i> . _____	101
Cromatograma 6: Cromatograma da fração hexânica do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	105
Cromatograma 7: Cromatograma da amostra B obtida da fração em diclorometano do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	108
Cromatograma 8: Cromatograma da fração principal nº 1 obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	123
Cromatograma 9: Cromatograma da fração principal nº 2 obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	124
Cromatograma 10: Cromatograma da fração principal nº 9 obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	129
Cromatograma 11: Cromatograma da amostra E obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	132
Cromatograma 12: Cromatograma da amostra F obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	139
Cromatograma 13: Cromatograma da amostra H obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	150
Cromatograma 14: Cromatograma da amostra I obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de <i>P. alopecuroides</i> . _____	157

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1: Espectro de massas do α -Pineno (TR 2,68 minutos). _____	91
Espectro 2: Espectro de massas do Mirceno (TR 3,16 minutos). _____	91
Espectro 3: Espectro de massas do Limoneno (TR 3,67 minutos). _____	92
Espectro 4: Espectro de massas do δ -Germacreno (TR 14,33 minutos). _____	92
Espectro 5: Espectro de massas do Ácido hexadecanóico (TR 28,47 minutos). _____	94
Espectro 6: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos). _____	94
Espectro 7: Espectro de massas do <i>n</i> -Eicosano (TR 43,47 minutos). _____	95
Espectro 8: Espectro de massas da 6,7-Diidroxicumarina (TR 22,71 min., amostra A). _____	97
Espectro 9: Espectro de RMN ^1H da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A). _____	97
Espectro 10: Espectro de correlação HSQC da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A). _____	98
Espectro 11: Espectro de correlação HMBC da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A). _____	98
Espectro 12: DEPT 135 da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A). _____	99
Espectro 13: Espectro de massas do δ -Germacreno (TR 14,50 minutos). _____	100
Espectro 14: Espectro de massas do Neofitadieno (TR 26,08 minutos). _____	102
Espectro 15: Espectro de massas do Ácido hexadecanóico (TR 28,47 minutos). _____	102
Espectro 16: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos). _____	103
Espectro 17: Espectro de massas do Fitol (TR 31,33 minutos). _____	103
Espectro 18: Espectro de massas do Linoleolato de etila (TR 32,32 minutos). _____	104
Espectro 19: Espectro de massas do Neofitadieno (TR 26,08 minutos). _____	105
Espectro 20: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos). _____	106
Espectro 21: Espectro de massas da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (TR 26,61 minutos, amostra B). _____	109
Espectro 22: Espectro de RMN ^1H da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B). _____	110
Espectro 23: Expansão do espectro de RMN ^1H da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B). _____	111

Espectro 24: Espectro de RMN ^{13}C da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).	111
Espectro 25: DEPT 135 da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).	112
Espectro 26: Espectro de correlação CoSy H-H da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).	112
Espectro 27: Espectro de correlação HSQC da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).	113
Espectro 28: Espectro de correlação HMBC da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).	113
Espectro 29: Espectro de RMN ^1H da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).	114
Espectro 30: Expansão do espectro de RMN ^1H da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).	115
Espectro 31: Espectro de RMN ^{13}C da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).	115
Espectro 32: DEPT 135 da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).	116
Espectro 33: Espectro de correlação CoSy H-H da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).	117
Espectro 34: Espectro de correlação HSQC da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).	117
Espectro 35: Espectro de RMN ^1H da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	118
Espectro 36: Expansão do espectro de RMN ^1H da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	119
Espectro 37: Espectro de RMN ^{13}C da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	119

Espectro 38: DEPT 135 da 5-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	120
Espectro 39: Espectro de correlação CoSy H-H da 5-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	120
Espectro 40: Espectro de correlação HSQC da 5-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	121
Espectro 41: Espectro de correlação HMBC da 5-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).	121
Espectro 42: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 35,17 minutos).	123
Espectro 43: Espectro de massas do 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (TR 63,79 minutos).	124
Espectro 44: Espectro de massas do 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona (TR 31,52 minutos).	125
Espectro 45: Espectro de massas do Hexadecanoato de metila (TR 33,54 minutos).	125
Espectro 46: Espectro de massas do Heptadecanoato de metila (TR 35,18 minutos).	126
Espectro 47: Espectro de massas do 4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido (TR 42,93 minutos).	126
Espectro 48: Espectro de massas do Estigmasterol (TR 58,70 minutos).	127
Espectro 49: Espectro de massas da α -Amirina (TR 60,00 minutos).	127
Espectro 50: Espectro de massas do 3 α -Acetato de 12-oleanenila (TR 61,43 minutos).	128
Espectro 51: Espectro de massas do Taraxasterol (TR 62,14 minutos).	128
Espectro 52: Espectro de massas do 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (TR 63,79 minutos).	129
Espectro 54: Espectro de massas do Ciclotetradecano (TR 18,99 minutos).	130
Espectro 55: Espectro de massas do 5-Octadeceno (TR 21,03 minutos).	130
Espectro 56: Espectro de massas da 7-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,48 minutos, amostra E).	133
Espectro 57: Espectro de RMN ^1H da 7-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).	134

Espectro 58: Expansão do espectro de RMN ¹ H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra E). _____	135
Espectro 59: Espectro de RMN ¹³ C da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra E). _____	136
Espectro 60: DEPT 135 da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra E). _____	137
Espectro 61: Espectro de correlação CoSy H-H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra E). _____	138
Espectro 62: Espectro de correlação HSQC da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra E). _____	138
Espectro 63: Espectro de correlação HMBC da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra E). _____	139
Espectro 64: Espectro de massas da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,63 minutos, amostra F). _____	140
Espectro 65: Espectro de RMN ¹ H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra F). _____	140
Espectro 66: Expansão do espectro de RMN ¹ H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra F). _____	141
Espectro 67: Espectro de RMN ¹³ C da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra F). _____	142
Espectro 68: DEPT 135 da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra F). _____	143
Espectro 69: Espectro de correlação CoSy H-H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra F). _____	144
Espectro 70: Espectro de correlação HSQC da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina (amostra F). _____	144
Espectro 71: Espectro de RMN ¹ H da Quercetina (amostra G). _____	145
Espectro 72: Expansão do espectro de RMN ¹ H da Quercetina (amostra G). _____	146
Espectro 73: Espectro de RMN ¹³ C da Quercetina (amostra G). _____	147
Espectro 74: DEPT 135 da Quercetina (amostra G). _____	148
Espectro 75: Espectro de correlação CoSy H-H da Quercetina (amostra G). _____	148

Espectro 76: Espectro de correlação HSQC da Quercetina (amostra G).	149
Espectro 77: Espectro de correlação HMBC da Quercetina (amostra G).	149
Espectro 78: Espectro de massas da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (TR 27,82 minutos, amostra H).	150
Espectro 79: Espectro de RMN ¹ H da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	151
Espectro 80: Expansão do espectro de RMN ¹ H da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	152
Espectro 81: Espectro de RMN ¹³ C da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	153
Espectro 82: DEPT 135 da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	154
Espectro 83: Espectro de correlação CoSy H-H da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	155
Espectro 84: Espectro de correlação HSQC da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	155
Espectro 85: Espectro de correlação HMBC da 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (amostra H).	156
Espectro 86: Espectro de massas da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,54 minutos amostra I).	157
Espectro 87: Espectro de RMN ¹ H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).	158
Espectro 88: Expansão do espectro de RMN ¹ H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).	159
Espectro 89: Espectro de RMN ¹³ C da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).	160
Espectro 90: Espectro de correlação CoSy H-H da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).	161

Espectro 91: Espectro de correlação HSQC da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I). _____ 161

Espectro 92: Espectro de correlação HMBC da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I). _____ 162

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de flores de *B. segetum* (EFBS) e suas frações em *n*-Butanol (BFBS), Acetato de etila (AEFBS) e Diclorometano (DFBS) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle..... 165
- Gráfico 2: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de caules/folhas de *B. segetum* (BSLSEE) e suas frações em *n*- Butanol (BCFBS), Acetato de etila (AECFBS) e Diclorometano (DCFBS) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle..... 166
- Gráfico 3: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de *P. alopecuroides* (EPA) e suas frações em *n*- Butanol (BPA), Acetato de etila (AEPA) e Diclorometano (DPA) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle. 167
- Gráfico 4: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), na dose de 50mg/kg, sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média + erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001..... 172
- Gráfico 5: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), na dose de 100mg/kg, sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média + erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001..... 173
- Gráfico 6: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), na dose de 200mg/kg, sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média + erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001..... 174

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- AAO – Atividade antioxidante
- ABS – Absorbância
- ATCC – Coleção de cultura tipo Americano
- BHI – Infusão de cérebro e coração
- BSA – Albumina de soro bovino
- CCC – Cromatografia contra-corrente
- CCF – Cromatografia em camada fina
- CDCl_3 – Clorofórmio deuterado
- CE_{50} – Concentração efetiva para se obter 50% de atividade
- CG-EM – Cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas
- CLAE – Cromatografia com fase líquida de alta eficiência
- CMNT – Concentração máxima não tóxica
- CoSy – Espectroscopia de correlação
- DMEM – Meio Eagle modificado de Dulbecco
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DPPH – 2,2-Difenil-1-picrilidrazila
- EM – Espectro de massas
- HEPES – Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfônico
- HMBC – Correlação Heteronuclear de Ligação Múltipla
- HSQC – Conexão Heteronuclear de único Quantum
- HSV-1-ACVr – Vírus herpes simplex tipos 1 resistente ao aciclovir
- HSV-2-ACVr – Vírus herpes simplex tipos 2 resistente ao aciclovir
- IAA – Índice de atividade antioxidante
- IE – Impacto de elétrons
- IIV – Índice de inibição viral
- INT – Iodo Tetrazólio

LDH – Lactato desidrogenase

M⁺ – Íon molecular

MEM – Meio Eagle modificado

MeOD – Metanol deuterado

MHz – Megahertz

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

m/z – Relação massa/carga

NAD – Dinucleotídeo adenina nicotinamida

NADH – Dinucleotídeo adenina nicotinamida reduzido

PA – Padrão analítico

PBS – Tampão salino fosfato

PI – Porcentagem de inibição

ppm – Partes por milhão

PTFE – Politetrafluoroetileno

RMN ¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

rpm – Rotações por minuto

SFB – Soro fetal bovino

TCD – Trinity College Dublin

TCID₅₀ – Dose que produz efeito citopático em 50% das células em cultura

TMS – Tetrametilsilano

TR – Tempo de retenção

UV – Ultravioleta

INTRODUÇÃO

A família Asteraceae (Compositae) é uma das maiores famílias existentes em Angiospermae, compreendendo cerca de 1300 gêneros e 25000 espécies (DA COSTA *et al.*, 2005). Essa família, considerada uma das famílias mais numerosas e evoluídas do reino vegetal, está amplamente distribuída em todo o mundo e foi subdividida em quatro subfamílias e dezessete tribos (OLIVEIRA & AKISUE, 1993; ALVARENGA *et al.*, 2001). Pertencentes à superordem Asteranae e Ordem Asterales, as espécies de Asteraceae podem ser encontradas especialmente em regiões áridas e semi-áridas de latitudes subtropicais e temperadas (CABRERA, 1963; BARROSO, 1991; JOLY, 1991). Na América do Sul, compõem a paisagem das regiões tropicais montanhosas (JOLY, 1967). No Brasil, estão representadas por aproximadamente 180 gêneros (BARROSO, 1991).

De aspecto extremamente variado, podem ser encontradas na forma de ervas, arbustos, árvores baixas ou médias, não sendo raro encontrá-las também como trepadeiras perenes (SALINAS, 1992; HEYWOOD, 1993). Possuem por inflorescência o capítulo, que é composto de um receptáculo comum sobre o qual se inserem as flores, rodeadas por brácteas especializadas (chamadas de brácteas involucrais) (ELDENNA *et al.*, 1999; BARKLEY *et al.*, 2006). Esse receptáculo pode ser delgado ou carnoso, maciço ou oco, côncavo, plano, convexo ou cônico, de superfície quase lisa, pode ser desnudo ou coberto por tricomas (CABRERA, 1963). Os frutos são tecnicamente cipselas, mas são chamados historicamente de aquênios, geralmente secos, relativamente espessos, pericarpos resistentes, podendo ser rostrados e/ou alados (BARKLEY *et al.*, 2006). Possui uma semente por fruto e as folhas são alternas ou opostas, comumente pecioladas, às vezes sésseis (ELDENNA *et al.*, 1999; BARKLEY *et al.*, 2006).

Muitas espécies de Asteraceae, vindas principalmente da Europa e da Ásia, foram introduzidas no continente americano intencionalmente para uso medicinal, como

alimento e na horticultura. Dentre as espécies economicamente importantes estão: *Helianthus annuus* (girassol), cujo valor está principalmente no óleo das sementes; *Helianthus tuberosus* (tupinambo ou girassol batateiro), cujo tubérculo é comestível e pode ser empregado na produção de álcool e frutose; e *Parthenium argentatum* (guaiule), fonte alternativa de látex para produção de borracha hipoalergênica (BARKLEY *et al.*, 2006; <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2008/NEW01822.html>, em 07/12/2008). Alguns gêneros de Asteraceae possuem valor ornamental como *Coreopsis*, *Echinacea*, *Helianthus*, *Liatris*, *Rudbeckia*, *Solidago* e *Symphotrichum* (Figura 1, pág. 3). Dentre as inúmeras plantas da família Asteraceae utilizadas na medicina caseira, está a *Artemisia absinthium*, conhecida popularmente como losna, uma erva de sabor amargo com benéficas funções digestivas, usada também na fabricação do absinto (JOLY, 1967).

Mais de 5000 espécies dessa família já foram estudadas do ponto de vista químico, resultando em cerca de 7000 substâncias isoladas (ALVARENGA *et al.*, 2001). Além da sua composição química, essas espécies têm sido extensivamente estudadas em busca de atividades biológicas, proporcionando o desenvolvimento de novos fármacos e inseticidas (ZOMLEFER, 1994). Inúmeros trabalhos científicos descrevem o isolamento de metabólitos especiais em espécies de Asteraceae, destacando-se os flavonóides que, além do desempenho no tratamento e prevenção de diversas doenças (HARBORNE & WILLIAMS, 2000), também são importantes marcadores quimiotaxonômicos (EMERENCIANO *et al.*, 2001). Basicamente, as espécies de Asteraceae biossintetizam freqüentemente poliacetilenos, flavonóides, óleos essenciais e terpenóides, sendo que a larga ocorrência de lactonas sesquiterpênicas é a característica química mais marcante da família (STEFANELLO, 1993; DA COSTA *et al.*, 2005). A maioria das lactonas conhecidas foi isolada de Asteraceae e apresentam atividade antitumor, antibacteriana, antifúngica, anti-helmíntica, anti-inflamatória e antipirética (STEFANELLO, 1993).



Figura 1: Gêneros ornamentais de Asteraceae. A) *Echinacea*, B) *Helianthus*, C) *Liatris*, D) *Symphyotrichum*, E) *Rudbeckia*, F) *Coreopsis*, G) *Solidago*.

(Fontes: http://www.risc.org.uk/garden/plants/echinacea_600w.jpg; http://www.calfloranursery.com/images/pics/g_h/helianthus_angustifolius.jpg; <http://static.howstuffworks.com/gif/define-liatris-blazingstar-gayfeather-1.jpg>; http://z.about.com/d/gardening/1/7/V/F/Aster_Shrader_Smith.jpg; <http://www.daytonnursery.com/Encyclopedia/Images/Perennials/Rudbeckia%20hirta%20'Autumn%20Colors'%20ivy.JPG>; <http://dhr.dos.state.fl.us/facts/symbols/images/symbols/coreopsis.jpg>; http://www.naba.org/Chapters/Nabaes/images/Solidago_canadensis_VI-29-2006small.jpg; 05/01/2009)

Gênero *Bidens*: características e usos medicinais

Bidens é um gênero conhecido de Asteraceae que possui aproximadamente 240 espécies e está amplamente distribuído nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas da América do Norte e América do Sul (Figura 2, pág. 4) (STROTHER & WEEDON, 2006; SOUZA, 2007). Gênero cosmopolita, está representado no Brasil por 13 espécies, com maior ocorrência nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (NAKAJIMA, 2000).

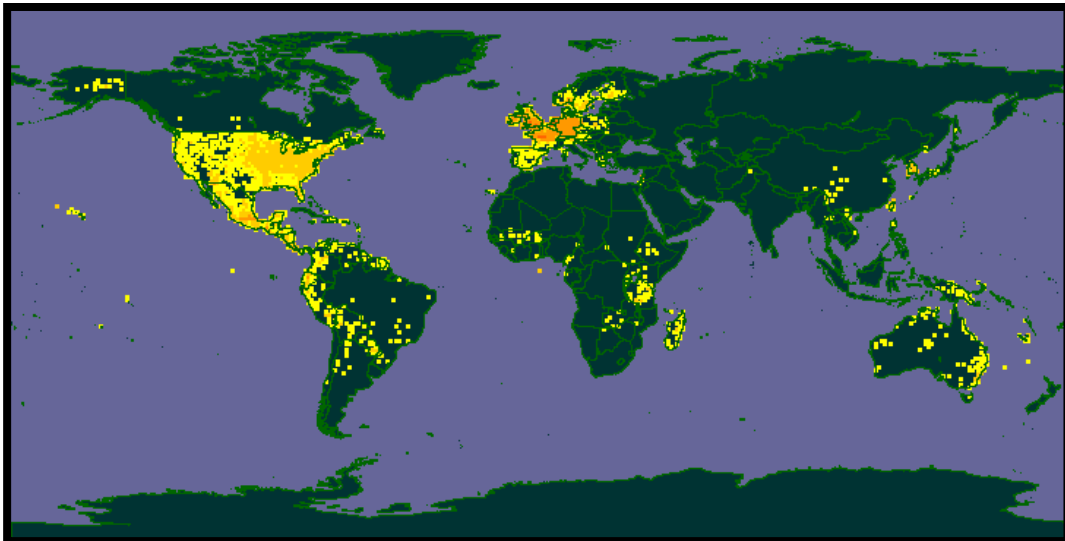


Figura 2: Distribuição do gênero *Bidens* no mundo, segundo dados da literatura.

(Fonte: http://zipcodezoo.com/Key/Plantae/Bidens_Genus.asp, 10/12/2008)

Pertencente à subfamília Asteroideae e tribo Coreoideae, este gênero é constituído de ervas ou subarbustos anuais ou perenes, raramente arbustos, de caule geralmente ereto e ramificado distalmente, ramos angulosos ou tetragonais, estriados, glabros ou pilosos. As folhas costumam ser opostas, distais e algumas vezes superiores alternas, pecioladas, inteiras a pinatissectas, margem denteada a serrada.

Capitulescência corimbiforme, paniculiforme ou capítulos solitários, terminal ou axilar. Os capítulos podem ser pedunculados, heterógamos, radiados ou homógamos discóides; involúcro campanulado, brácteas involucrais imbricadas, livres; receptáculo plano ou subconvexo, paleáceo, páleas estreito ovadas, escariosas. As flores do raio são pistiladas ou estéreis, de corola amarela ou alva, enquanto as flores do disco são normalmente monoclinas, corola amarela, tubulosa, anteras acastanhadas ou negras, ramos do estilete curtos e achatados. As cipselas (frutos pequenos e semelhantes a sementes) são negras, tetragonais, às vezes comprimidas, ápice estrigoso; pápus aristado, aristas barbeladas, tricomas retrorsos (FASSETT, 1957; NAKAJIMA, 2000; STROTHER & WEEDON, 2006; SOUZA, 2007).

As espécies do gênero *Bidens* possuem diversas aplicações na medicina popular, muitas delas já comprovadas cientificamente. São utilizadas como antibiótico, anti-inflamatório, antimalárico, antipirético, antirreumático, antidiabético, diurético, hepatoprotetor, e também no tratamento de diarreia, problemas digestivos, doenças pulmonares, problemas cardio-vasculares, dor de cabeça, dor de dente, feridas, gripe, tosse, picada de cobras e insetos, verminoses, etc. (N'DOUNGA *et al.*, 1983; BRANDÃO *et al.*, 1997; CORRÊA *et al.*, 1998; ALVAREZ *et al.*, 1999 ; DIMO *et al.*, 2001; KHAN *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2003; ABAJO *et al.*, 2004; CAMARGO *et al.*, 2004). Essa grande variedade de aplicações farmacológicas deve-se aos constituintes químicos dessas espécies, como esteróides, terpenos, flavonóides e poliacetilenos (ZULUETA *et al.*, 1995; ALVAREZ *et al.*, 1999; SARKER *et al.*, 2000; KHAN *et al.*, 2001; ABAJO *et al.*, 2004).

Bidens segetum Mart. ex Colla (Figura 3, pág. 6), sinonímia *Bidens rubifolia* Humboldt, Bonpland & Kunth, é um subarbusto (BRAKO & ZARUCCHI, 1993) que ainda não foi estudado dos pontos de vista químico e farmacológico.



Figura 3: *Bidens segetum* Martius ex Colla.

(Fonte: Cristiane S. Silveira)

Gênero *Pterocaulon*: descrição e atividades biológicas

O gênero *Pterocaulon* possui cerca de 30 espécies, das quais 12 são exclusivamente americanas, ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos, nordeste até a região central da Argentina, sul do Brasil e Paraguai. As demais espécies estão distribuídas na Austrália, Nova Caledônia, Indonésia e sudeste da Ásia (Figura 4, pág. 7) (CABRERA & RAGONESE, 1978; VILEGAS *et al.*, 1995). O gênero está representado no Brasil por 10 espécies (SOUZA, 2007).

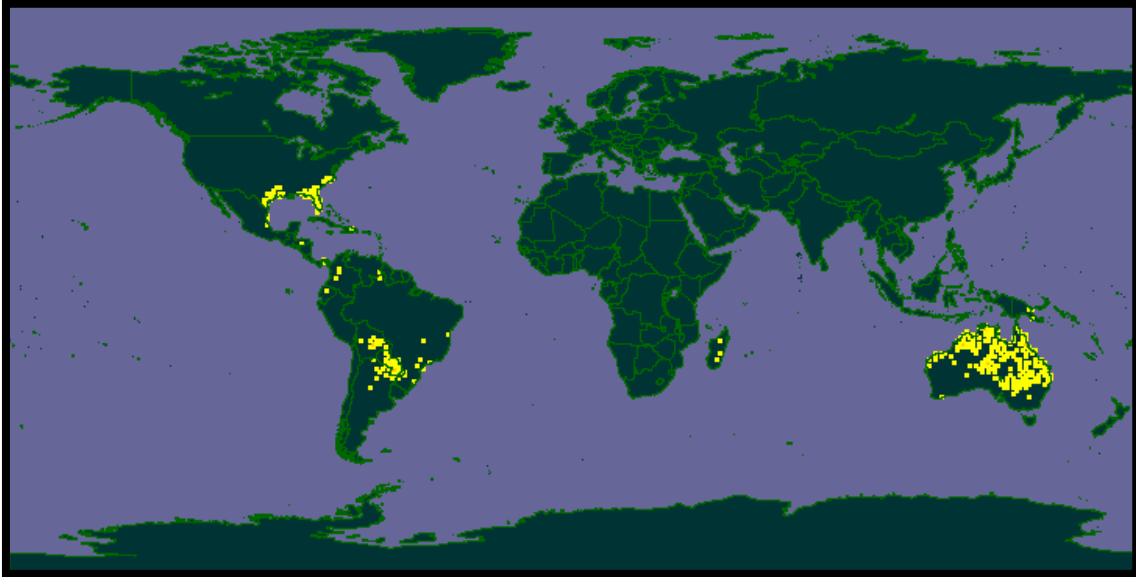


Figura 4: Distribuição do gênero *Pterocaulon* no mundo, segundo dados da literatura.

(Fonte: http://zipcodezoo.com/Key/Chromista/Pterocaulon_Genus.asp, 10/12/2008)

O gênero *Pterocaulon*, que pertence à subfamília *Asteroideae* e tribo *Plucheeae*, é composto de ervas ou subarbustos, normalmente cobertos por indumento lanoso, tomentoso ou glanduloso-pubescente. Seus ramos são eretos, cilíndricos e freqüentemente alados. As folhas são sésseis, alternas, geralmente inteiras, lâmina linear, elíptica a obovada, margem denteada. Possuem capitulescência constituída de capítulos sésseis, heterógamos, disciformes, dispostos em espigas de glomérulos, glomérulos de segunda ordem ou panículas de espigas; involúcro normalmente campanulado, multisseriado, brácteas involucrais imbricadas, subcoriáceas ou escariosas; receptáculo plano a ligeiramente côncavo, hirsuto ou glabro. Com flores marginais numerosas, pistiladas e de corola filiforme, e poucas flores centrais, monoclinas ou estaminadas, de corola tubulosa. Podem apresentar cipselas elipsóides, fusiformes ou obcônicas, às vezes levemente comprimidas, costadas e pubescentes; pápus cerdosos, unisseriados a multisseriados, cerdas livres, delgadas e escabras (NESOM, 2006; SOUZA, 2007).

As espécies desse gênero são empregadas popularmente no tratamento de infecções e outros problemas respiratórios, doenças hepáticas, feridas na pele, sarna,

micoses, insolação, infecção e inflamação dos olhos, e também como cicatrizante, digestivo, emenagogo, antibiótico, repelente de pulgas e moscas, inseticida e agente contra veneno de cobra (MARTINO *et al.*, 1979; DEBENEDETTI *et al.*, 1999; MACLEOD & RASMUSSEN, 1999; SEMPLE *et al.*, 1999; MONGELLI *et al.*, 2000; STEIN *et al.*, 2005; GOLENIOWSKI *et al.*, 2006). Algumas espécies estudadas apresentaram atividades antifúngica, antibacteriana, antiviral, antileucêmica e antitumoral (SEMPLE *et al.*, 1998; MACLEOD & RASMUSSEN, 1999; SEMPLE *et al.*, 1999; MONGELLI *et al.*, 2000; RIVEIRO *et al.*, 2004; STEIN *et al.*, 2005). Os trabalhos até agora realizados com diferentes espécies de *Pterocaulon* descrevem o isolamento de monoterpenos, sesquiterpenos, cumarinas, flavonóides e poliacetilenos (BOHLMANN *et al.*, 1981; MAGALHÃES *et al.*, 1981; VILEGAS *et al.*, 1995; DEBENEDETTI *et al.*, 1999; MACLEOD & RASMUSSEN, 1999; SEMPLE *et al.*, 1999; VERA *et al.*, 2001; RIVEIRO *et al.*, 2004).

Pterocaulon alopecuroides (Lamarck) De Candolle (Figura 5, pág. 9) é conhecido popularmente como barbasco, verbasco, barbaço, branqueja, alecrim-das-paredes, calção-de-velho, tingui e verbasco-do-Brasil, sendo algumas vezes confundido com *Buddleja brasiliensis* (KISSMANN & GROTH, 1999; CARIBÉ & CAMPOS, 2002). Suas raízes são muito utilizadas popularmente em problemas urinários e renais, como diurético e diaforético, e em estados febris (CARIBÉ & CAMPOS, 2002). Possui como sinonímia *Baccharis erioptera* Bentham, *Conyza alopecuroides* Lamarck e *Pterocaulon virgatum* var. *alopecuroides* (Lamarck) Grisebach (FUNK *et al.*, 2007). *P. alopecuroides* é pouco distinta de *P. virgatum*, entretanto, tendo em vista a ocorrência de indivíduos com características intermediárias, alguns autores consideram *P. virgatum* sinônimo de *P. alopecuroides* (PRUSKI, 1997).



Figura 5: *Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle.

(Fonte: Cristiane S. Silveira)

Pterocaulon alopecuroides (Lamark) De Candolle é uma erva de até 80 cm de altura, de ramos lanosos e alados. Suas folhas são inteiras, lâmina elíptica a oblanceolada, ápice obtuso, agudo ou acuminado. Possui capitulescência espiciforme, congesta e capítulos com 42 flores; involúcro campanulado e brácteas involucrais estreito-ovadas. As cipselas são jovens e acastanhadas, cilíndricas, pilosas, com carpopódio simétrico, pápus unisseriados e cerdas alvas (SOUZA, 2007). A distribuição de *P. alopecuroides* concentra-se na América Tropical, desde Cuba e ilhas adjacentes até a Argentina (Figura 6, pág. 10) (CABRERA & RAGONESE, 1978; PRUSKI, 1997). No Brasil ocorre principalmente em terrenos baldios, beiras de estradas e campos de pastagem, parecendo preferir solos arenosos, ácidos e bem drenados (CARIBÉ & CAMPOS, 2002).

No levantamento bibliográfico realizado até o momento, foram encontrados apenas cinco trabalhos relativos à espécie *Pterocaulon alopecuroides*: três estudos químicos onde foram identificados o Tridec-1,2-dimetoxi-3,5,7,9,11-pentino e as cumarinas 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina; 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-5-hidroxí-6-metoxicumarina; 5-Metoxi-6,7-metilenodioxícumarina; 7-(2',3'-Epoxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (MAGALHÃES *et al.*, 1989; VILEGAS *et al.*, 1995; STEIN *et al.*, 2006); um estudo farmacológico no qual a espécie apresentou atividade contra *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* (STEIN *et al.*, 2005) e uma citação de uso popular na qual *P. alopecuroides* é usado como digestivo e contra enfermidades hepáticas (GOLENIOWSKI *et al.*, 2006).



Figura 6: Distribuição da espécie *Pterocaulon alopecuroides* na América do Sul, segundo dados da literatura.

(Fonte: http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast, 10/12/2008)

Santa Luzia, Lumiar

O material botânico foi coletado em Santa Luzia, uma localidade rural do distrito de Lumiar que se encontra situada na divisa entre os municípios de Nova Friburgo (Figura 7, pág. 11) e de Casimiro de Abreu, próximo à Ponte de Santa Luzia na rodovia RJ-142. Lumiar é a sede do 5º Distrito do Município de Nova Friburgo e apresenta várias localidades, entre elas: Centro, Santiago, Santa Luzia, Boa Esperança, Galdinópolis e Rio Bonito. Trata-se de um local de destino para os praticantes de esportes radicais e do ecoturismo, além do turismo religioso devido à fé daqueles que acreditam nos poderes terapêuticos de uma fonte de água mineral em homenagem à Santa Luzia (<http://www.saopedrodaserra.tur.br/lumiar/informacoesgerais.htm>; [http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_\(Nova_Friburgo\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_(Nova_Friburgo)), 04/11/2008).



Figura 7: Mapa de Nova Friburgo, Rio de Janeiro.

(Fonte: <http://www.ieadcnf.org.br/ieadcnfriburgo.htm>, 04/11/2008)

Lumiar está ligada à região dos lagos através da Estrada Serra Mar (sub-trecho da RJ-142 que liga Lumiar a Casimiro de Abreu), totalmente asfaltada. São cerca de 41 quilômetros até Casimiro de Abreu, de onde pode-se atingir rapidamente Rio das Ostras, Macaé, Búzios, Cabo Frio, Arraial do Cabo, São Pedro da Aldeia, Araruama,

etc. Até a abertura da Estrada Serramar a região era cortada por uma trilha, através da qual os produtores rurais transportavam bananas no lombo de animais de carga, que foi um dos principais produtos da região serrana do Rio de Janeiro na década de 70(<http://www.saopedrodaserra.tur.br/lumiar/informacoesgerais.htm>;[http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_\(Nova_Friburgo\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_(Nova_Friburgo)), 04/11/2008).

A localidade de Lumiar foi fundada por volta de 1828 por famílias de origem Suíça, que se deslocaram para o leste da então Fazenda do Morro Queimado logo após a fundação da atual cidade de Nova Friburgo e ali se instalaram às margens do Rio Macaé (Figura 8, pág. 12). Privilegiado pelas belezas naturais do Rio Macaé, o lugar sempre foi alvo da cobiça de projetos econômicos que tinham como objetivo a implantação de centrais hidrelétricas na região, o que sempre encontrou a resistência dos moradores locais(<http://www.saopedrodaserra.tur.br/lumiar/informacoesgerais.htm>;[http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_\(Nova_Friburgo\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_(Nova_Friburgo));<http://www.ieadcnf.org.br/ieadcfriburgo.htm>, 04/11/2008).



Figura 8: Rio Macaé, em Santa Luzia.

(Fonte: [http://lh4.ggpht.com/beth.santana68/R54pl1NGNEI/AAAAAAAAAS8/S8F_b3ZCVMo/26-](http://lh4.ggpht.com/beth.santana68/R54pl1NGNEI/AAAAAAAAAS8/S8F_b3ZCVMo/26-01-08_1732%5B1%5D+(2)_thumb%5B2%5D)

[01-08_1732%5B1%5D+\(2\)_thumb%5B2%5D](http://lh4.ggpht.com/beth.santana68/R54pl1NGNEI/AAAAAAAAAS8/S8F_b3ZCVMo/26-01-08_1732%5B1%5D+(2)_thumb%5B2%5D), 04/11/2008)

A região é montanhosa apresentando temperaturas que variam anualmente entre 10 e 36 graus Celsius, com temperatura média em torno de 26 graus. A altitude média do local é cerca de 650 metros acima do nível do mar. Lumiar tem atualmente cerca de 4.000 habitantes (<http://www.saopedrodaserra.tur.br/lumiar/informacoesgerais.htm>; [http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_\(Nova_Friburgo\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_(Nova_Friburgo)), 04/11/2008).

Revisão bibliográfica

Foi realizado um minucioso levantamento bibliográfico de artigos científicos publicados de 1968 até janeiro de 2009 sobre as espécies de Asteraceae em estudo, que revelou artigos referentes aos aspectos químicos, farmacológicos e etnobotânicos do gênero *Bidens*, nenhum deles referente à espécie *B. segetum*.

Durante o levantamento bibliográfico, também foram obtidos apenas 5 artigos referindo-se à espécie *Pterocaulon alopecuroides* no que concerne aos seus constituintes químicos e atividades biológicas (MAGALHÃES *et al.*, 1989; VILEGAS *et al.*, 1995; STEIN *et al.*, 2005; GOLENIOWSKI *et al.*, 2006; STEIN *et al.*, 2006), além de outros trabalhos sobre o gênero *Pterocaulon*. Os dados foram organizados destacando-se o uso na medicina popular, as atividades farmacológicas comprovadas cientificamente e as substâncias identificadas dentro de cada espécie, como pode ser observado logo a seguir.

I Gênero *Bidens*:

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Bidens sp.</i>	Antibióticos, hepatoprotetores e antimaláricos.			BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens alba</i> (L.) D.C.			Sesquiterpenos: <i>E</i> -cariofileno, α -Humuleno, Germacreno-D, Bicyclgermacreno, α -Muuroleno, γ -Elemeno, β -Elemeno, α -Copaeno, β -Cubebeno, β -Gurjuneno. Poliacetileno: Fenil-1,3,5-heptatriina.	GROMBONE-GUARATINI <i>et al.</i> , 2005.
<i>Bidens bipinnatus</i> L.		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
	Hepatoprotetor e antimalárico.			BRANDÃO <i>et al.</i> , 1992 <i>Apud</i> BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens bitternata</i> D.C.		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens campylothea</i> Schultz Bip. spp. <i>campylothea</i>		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
			Poliacetileno: 2- <i>O</i> - β -D-glicosiltrideca-11 <i>E</i> -en-3,5,7,9-tetrain-1,2-diol poliacetileno.	BAUER <i>et al.</i> , 1992.
<i>Bidens ferulaefolia</i> D.C.		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens frondosa</i> L.		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens maximovicziana</i> Willd.		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens odorata</i> Cav.	Tratamento de doenças pulmonares e renais e como hipoglicemiante.	Atividade diurética do extrato aquoso das partes aéreas.		CAMARGO <i>et al.</i> , 2004.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Bidens parviflora</i> Willd.	Antipirético, anti-inflamatório e antirreumático.	Inibição da liberação de histamina por mastócitos e inibição da produção de PGE ₂ por macrófagos.	Ésteres sucrose: (6-O-(E)- <i>p</i> -cumaroil)- β -D-frutofuranosil-(2 \rightarrow 1)- χ -D-glicopiranosídeo; (6-O-(E)- <i>p</i> -cumaroil)- β -D-frutofuranosil-(2 \rightarrow 1)-(6-O-(E)- <i>p</i> -cumaroil)- χ -D-glicopiranosídeo; 6,6'-éster sucrose de (1 χ ,2 χ ,3 β ,4 β)-3,4-bis-(4-hidroxifenil)-1,2-ácido ciclodicarboxílico. Lignana: Éster dimetílico de (1 χ ,2 χ ,3 χ ,4 χ)-2,4-bis-(3,4-diidroxifenil)-1,3-ácido ciclobutanodicarboxílico.	WANG <i>et al.</i> , 2003.
<i>Bidens pilosa</i> L.			Sesquiterpenos: <i>E</i> -cariofileno, α -Humuleno, Germacreno-D, Bicyclogermacreno, α -Muuroлено, <i>Z</i> - γ -bisaboleno, β -Gurjuneno, Selina-3,7(11)-diene.	GROMBONE-GUARATINI <i>et al.</i> , 2005.
	Agente anti-inflamatório e bactericida, tratamento de hepatites, laringites, dor de cabeça, problemas digestivos e malária.	Efeito antioxidante, fotoprotetor e intensificador da produção de citocinas.		ABAJO <i>et al.</i> , 2004.
	Tratamento de febre e malária.	Atividade antimalárica das raízes.		OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2004.
	Tratamento de conjuntivite, hipertensão, diarreia, angina, diabetes, edema, gripe, úlcera e também usado como diurético e colerético.	Efeito antihipertensivo e preventivo contra hiperinsulinemia.		DIMO <i>et al.</i> , 2002.
	Tratamento de icterícia, ameaça de aborto, conjuntivite, dor de dente,	Efeito hipotensor e preventivo contra estabelecimento da hipertrigliceridemia.		DIMO <i>et al.</i> , 2001.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<p><i>Bidens pilosa</i> L. (continuação)</p>	<p>tosse, verminoses, febre, fraturas, convulsões febris, hipertensão, diarreia, disenteria, desconforto estomacal em intoxicações alimentares, angina, diabetes, dismenorréia, edema, hepatite, retenção de líquidos, hidropisia e também usado como anti-inflamatório.</p>			
	<p>Tratamento de picada de cobras e insetos, feridas, choques pós-acidentes, problemas pulmonares, febre, infecções oculares, úlceras, hipertensão, infecções bacterianas, malária e hiperglicemia.</p>	<p>Atividade contra bactérias e protozoários.</p>		<p>KHAN <i>et al.</i>, 2001.</p>
			<p>Flavonóide: 5-O-metiloslundina.</p>	<p>SARKER <i>et al.</i>, 2000.</p>
	<p>Tratamento de icterícia, ameaça de aborto, conjuntivite, dor de dente, tosse, verminoses, ferida na perna, hipertensão, diarreia, disenteria, malária, dor de estômago, queimação, otite e também usado como anti-inflamatório.</p>	<p>Atividade citoprotetora, inibindo lesão da mucosa gástrica.</p>		<p>TAN <i>et al.</i>, 2000.</p>
	<p>Tratamento de diarreia, gripe, otite, oftalmia, problemas</p>	<p>Efeito de diminuição da pressão arterial dependente da dose.</p>		<p>DIMO <i>et al.</i>, 1999.</p>

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Bidens pilosa</i> L. (continuação)	cardio-vasculares, hipertensão e problemas renais.			
	Tratamento de problemas estomacais, infecções, inflamações, malária e problemas do fígado.	Atividade imunossupressora e anti-inflamatória.	Poliacetileno: 2-O- β -D-glicosiltrideca-11 E-en-3,5,7,9-tetra-1,2-diol poliacetileno.	PEREIRA <i>et al.</i> , 1999.
	Anti-inflamatório, diurético, anti-reumático, antibiótico, antidiabético e contra problemas no fígado causados por malária.		Flavonóides: Quercetina 3,3'-dimetil éter 7-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosídeo; Quercetina 3,3'-dimetil éter 7-O- β -D-glicopiranosídeo.	BRANDÃO <i>et al.</i> , 1998.
	Tratamento de diarreia, gripe, otites, oftalmia, hipertensão e problemas cardíacos.	Efeito relaxante do músculo esponjoso aórtico de ratos dependente da concentração.		DIMO <i>et al.</i> , 1998.
	Antimalárico, anti-inflamatório, diurético, anti-reumático, antibiótico, hepatoprotetor e antidiabético.	Antimalárico.	1-fenil-1,3-dieno-5-en-7-ol-acetato	BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.
	Tratamento de reumatismo, irritação nos olhos, problemas abdominais, úlceras, glândulas inchadas e dor de dentes.		Ácidos graxos: Ácido elaidico, Ácido behênico. Éster: Heptanoato de fitila. Esteróide: Estigmasterol. Triterpeno: Esqualeno.	ZULUETA <i>et al.</i> , 1995.
	Antimalárico, anti-inflamatório, diurético, anti-reumático, antibiótico, antidiabético e contra hepatite.	Pequena atividade <i>in vitro</i> contra <i>Plasmodium Falciparum</i> .	Poliacetileno: 1-fenil-1,3,5-heptatriina.	N'DOUNGA <i>et al.</i> , 1983.
<i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>radiata</i> Schult. Bip.	Anti-inflamatório, diurético, anti-reumático, antibiótico e antidiabético.	Atividade antioxidante da fração em butanol da planta inteira fresca.	Flavonóides: Quercetina 3-O-rabinobiosídeo; Quercetina 3-O-rutinosídeo; Jaceína; Centaureína. Heptanil 2 O- β -xilofuranosil-(1 \rightarrow 6)- β -glicopiranosídeo; Ácido clorogênico;	CHIANG <i>et al.</i> , 2004.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<p><i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>radiata</i> Schult. Bip.</p> <p>(continuação)</p>			3,4-Di-O-ácido cafeoilquínico; 3,5-Di-O-ácido cafeoilquínico; 4,5-Di-O-ácido cafeoilquínico.	
	Problemas estomacais como úlcera péptica.	Atividade antiulcerogênica devido a propriedades antissecretória e de proteção da mucosa gástrica.		ALVAREZ <i>et al.</i> , 1999.
	Anti-inflamatório e anti-reumático.		<p>Flavonóides: (Z)-6-O-(3",4",6"-triacetil-β-D-glicopiranosil)-6,7,3',4'-tetraidroxiaurona; (Z)-6-O-(2",4",6"-triacetil-β-D-glicopiranosil)-6,7,3',4'-tetraidroxiaurona; (Z)-6-O-(4",6"-diacetil-β-D-glicopiranosil)-6,7,3',4'-tetraidroxiaurona; Okanina 4'-O-β-D-(4",6"-diacetil)-glicopiranosídeo; Isookanina 7-O-β-D-(2",4",6"-triacetil)-glicopiranosídeo; Okanina 4'-O-β-D-(3",4",6"-triacetil)-glicopiranosídeo; Quercetina-3,4'-dimetil éter-7-O-rutinosídeo; Luteolina.</p> <p>Ácido 4-O-(2-O-acetil-6-O-<i>p</i>-cumaroil-β-D-glicopiranosil)-<i>p</i>-cumárico; Ácido butanodióico.</p> <p>Poliacetileno: 1-fenil-1,3,5-heptatriina.</p>	WANG <i>et al.</i> , 1997.
<i>Bidens subalternans</i> D.C.			Sesquiterpenos: <i>E</i> -cariofileno, α-Humuleno, Germacreno-D, Germacreno-B, Biciclogermacreno, α-Muuroleno, <i>Z</i> -γ-bisaboleno, γ-Elemeno, β-Cubebeno, β-Elemeno, β-Gurjuneno, γ-Cadineno.	GROMBONE-GUARATINI <i>et al.</i> , 2005.
<i>Bidens tripartitus</i> L.		Atividade antimalárica.		BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997.

II Gênero *Pterocaulon*:

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon</i> sp	Tratamento de doenças de pele (micoses) em animais; cicatrizante e no tratamento de doenças infecciosas.			AVANCINI, 2002 <i>Apud</i> STEIN <i>et al.</i> , 2005.
	Como inseticida e como agente contra picadas de cobra.			DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1987.
<i>Pterocaulon alopecuroides</i> (Lam.) D.C.	Digestivo e contra enfermidades hepáticas.			GOLENIOWSKI <i>et al.</i> , 2006.
		Atividade antifúngica do extrato em hexano.	Cumarinas: 5-metoxi-6,7-metilenodioxycumarina; 7-(2',3'-epoxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina.	STEIN <i>et al.</i> , 2006.
		Atividade antifúngica do extrato metanólico bruto, especialmente contra <i>Cryptococcus neoformans</i> (causa de meningite em pacientes portadores de HIV), e das partições em hexano e diclorometano contra <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> .		STEIN <i>et al.</i> , 2005.
			Cumarinas: 7-(2',3'-diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina; 7-(2',3'-diidroxí-3'-metilbutiloxi)-5-hidroxí-6-metoxicumarina. Flavonóide: 3,5,3',4'-tetraidroxí-7	VILEGAS <i>et al.</i> , 1995.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon alopecuroides</i> (Lam.) D.C.			-(2",3"-em-3"-metilbutiloxi)-2,3-diidroflavonol.	
(continuação)			Tridec-1,2-dimetoxi-3,5,7,9,11-pentino.	MAGALHÃES <i>et al.</i> , 1989.
<i>Pterocaulon balansae</i> Chodat.		Atividade antifúngica do extrato em hexano.	Cumarina: 5-metoxi-6,7-metilenodioxycumarina.	STEIN <i>et al.</i> , 2006.
		Atividade antifúngica da partição hexânica, especialmente contra <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (causa de "pé-de-atleta" e onicomicoses em humanos), e também contra <i>Candida tropicalis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Cryptococcus neoformans</i> .		STEIN <i>et al.</i> , 2005.
			Cumarina: 5-(2',3'-diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1997.
			Tridec-1,2-dimetoxi-3,5,7,9,11-pentino.	MAGALHÃES <i>et al.</i> , 1989.
			Cumarinas: Puberulina; Éter [2',3'-diidroxí-3'-metilbutil-(1')] de escopoletina; Éter [2',3'-epoxi-3'-metilbutil-(1')] de escopoletina; 7-(3'-metil-2',3'-epoxibutiloxi)-5,6-metilenodioxycumarina.	MAGALHÃES <i>et al.</i> , 1981.
<i>Pterocaulon cordobense</i> Kuntze	Contra doenças hepáticas e como pesticida.			GOLENIOWSKI <i>et al.</i> , 2006.
<i>Pterocaulon interruptum</i> DC.			Cumarina: Sabandinol. Esteróides: Estigmasterol; 3-O-acetiltaraxasterol.	HEEMANN <i>et al.</i> , 2006.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon interruptum</i> DC. (continuação)			Flavonóides: Quercetina; Taxifolina 7-O-prenilada.	
<i>Pterocaulon lanatum</i> O. Kuntze			Cumarina: 5-(2',3'-diidroxil-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1997.
			Tridec-1,2-dimetoxi-3,5,7,9,11-pentino.	MAGALHÃES <i>et al.</i> , 1989.
			Cumarinas: Puberulina, Éter [2',3'-diidroxil-3'-metilbutil-(1')] de escopoletina, Éter [2',3'-epoxil-3'-metilbutil-(1')] de escopoletina, 7-(3'-metil-2',3'-epoxibutiloxi)-5,6-metilenodioxycumarina.	MAGALHÃES <i>et al.</i> , 1981.
<i>Pterocaulon polystachyum</i> D.C.		Atividade antifúngica do extrato em hexano.	Cumarinas: 5-metoxil-6,7-metilenodioxycumarina; Aiapina; Preniletina; Éster metílico de preniletina.	STEIN <i>et al.</i> , 2006.
		Atividade fagodepressora de cumarinas contra larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	Cumarinas: 5-metoxil-6,7-metilenodioxycumarina; 6-metoxil-7-(2'-hidroxietoxil)-cumarina; 6,7-metilenodioxycumarina; 6-hidroxil-7-isopreniloxycumarina; 6-metoxil-7-isopreniloxycumarina.	VERA <i>et al.</i> , 2006.
		Atividade antifúngica do extrato metanólico bruto e da partição hexânica contra: <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> .		STEIN <i>et al.</i> , 2005.
		Ação inseticida e contra a larva do mosquito <i>Aedes aegypti</i> .		HEEMANN <i>et al.</i> , 2004.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon polystachyum</i> D.C. (continuação)		Atividades antiproliferativa e de diferenciação em células leucêmicas U-937, sem efeito citotóxico, do extrato em éter de petróleo.	Cumarinas (responsáveis pela atividade): 5-metoxi-6,7-metilenodioxycumarina e 5-(3'-metil-2'-buteniloxi)-6,7-metilenodioxycumarina.	RIVEIRO <i>et al.</i> , 2004.
			Cumarinas: Aiapina; Isoescopoletina; Preniletina; Éter metílico de Preniletina; Virgatenol; Obtusinina; 5-metoxi-6,7-metilenodioxycumarina; 5-(3',3'-dimetilaliloxi)-6,7-metilenodioxycumarina; 5-(2',3'-diidroxil-3'-metilbutanoxi)-6,7-metilenodioxycumarina; Éter metílico de Haplopinol; 6-(1',1'-dimetil-2'-propenil)-7-hidroxycumarina; Demetilnieshoutina; Isovirgatenol; 3'-deoxiobtusina; 6-metoxi-7-(2'-hidroxietoxi)-cumarina; 5-(2'-hidroxietoxi)-6,7-metilenodioxycumarina; 5-hidroxi-6,7-metilenodioxil-8-(3',3'-dimetilalil)-cumarina.	VERA <i>et al.</i> , 2001.
		Atividades de interação com o DNA e inibição tumoral do extrato em diclorometano.		MONGELLI <i>et al.</i> , 2000.
			Cumarinas: 5-(3'-metil-2'-buteniloxi)-6,7-metilenodioxycumarina; 5-metoxi-6,7-metilenodioxycumarina; Aiapina; 7-(3'-metil-2'-buteniloxi)-6-	PALACIOS <i>et al.</i> , 1999.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon polystachyum</i> D.C.			metoxicumarina; Preniletina; Virgatenol; Escopoletina; Aesculetina.	
(continuação)		Atividade antioxidante e efeito inibitório de funções de neutrófilos.		PAYA <i>et al.</i> , 1996.
	Contra insolação e como repelente de pulgas e moscas.	Atividade citotóxica no teste "Brine Shrimp".	Flavonóides: Quercetina; Isorhamnetina. Ácido cafeico; Ácido clorogênico; Ácido isoclorogênico; Ácido 4,5-dicafeoilquínico; Ácido 3,5-dicafeoilquínico; Ácido 3,4-dicafeoilquínico.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1994b.
	Contra moscas e pulgas e contra insolação.			ZARDINI, 1983 <i>Apud</i> MONGELLI <i>et al.</i> , 2000.
<i>Pterocaulon purpurascens</i>			Cumarinas: Purpurasolol, Fraxetina.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1996.
			Cumarina: Purpurasol.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1992.
	Agente inseticida, digestivo e contra picadas de cobra.		Cumarina: Purpurenol.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1991.
			Flavonóides: Quercetina; Isorhamnetina; Éter 3,7,4'-trimetílico de quercetagetina; Éter 3,7-dimetílico de quercetagetina; Éter 3,3'-dimetílico de quercetagetina; Éter 3-metílico de quercetagetina.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1987.
<i>Pterocaulon redolens</i> (Forst.f) F. Vill.		Atividade contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> e citotoxicidade moderada contra câncer de	Cumarinas: Aiapina; 5-metoxi-6,7-metilenodioxycumarina; Puberulina; 5-metoxiescopoletina; Isofraxidina;	KANLAYAVATTANAKUL <i>et al.</i> , 2003.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon redolens</i> (Forst.f) F. Vill. (continuação)		mama e pulmonar.	2',3'-diidroxipuberulina;; 5-(2',3'-diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina. Flavonóides: Luteolina; Tomentin; Crisosplenol C.	
<i>Pterocaulon rugosum</i> (Vahl.) Malme			Tridec-1,2-dimetoxi-3,5,7,9,11-pentino.	MAGALHÃES <i>et al.</i> , 1989.
<i>Pterocaulon serrulatum</i> (Montr.) Guillaumin		Ação antibacteriana do extrato em éter etílico das partes aéreas.	Cumarinas (inativas): Aiapina; 5-metoxi-6,7-metilenodioxícumarina; 6,7,8-trimetoxicumarina. Sesquiterpenos (responsáveis pela atividade antimicrobiana): 14-hidroxi- β -cariofileno; 4,5-epoxy-13-hidroxi- β -cariofileno. Flavonóide (responsável pela atividade antimicrobiana): 5,7-diidroxiflavanona.	MACLEOD & RASMUSSEN, 1999.
	Infecções respiratórias, particularmente resfriados, acompanhadas de febre e dor de cabeça, e tratamento de feridas na pele.			SEMPLE <i>et al.</i> , 1999.
	Alívio da congestão e como lavagem antiséptica para tratar problemas na pele, como sarna, tinha, cortes e feridas.			BARR, 1988 <i>Apud</i> MACLEOD & RASMUSSEN, 1999.
<i>Pterocaulon sphacelatum</i> (Labill.) Benth. & Hook. f. ex. F. Muell.	Em infecções respiratórias, particularmente resfriados, acompanhadas de febre e dor de cabeça, e em feridas na pele.	Atividade antiviral do extrato etanólico bruto das partes aéreas.	Flavonóide (responsável pela atividade antiviral): Crisosplenol C. Cumarina: 6,7,8-trimetoxicumarina.	SEMPLE <i>et al.</i> , 1999.

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon sphacelatum</i> (Labill.) Benth. & Hook. f. ex. F. Muell. (continuação)	Tratamento de resfriados, infecções respiratórias, sinusite, feridas, inflamação ou infecção dos olhos.	Atividade antiviral do extrato etanólico das partes aéreas verdes contra poliovírus.		SEMPLE <i>et al.</i> , 1998.
			Óleo essencial: Limoneno e Cariofileno como componentes principais.	BARR <i>et al.</i> , 1993.
			Cumarina: 6,7-dimetoxicumarina.	JOHNS <i>et al.</i> , 1968.
<i>Pterocaulon virgatum</i> (L.) D.C.	Contra doenças hepáticas e como pesticida.			GOLENIOWSKI <i>et al.</i> , 2006.
			Cumarinas: 5-(2'-hidroxi-3'-metoxi-3'-metilbutoxi)-6,7-metilenodioxicumarina; 5-(2'-hidroxi-3'-metil-3'-buteniloxi)-6,7-metilenodioxicumarina; 5-hidroxi-6,7-metilenodioxicumarina.	MAES <i>et al.</i> , 2006.
	Digestivo, emenagogo, inseticida e como agente contra picadas de cobra.		Cumarina: Isopurpurazol.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1999.
			Cumarinas: Virgatenol; VirgatoI; 7(3'-metil-2'-buteniloxi)-6-metoxicumarina; 7-(2',3'-diidroxi-3'-metilbutoxi)-6-metoxicumarina; Aiapina e Escopoletina.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1998.
			Cumarinas: 5-(2',3'-diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina; 5-(3'-metil-2'-oxobutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1997.
			Cumarinas: 5-metoxi-6,7-metileno dioxicumarina; 5-(3'-metil-2'-butenil oxi)-6,7-metilenodioxicumarina.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1994a

Espécie	Uso Popular	Atividades Testadas	Substâncias Identificadas	Referências
<i>Pterocaulon virgatum</i> (L.) D.C.			Ácido cafeico; Ácido clorogênico; Ácido isoclorogênico; Ácido 3,4- dicafeoilquínico.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1993.
(continuação)			Flavonóides: Quercetina; Isorhamnetina; rhamnazina; Isoquercitrina; Quercetina-3- diglicosídeo.	DEBENEDETTI <i>et al.</i> , 1983.
			Terpenos: Humuleno, Taraxasterol, Esqualeno. Hidroquinona: Éter dimetílico de timohidroquinona. Tiofenos acetilênicos: 5-[Prop-1"- iniltienil-(1)]-6'-cloro-5'-hidroxihexa- 3',5'-diina; 5-[Etiltienil-(1)]-6'- cloro-5'-hidroxihexa-3',5'-diina; 5'- Metil-2-[4'-cloro-3'-hidroxibut-1-inil]- ditiofeno. Flavanóis: aromadendrina 7-O- prenilada; taxifolina 7-O-prenilada. Cumarina: 7-(2',3'-epoxi-3'- metilbutiloxi)-6-metoxicumarina.	BOHLMANN <i>et al.</i> , 1981.
	Tônico e digestivo.		Ácido 3,4-dicafeoilquínico.	MARTINO <i>et al.</i> , 1979.

Atividade antioxidante

Radicais livres estão envolvidos na etiologia e patogênese de numerosas doenças, incluindo doenças cardiovasculares, câncer, problemas neurodegenerativos, envelhecimento e diabetes (INOUE *et al.*, 1995; SAKAGAMI, *et al.*, 1997; AOKI *et al.*, 2001; CHIANG *et al.*, 2004).

Os radicais livres ocorrem como conseqüência natural do metabolismo celular, porém, em indivíduos saudáveis, a produção de radicais livres é balanceada por sistemas de defesa antioxidativos. A depleção do nível de antioxidantes no organismo tem como resultado o estresse oxidativo (SCHMIDT *et al.*, 1995; KOGA *et al.*, 1999; TERASAKA *et al.*, 2000; CHIANG *et al.*, 2004; PRIGOL *et al.*, 2008).

Agentes antioxidantes estão presentes em diversas plantas utilizadas como alimento e em bebidas, como vinhos e chás. Polifenóis, como os ácidos fenólicos, flavonóides, taninos e lignanas, são agentes antioxidantes encontrados em diversas plantas. Está provado que o chá verde, por exemplo, possui antioxidantes polifenólicos que são anticarcinogênicos, dentre eles o ácido gálico (HO *et al.*, 1992; KERRY & ABBEY, 1997; ABU-AMSHA *et al.*, 2001; POLEWSKI *et al.*, 2002; CHIANG *et al.*, 2004). Na França, o consumo de uma dieta rica em gordura saturada e a aparentemente baixa incidência de doenças coronarianas, é um fato chamado de “Paradoxo Francês”, o qual foi associado ao consumo de vinho tinto. Os agentes antioxidantes presentes no vinho tinto mostraram ter um papel protetor contra a oxidação do LDL *in vitro* (ARCE *et al.*, 1998; LANDRAULT *et al.*, 2001).

Muitos trabalhos revelaram que cumarinas possuem várias atividades farmacológicas, como atividades neuroprotetora, contra o câncer, antimutagênica e anti-inflamatória, todas elas provavelmente relacionadas a ação das cumarinas como antioxidantes naturais (BORGES *et al.*, 2005; STANCZYK *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2007). Foi sugerido que dois substituintes hidroxila em posição orto e a presença de ligação dupla nas posições 3,4 desempenhariam importante papel para a atividade

antioxidante de cumarinas (FYLAKTAKIDOU *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2007; REHAKOVA *et al.*, 2008), que um substituinte hidroxila na posição 7 de cumarinas simples seria necessário para a atividade antioxidante, e ainda, que qualquer substituição nas posições 6 e 8 poderia diminuir a sua capacidade de combater radicais livres (WU *et al.*, 2007) (**Figura 9**, pág. 28).

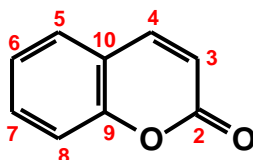


Figura 9: Estrutura do anel cumarínico.

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos da atividade de flavonóides contra radicais livres, nos quais observou-se que o número de grupos hidroxila e suas localizações nos anéis B e A, bem como a presença de ligação dupla nas posições 2,3 e de grupo hidroxila na posição 3 do anel C, influenciariam na atividade dos flavonóides (LIEN *et al.*, 1999; BURDA & OLESZEK, 2001; HEIM *et al.*, 2002; WU *et al.*, 2007) (Figura 10, pág. 28).

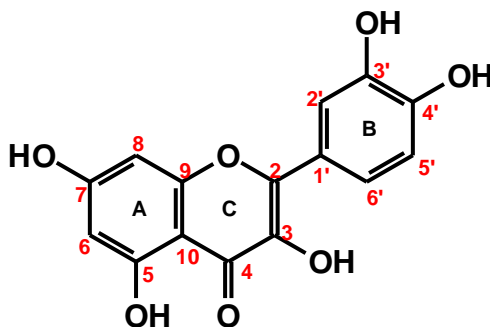


Figura 10: Estrutura do flavonóide Quercetina.

Dada a importância da atividade antioxidante no tratamento e prevenção de várias doenças e sabendo-se que não existem estudos de atividade antioxidante das partes aéreas das duas espécies pesquisadas, foram realizados testes de avaliação dessa atividade nos extratos etanólicos brutos e nas frações mais polares de *Bidens segetum* e *Pterocaulon alopecuroides*.

Atividade antimicrobiana

Muitas das doenças que afligem grande parte da população são causadas por microrganismos. O tratamento dessas infecções é realizado com agentes bacteriostáticos (que inibem temporariamente o crescimento do microrganismo) ou bactericidas (que provocam a morte do microrganismo) e essa escolha baseia-se nas condições dos mecanismos de defesa do hospedeiro e na sensibilidade do microrganismo ao agente antibacteriano (JAWETZ, 1998a).

A toxicidade seletiva é condição imprescindível ao fármaco escolhido, o que significa que esse deve ser prejudicial ao parasita sem afetar o hospedeiro. Quanto maior a seletividade pelo patógeno, menores serão os efeitos adversos do fármaco. Outra grande preocupação no uso de antibacterianos é a de que os patógenos desenvolvam resistência a essas substâncias, o que não é desejado (RAFFA *et al.*, 2006; JAWETZ, 1998a).

O agente antimicrobiano pode atuar no microrganismo inibindo a síntese da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana celular ou o transporte ativo através da mesma, inibindo a síntese de proteína ou inibindo a síntese de ácido nucleico (RANG *et al.*, 2001; JAWETZ, 1998a).

Os gêneros *Bidens* e *Pterocaulon* são muito utilizados pela população como agentes contra diversas infecções, já tendo sido comprovada a atividade antibacteriana de algumas espécies. Dentre as substâncias presentes em espécies de

ambos os gêneros e que apresentaram atividade antimicrobiana, podemos destacar os terpenos, flavonóides e cumarinas (MACLEOD & RASMUSSEN, 1999; HARBORNE & WILLIAMS, 2000; KHAN *et al.*, 2001; KATERERE *et al.*, 2003; STEIN *et al.*, 2005).

Em estudos anteriores, extratos de *P. alopecuroides* mostraram-se ativos contra cepas de *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* (STEIN *et al.*, 2005 e 2006). Outras espécies do gênero *Pterocaulon* também foram ativas contra diversas cepas de fungos e bactérias (MACLEOD & RASMUSSEN, 1999; STEIN *et al.*, 2005 e 2006). Em alguns ensaios realizados, foram testadas cumarinas obtidas de espécies de *Pterocaulon* e essas só apresentaram atividade antimicrobiana quando associadas, sendo inativas quando isoladas (MACLEOD & RASMUSSEN, 1999; STEIN *et al.*, 2006). Trabalhos mais recentes indicam que a atividade antimicrobiana de cumarinas estaria diretamente relacionada à estrutura química das mesmas, estando os grupos hidroxila associados à atividade antifúngica quando substituídos na posição 6, e à atividade antibacteriana quando substituídos na posição 7 (RIVEIRO *et al.*, 2004).

Algumas espécies de *Bidens* são utilizadas popularmente como antibiótico (BRANDÃO *et al.*, 1997 e 1998; PEREIRA *et al.*, 1999; KHAN *et al.*, 2001; ABAJO *et al.*, 2004; CHIANG *et al.*, 2004). Extratos de *Bidens pilosa* foram testados com resultados positivos contra um amplo espectro de bactérias Gram positivas e Gram negativas, o que sugere que outras espécies do gênero poderiam também ser ativas contra bactérias (KHAN *et al.*, 2001).

Na pesquisa bibliográfica realizada não foram encontrados estudos relativos à atividade antibacteriana das duas espécies estudadas.

Atividade antivírus

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios e, como tal, dependem de processos de síntese de DNA, de RNA e de proteínas da célula hospedeira para sua replicação. Por isso é tão importante a busca por substâncias químicas inibidoras de funções específicas dos vírus, já que muitas substâncias que interferem na replicação viral são extremamente tóxicas para o hospedeiro por inibirem também algumas de suas funções celulares (JAWETZ, 1998b).

A ação de fármacos antivirais pode ser classificada de acordo com as diferentes etapas da replicação viral. São elas: adsorção e penetração nas células; síntese de proteínas não-estruturais; síntese de RNA ou de DNA; síntese de proteínas estruturais; organização de partículas virais e sua liberação da célula (JAWETZ, 1998b).

A replicação viral costuma atingir seu ápice ao aparecerem os primeiros sintomas clínicos ou um pouco antes, o que faz necessário um tratamento quimioprolático para tornar clinicamente eficazes os medicamentos bloqueadores da replicação viral. Nesses casos, a imunização é a principal abordagem terapêutica, o que ocorre contra infecções virais como sarampo, caxumba, gripe e varicela. Alguns vírus, como o herpes vírus, continuam replicando-se durante certo tempo após surgirem os primeiros sinais e sintomas, o que permite o uso de antivirais (RAFFA *et al.*, 2006; JAWETZ, 1998b).

O vírus da herpes simplex (HVS) está amplamente distribuído pelo mundo e representa uma importante causa de ulceração orolabial e genital (PATEL & ROMPALO, 2005). Muitos agentes antivirais têm sido empregados no tratamento de infecções pelo vírus da herpes. Além disso, extratos de plantas e substâncias puras isoladas de fontes naturais já foram testados e podem ser considerados uma importante ferramenta no tratamento de infecção por herpes (KHAN *et al.*, 2005).

Não existem, até o momento, estudos de atividade antiviral das partes aéreas das duas espécies pesquisadas, porém *Pterocaulon sphacelatum* mostrou-se ativo contra poliovírus (SEMPLE *et al.*, 1998; SEMPLE *et al.*, 1999), indicando que outras espécies do gênero *Pterocaulon* poderiam também apresentar atividade antiviral. As cumarinas, que são abundantes em espécies do gênero *Pterocaulon*, têm sido relacionadas à atividade de inibição de HIV-1 protease (KIRKIACHARIAN *et al.*, 2002). Além disso, existem indicações de uso popular de espécies dos gêneros *Bidens* e *Pterocaulon* para tratamento de gripes e resfriados.

Atividade hipoglicemiante

A glicose é a principal fonte de energia do metabolismo humano. O nível de glicose sanguínea é determinado pela produção e gasto de glicose e seu aumento é o principal estímulo para que ocorra secreção de insulina (SILBERNAGL & DESPOPOULOS, 2003).

O corpo humano necessita manter a glicose sanguínea numa faixa de variação muito limitada, o que é garantido pelos hormônios insulina e glucagon, e a produção desses pelo pâncreas é o que determinará, em última análise, se um paciente tem diabetes ou hipoglicemia (SINGH & CHAUHAN, 2009).

A diabetes mellitus é uma enfermidade causada pela diminuição da produção de insulina ou pela diminuição da capacidade de se utilizar a insulina, levando à hiperglicemia (SINGH & CHAUHAN, 2009).

Um estado hiperglicêmico constante pode causar, a longo prazo, alterações dos vasos sanguíneos, lesões renais, lesões ao sistema nervoso e a opacificação do cristalino conhecida como catarata (KOOLMAN & RÖHM, 2005; SHERTZERA *et al.*, 2009). Mesmo a hiperglicemia transitória pode produzir danos oxidativos e teciduais, como a morte de células neuronais (SHERTZERA *et al.*, 2009).

A etiologia da doença hiperglicêmica em humanos é complexa e envolve múltiplos mecanismos e cada um deles está relacionado ao estresse oxidativo celular e à produção de oxigênio reativo mitocondrial (SHERTZERA *et al.*, 2009).

Existem várias indicações de uso na medicina popular de algumas espécies de *Bidens* para tratamento de diabetes (N'DOUNGA *et al.*, 1983; BRANDÃO *et al.*, 1997 e 1998; DIMO *et al.*, 2001 e 2002; KHAN *et al.*, 2001; CAMARGO *et al.*, 2004; CHIANG *et al.*, 2004).

Atividade citotóxica

Muitas plantas têm demonstrado ser fontes viáveis de substâncias com atividade anticâncer clinicamente relevante. Contudo, informações etnofarmacológicas têm sido pouco utilizadas na busca por novos princípios ativos contra o câncer (MONGELLI *et al.*, 2000). Os fármacos antineoplásicas, frequentemente utilizadas em altas doses, causam diversos efeitos colaterais tóxicos. Por esta razão deve-se intensificar os esforços para identificação de novos agentes quimioterápicos (SANTOS *et al.*, 2009).

Plantas conhecidas por sua atividade citotóxica costumam ser uma boa escolha para investigação de atividade anticâncer (KINGSTON, 1992). Uma série de usos etnobotânicos também pode ser levada em conta como: problemas de pele e imunológicos, doenças inflamatórias, infecciosas, parasíticas e virais, porque refletem condições de enfermidade que apontam relevância para o câncer ou seus sintomas (CORDELL *et al.*, 1991; POPOCA *et al.*, 1998).

Citotoxicidade é a propriedade de uma substância química ou uma célula mediadora (célula do sistema imunológico) causar morte celular, podendo essa morte ocorrer tanto por necrose quanto por apoptose (BERKE, 1991; KRÄHENBÜHL & TSCHOPP, 1991). A necrose (ou morte celular “acidental”) é o processo patológico que ocorre com a exposição celular a sérios danos físicos ou químicos. A apoptose (ou morte

celular “programada”) é o processo fisiológico pelo qual células indesejadas ou sem uso são eliminadas durante o desenvolvimento e outros processos biológicos normais (VERMES & HAANAN, 1994; SCHWARTZMAN & CIDLOWSKI, 1993).

Muitos ensaios para medir a citotoxicidade são baseados em alterações da permeabilidade da membrana plasmática e na conseqüente liberação de componentes no sobrenadante. Um dos ensaios que medem o extravazamento da membrana plasmática baseia-se na quantificação de enzimas citoplasmáticas liberadas por células danificadas, sabendo-se que o total de atividade enzimática detectada no sobrenadante da cultura de células corresponde à proporção de células lisadas (MARTIN & CLYNES, 1991; DECKER & LOHMANN-MATTHES, 1988).

Ensaio de liberação de enzimas já foram descritos para fosfatases alcalina e ácida, para transaminase glutamato oxalacetato, para transaminase glutamato piruvato e para argininosuccinato liase. Entretanto, a pouca quantidade dessas enzimas e os ensaios cinéticos elaborados, necessários para quantificá-las, dificultam sua utilização. Por isso utiliza-se a enzima citoplasmática lactato desidrogenase (LDH), presente em todas as células e rapidamente liberada no sobrenadante da cultura de células quando ocorre dano na membrana plasmática (COOK & MITCHELL, 1989).

O câncer é uma de uma série de doenças que podem ser originadas por danos oxidativos (CASTRO & FREEMAN, 2001). Substâncias com atividade antioxidante foram estudadas em várias doenças crônicas causadas por radicais livres. Foram realizados pouquíssimos estudos sistemáticos de correlação entre estrutura de cumarinas e atividade antioxidante, mas sua atividade provavelmente se deve à sua analogia estrutural com flavonóides e benzofenonas (FYLAKTAKIDOU *et al.*, 2004; FAROMBI & NWAOKAFAFOR, 2005; WU *et al.*, 2007; REHAKOVA *et al.*, 2008). Na verdade, como as substituições podem ocorrer em qualquer uma das seis posições disponíveis no anel cumarínico básico (1,2-benzopirona), as cumarinas possuem uma enorme diversidade estrutural (BEILLEROT *et al.*, 2008).

Algumas espécies do gênero *Pterocaulon* já foram testadas com sucesso em ensaios de atividade citotóxica e de inibição tumoral (DEBENEDETTI *et al.*, 1994b; MONGELLI *et al.*, 2000; KANLAYAVATTANAKUL *et al.*, 2003).

Objetivo geral

O objetivo geral desse trabalho é contribuir para o estudo químico e farmacológico das espécies da família Asteraceae *Bidens segetum* e *Pterocaulon alopecuroides*, direcionando a análise química para as frações de baixa e média polaridades, visando o isolamento de metabólitos especiais para posterior aplicação em testes farmacológicos (atividades antimicrobiana, antiviral, hipoglicemiante, citotóxica e como antioxidante) *in vitro* e/ou modelos *in vivo*.

Objetivos específicos:

✓ Estudar, do ponto de vista químico e farmacológico, as partes aéreas das espécies *Bidens segetum* e *Pterocaulon alopecuroides*;

✓ Estudar a composição lipofílica e hidrofílica dos extratos dos diferentes órgãos vegetativos das espécies selecionadas;

✓ Proceder com a separação, isolamento e elucidação estrutural do maior número possível de substâncias do metabolismo especial das espécies de interesse;

✓ Realizar estudos farmacológicos relacionados com atividade anti-radicais livres, antimicrobiana, antiviral, citotóxica e hipoglicemiante, nos extratos de todos os órgãos vegetativos separados e coletados, nas amostras semi-purificadas (frações dos extratos) e em substâncias puras, quando possível.

METODOLOGIA

FITOQUÍMICA

Material e métodos:

As separações cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo contra-corrente de alta velocidade MKII CCC PC Inc com coluna espiral tripla de múltiplas camadas, de diâmetro interno 1,68mm, em politetrafluoroetileno (PTFE), do NPPN – UFRJ; em coluna de gel de sílica Merck 60 (70-230 mesh) e em coluna de Sephadex® LH-20 (25-100µm), ambos da Sigma-Aldrich. As análises por cromatografia em camada fina (CCF) foram realizadas com cromatoplasmas de gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre placa de alumínio, de 0,2mm de espessura, da Merck. A visualização das substâncias em camada fina foi feita, quando possível, sob luz U.V. a 254 e 365nm e, principalmente, com solução de ácido sulfúrico a 5% em etanol, seguida de aquecimento. As cromatografias preparativas foram realizadas utilizando-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre placa de vidro de 20 x 20cm. Os reagentes utilizados foram sempre de grau P.A., assim como os solventes empregados nas purificações.

Na realização de cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas utilizou-se cromatógrafo HP 5890 SII acoplado a um espectrômetro de massas modelo 5973 (IE 70 eV), com um injetor automático modelo 5683, todos da Shimadzu, na Central Analítica do NPPN da UFRJ. Entretanto, algumas análises foram realizadas em cromatógrafo com fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massas modelo QP5000, da Agilan Technologies, no LADETEC (Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico), Instituto de Química da UFRJ. Empregou-se hélio como gás de arraste (1,0mℓ min.⁻¹), temperatura do detector de 280°C, temperatura do injetor de 270°C, programação de temperatura de 60°C a 290°C (5°C por minuto e mais 20 minutos em 290 °C), split de 1:20, volume de injeção 1,0 µℓ, coluna DB-5 (30m x 0,25mm), tempo de corrida de 66 minutos e faixa de massas analisável de 50 a 500.

Os resultados obtidos foram comparados com o catálogo de espectro de massas de McLafferty, sendo considerados apenas aqueles para os quais o banco de dados do computador (HP CHEMISTATION Data Acquisition Software) forneceu índice de certeza superior ou igual a 90% (McLAFFERTY & STAUFFER, 1989).

Os espectros de RMN ^1H (600 MHz) e de RMN ^{13}C (150 MHz) foram obtidos em aparelho Bruker Avance II 600 com um Bruker Cryo Probe, no Departamento de Química do Trinity College Dublin (TCD), na Irlanda. Os espectros de RMN ^1H (200 MHz) e de RMN ^{13}C (50 MHz) foram obtidos em aparelho Varian Star-200, na Central Analítica do NPPN da UFRJ, e os espectros de RMN ^1H (400 MHz) e de RMN ^{13}C (100 MHz) foram registrados em equipamento Bruker Avance 400, no Centro Nacional de RMN Jiri Jones da UFRJ. Em todas as análises foram utilizados solventes deuterados e TMS como padrão interno.

Coleta e identificação do material botânico:

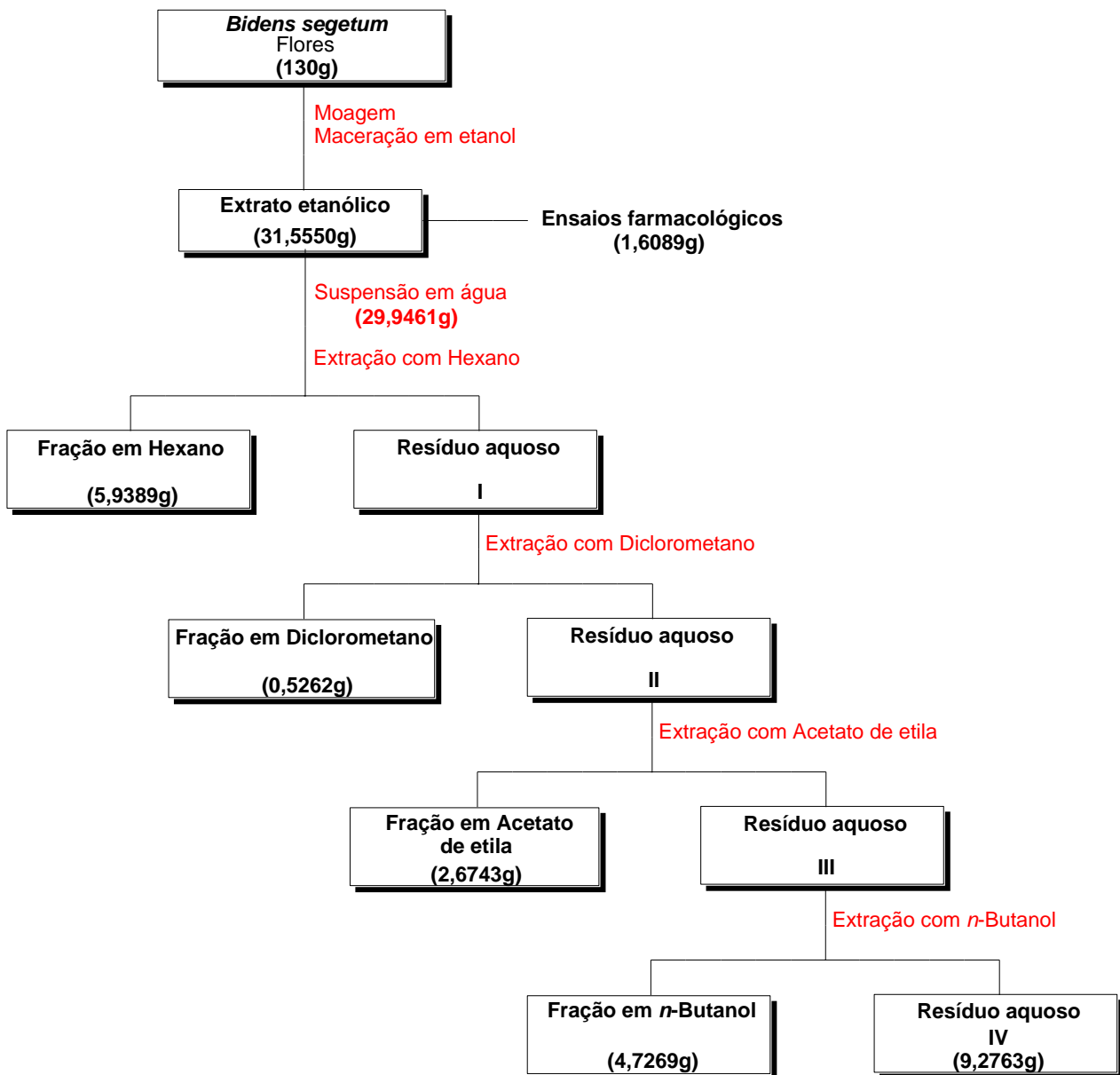
O material botânico foi coletado em abril de 2005, em Santa Luzia, Lumiar, no Município de Nova Friburgo, interior do Estado do Rio de Janeiro. As partes aéreas de *Bidens segetum* Martius ex Colla foram coletadas a 523 metros de altitude nas coordenadas 22° 23' 19,7" S e 42° 17' 18,6" O. Já as partes aéreas de *Pterocaulon alopecuroides* (Lamarck) De Candolle foram coletadas a 509 metros de altitude, nas coordenadas 22° 23' 17,2" S e 42° 17' 23" O.

A identificação do material botânico foi feita pela Prof.^a Dr.^a Rosana Conrado Lopes, do Instituto de Biologia da UFRJ. Foram depositadas amostras das duas espécies no herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UFRJ.

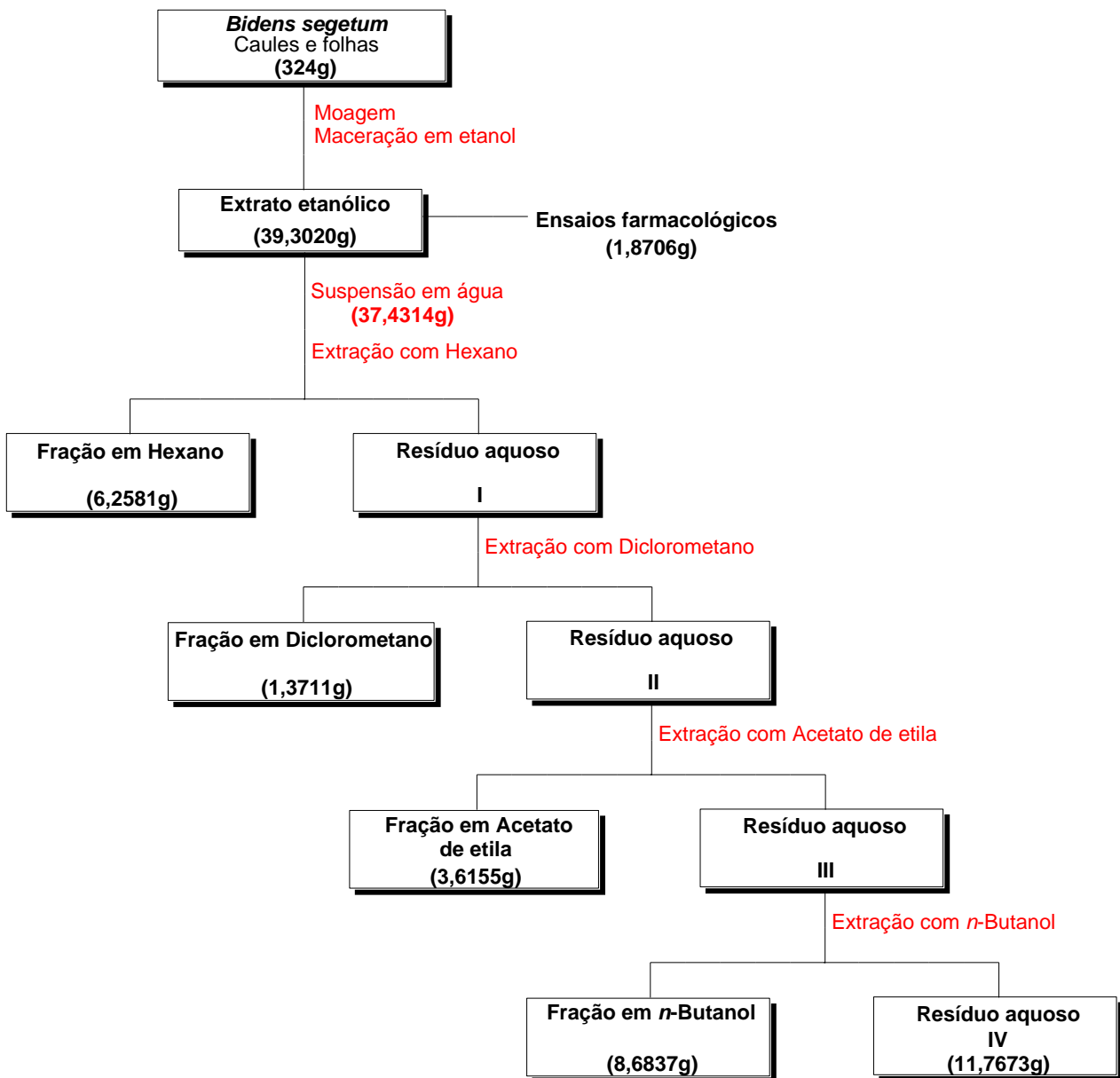
Preparação do material:**Preparação dos extratos:**

Após a coleta, as partes aéreas de *B. segetum* foram separadas em flores e caules/folhas. Já as partes aéreas de *P. alopecuroides* foram trabalhadas integralmente. O material foi seco e as partes citadas das duas espécies foram moídas e submetidas separadamente ao processo de extração exaustiva por maceração estática com etanol em temperatura ambiente. Os extratos etanólicos obtidos foram submetidos à evaporação sob pressão reduzida para total remoção do solvente.

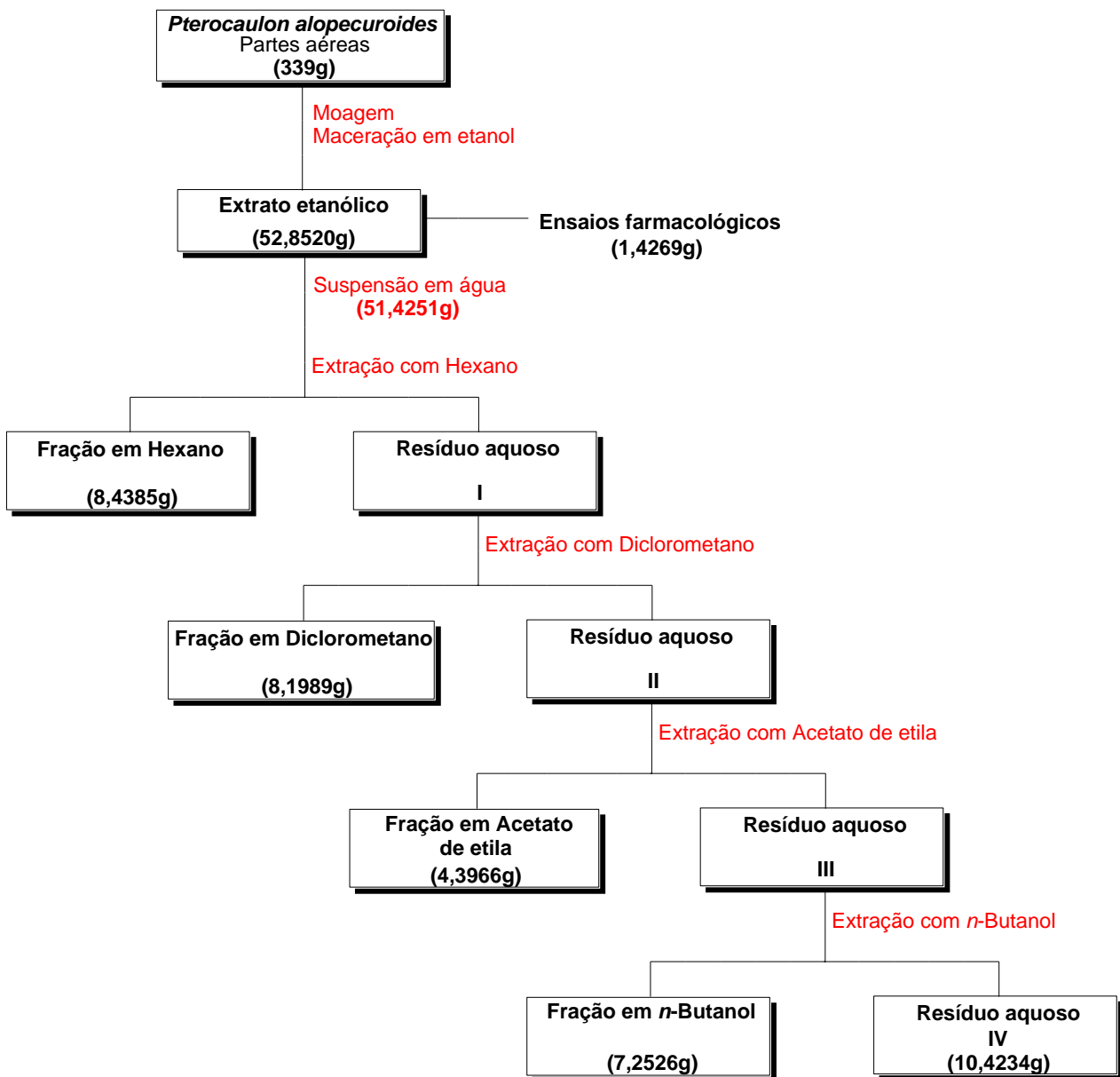
Uma parte de cada um desses extratos secos foi empregada nos ensaios farmacológicos. O restante de cada extrato foi suspenso em água destilada, sendo que as três suspensões resultantes foram submetidas à partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol) e as frações obtidas foram novamente submetidas à evaporação sob pressão reduzida. Depois de secas, as frações foram utilizadas nos estudos fitoquímicos e nos ensaios farmacológicos (Fluxograma I, pág. 40; Fluxograma II, pág. 41; Fluxograma III, pág. 42).



Fluxograma I: Extração das flores de *Bidens segetum* com etanol e partição líquido-líquido do extrato etanólico.



Fluxograma II: Extração dos caules e folhas de *Bidens segetum* e partição líquido-líquido do extrato etanólico.



Fluxograma III: Extração das partes aéreas de *Pterocaulon alopecuroides* e partição líquido-líquido do extrato etanólico.

Extração de óleos essenciais:

Uma parte das flores (20g) e caules/folhas (29g) secas de *B. segetum* foi separada para extração do óleo essencial. Esse material foi colocado separadamente em um balão de vidro juntamente com 500mℓ de água destilada, sendo submetido a uma hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. O sistema foi mantido em aquecimento por uma hora, obtendo-se ao final desse tempo os óleos essenciais das flores e dos caules/folhas de *B. segetum*, os quais foram acondicionados em recipientes de vidro e levados para análise por CG-EM (Figura 11, pág. 43).

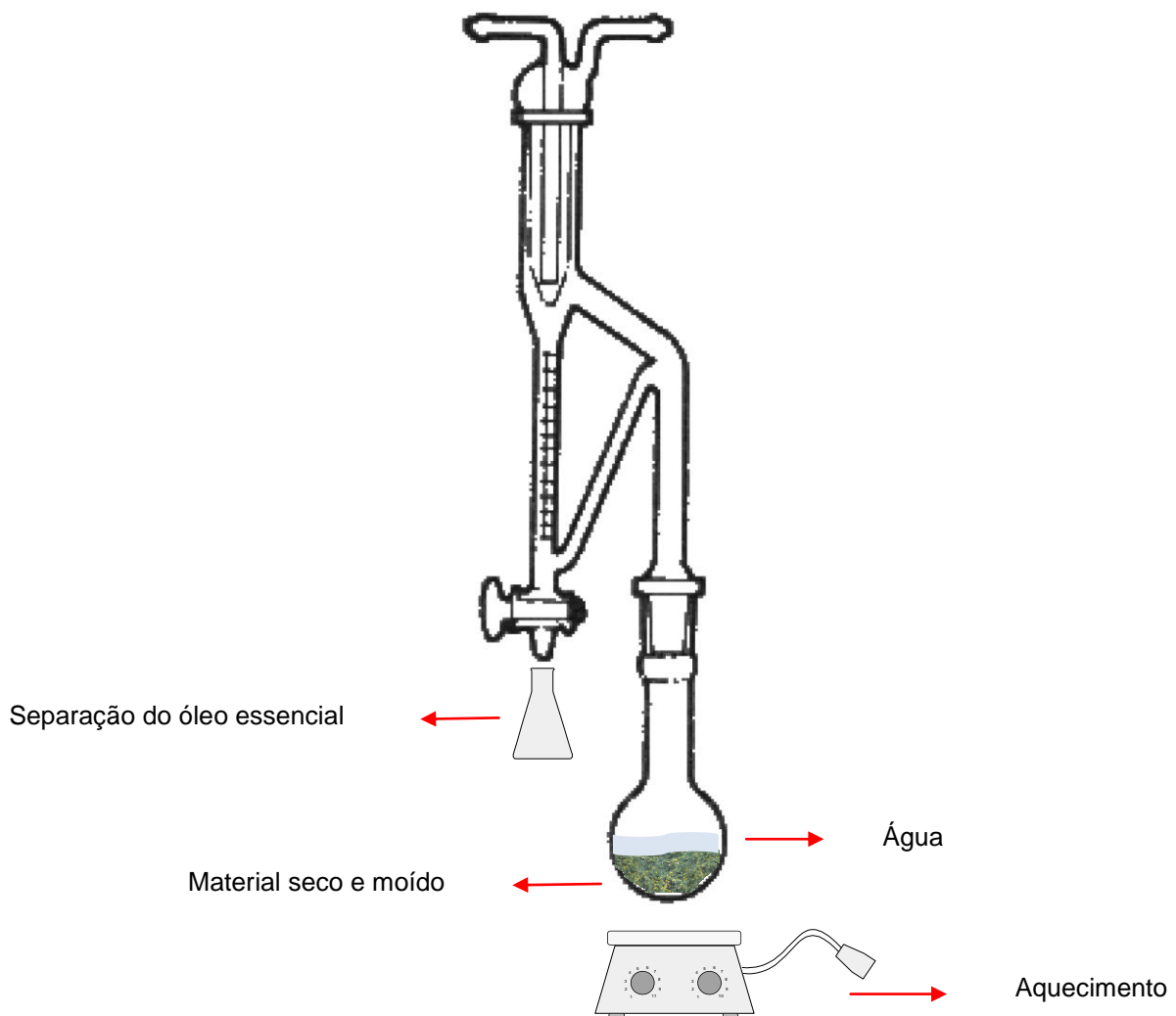


Figura 11: Obtenção de óleo essencial através de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado.

Isolamento, purificação e identificação dos constituintes:

Os extratos etanólicos e aqueles obtidos a partir do processo de partição líquido-líquido foram submetidos aos processos tradicionais e modernos de isolamento e purificação.

Para a resolução dos extratos lipofílicos e de polaridade média, foram utilizadas técnicas cromatográficas (cromatografia em coluna, cromatografia em camada fina, cromatografia em escala preparativa) do tipo adsorção, utilizando-se gel de sílica como fase estacionária e por cromatografia contra-corrente, utilizando-se um sistema de solventes ideal para a separação dos constituintes do extrato. A purificação das substâncias obtidas foi realizada por técnicas cromatográficas (em gel de sílica e em Sephadex® LH-20) e por cristalização.

Os extratos polares foram resolvidos por cromatografia do tipo exclusão molecular utilizando a técnica de coluna e também por cromatografia contra-corrente.

Estudo das flores de *Bidens segetum*:**Óleo essencial**

Na análise do óleo essencial das flores de *Bidens segetum* por CG-EM realizada no LADETEC, foram identificadas os seguintes terpenos como componentes desse óleo essencial com seus respectivos tempos de retenção na cromatografia com fase gasosa: α -Pineno (2,68 minutos), Mirceno (3,16 minutos), Limoneno (3,67 minutos) e δ -Germacreno (14,33 minutos) (Figura 12, pág. 45).

❖ α -Pineno:

EM-IE m/z (%): 136 [M]⁺ • (9,35); 121 (16,62); 105 (12,97); 93 (100); 79 (22,76); 77 (26,90); 67 (8,93); 55 (5,29); 41 (12,92).

❖ Mirceño:

EM-IE m/z (%): 136 $[M]^+$ • (5,96); 121 (5,14); 105 (2,37); 93 (100); 79 (14,08); 77 (13,51); 69 (56,95); 53 (8,60); 41 (52,85).

❖ Limoneno:

EM-IE m/z (%): 136 $[M]^+$ • (29,45); 121 (30,68); 108 (8,63); 107 (22,49); 93 (100); 80 (13,80); 79 (34,69); 68 (75,57); 53 (16,81); 41 (18,38).

❖ δ -Germacreno:

EM-IE m/z (%): 204 $[M]^+$ • (17,64); 161 (100); 147 (5,03); 119 (34,71); 105 (45,82); 91 (41,03); 79 (24,37); 53 (9,48); 28 (94,70).

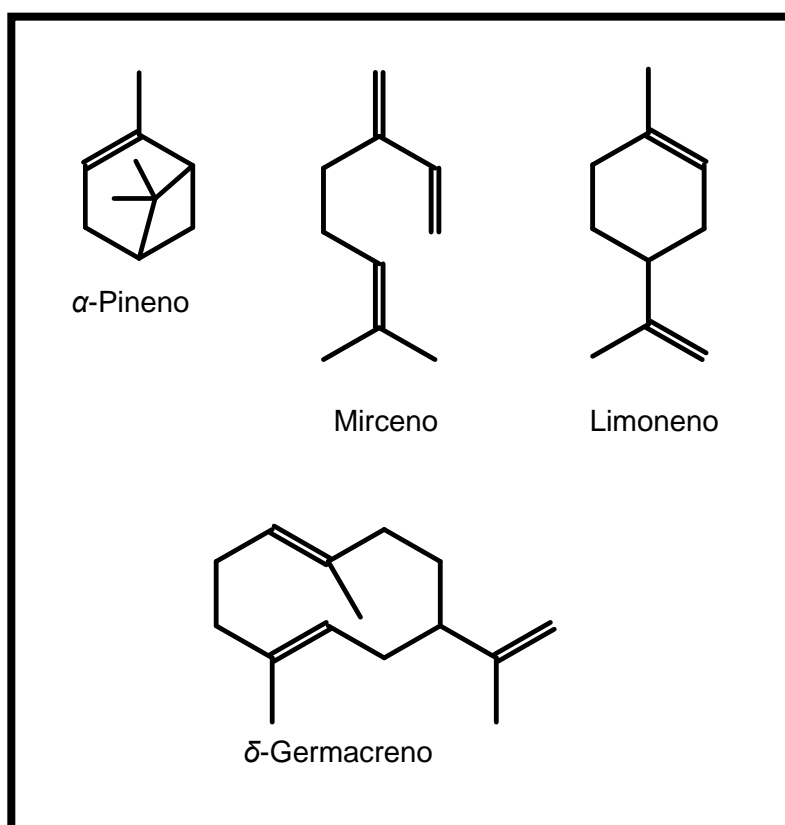


Figura 12: Substâncias identificadas no óleo essencial das flores de *B. segetum*.

Fração em Hexano

A fração hexânica das flores de *B. segetum* foi analisada por CG-EM no LADETEC, sendo identificadas as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção na cromatografia com fase gasosa: Ácido hexadecanóico (28,47 minutos), Hexadecanoato de etila (29,13 minutos) e *n*-Eicosano (43,47 minutos) (Figura 13, pág. 47)

❖ Ácido hexadecanóico (Ácido palmítico):

EM-IE *m/z* (%): 256 [M]⁺ • (20,78); 213 (22,14); 171 (12,42); 157 (10,62); 129 (30,55); 115 (13,30); 85 (16,21); 73 (62,04); 44 (100).

❖ Hexadecanoato de Etila (Éster Etilico do Ácido Palmítico):

EM-IE *m/z* (%): 284 [M]⁺ • (12,90); 241 (14,73); 213 (5,56); 199 (5,29); 185 (5,56); 157 (17,10); 115 (5,80); 101 (61,43); 88 (100); 44 (44,64).

❖ *n*-Eicosano:

EM-IE *m/z* (%): 282 [M]⁺ •; 281 (17,39); 253 (4,74); 211 (1,63); 207 (34,12); 169 (2,80); 141 (3,90); 127 (5,96); 97 (12,31); 71 (41,73); 44 (100).

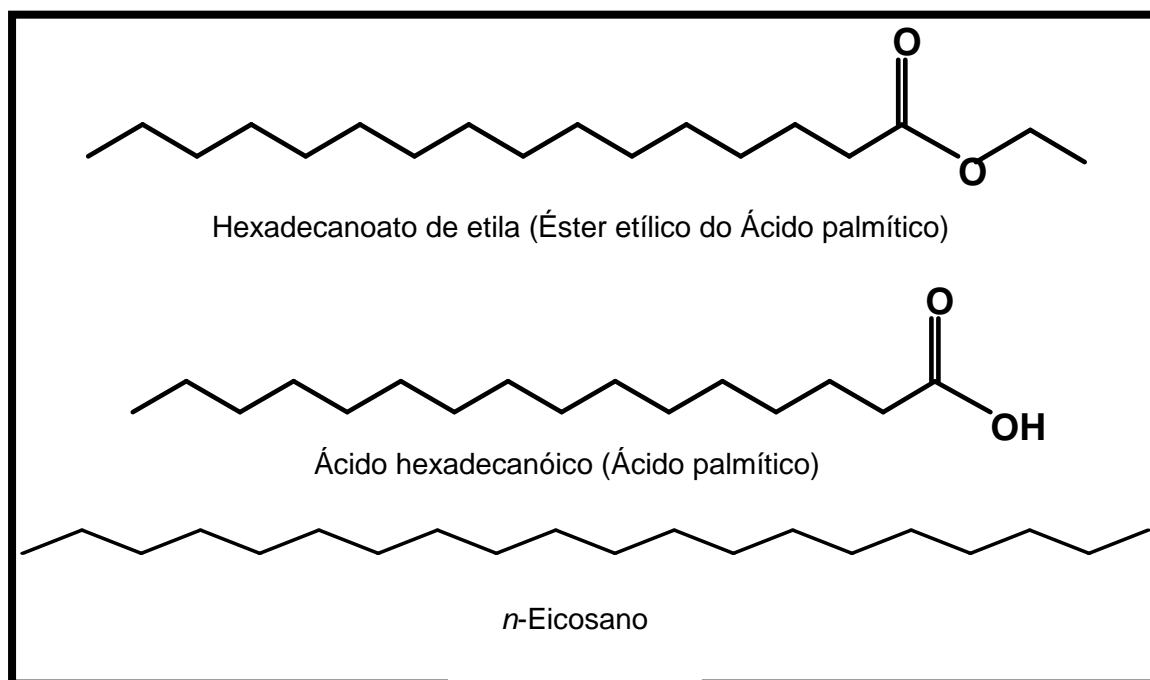


Figura 13: Substâncias identificadas na fração em hexano do extrato das flores de *B. segetum*.

Fração em Diclorometano

A fração em diclorometano das flores de *B. segetum* sofreu processo de separação cromatográfica em aparelho de cromatografia contra-corrente. Esse estudo, bem como todos os estudos realizados envolvendo cromatografia contra-corrente, foram supervisionados pela prof.^a Dra. Gilda Guimarães Leitão, do Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais da UFRJ. Utilizou-se como sistema de solventes bifásico hexano : acetato de etila : acetona : água, na proporção de 1 : 1 : 1 : 1 (v/v/v/v). Definiu-se como fase móvel a fase superior. Cerca de 320mg de amostra dissolvida em 5mℓ do sistema de solventes foram injetados em uma coluna espiral tripla de múltiplas camadas, com diâmetro interno de 1,68mm, em politetrafluoroetileno (PTFE), tendo sido empregada a coluna de 80mℓ de capacidade. A velocidade de rotação empregada foi de 850rpm e a retenção de fase estacionária na coluna foi de 86,25%.

Foram coletados 4mℓ por fração com um fluxo de 2mℓ/minuto. A rotação foi desligada a partir da fração nº 48 e a fase móvel continuou a ser bombeada. A amostra retida na coluna foi retirada com metanol a partir da fração nº 69, passando-se a coletar 10mℓ por fração com um fluxo de 5mℓ/minuto, resultando em 78 frações ao final da corrida. As frações recolhidas foram cromatografadas em camada fina e foram reunidas em doze frações principais. A fração principal nº 6 foi purificada por cristalização resultando na amostra A que foi analisada por CG-EM no NPPN e por RMN ¹H e ¹³C no TCD, sendo assim possível identificar a 6,7-Diidroxicumarina (22,71 minutos) (Tabela I, pág. 49; Figura 14, pág. 49; Fluxograma IV, pág. 50).

❖ 6,7-Diidroxicumarina (amostra A):

EM-IE *m/z* (%): 178 [M]⁺ • (100); 150 (62,73); 132 (2,48); 121 (4,35); 104 (3,73); 94 (6,83); 69 (23,60); 66 (14,29); 51 (41,62).

RMN ¹H (600MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 6,10 (*d*, *J* 9,4 Hz, H₃); 6,66 (*s*, H₅); 6,92 (*s*, H₈); 7,82 (*d*, *J* 9,4 Hz, H₄).

RMN ¹³C (150MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 102,14 (C₅); 110,02 (C₁₀); 110,37 (C₃); 111,39 (C₈); 144,24 (C₄); 148,60 (C_{6,7}); 152,00 (C₉); 160,63 (C₂).

Tabela I: Correlação HSQC (+) e HMBC (-) da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A) em DMSO-d6.

Multiplicidade		<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)		9,4			9,4	
C ppm		6,10	6,66	6,92	7,82	H ppm
102,14	CH		(+)			6,10
110,02	C	(-)				6,66
110,37	CH	(+)	(-)			6,92
111,39	CH			(+)	(-)	7,82
144,24	CH		(-)	(-)	(+)	
148,60	C		(-)	(-)	(-)	
152,00	C		(-)	(-)		
160,63	C	(-)			(-)	

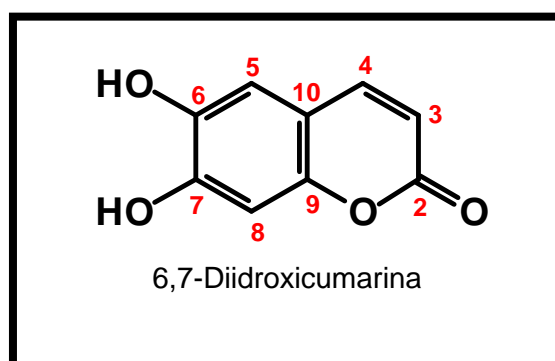
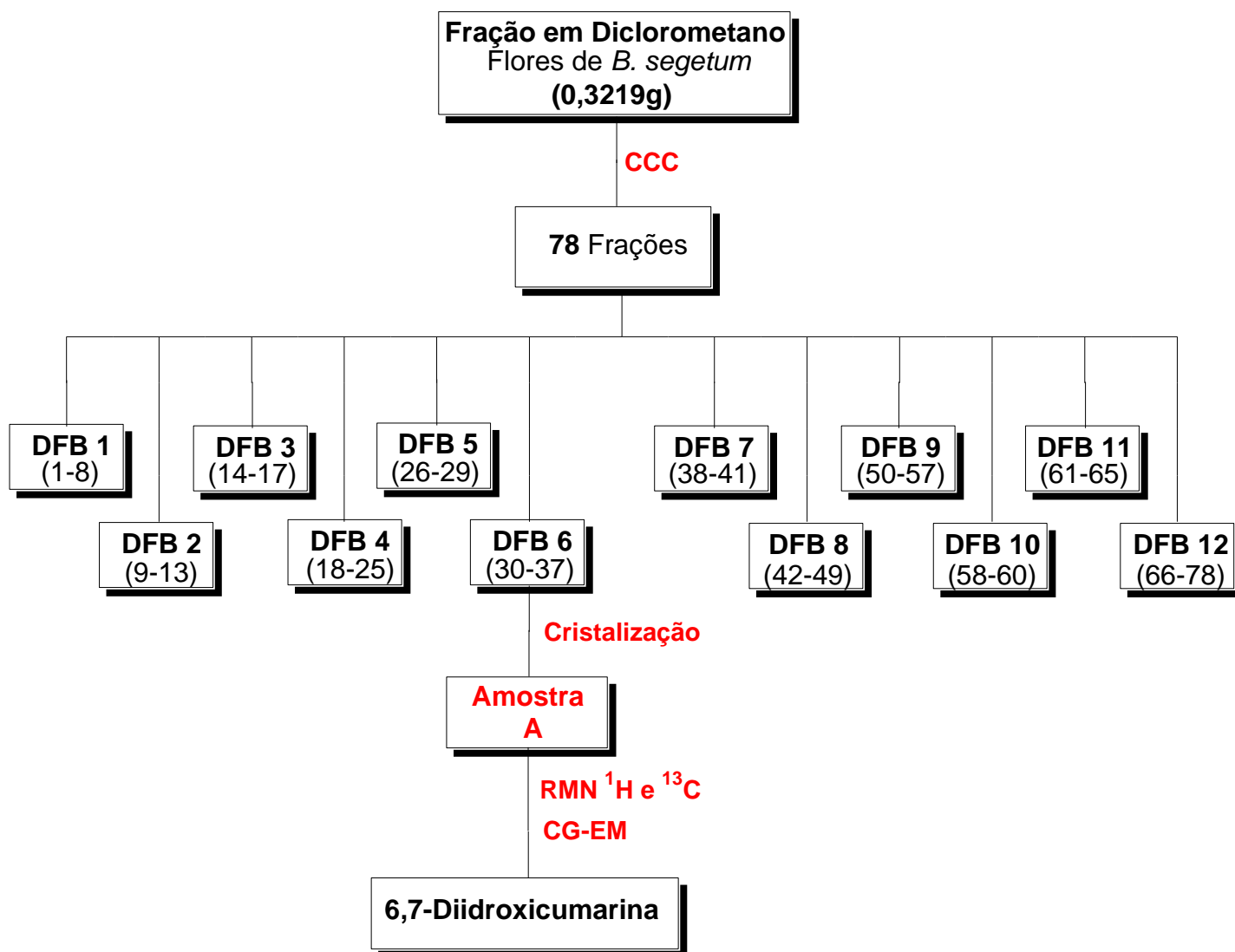


Figura 14: Substância isolada na fração em diclorometano do extrato das flores de *B. segetum*.



Fluxograma IV: CCC da fração em diclorometano do extrato das flores de *B. segetum* e isolamento da amostra A.

Estudo dos caules e folhas de *Bidens segetum*:**Óleo essencial**

Na análise do óleo essencial dos caules e folhas de *Bidens segetum* por CG-EM realizada no LADETEC, foi identificado o sesquiterpeno δ -Germacreno, cujo tempo de retenção na cromatografia com fase gasosa foi de 14,5 minutos (Figura 15, pág. 51).

❖ δ -Germacreno:

EM-IE m/z (%): 204 $[M]^+$ (8,17); 161 (51,77); 147 (4,48); 119 (17,31); 105 (24,70); 91 (21,45); 79 (14,91); 55 (4,94); 28 (100).

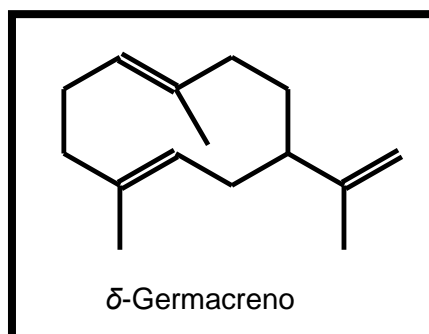


Figura 15: Substância identificada no óleo essencial dos caules e folhas de *B. segetum*.

Fração em Hexano

A fração hexânica das folhas e caules de *B. segetum* foi analisada por CG-EM no LADETEC, sendo identificadas as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção obtidos por cromatografia com fase gasosa: Neofitadieno (26,08 minutos), Ácido hexadecanóico (28,47 minutos), Hexadecanoato de etila (29,13 minutos), Fitol (31,33 minutos) e Linoleolato de etila (32,32 minutos) (Figura 16, pág. 53).

❖ Neofitadieno:

EM-IE m/z (%): 278 $[M]^+$ • (3,52); 208 (2,51); 207 (2,41); 179 (3,54); 137 (11,05); 123 (61,05); 95 (93,53); 68 (100); 57 (63,76).

❖ Ácido hexadecanoico (Ácido palmítico):

EM-IE m/z (%): 256 $[M]^+$ • (22,79); 227 (6,10); 213 (23,51); 171 (15,75); 157 (13,22); 129 (35,60); 115 (14,46); 85 (17,85); 73 (74,32); 44 (100).

❖ Hexadecanoato de etila (Éster etílico do Ácido palmítico):

EM-IE m/z (%): 284 $[M]^+$ • (11,07); 241 (14,56); 213 (4,97); 199 (5,24); 185 (4,76); 157 (17,83); 115 (6,03); 101 (57,65); 88 (100); 44 (30,23).

❖ Fitol:

EM-IE m/z (%): 296 $[M]^+$ •; 278 (1,47); 207 (1,97); 179 (1,59); 137 (4,56); 123 (30,96); 95 (22,12); 71 (100); 44 (43,98).

❖ Linoleolato de etila:

EM-IE m/z (%): 308 $[M]^+$ •; 306 (3,21); 261 (5,91); 206 (5,55); 149 (12,14); 121 (17,91); 95 (47,03); 79 (65,96); 44 (100).

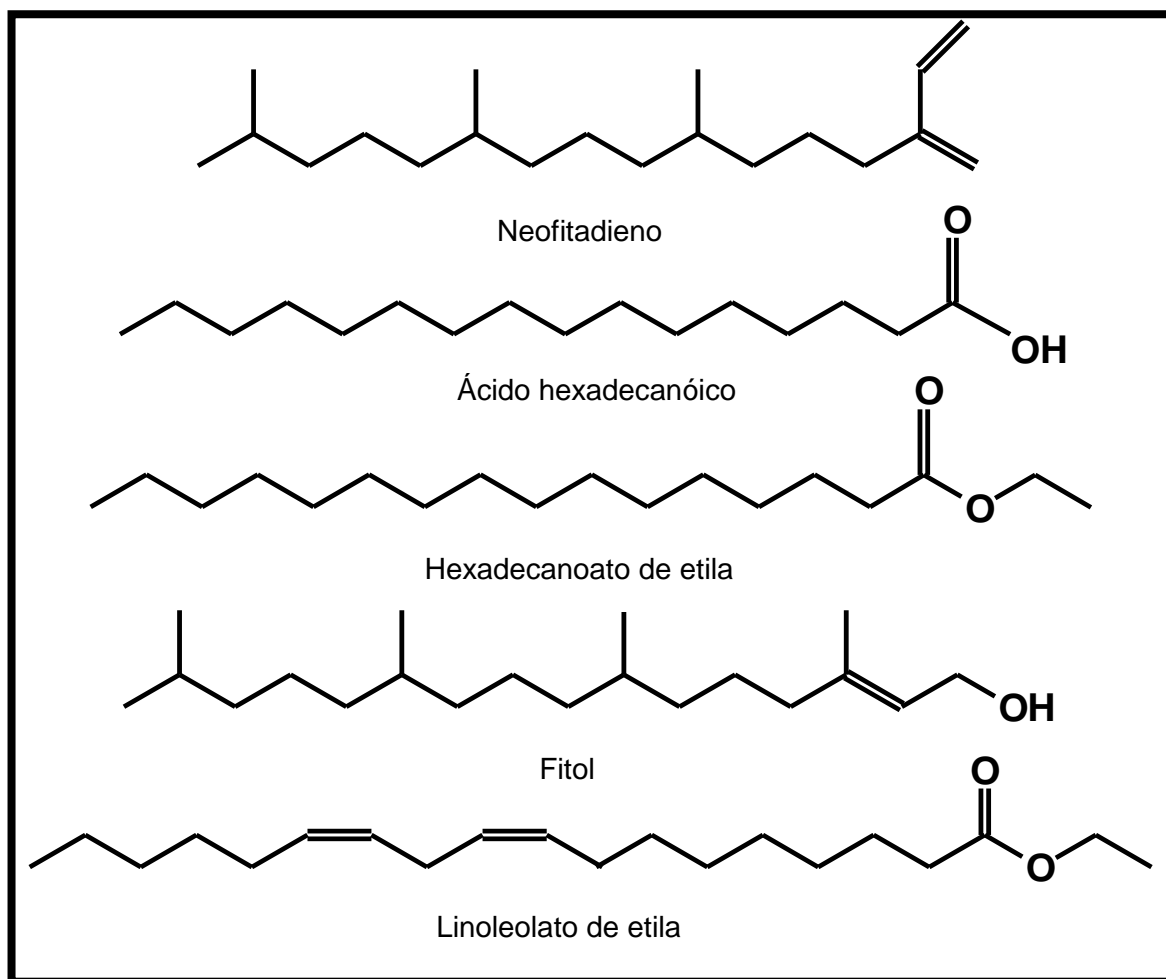


Figura 16: Substâncias identificadas na fração em hexano do extrato dos caules e folhas de *B. segetum*.

Estudo das partes aéreas de *Pterocaulon alopecuroides*:

Fração em Hexano

A fração hexânica das partes aéreas de *P. alopecuroides* foi analisada por CG-EM no LADETEC, sendo identificadas as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção obtidos por cromatografia com fase gasosa: Neofitadieno (26,08 minutos), Hexadecanoato de etila (29,13 minutos) (Figura 17, pág. 54).

❖ Neofitadieno:

EM-IE m/z (%): 278 $[M]^+$ • (4,29); 207 (3,96); 179 (3,72); 137 (9,91); 123 (68,88); 95 (96,83); 68 (100); 44 (82,64).

❖ Hexadecanoato de etila (Éster etílico do Ácido palmítico):

EM-IE m/z (%): 284 $[M]^+$ • (9,74); 241 (12,36); 213 (6,06); 199 (5,47); 185 (4,84); 157 (17,88); 115 (5,46); 101 (61,35); 88 (100); 44 (57,49).

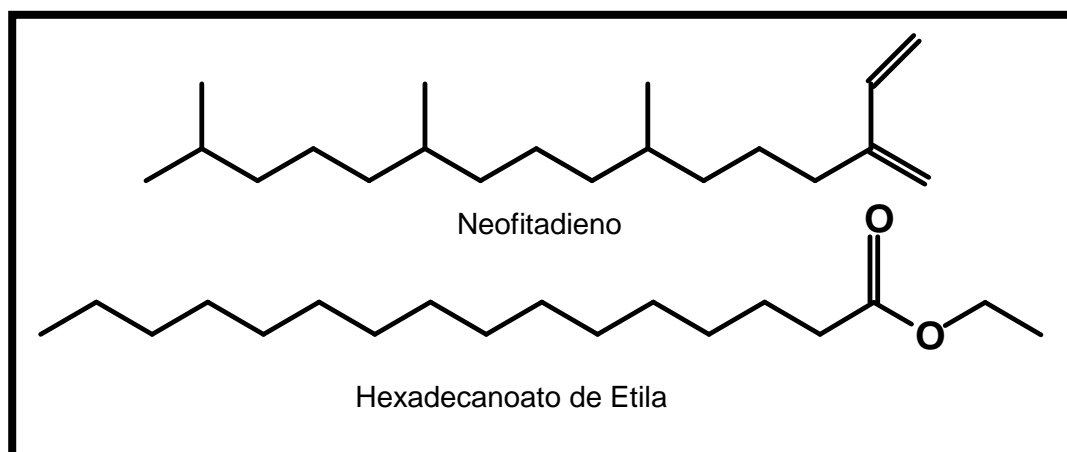


Figura 17: Substâncias identificadas na fração em hexano do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.

Fração em Diclorometano

A fração em diclorometano das partes aéreas de *P. alopecuroides* sofreu processo de separação cromatográfica em aparelho de cromatografia contra-corrente. Utilizou-se como sistema de solventes bifásico hexano : acetato de etila : metanol : água, na proporção de 4 : 5 : 3 : 1,3 (v/v/v/v). Definiu-se como fase móvel a fase superior. Cerca de 2,590g de amostra dissolvida em 15ml do sistema de solventes foram injetados em uma coluna espiral tripla de múltiplas camadas, com diâmetro interno de

1,68mm, em PTFE, com 310ml de capacidade. A velocidade de rotação empregada foi de 860rpm e a retenção de fase estacionária na coluna foi de 82,58%. Foram coletados 8ml por fração com um fluxo de 2ml/minuto. A rotação foi desligada a partir da fração nº 64 e a amostra retida na coluna foi retirada com metanol a partir da fração nº 96, passando-se a coletar 16ml por fração com um fluxo de 8ml/minuto, resultando em 121 frações ao final da corrida. As frações recolhidas foram cromatografadas em camada fina e foram reunidas em dezesseis frações principais. As frações principais nºs 10, 12 e 13 foram purificadas por cristalização. Dessa forma foi possível isolar as amostras B, C e D, que foram analisadas por RMN ¹H e ¹³C no TCD. A amostra B também foi analisada por CG-EM no NPPN. Assim foi possível identificar as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção obtidos por cromatografia com fase gasosa (quando realizada): 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (26,61 minutos, amostra B); 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostras C e D) (Tabela II, pág. 57; Tabela III, pág. 58; Tabela IV, pág. 59; Figura 18, pág. 60; Fluxograma V, pág. 61).

❖ 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B):

EM-IE *m/z* (%): 290 [M]⁺ • (10,56); 219 (4,35); 206 (100); 178 (59,01); 161 (4,35); 147 (5,59); 131 (1,86); 120 (3,73); 103 (2,48); 92 (4,97); 69 (6,83); 63 (11,18); 41 (55,28).

RMN ¹H (600MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 1,52 (s, H_{4'}); 1,57 (s, H_{5'}); 3,82 (d, *J* 7,2 Hz, H_{2'}); 4,23 (dd, *J* 7,9 e 10,5 Hz, H_{1'}); 4,69 (dd, *J* 2,6 e 10,2 Hz, H_{1'}); 6,13 (d, *J* 10,2 Hz, H_{6'}); 6,29 (d, *J* 9,8 Hz, H_{3'}); 6,82 (s, H_{8'}); 8,13 (d, *J* 9,8 Hz, H_{4'}).

RMN ¹³C (150MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 27,80 (C_{4'}); 29,48 (C_{5'}); 72,16 (C_{3'}); 73,60 (C_{1'}); 75,61 (C_{2'}); 92,35 (C_{8'}); 102,32 (C_{6'}); 106,49 (C_{10'}); 111,34 (C_{3'}); 132,22 (C_{6'}); 136,67 (C_{5'}); 139,39 (C_{4'}); 150,84 (C_{9'}); 152,38 (C_{7'}); 160,19 (C_{2'}).

❖ 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C):

RMN ^1H (600MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 1,03 (s, H₄); 1,12 (s, H₅); 3,53 (m, H₂); 4,11 (t, *J* 9,2 Hz, H₁); 4,61 (dd, *J* 1,1 e 10,2 Hz, H₁); 6,12 (d, *J* 7,5 Hz, H₆); 6,27 (d, *J* 9,8 Hz, H₃); 6,79 (s, H₈); 8,16 (d, *J* 9,8 Hz, H₄).

RMN ^{13}C (150MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 24,26 (C₄); 27,50 (C₅); 70,56 (C₃); 74,35 (C₁); 76,04 (C₂); 92,13 (C₈); 102,23 (C₆); 106,58 (C₁₀); 111,21 (C₃); 132,24 (C₆); 137,09 (C₅); 139,58 (C₄); 150,86 (C₉); 152,38 (C₇); 160,24 (C₂).

❖ 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D):

RMN ^1H (600MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 1,03 (s, H₄); 1,12 (s, H₅); 3,53 (dd, *J* 2,2 e 8,3 Hz, H₂); 4,11 (dd, *J* 8,5 e 10,2 Hz, H₁); 4,60 (dd, *J* 2,2 e 9,9 Hz, H₁); 6,11 (d, *J* 7,7 Hz, H₆); 6,26 (d, *J* 9,9 Hz, H₃); 6,79 (s, H₈); 8,15 (d, *J* 9,35 Hz, H₄).

RMN ^{13}C (150MHz, DMSO-d₆, TMS): δ (ppm) 24,26 (C₄); 27,53 (C₅); 70,57 (C₃); 74,36 (C₁); 76,05 (C₂); 92,15 (C₈); 102,24 (C₆); 106,60 (C₁₀); 111,22 (C₃); 132,25 (C₆); 137,10 (C₅); 139,59 (C₄); 150,88 (C₉); 152,39 (C₇); 160,25 (C₂).

Tabela II: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B) em DMSO-d6.

Multiplicidade		<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)				7,2	7,9 e 10,5	2,6 e 10,2	10,2	9,8		9,8	
C ppm		1,52	1,57	3,82	4,23	4,69	6,13	6,29	6,82	8,13	H ppm
27,80	CH3	(+)	(-)								1,52
29,48	CH3	(-)	(+)								1,57
72,16	C	(-)	(-)		(*)	(*)					3,82
73,60	CH2			(*) (-)	(+)	(*) (+)					4,23
75,61	CH	(-)	(-)	(*) (+)	(*)						4,69
92,35	CH								(+)		6,13
102,32	CH2						(+) (+)			(*)	6,29
106,49	C				(-)			(-)	(-)		6,82
111,34	CH							(*) (+)			8,13
132,22	C						(-)		(-)		
136,67	C				(-)	(-)				(-)	
139,39	CH									(+)	
150,84	C									(-)	
152,38	C						(-)		(-)		
160,19	C							(-)		(-)	

Tabela III: Correlação HSQC (+) e CoSy H-H (*) da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C) em DMSO-d6.

Multiplicidade		<i>s</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)					9,2	1,1 e 10,2	7,5	9,8		9,8	
C ppm		1,03	1,12	3,53	4,11	4,61	6,12	6,27	6,79	8,16	H ppm
24,26	CH3	(+)									1,03
27,50	CH3		(+)								1,12
70,56	C				(*)	(*)					3,53
74,35	CH2			(*)	(+)	(*) (+)					4,11
76,04	CH			(+)(*)	(*)						4,61
92,13	CH								(+)		6,12
102,23	CH2					(*)	(+) (+)			(*)	6,27
106,58	C										6,79
111,21	CH							(+)(*)			8,16
132,24	C										
137,09	C										
139,58	CH									(+)	
150,86	C										
152,38	C										
160,24	C										

Tabela IV: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 5-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D) em DMSO-d6.

Multiplicidade		s	s	dd	dd	dd	d	d	s	d	
Acoplamento J (Hz)				2,2 e 8,3	8,5 e 10,2	2,2 e 9,9	7,7	9,9		9,35	
C ppm		1,03	1,12	3,53	4,11	4,60	6,11	6,26	6,79	8,15	H ppm
24,26	CH3	(+)	(-)	(-)							1,03
27,53	CH3	(-)	(+)	(-)							1,12
70,57	C	(-)	(-)	(-)	(*)	(-)(*)					3,53
74,36	CH2			(-)(*)	(+)	(*)(+)					4,11
76,05	CH	(-)	(-)	(+)(*)	(-)(*)						4,60
92,15	CH								(+)		6,11
102,24	CH2						(+)(+)			(*)	6,26
106,60	C							(-)	(-)		6,79
111,22	CH							(+)(*)			8,15
132,25	C						(-)		(-)		
137,10	C				(-)	(-)				(-)	
139,59	CH									(+)	
150,88	C								(-)	(-)	
152,39	C						(-)				
160,25	C							(-)		(-)	

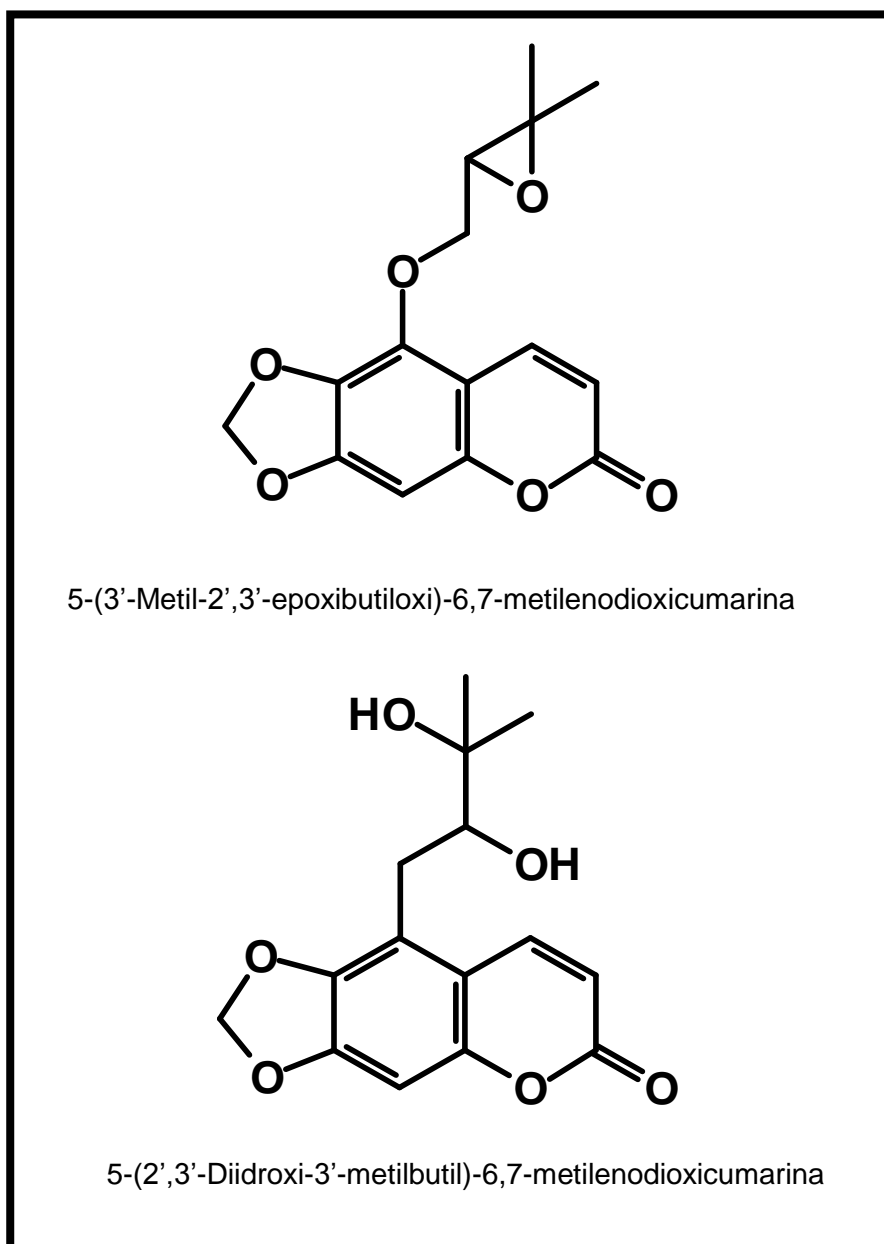
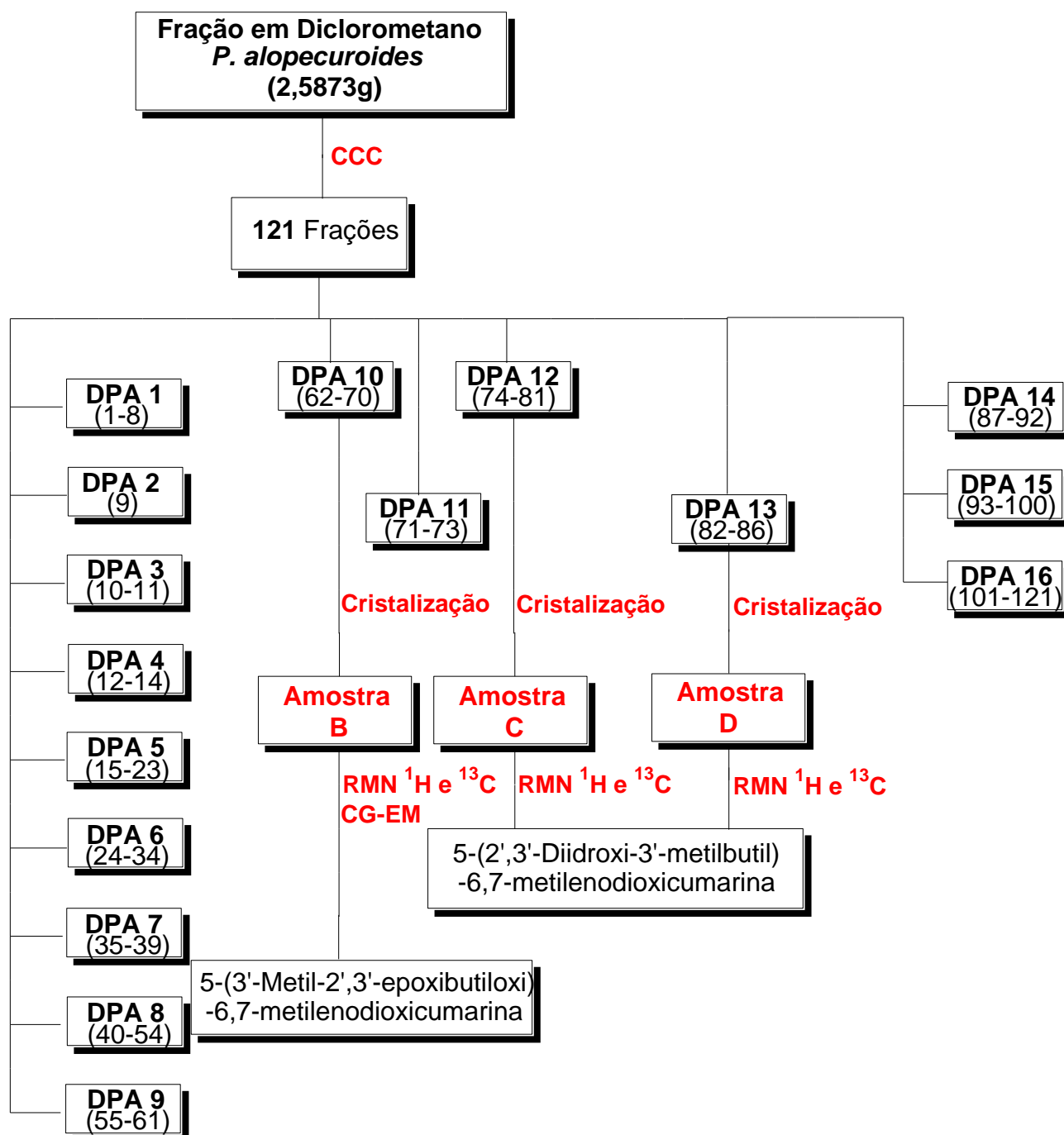


Figura 18: Substâncias isoladas por CCC da fração em diclorometano do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



Fluxograma V: CCC da fração em diclorometano do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides* e isolamento das amostras B, C e D.

Fração em Acetato de etila

A fração em acetato de etila das partes aéreas de *P. alopecuroides* sofreu processo de separação cromatográfica em aparelho de cromatografia contra-corrente. Utilizou-se como sistema de solventes bifásico hexano : acetato de etila : metanol : água, na proporção de 4 : 5 : 3 : 1,3 (v/v/v/v). Definiu-se como fase móvel a fase superior. Cerca de 2,550g de amostra dissolvida em 15ml do sistema de solventes foram injetados em uma coluna espiral tripla de múltiplas camadas, com diâmetro interno de 1,68mm, em PTFE, com 310ml de capacidade. A velocidade de rotação empregada foi de 850rpm e a retenção de fase estacionária na coluna foi de 83,55%. Foram coletados 8ml por fração com um fluxo de 2ml/minuto. A rotação foi desligada a partir da fração nº 66 e a amostra retida na coluna foi retirada com metanol a partir da fração nº 86, passando-se a coletar 16ml por fração com um fluxo de 8ml/minuto, resultando em 109 frações ao final da corrida. As frações recolhidas foram cromatografadas em camada fina e foram reunidas em treze frações principais. As frações principais nºs 1, 2 e 9 foram tratadas com carvão ativo para retirada de clorofila e em seguida analisadas por CG-EM no LADETEC (frações 1 e 2) e NPPN (fração 9), sendo identificadas as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção obtidos por cromatografia com fase gasosa: Hexadecanoato de etila (35,17 minutos), 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (63,79 minutos), da fração principal nº 1; 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona (31,52 minutos), Hexadecanoato de metila (33,54 minutos), Heptadecanoato de metila (35,18 minutos), 4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido (42,93 minutos), Estigmasterol (58,70 minutos), α -Amirina (60,00 minutos), 3 α -Acetato de 12-oleanenila (61,43 minutos), Taraxasterol (62,14 minutos), 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (63,79 minutos), da fração principal nº 2; Ciclotetradecano (18,99 minutos), 5-Octadeceno (21,03 minutos), da fração principal nº 9 (Figura 19, pág. 65; Figura 20, pág. 66; Figura 21, pág. 67; Fluxograma VI, pág. 68).

Substâncias identificadas na fração principal nº 1

- ❖ Hexadecanoato de etila (Éster etílico do Ácido palmítico):

EM-IE *m/z* (%): 284 [M]⁺ • (19,04); 241 (20,53); 213 (8,58); 199 (8,76); 185 (7,38); 157 (26,86); 115 (8,06); 101 (71,99); 88 (100); 44 (23,33).

- ❖ 3β-Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila:

EM-IE *m/z* (%): 468 [M]⁺ • (17,23); 405 (20,37); 355 (24,71); 331 (41,60); 282 (57,67); 249 (23,04); 189 (100); 135 (37,14); 96 (53,34); 44 (43,92).

Substâncias identificadas na fração principal nº 2

- ❖ 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona:

EM-IE *m/z* (%): 268 [M]⁺ • (1,50); 250 (15,75); 225 (2,99); 210 (6,99); 179 (6,61); 165 (11,39); 137 (10,37); 109 (38,58); 95 (34,80); 71 (65,65); 43 (100).

- ❖ Hexadecanoato de metila (Éster metílico do Ácido palmítico):

EM-IE *m/z* (%): 270 [M]⁺ • (18,91); 227 (24,85); 185 (8,88); 171 (8,90); 143 (27,23); 129 (12,95); 97 (15,32); 74 (100); 43 (31,48).

- ❖ Heptadecanoato de metila:

EM-IE *m/z* (%): 284 [M]⁺ • (21,22); 241 (22,68); 213 (7,54); 199 (8,08); 185 (6,40); 157 (24,73); 115 (7,62); 101 (62,48); 88 (100); 43 (22,87).

- ❖ 4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido:

EM-IE *m/z* (%): 324 [M]⁺ • (2,15); 281 (1,62); 254 (1,81); 221 (1,71); 206 (3,99); 166 (2,29); 126 (15,06); 99 (100); 71 (16,84); 43 (25,78).

❖ Estigmasterol:

EM-IE m/z (%): 412 $[M]^+$ • (100); 351 (30,40); 331 (30,76); 271 (66,48); 255 (82,80); 209 (65,88); 159 (54,04); 145 (56,40); 83 (66,16); 55 (77,28).

❖ α -Amirina:

EM-IE m/z (%): 426 $[M]^+$ • (6,24); 355 (2,35); 331 (3,62); 281 (17,98); 253 (7,73); 218 (100); 189 (14,91); 133 (9,45); 95 (9,61); 69 (8,05).

❖ 3 α -Acetato de 12-oleanenila:

EM-IE m/z (%): 468 $[M]^+$ • (4,01); 405 (14,92); 346 (10,79); 327 (18,19); 266 (21,23); 218 (100); 203 (48,56); 133 (37,41); 96 (42,33); 44 (40,81).

❖ Taraxasterol:

EM-IE m/z (%): 426 $[M]^+$ • (25,25); 357 (11,20); 339 (3,70); 315 (9,92); 281 (16,33); 218 (10,69); 207 (100); 147 (17,97); 135 (32,75); 95 (29,00).

❖ 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila:

EM-IE m/z (%): 468 $[M]^+$ • (22,32); 408 (12,54); 357 (8,93); 331 (7,93); 282 (12,32); 253 (18,26); 189 (100); 135 (35,58); 121 (36,65); 43 (27,02).

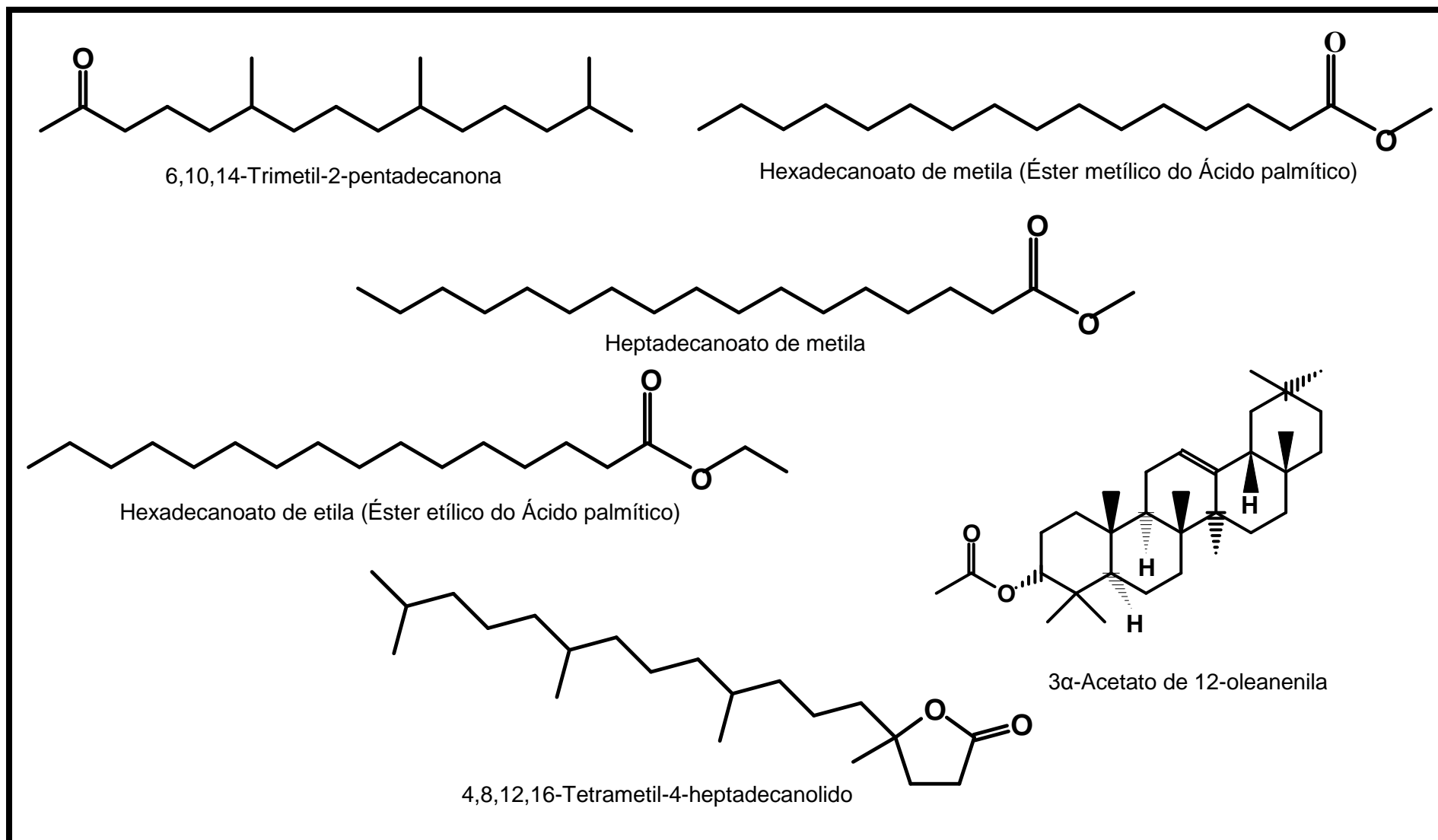


Figura 19: Substâncias identificadas nas frações principais n^{os} 1 e 2 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P.*

alopecuroides.(1/2)

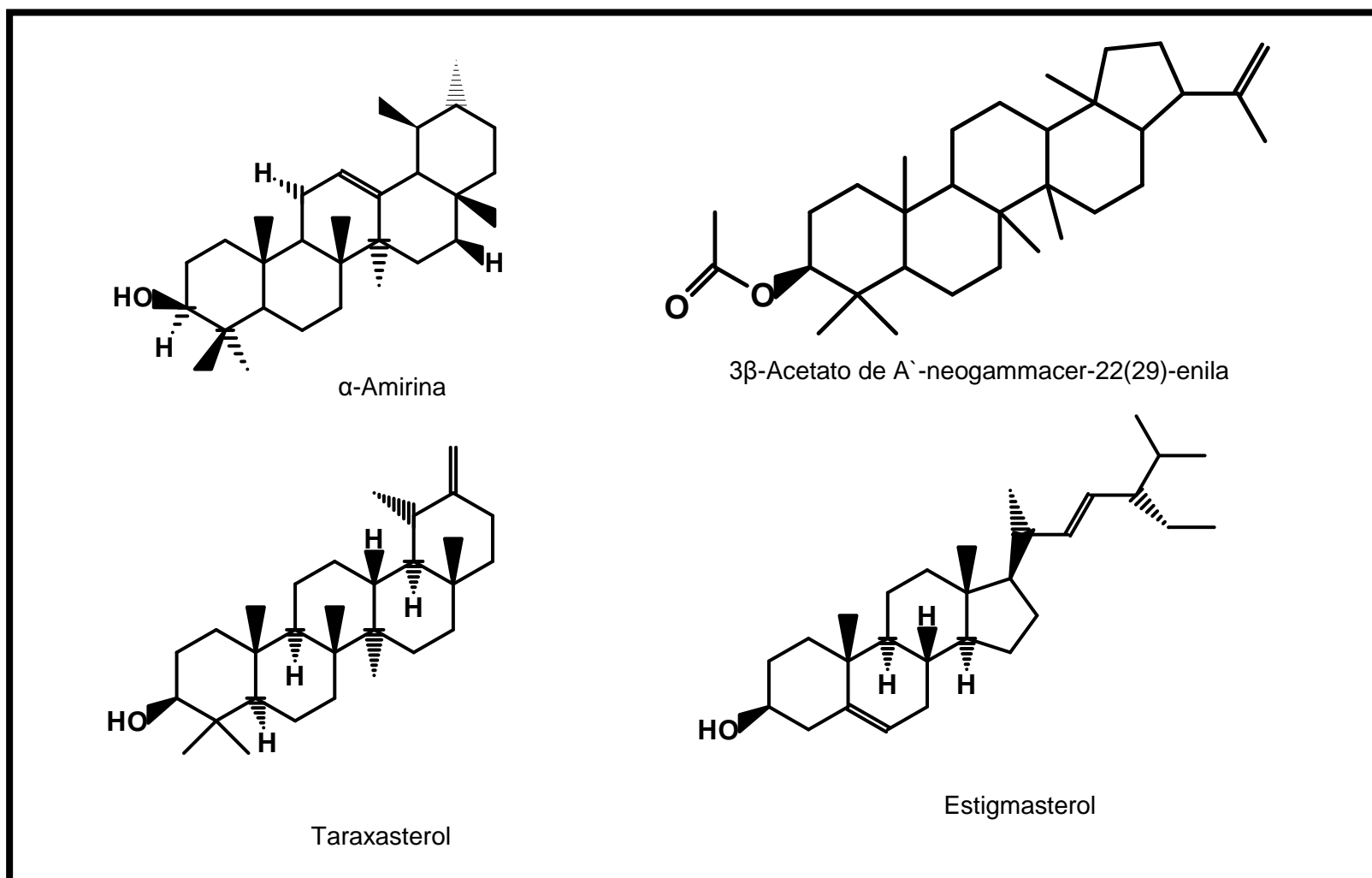


Figura 20: Substâncias identificadas nas frações principais n^{os} 1 e 2 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.(2/2)

Substâncias identificadas na fração principal n° 9

❖ Ciclotetradecano:

EM-IE m/z (%): 196 $[M]^+$ • (1,42); 139 (1,90); 125 (6,64); 111 (15,17); 97 (32,70); 83 (50,24); 69 (57,35); 55 (100).

❖ 5-Octadeceno:

EM-IE m/z (%): 252 $[M]^+$ • (0,95); 139 (1,90); 125 (7,58); 111 (15,64); 97 (36,97); 83 (50,24); 69 (57,35); 55 (100).

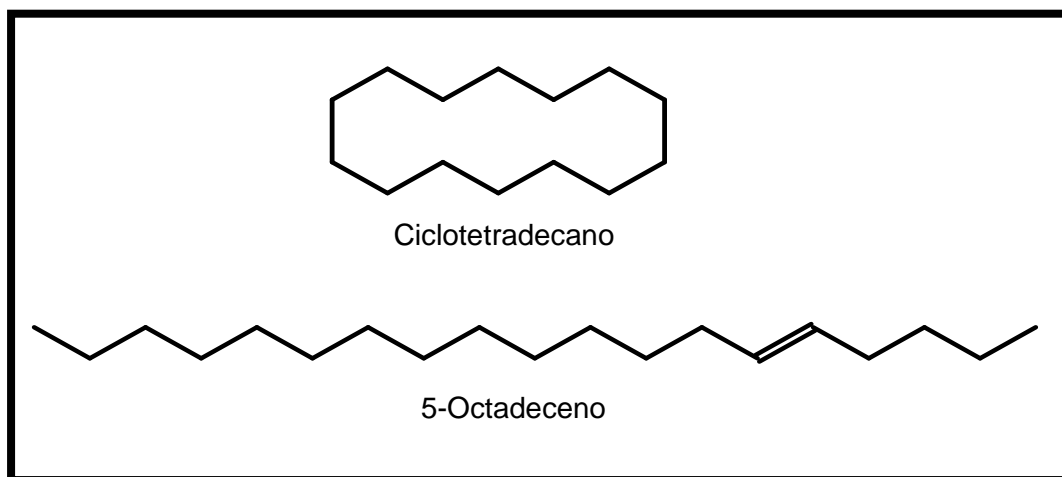
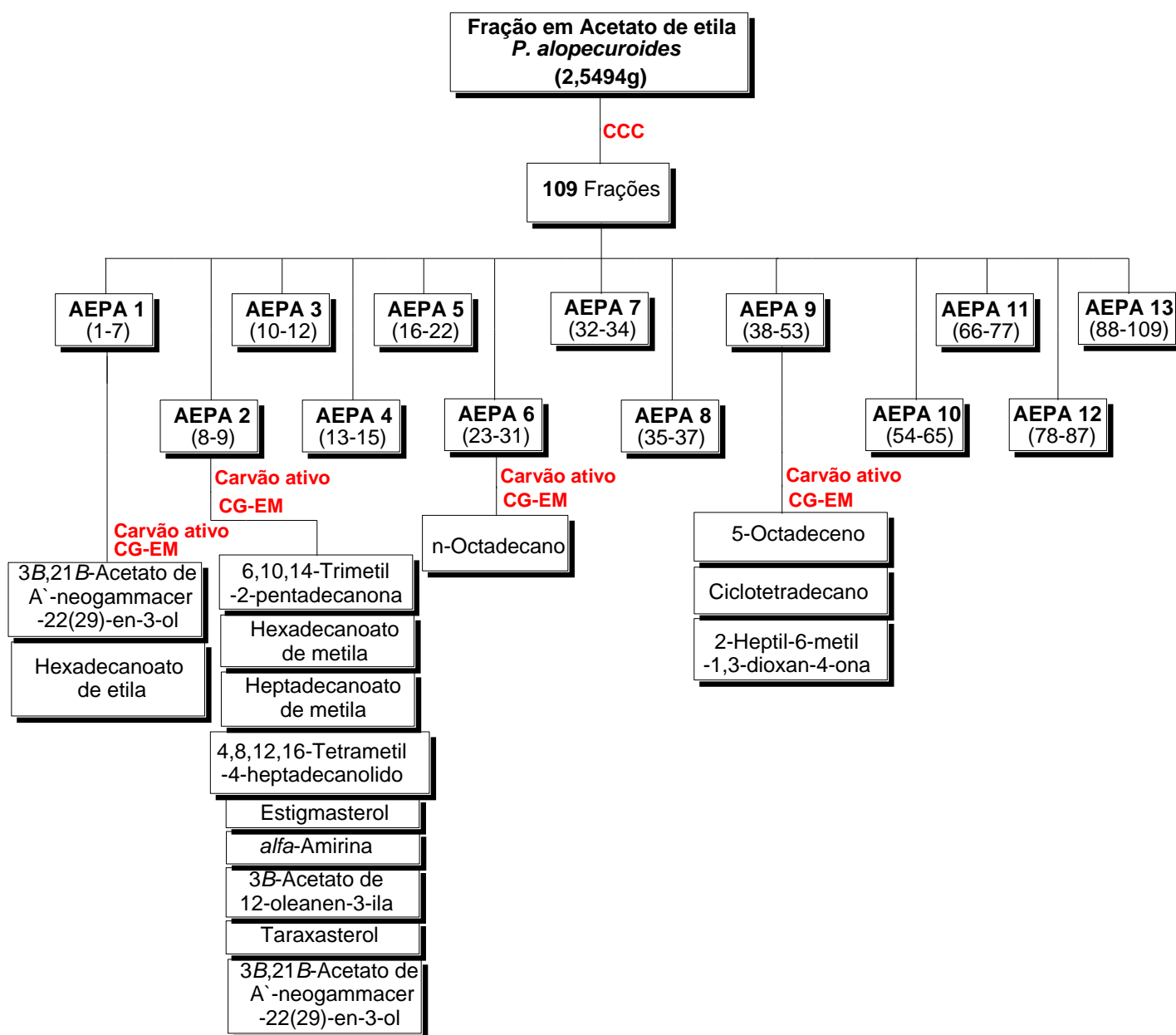


Figura 21: Substâncias identificadas nas frações principais n° 6 e 9 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



Fluxograma VI: CCC da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P.*

alopecuroides.e substâncias identificadas nas frações principais n^{os} 1, 2 e 9

A fração principal nº 12 sofreu processo de separação em coluna de Sephadex®. Aplicaram-se cerca de 700mg da fração principal nº 12 em outra coluna empacotada com Sephadex®, eluindo-se com metanol. Foram obtidas ao final da corrida, 73 frações que foram cromatografadas em camada fina e reunidas em doze frações menores. As frações menores nºs 2, 3 e 4 foram purificadas por cristalização, resultando nas amostras E, F e G. A fração menor nº 11 foi nomeada amostra H. A porção não cristalizada da fração menor nº 2 foi utilizada em placa cromatográfica preparativa, sendo separada em sete frações finais, as quais também foram cromatografadas em camada fina. A fração final nº 1 foi denominada amostra I. Todas essas amostras foram analisadas por CG-EM (com exceção da amostra H) no NPPN e por RMN ¹H e ¹³C no TCD, sendo então identificadas como as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção obtidos por cromatografia com fase gasosa (quando esta foi realizada): 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (26,48 minutos amostra E; 26,63 minutos amostra F; 26,54 minutos amostra I), Quercetina (amostra G), 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (27,82 minutos amostra H) (Tabela V, pág. 72; Tabela VI, pág. 73; Tabela VII, pág. 74; Tabela VIII, pág. 75; Tabela IX, pág. 76; Figura 22, pág. 77; Fluxograma VII, pág. 78).

❖ 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E):

EM-IE *m/z* (%): 294 [M]⁺• (13,58); 261 (1,24); 217 (0,62); 192 (100); 177 (27,16); 164 (17,90); 149 (11,11); 135 (2,47); 121 (3,09); 105 (1,24); 92 (1,85); 69 (11,11) ; 59 (59,26) ; 43 (40,74).

RMN ¹H (600MHz, MeOD-d₄, TMS): δ (ppm) 1,23 (s, H₄); 1,27 (s, H₅); 3,78 (dd, *J* 2,4 e 7,7 Hz, H₂); 3,85 (s, H₆); 4,01 (dd, *J* 7,9 e 10,2 Hz, H₁); 4,31 (dd, *J* 2,4 e 10,0 Hz, H₁); 6,22 (d, *J* 9,4 Hz, H₃); 6,92 (s, H₅); 7,06 (s, H₈); 7,81 (d, *J* 9,4 Hz, H₄).

RMN ^{13}C (150MHz, MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 25,00 (C_4); 26,94 (C_5); 56,96 (C_6); 72,28 (C_1); 72,86 (C_3); 77,24 (C_2); 102,03 (C_5); 110,13 (C_8); 113,19 (C_{10}); 113,63 (C_3); 145,81 (C_4); 148,18 (C_6); 151,14 (C_9); 154,03 (C_7); 163,74 (C_2).

❖ 7-(2',3'-Diidroxio-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F):

EM-IE m/z (%): 294 [$\text{M}]^+$ • (14,82); 261 (1,24); 217 (0,62); 192 (100); 177 (27,78); 164 (17,90); 149 (10,49); 135 (2,47); 121 (3,09); 105 (1,24); 92 (1,85); 69 (10,49) ; 59 (54,94) ; 43 (41,35).

RMN ^1H (600MHz, MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 1,22 (s, H_4); 1,25 (s, H_5); 3,77 (dd, J 2,4 e 7,7 Hz, H_2); 3,87 (s, H_6); 4,02 (dd, J 7,9 e 10,2 Hz, H_1); 4,32 (dd, J 2,6 e 10,2 Hz, H_1); 6,24 (d, J 9,4 Hz, H_3); 6,98 (s, H_5); 7,12 (s, H_8); 7,86 (d, J 9,4 Hz, H_4).

RMN ^{13}C (150MHz, MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 24,97 (C_4); 26,94 (C_5); 57,00 (C_6); 72,33 (C_1); 72,87 (C_3); 77,28 (C_2); 102,13 (C_5); 110,28 (C_8); 113,29 (C_{10}); 113,70 (C_3); 145,90 (C_4); 148,31 (C_6); 151,27 (C_9); 154,16 (C_7); 163,82 (C_2).

❖ Quercetina (amostra G):

RMN ^1H (600MHz, DMSO-d6 e MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 6,26 (d, J 1,9 Hz, H_6); 6,48 (d, J 1,9 Hz, H_8); 6,97 (d, J 8,3 Hz, H_2); 7,67 (dd, J 8,5 e 2,1 Hz, H_6); 7,77 (d, J 2,3 Hz, H_5).

RMN ^{13}C (150MHz, DMSO-d6 e MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 94,68 (C_8); 99,46 (C_6); 104,56 (C_{10}); 116,33 (C_5); 116,72 (C_2); 121,66 (C_6); 123,95 (C_1); 137,27 (C_3); 146,36 (C_4); 148,02 (C_9); 148,93 (C_2); 158,06 (C_3); 162,37 (C_5); 165,47 (C_7); 177,29 (C_4).

❖ 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra H):

EM-IE m/z (%): 308 $[M]^+$ • (19,14); 293 (2,47); 248 (1,24); 206 (100); 178 (32,72); 161 (3,09); 147 (8,64); 131 (1,24); 119 (3,09); 103 (1,24); 92 (2,47); 69 (4,32); 59 (75,31); 43 (49,38).

RMN 1H (600MHz, DMSO-d6 e MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 1,21 (s, H_4); 1,27 (s, H_5); 3,72 (dd, J 2,3 e 8,3 Hz, H_2); 4,29 (dd, J 8,7 e 10,2 Hz, H_1); 4,74 (dd, J 2,4 e 10,4 Hz, H_1); 6,18 (d, J 5,3 Hz, H_6); 6,31 (d, J 9,8 Hz, H_3); 6,77 (s, H_8); 8,26 (s, J 9,8 Hz, H_4).

RMN ^{13}C (150MHz, DMSO-d6 e MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 25,50 (C_4); 27,85 (C_5); 72,20 (C_3); 75,54 (C_1); 77,72 (C_2); 93,37 (C_8); 103,71 (C_6); 108,24 (C_{10}); 112,48 (C_3); 133,76 (C_6); 138,72 (C_5); 141,00 (C_4); 152,64 (C_9); 154,14 (C_7); 162,18 (C_2).

❖ 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I):

EM-IE m/z (%): 294 $[M]^+$ • (13,58); 261 (1,24); 217 (0,62); 192 (100); 177 (26,54); 164 (17,90); 149 (10,49); 135 (2,47); 121 (3,09); 105 (1,24); 92 (1,85); 69 (10,49) ; 59 (56,17) ; 43 (38,27).

RMN 1H (600MHz, MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 1,24 (s, H_4); 1,28 (s, H_5); 3,79 (dd, J 2,6 e 8,7 Hz, H_2); 3,87 (s, H_6); 4,03 (t, J 8,7 Hz, H_1); 4,33 (dd, J 1,9 e 9,8 Hz, H_1); 6,23 (d, J 9,4 Hz, H_3); 6,94 (s, H_5); 7,09 (s, H_8); 7,83 (d, J 9,4 Hz, H_4).

RMN ^{13}C (150MHz, MeOD-d4, TMS): δ (ppm) 24,98 (C_4); 26,87 (C_5); 56,92 (C_6); 72,22 (C_1); 72,81 (C_3); 77,18 (C_2); 101,98 (C_5); 110,09 (C_8); 113,15 (C_{10}); 113,59 (C_3); 145,78 (C_4); 148,12 (C_6); 151,10 (C_9); 153,97 (C_7); 163,71 (C_2).

Tabela V: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E) em MeOD-d4.

Multiplicidade		<i>s</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)				2,4 e 7,7		7,9 e 10,2	2,4 e 10,0	9,4			9,4	
C ppm		1,23	1,27	3,78	3,85	4,01	4,31	6,22	6,92	7,06	7,81	H ppm
25,00	CH3	(+)	(-)	(-)								1,23
26,94	CH3	(-)	(+)									1,27
56,96	OCH3				(+)	(*)	(*)					3,78
72,28	CH2	(-)	(-)	(-)		(+)	(+)					3,85
72,86	C			(*)		(-)	(-)(*)					4,01
77,24	CH	(-)	(-)	(*)(+)		(*)(-)						4,31
102,03	CH								(+)	(-)	(*)(-)	6,22
110,13	CH								(-)	(+)	(-)	6,92
113,19	C							(-)	(-)		(-)	7,06
113,63	CH							(*)(+)				7,81
145,81	CH									(-)	(+)	
148,18	C				(-)				(-)	(-)		
151,14	C								(-)	(-)	(-)	
154,03	C					(-)	(-)		(-)	(-)		
163,74	C							(-)				

Tabela VI: Correlação HSQC (+) e CoSy H-H (*) da 7-(2',3'-Diidroxibut-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F) em MeOD-d4.

Multiplicidade		<i>s</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)				2,4 e 7,7		7,9 e 10,2	2,6 e 10,2	9,4			9,4	
C ppm		1,22	1,25	3,77	3,87	4,02	4,32	6,24	6,98	7,12	7,86	H ppm
24,97	CH3	(+)										1,22
26,94	CH3		(+)									1,25
57,00	OCH3				(+)	(*)	(*)					3,77
72,33	CH2					(+)	(+)					3,87
72,87	C			(*)			(*)					4,02
77,28	CH			(*) (+)		(*)						4,32
102,13	CH								(+)		(*)	6,24
110,28	CH									(+)		6,98
113,29	C											7,12
113,70	CH							(*) (+)				7,86
145,90	CH										(+)	
148,31	C											
151,27	C											
154,16	C											
163,82	C											

Tabela VII: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da Quercetina (amostra G) em MeOD-d4 e DMSO-d6.

Multiplicidade		<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)		1,9	1,9	8,3	8,5 e 2,1	2,3	
C ppm		6,26	6,48	6,97	7,67	7,77	H ppm
94,68	CH	(-)	(*) (+)				6,26
99,46	CH	(*) (+)	(-)				6,48
104,56	C	(-)	(-)		(*)		6,97
116,33	CH			(*)	(-)	(*) (+)	7,67
116,72	CH			(+)	(*)		7,77
121,66	CH				(+)	(-)	
123,95	C						
137,27	C						
146,36	C				(-)	(-)	
148,02	C						
148,93	C						
158,06	C		(-)				
162,37	C						
165,47	C						
177,29	C						

Tabela VIII: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra H) em MeOD-d4 e DMSO-d6

Multiplicidade		<i>s</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)				2,3 e 8,3	8,7 e 10,2	2,4 e 10,4	5,3	9,8		9,8	
C ppm		1,21	1,27	3,72	4,29	4,74	6,18	6,31	6,77	8,26	H ppm
25,50	CH3	(+)	(-)	(-)							1,21
27,85	CH3	(-)	(+)	(-)							1,27
72,20	C	(-)	(-)	(-)	(*)	(*)					3,72
75,54	CH2			(*) (-)	(+)	(*) (+)					4,29
77,72	CH	(-)	(-)	(*) (+)	(*) (-)						4,74
93,37	CH								(+)		6,18
103,71	CH2						(+)(+)			(*)	6,31
108,24	C							(-)	(-)		6,77
112,48	CH							(*) (+)			8,26
133,76	C						(-)		(-)		
138,72	C				(-)	(-)				(-)	
141,00	CH									(+)	
152,64	C								(-)	(-)	
154,14	C						(-)		(-)		
162,18	C							(-)		(-)	

Tabela IX: Correlação HSQC (+), HMBC (-) e CoSy H-H (*) da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I) em MeOD-d4.

Multiplicidade		<i>s</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	
Acoplamento J (Hz)				2,6 e 8,7		8,7	1,9 e 9,8	9,4			9,4	
C ppm		1,24	1,28	3,79	3,87	4,03	4,33	6,23	6,94	7,09	7,83	H ppm
24,98	CH3	(+)	(-)	(-)								1,24
26,87	CH3	(-)	(+)									1,28
56,92	OCH3				(+)	(*)	(*)					3,79
72,22	CH2	(-)	(-)	(-)		(+) (-)	(+) (-)					3,87
72,81	C			(*)			(*)					4,03
77,18	CH	(-)	(-)	(*) (+)		(*) (-)						4,33
101,98	CH								(+)		(*)	6,23
110,09	CH									(+)	(-)	6,94
113,15	C							(-)	(-)			7,09
113,59	CH							(*) (+)				7,83
145,78	CH									(-)	(+)	
148,12	C				(-)				(-)	(-)		
151,10	C								(-)	(-)	(-)	
153,97	C					(-)	(-)		(-)	(-)		
163,71	C							(-)			(-)	

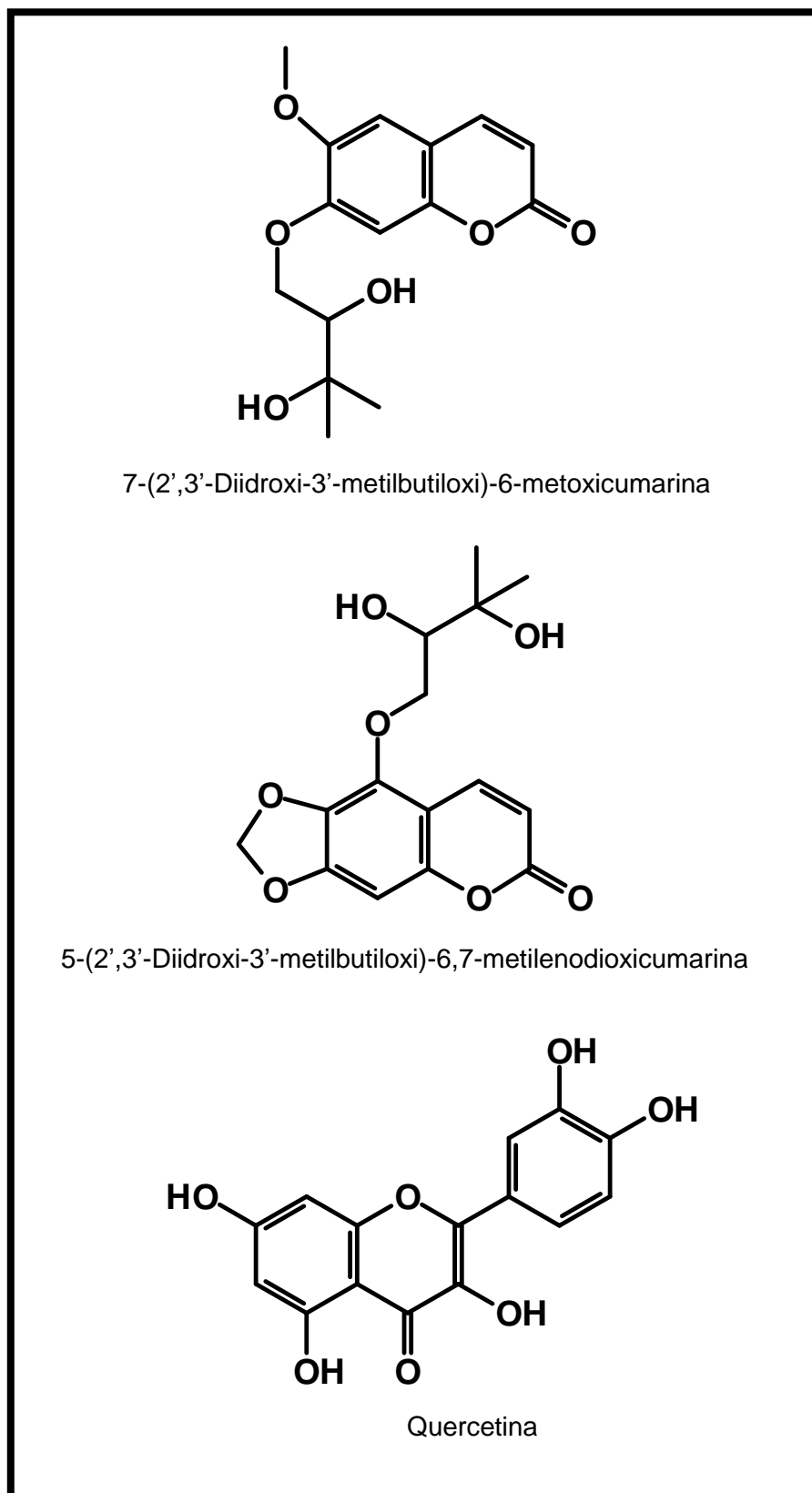
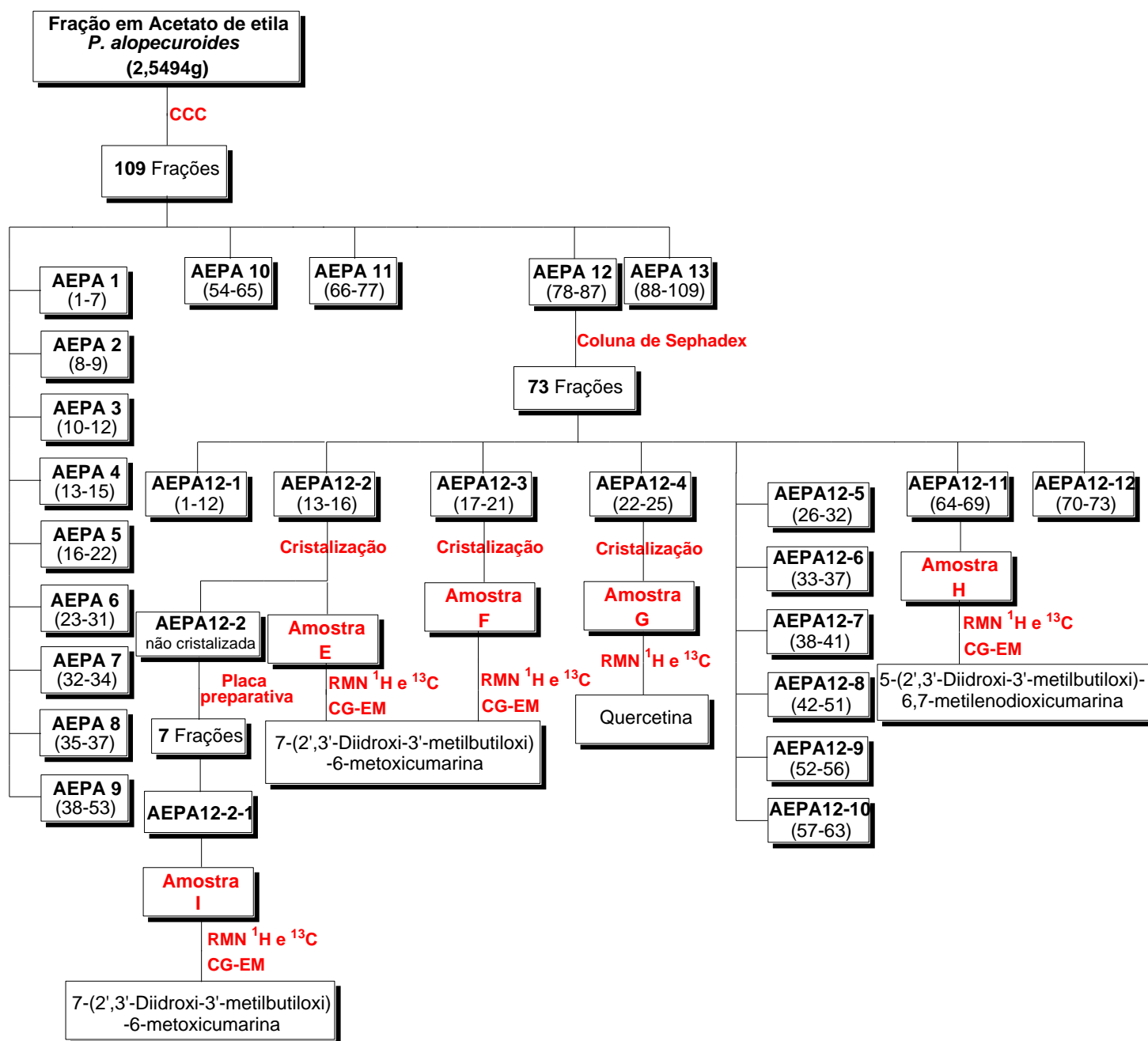


Figura 22: Substâncias isoladas da fração principal nº 12 da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



Fluxograma VII: CCC da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides* e isolamento das amostras E, F, G, H e I da fração principal nº 12.

ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

Material e métodos:

As leituras de absorbância nos testes de atividade antioxidante foram realizadas em espectrofotômetro de UV-vis Shimadzu UV 1601 a 518nm. O agente oxidante 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) utilizado nos testes de atividade antioxidante foi obtido da empresa Sigma-Aldrich.

Os camundongos Swiss 44, utilizados nos testes de atividade hipoglicemiante, foram adquiridos no Biotério Central do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Esse estudo foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais e os ensaios foram realizados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. As leituras de glicemia foram realizadas em aparelho medidor de glicemia Prestige Smart System™ I.Q., do fabricante AR-MED.

O teste Elisa de detecção de citotoxicidade (LDH), empregado nos ensaios de citotoxicidade, foi adquirido da Roche. As leituras de absorbância foram realizadas em aparelho Fusion Universal Microplate Analyser (Packard BioScience Co.).

Ensaio químico:**Atividade antioxidante**

Os extratos etanólicos totais das flores e dos caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides* foram testados para determinação da atividade antioxidante, assim como também foram testadas as suas respectivas frações em diclorometano, acetato de etila, *n*-butanol e resíduo aquoso.

A atividade antioxidante foi realizada pelo método fotolorimétrico do radical livre estável DPPH (Figura 23, pág. 80), no laboratório do Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes, onde esse procedimento é realizado rotineiramente. Neste método é

preparada uma solução 0,3mM de DPPH em etanol. As amostras são preparadas adicionando-se 1ml desta solução de DPPH a 2,5ml de soluções dos extratos diluídos em etanol a concentrações de 5, 10, 25, 50, 125 e 250µg/ml. Nos brancos, ao invés do DPPH, adiciona-se apenas 1ml de etanol aos extratos diluídos nas mesmas concentrações das amostras. O controle negativo é preparado apenas com 1ml de DPPH e 2,5ml de etanol. Como controle positivo foi utilizado o flavonóide rutina, conhecido por sua alta atividade antioxidante.

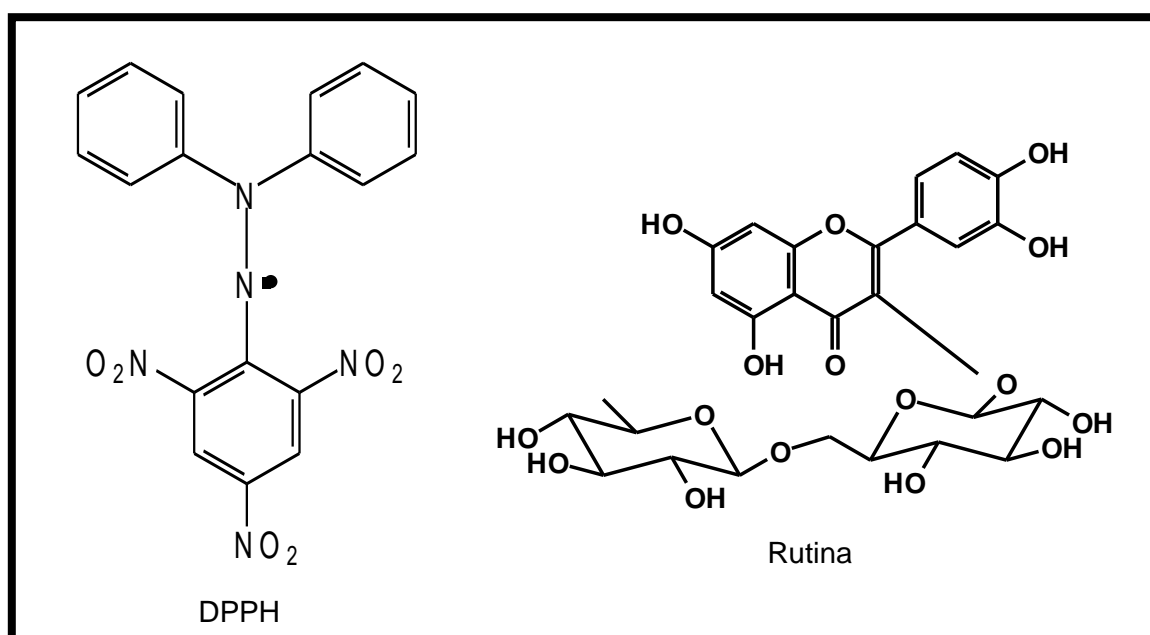


Figura 23: Estruturas do 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e da Rutina.

A solução de DPPH possui uma coloração roxa intensa e a ação antioxidante de um extrato pode ser visualizada pelo progressivo descolorimento da solução, ao final do qual a mesma torna-se amarelada. A reação transcorre à temperatura ambiente por 30 minutos e, decorrido esse tempo, é feita a leitura da absorbância em um espectrofotômetro de Ultravioleta-Visível em 518nm (Figura 24, pág. 81). Todas as

análises são realizadas em triplicata e, com os dados obtidos, é feito o cálculo da atividade antioxidante percentual dos extratos testados ou da substância purificada rutina (Figura 23, pág. 80).

Os resultados foram expressos em valores de CE_{50} (concentração efetiva para se obter metade da atividade antioxidante máxima estimada em 100%), obtidos por regressão do tipo linear, logarítmica ou potência, com coeficiente de determinação $r^2 \geq 0,80$. Os resultados foram calculados através da expressão:

$$AAO\% = \{100 - [(ABS_A - ABS_B) \times 100] / ABS_C\}$$

ABS_A corresponde ao valor da absorbância da amostra, ABS_B ao valor da absorbância da solução branco e ABS_C ao valor da absorbância do controle negativo (MENSOR, 1999).

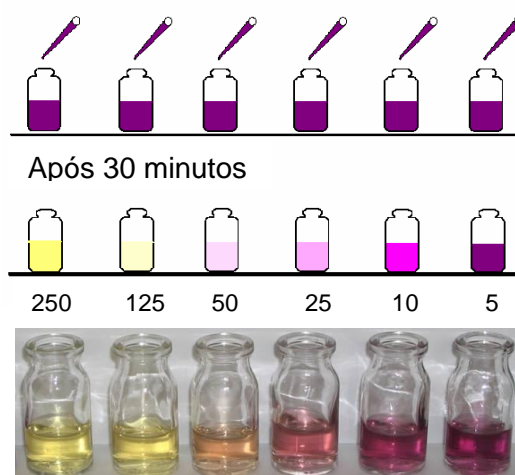


Figura 24: Variação da intensidade de cor das soluções de extrato após 30 minutos de reação com DPPH.

Para uma melhor comparação dos resultados também foi empregado o índice de atividade antioxidante (IAA), calculado através da fórmula:

$$\text{IAA} = \frac{\text{Concentração final de DPPH } (\mu\text{g/ml})}{\text{CE50 } (\mu\text{g/ml})}$$

De acordo com Scherer e Godoy (2009), a atividade antioxidante é considerada fraca quando $\text{IAA} < 0,5$, moderada quando o IAA está entre 0,5 e 1, forte quando o IAA está entre 1 e 2, e muito forte quando $\text{IAA} > 2$.

Ensaio biológico:

Atividade antimicrobiana

Foram realizados testes de atividade antimicrobiana pela metodologia de difusão em ágar conhecida como “Drop Test”, descrita por HILL e colaboradores (1997). Foram avaliados os extratos etanólicos das flores e dos caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides*, bem como suas respectivas frações em hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e resíduo aquoso. Esse estudo foi realizado em colaboração com a equipe das Prof^{as}. Dr^{as}. Celuta Sales Alviano e Daniela Sales Alviano, pesquisadoras do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes da UFRJ.

As amostras foram testadas frente às cepas de fungos *Candida albicans* Sorotipo B ATCC 36802, *Cryptococcus neoformans* T₁-444 Sorotipo A (Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP-SP), *Trichophyton rubrum* T544, *Fonsecaea pedrosoi* 5VPL (coleção de fungos do Hospital Clementino Fraga Filho da UFRJ); e de bactérias: *Staphylococcus aureus* MRSA (BMB9393) (Hospital Clementino Fraga Filho da UFRJ) e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Os microrganismos (2×10^5 células/ml) foram espalhados em placas de Petri contendo meio BHI (Brain Heart Infusion) sólido e, após 10 minutos, adicionaram-se 10 μl de amostra (na concentração de 50 mg/ml) no centro de cada placa. Como controle positivo de inibição utilizaram-se 10 μl de antibiótico (Vancomicina) ou

antifúngico (Anfotericina B) na concentração de 1mg/ml, de acordo com a cepa empregada. Como controle negativo utilizou-se o solvente em que o extrato foi diluído. Todas as placas foram incubadas a 37°C, com tempo de incubação variando de 01 a 07 dias, dependendo do microrganismo empregado.

As amostras, ao se difundirem pelo meio de cultura, podem ou não inibir o crescimento dos diferentes microorganismos. A leitura dos resultados foi efetuada através da medição (em milímetros) dos halos de inibição formados.

Atividade antiviral

A atividade inibitória da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E) e dos extratos etanólicos das flores e de caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides* foi avaliada sobre estirpes de vírus herpes simplex tipos 1 (HSV-1-ACVr) e 2 (HSV-2-ACVr) resistentes ao aciclovir, em colaboração com o Laboratório Experimental de Drogas Antivirais e Citotóxicas (LEDAC), do Departamento de Virologia do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes, da UFRJ, sob orientação da Prof^a. Maria Teresa Villela Romanos. Os extratos etanólicos de *B. segetum* e *P. alopecuroides* também foram avaliados sobre adenovírus 19 (vírus da conjuntivite).

Os extratos etanólicos e a cumarina purificada foram solubilizados em DMSO e ressuspendidos em água destilada até a concentração de 400 µg/ml. De cada solução esterilizada por filtração em membrana Millipore (0,22 µm), foi tomada uma alíquota que foi conservada em temperatura de -20°C ao abrigo da luz.

Como sistema hospedeiro foram usadas células Vero (fibroblasto de rim de macaco *Cercopitheccus aethiops*), crescidas em meio mínimo essencial de Eagle (MEM) suplementado com 2 mM de L-glutamina, 50 µg/ml de gamicina, 2,5 µg/ml de fungizona, solução de bicarbonato de sódio a 0,25%, HEPES 10mM e 10% de soro fetal bovino (SFB) (meio de crescimento) e sem SFB (meio de manutenção). Para os

ensaios com adenovírus, foram utilizadas células A-549 (carcinoma de pulmão humano). As culturas de células foram incubadas a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂. As amostras de HSV-1-ACVr e HSV-2-ACVr, isoladas a partir do fluido de vesículas características de herpes labial e genital, respectivamente, pertencem à coleção do LEDAC, bem como as amostras de adenovírus 19.

Primeiramente determinou-se a concentração máxima não tóxica (CMNT) de cada amostra, pois a avaliação da atividade antiviral de uma substância requer a determinação prévia de sua toxicidade para os sistemas hospedeiros empregados. A CMNT foi determinada através de metodologia baseada em alterações da morfologia celular. As soluções previamente preparadas dos diferentes extratos e da cumarina isolada foram submetidas a diluições seriadas, a partir de 200 µg/ml, com fator de diluição 2, utilizando-se MEM sem SFB como diluente, e colocadas em contato com as monocamadas de células confluentes. Em seguida, as células foram incubadas a 37°C por 48h, sendo examinadas diariamente ao microscópio óptico invertido e comparadas com o controle. A maior concentração de cada amostra em que não houve efeito citotóxico (caracterizado pelo aparecimento de células redondas, vacúolos e/ou descolamento da monocamada da superfície suporte) foi denominada CMNT e utilizada nos ensaios antivirais (RODRIGUEZ *et al.*, 1990).

Para a avaliação da atividade antiviral, as células, cultivadas em microplaca de 96 poços, foram tratadas com as amostras diluídas em várias concentrações, iniciando pela CMNT determinada na etapa anterior, sendo empregados 6 poços por diluição. A seguir, inocularam-se em cada poço, contendo células tratadas e não tratadas, 10 µl das suspensões de vírus em MEM sem SFB em diluições logarítmicas decimais (10⁻¹ até 10⁻⁷). Depois de inoculadas, as células foram incubadas por 48 horas a 37°C, em ambiente com 5% de CO₂. Ao final desse período, os títulos de vírus foram determinados com base no método estatístico estabelecido por REED & MUENCH (1938) e expressos em valores de TCID₅₀ (dose que produz efeito citopático em 50% das células em cultura).

O grau de atividade antiviral foi expresso em porcentagem de inibição (PI) (NISHIMURA *et al.*, 1977) e índice de inibição viral (IIV), calculados empregando-se as seguintes fórmulas:

$$PI = [1 - (\text{antilogaritmo T} / \text{antilogaritmo C})] \times 100$$

T representa as unidades infecciosas na cultura de células tratadas com a amostra e C as unidades infecciosas na cultura de células não tratadas (controle);

$$IIV = B - A$$

B representa o título de vírus no controle (células não tratadas) e A representa o título de vírus na cultura de células tratadas com a amostra (GONÇALVES *et al.*, 2001).

Atividade hipoglicemiante

Os ensaios de atividade hipoglicemiante foram realizados com as duas espécies de Asteraceae aqui pesquisadas, já que existem indicações de uso na medicina popular de algumas espécies de *Bidens* para tratamento de diabetes. Os testes foram realizados em colaboração com as Prof^{as}. Dr^{as}. Patrícia Dias Fernandes e Maria Eline Matheus, do Programa de Desenvolvimento de Fármacos da UFRJ. Foram testados os extratos etanólicos das flores e de caules/folhas de *Bidens segetum* e das partes aéreas de *Pterocaulon alopecuroides*, solubilizados em solução aquosa de DMSO a 20%.

Grupos contendo oito camundongos Swiss machos pesando entre 20 e 25g, alimentados até duas horas antes do início da experiência, foram tratados com os extratos em estudo, nas doses de 50mg/kg, 100mg/kg e 200mg/kg por via oral. Foram

utilizados dois grupos controle, aos quais administrou-se apenas a solução aquosa de DMSO ou água destilada.

A glicemia foi determinada usando aparelho medidor de glicemia Prestige Smart System™ I.Q., do fabricante AR-MED. As leituras foram realizadas no tempo zero (antes da administração do extrato) e depois a cada duas horas, durante seis horas, pingando-se uma gota de sangue (retirada de 1mm da extremidade da cauda dos camundongos) em tiras reativas apropriadas.

Os resultados de cada extrato foram analisados estatisticamente pelo teste ANOVA, comparando-se as médias das leituras de glicemia no tempo de duas, quatro e seis horas, com a média das leituras no tempo zero.

Ensaio de citotoxicidade

Os ensaios de citotoxicidade realizados basearam-se na inexistência de estudos de citotoxicidade para *Bidens segetum* e *Pterocaulon alopecuroides*, e nos relatos de atividade citotóxica e antitumoral de duas espécies do gênero *Pterocaulon*.

Utilizou-se um kit de detecção de citotoxicidade, uma alternativa colorimétrica precisa, rápida e simples de quantificação da citotoxicidade, baseando-se na medida da atividade da enzima citoplasmática estável lactato desidrogenase (LDH) que é rapidamente liberada de células que tiveram suas membranas plasmáticas lesadas.

O kit é composto de um catalisador liofilizado (mistura de diaforase e NAD⁺), que deve ser reconstituído com 1ml de água bidestilada, e de uma solução tonalizante de cloreto de iodotetrazólio (INT) e lactato de sódio. A mistura reacional dos dois componentes do kit é realizada imediatamente antes do uso.

As células empregadas no ensaio foram mastócitos NRL-2H3, na 25^o passagem (2×10^4 células/poço em 200 μ l), e o meio de cultura usado foi DMEM contendo 1% (p/v) de albumina de soro bovino (BSA).

Foram utilizados três controles: controle branco (meio de cultura), controle negativo (células não tratadas) e controle positivo (células tratadas com solução de triton-X 2% em meio de cultura). Um padrão de terfenadina 100mM em meio de cultura também foi usado.

As amostras continham extratos etanólicos das flores, de caules/folhas de *B. segetum* ou das partes aéreas de *P. alopecuroides* na concentração de 100µg/ml em DMSO. O ensaio foi realizado em triplicata.

Preencheu-se uma placa de cultura de tecidos de 96 poços de acordo com a Tabela X, pág. 87. Para cada controle, amostra e padrão, foram preenchidos três poços. A placa foi incubada a 37°C por 24 horas, em atmosfera de 5% CO₂ e 90% de umidade. Em seguida, as células foram removidas do meio de cultura através de centrifugação, coletando-se 100µl/poço apenas do sobrenadante e transferindo-se para placa opticamente transparente de 96 poços. Em cada poço adicionou-se 100µl da mistura reacional do kit recém preparada e incubou-se por 30 minutos, a 25°C, ao abrigo da luz. A leitura foi então realizada em analisador de microplacas Fusion Universal (Packard BioScience Co.) a 490nm, para avaliação da atividade de LDH e posterior cálculo de percentual de citotoxicidade (Figura 25, pág. 88).

Tabela X: Conteúdo da placa de cultura de tecidos para ensaio de citotoxicidade.

Conteúdo de cada poço	Branco	Controle negativo	Controle positivo	Amostras	Padrão
Meio de cultura	200µl	100µl	_____	_____	_____
Células	_____	100µl	100µl	100µl	100µl
Solução de triton-X	_____	_____	100µl	_____	_____
Extrato etanólico a ser testado	_____	_____	_____	100µl	_____
Terfenadina	_____	_____	_____	_____	100µl

A atividade de LDH é determinada através de teste enzimático de duas etapas: na primeira etapa, NAD^+ é reduzido a NADH/H^+ pela conversão de lactato a piruvato catalisada por LDH; na segunda etapa, o catalisador (diaforase) transfere H/H^+ de NADH/H^+ para o sal de tetrazólio (amarelo), o qual é reduzido a sal de formazano (vermelho) (Figura 26, pág. 89).

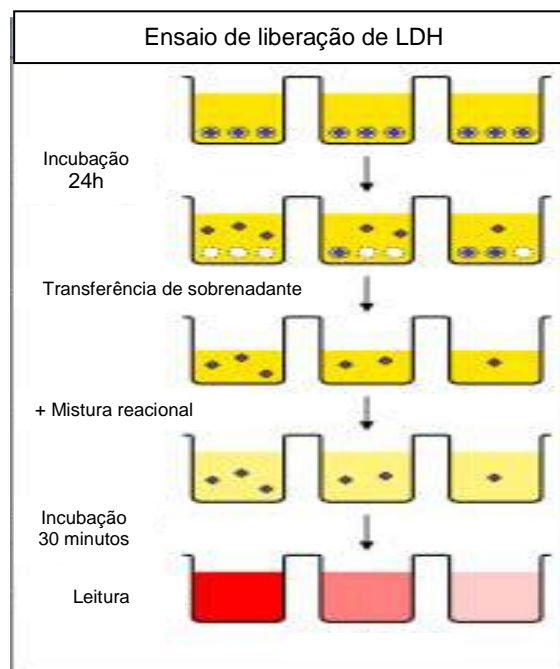


Figura 25: Esquema do ensaio de citotoxicidade baseado na medida da atividade de LDH (♦).

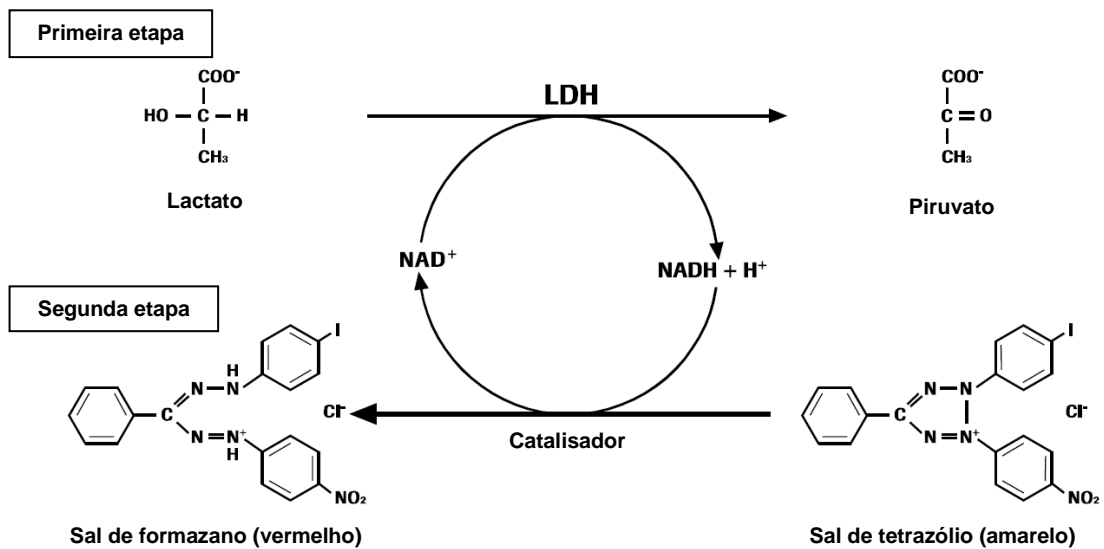


Figura 26: Esquema das duas etapas do teste enzimático de determinação da atividade de LDH.

Um aumento na quantidade de células mortas ou com membrana plasmática lesada resulta no aumento da atividade enzimática de LDH no sobrenadante da cultura de células, o que está diretamente correlacionado com a quantidade de formazano formado durante um período de tempo limitado. Portanto, a intensidade de coloração obtida durante o ensaio é proporcional ao número de células lisadas. O formazano colorido formado é solúvel em água e possui absorção máxima em 500nm, enquanto o tetrazólio não apresenta absorção significativa nesse comprimento de onda.

Os resultados foram expressos em percentual de citotoxicidade, sendo obtidos através da expressão:

$$C\% = \{[(\text{ABS}_A - \text{ABS}_B) - \text{ABS}_{\text{CN}}] / (\text{ABS}_{\text{CP}} - \text{ABS}_{\text{CN}})\} \times 100$$

ABS_A corresponde ao valor da absorbância da amostra, ABS_B ao valor da absorbância do controle branco, ABS_{CN} ao valor da absorbância do controle negativo e ABS_{CP} ao valor da absorbância do controle positivo (MARTIN & CLYNES, 1991; DECKER & LOHMANN-MATTHES, 1988).

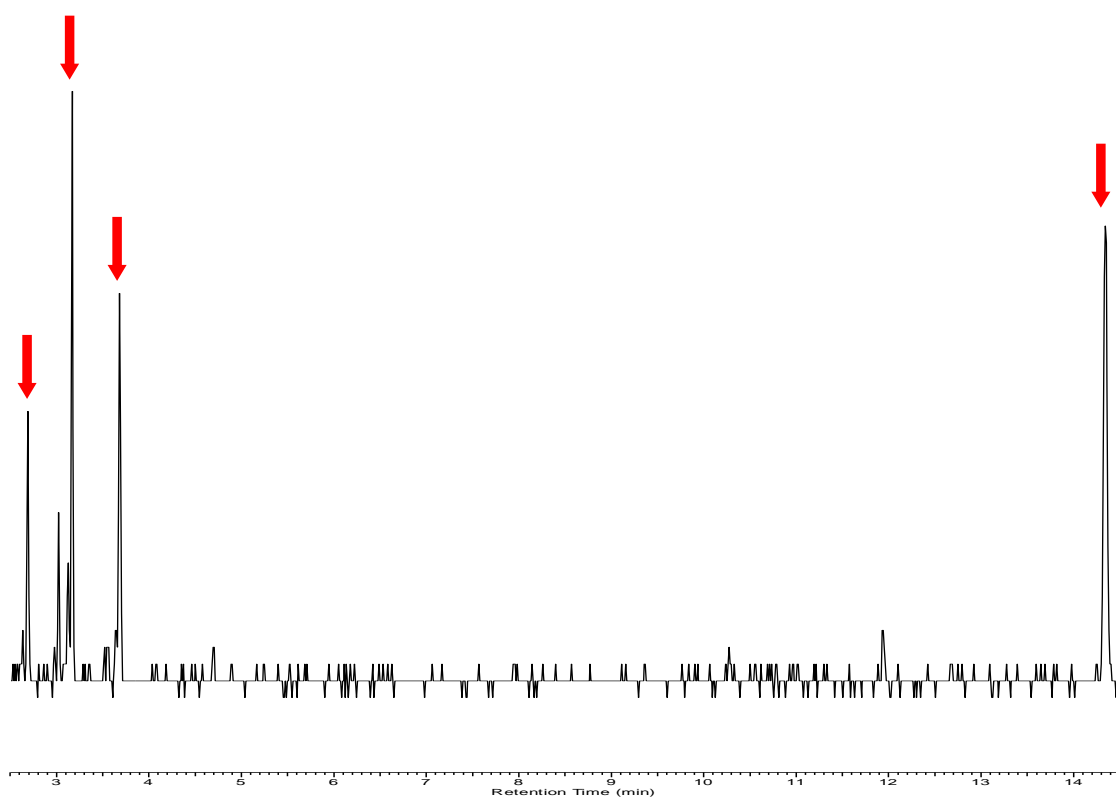
RESULTADOS E DISCUSSÃO

FITOQUÍMICA

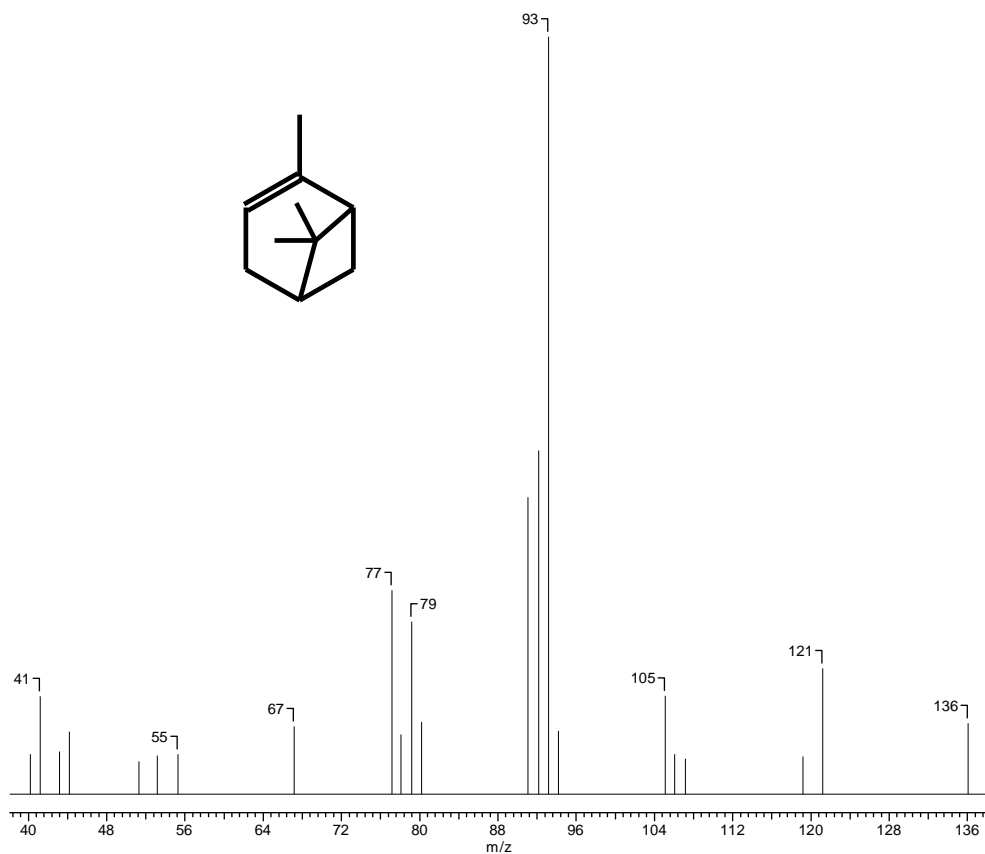
Estudo das flores de *Bidens segetum*:

Óleo essencial

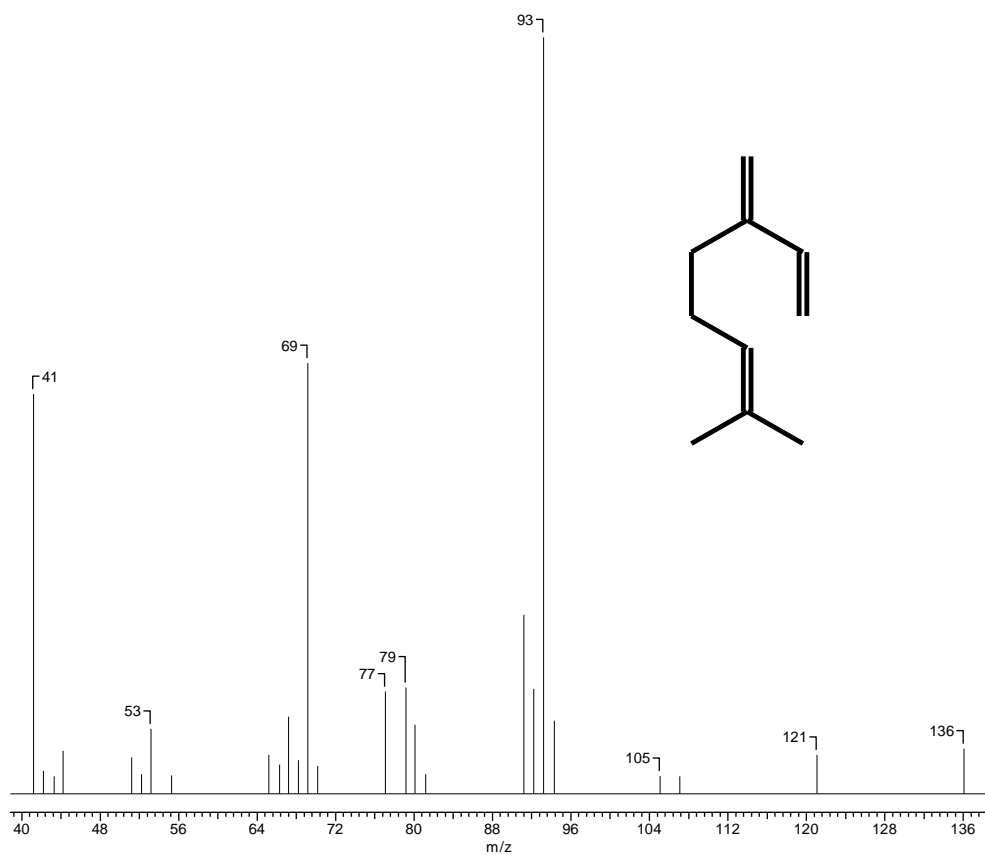
Na análise do óleo essencial das flores de *Bidens segetum* por CG-EM realizada no LADETEC, foram identificados os seguintes terpenos: α -Pinoeno (TR 2,68 minutos), Mirreno (TR 3,16 minutos), Limoneno (TR 3,67 minutos) e δ -Germacreno (TR 14,33 minutos) (Cromatograma 1, pág. 90; Espectro 1, pág. 91; Espectro 2, pág. 91; Espectro 3, pág. 92; Espectro 4, pág. 92).



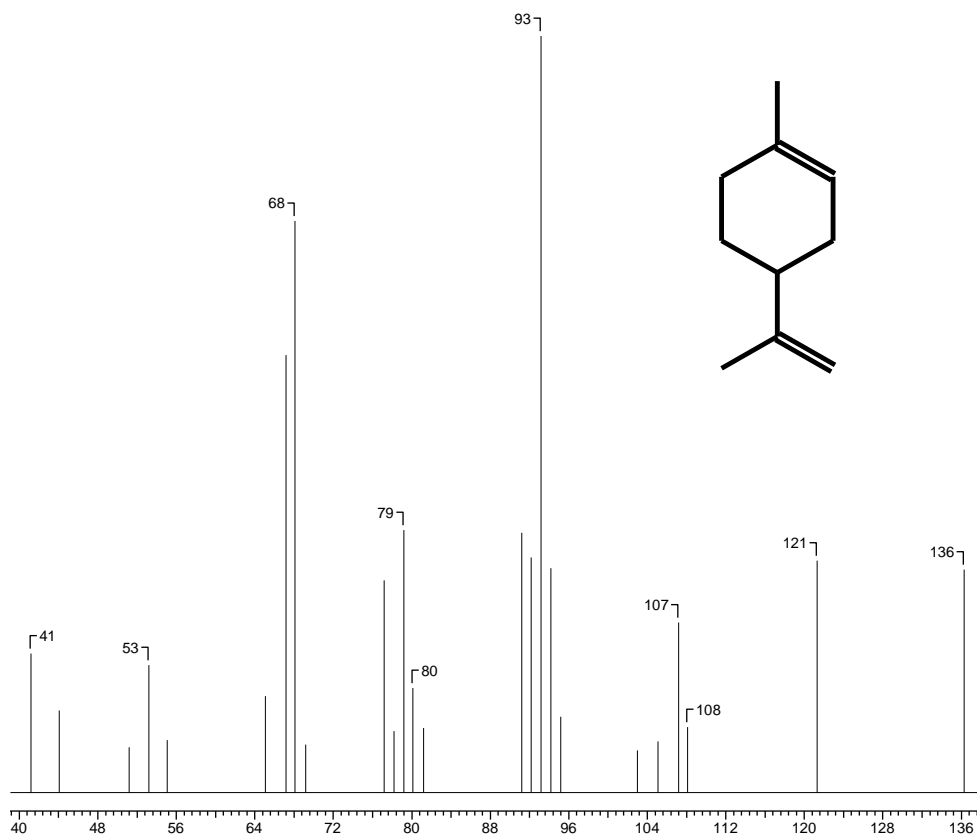
Cromatograma 1: Cromatograma do óleo essencial das flores de *Bidens segetum*.



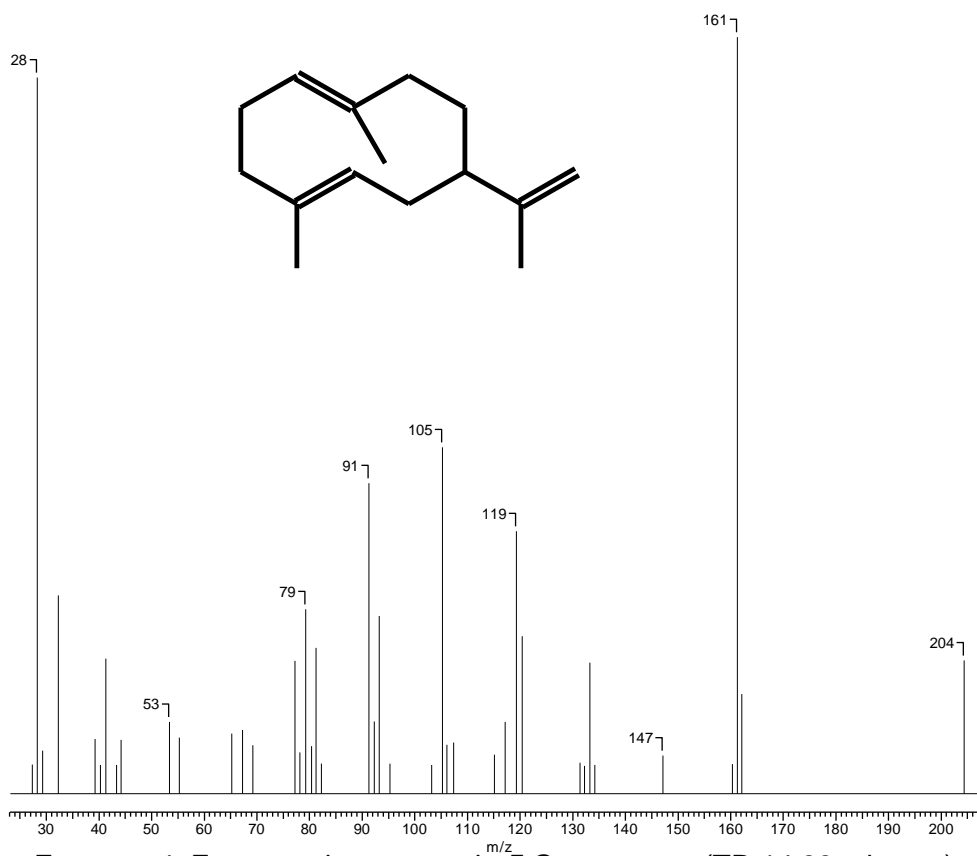
Espectro 1: Espectro de massas do α -Pineno (TR 2,68 minutos).



Espectro 2: Espectro de massas do Mirceno (TR 3,16 minutos).



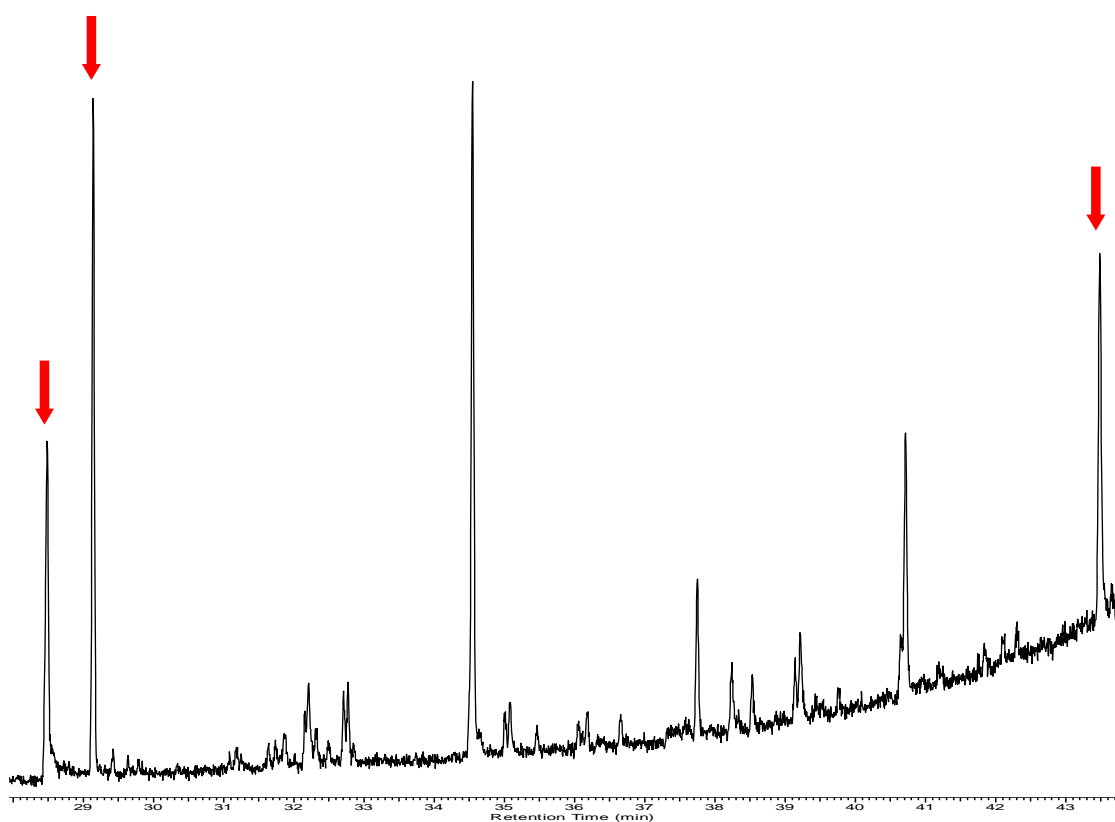
Espectro 3: Espectro de massas do Limoneno (TR 3,67 minutos).



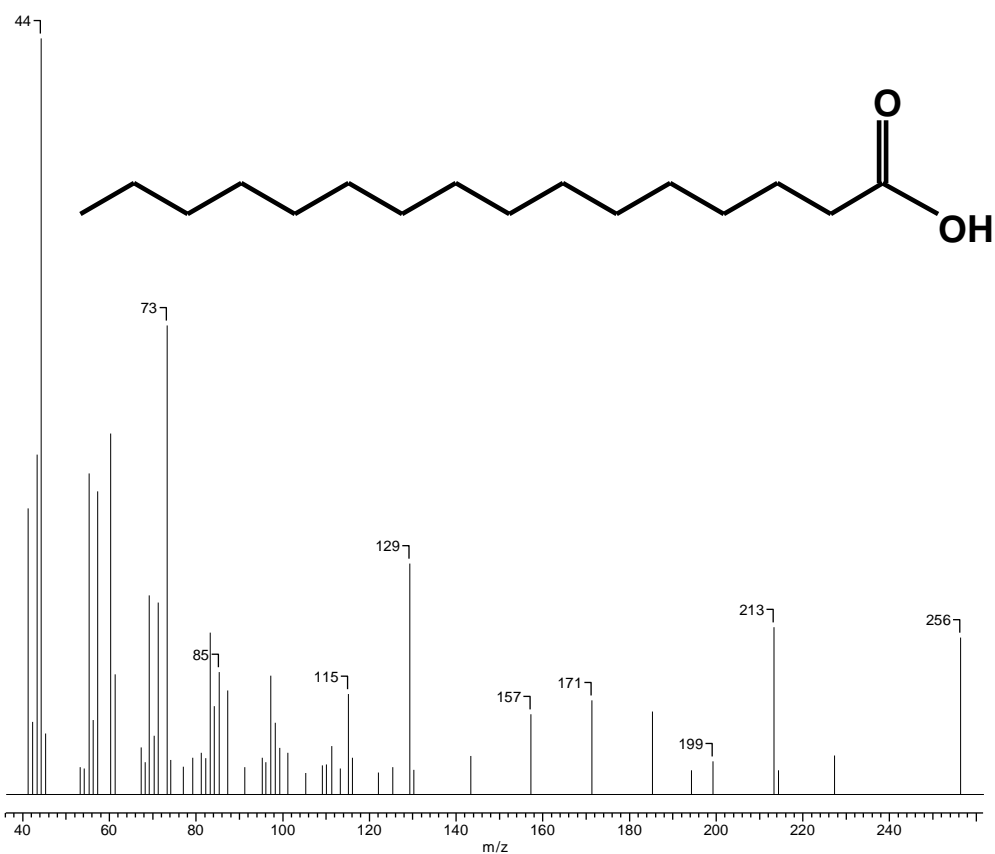
Espectro 4: Espectro de massas do δ -Germacrene (TR 14,33 minutos).

Fração em hexano

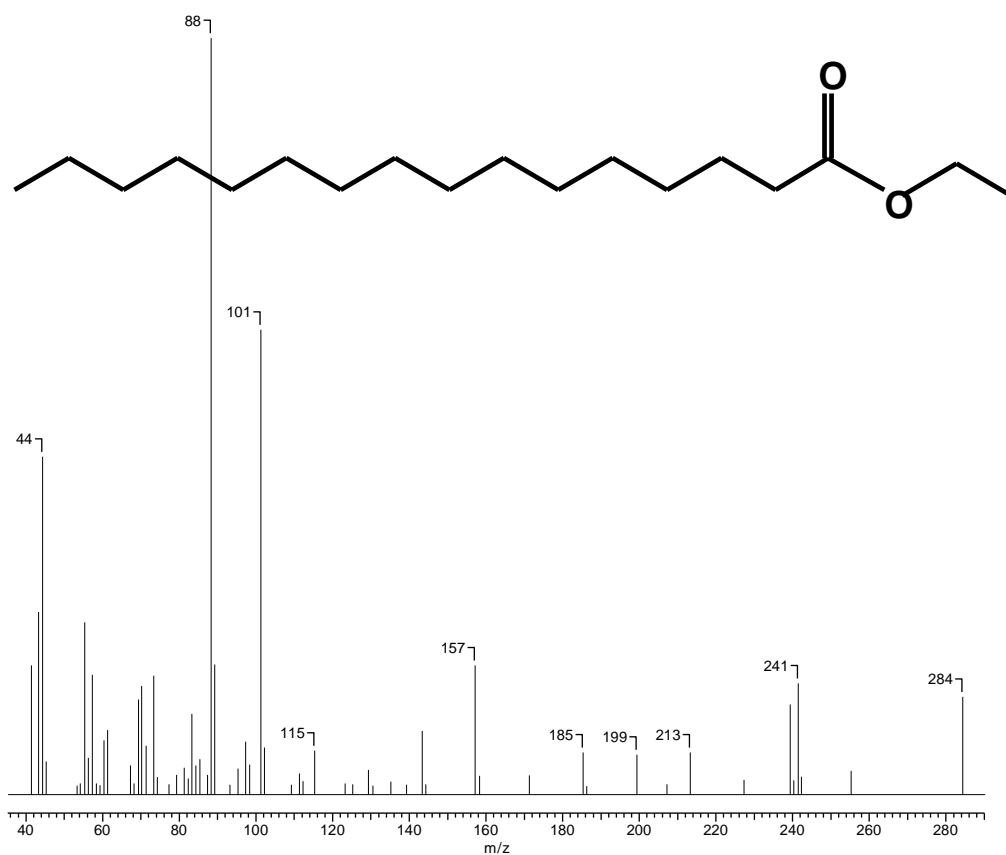
A fração em hexano das flores de *B. segetum* foi analisada por CG-EM no LADETEC, sendo identificadas as seguintes substâncias: Ácido hexadecanóico (28,47 minutos), Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos) e *n*-Eicosano (TR 43,47 minutos) (Cromatograma 2, pág. 93; Espectro 5, pág. 94; Espectro 6, pág. 94; Espectro 7, pág. 95).



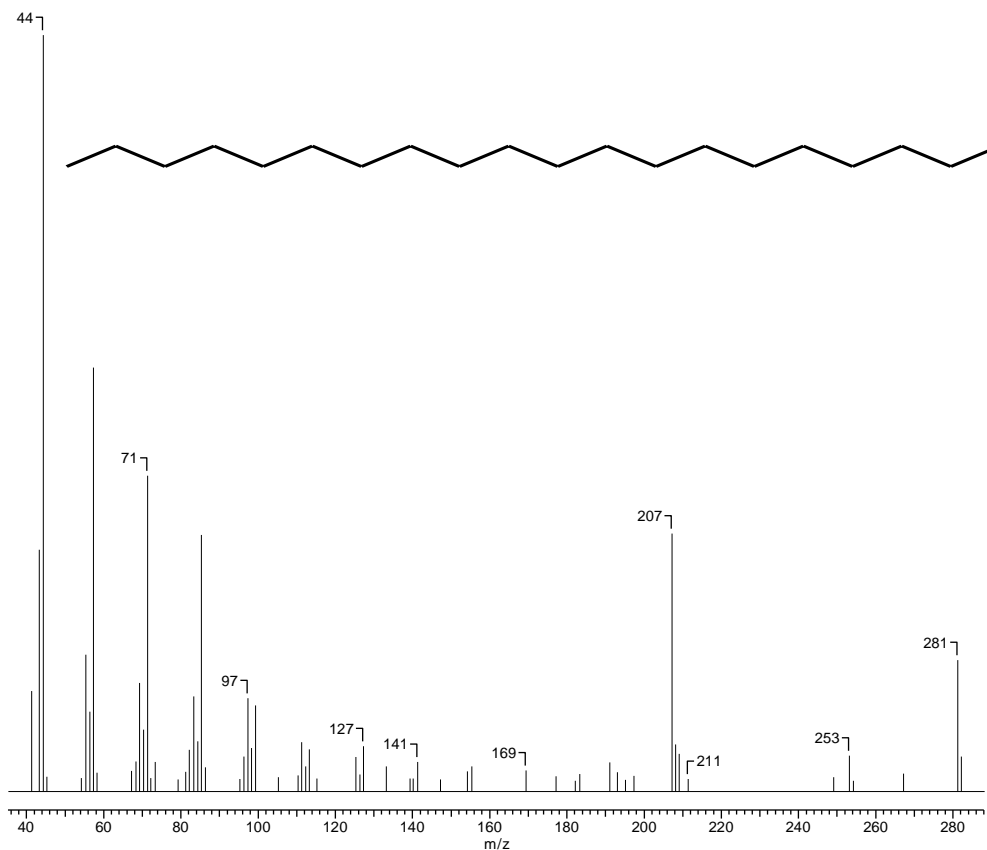
Cromatograma 2: Cromatograma da fração em hexano do extrato das flores de *Bidens segetum*.



Espectro 5: Espectro de massas do Ácido hexadecanóico (TR 28,47 minutos).



Espectro 6: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos).

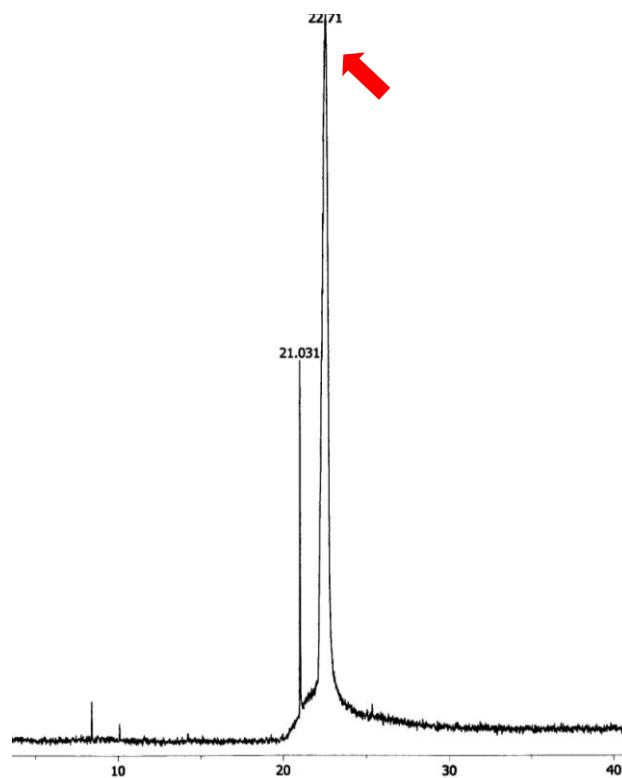


Espectro 7: Espectro de massas do *n*-Eicosano (TR 43,47 minutos).

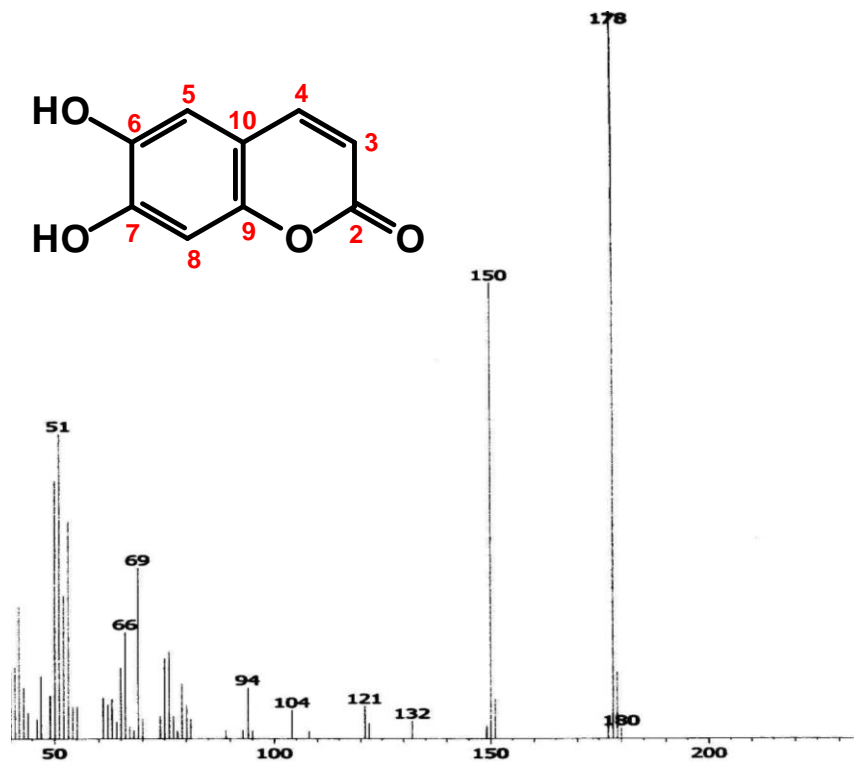
Fração em diclorometano

A fração em diclorometano das flores de *B. segetum* sofreu processo de separação cromatográfica em aparelho de cromatografia contra-corrente, resultando em 78 frações ao final da corrida. As frações recolhidas foram reunidas em doze frações principais. A fração principal nº 6 foi purificada por cristalização resultando na amostra A, que foi analisada por CG-EM no NPPN e por RMN ^1H e ^{13}C no TCD, sendo assim possível identificar a 6,7-Diidroxicumarina (TR 22,71 minutos). O cromatograma da amostra A evidencia que esta não se encontra pura, mas seu constituinte majoritário, de massa 178, possui espectro de massas correspondente ao de uma cumarina. O espectro de RMN ^1H apresenta par de dupletos típicos de cumarinas em δ 6,10 e δ 7,82, com constante de acoplamento $J=9,4$ Hz, correspondentes a H_3 e H_4 , respectivamente. Os átomos de H das posições 5 e 8 não substituídas caracterizam-

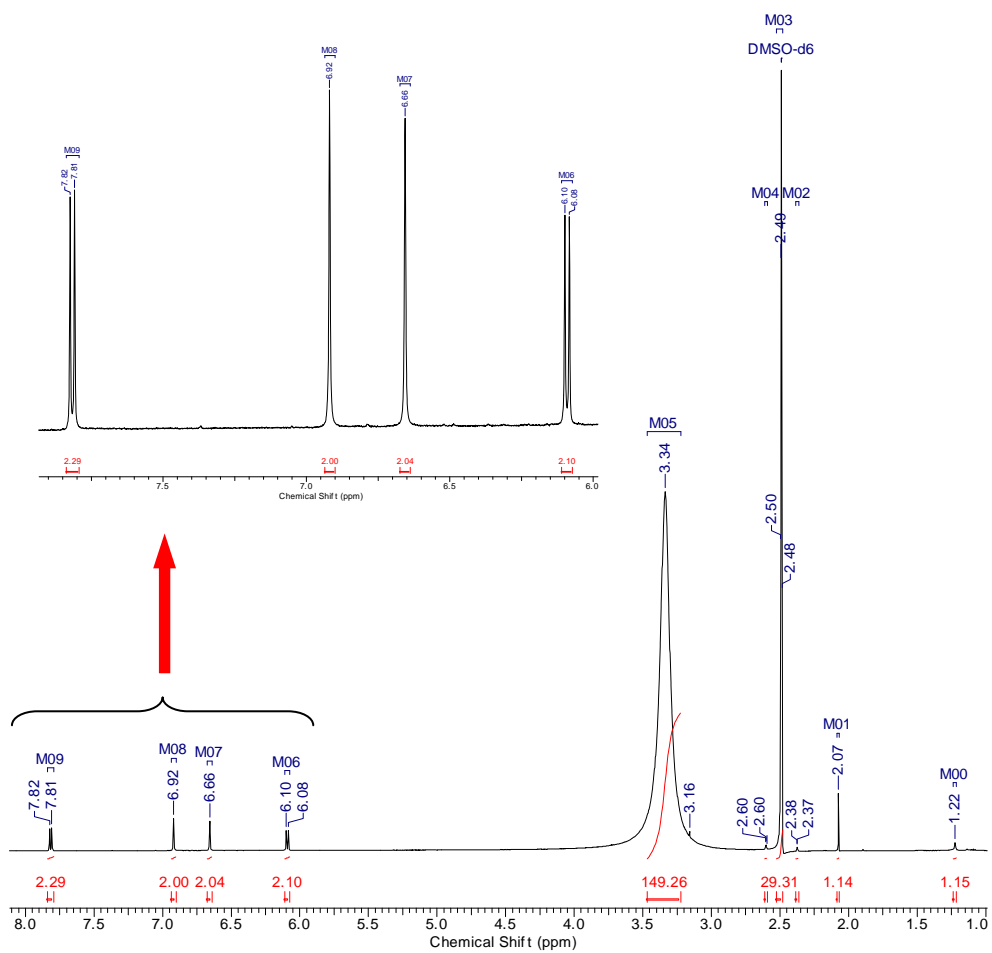
se pela presença de simpletos em δ 6,66 (H_5) e δ 6,92 (H_8). Os espectros de correlação confirmaram a simplicidade da cumarina, sugerindo substituintes hidroxila nas posições 6 e 7, compatíveis com os baixos valores de deslocamento químico de H_3 , H_4 , H_5 e H_8 . (Cromatograma 3, pág. 96; Espectro 8, pág. 97; Espectro 9, pág. 97; Espectro 10, pág. 98; Espectro 11, pág. 98; Espectro 12, pág. 99).



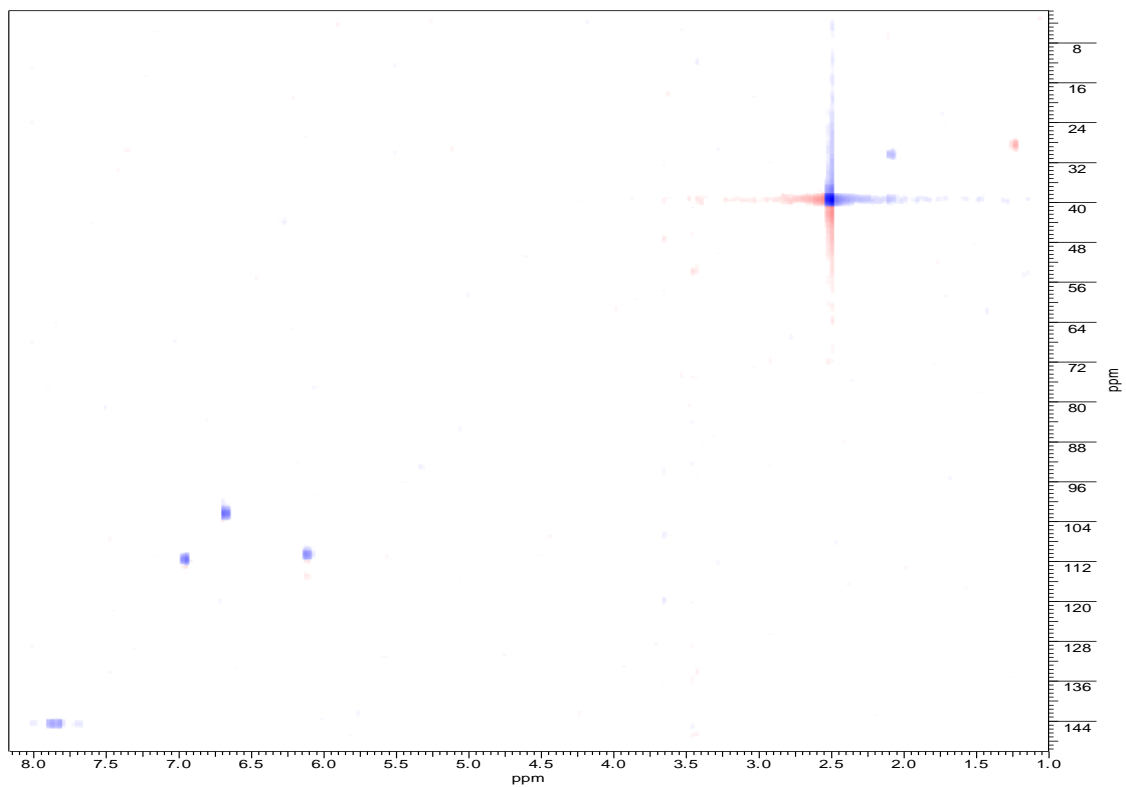
Cromatograma 3: Cromatograma da amostra A obtida da fração em diclorometano do extrato das flores de *Bidens segetum*.



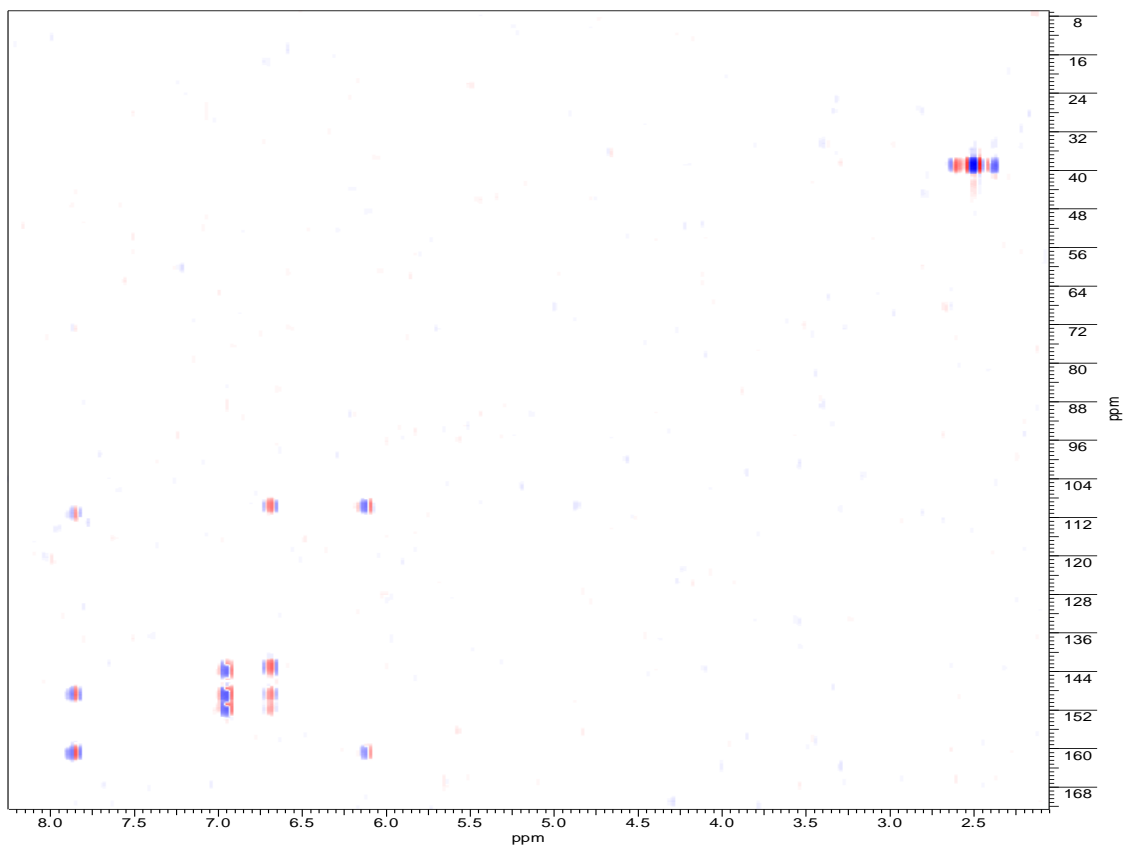
Espectro 8: Espectro de massas da 6,7-Diidroxicumarina (TR 22,71 min., amostra A).



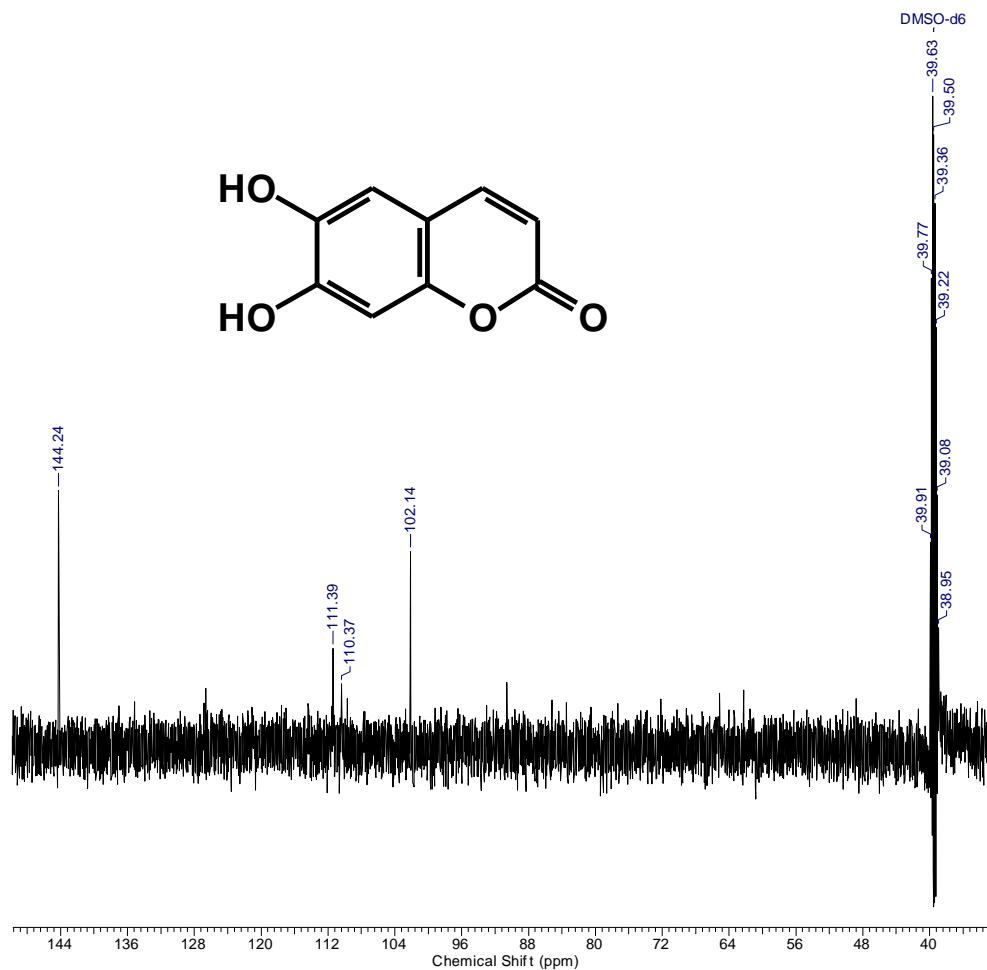
Espectro 9: Espectro de RMN ¹H da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A).



Espectro 10: Espectro de correlação HSQC da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A).



Espectro 11: Espectro de correlação HMBC da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A).

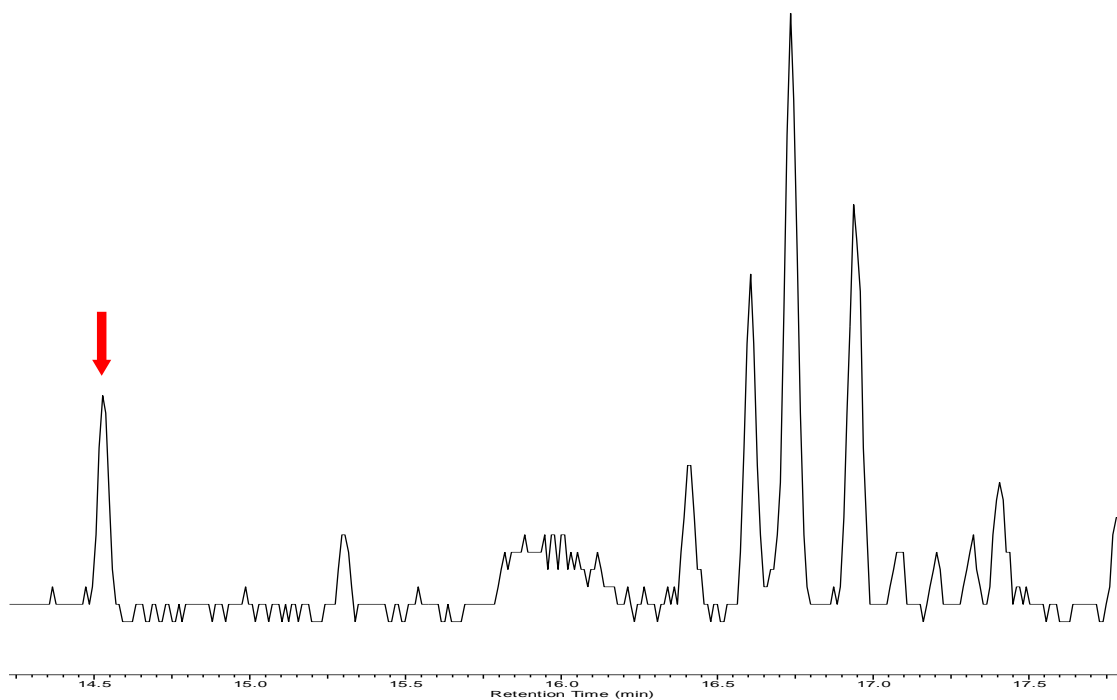


Espectro 12: DEPT 135 da 6,7-Diidroxicumarina (amostra A).

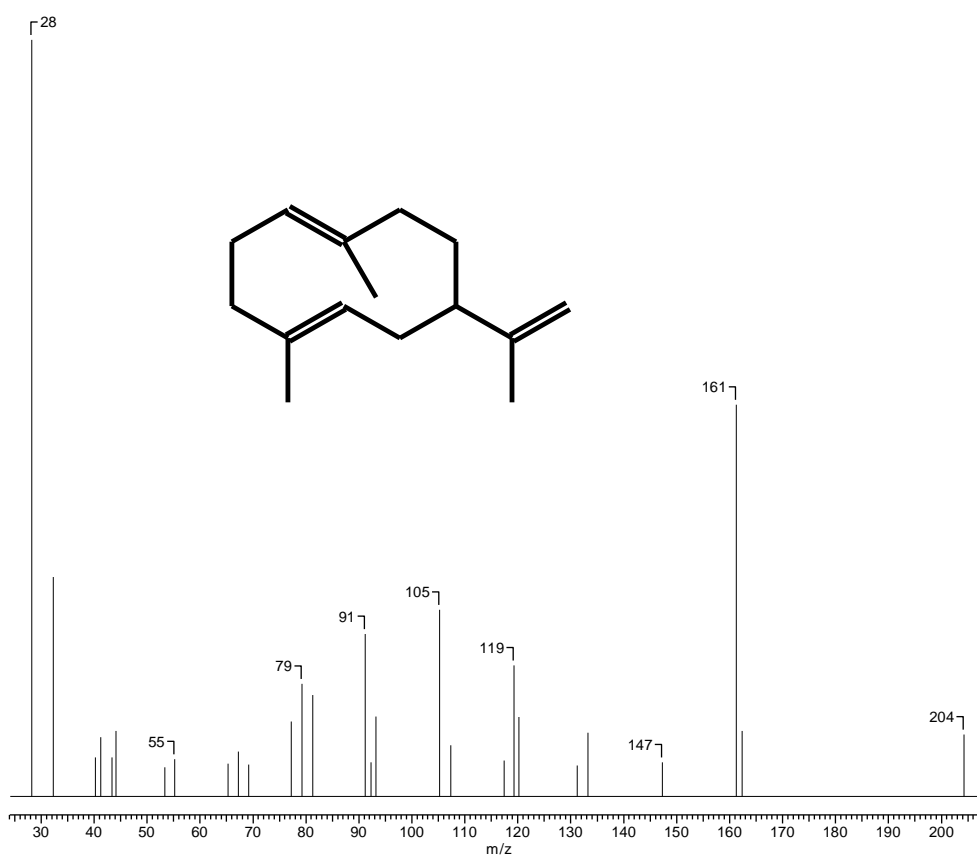
Estudo dos caules e folhas de *Bidens segetum*:

Óleo essencial

Na análise do óleo essencial dos caules e folhas de *Bidens segetum* por CG-EM, foi identificado o seguinte sesquiterpeno: δ -Germacreno (TR 14,5 minutos) (Cromatograma 4, pág. 100; Espectro 13, pág. 100).



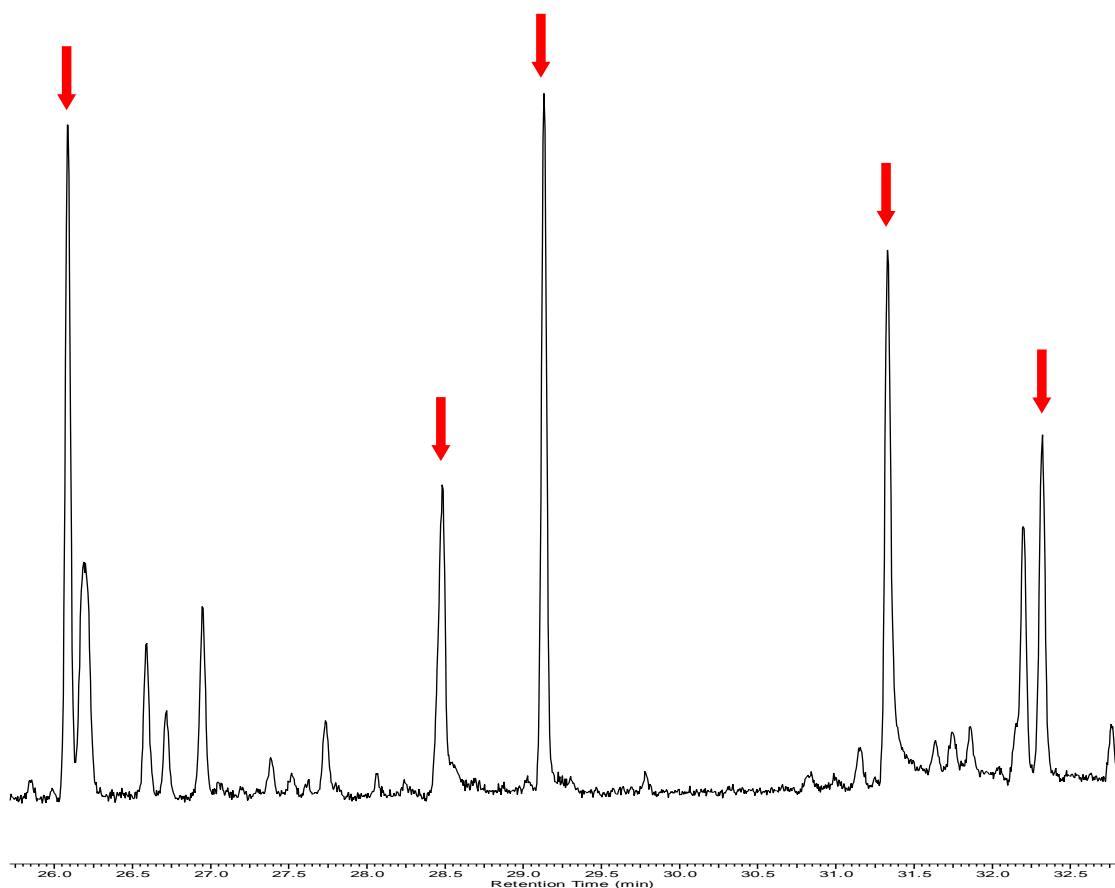
Cromatograma 4: Cromatograma do óleo essencial dos caules e folhas de *Bidens segetum*.



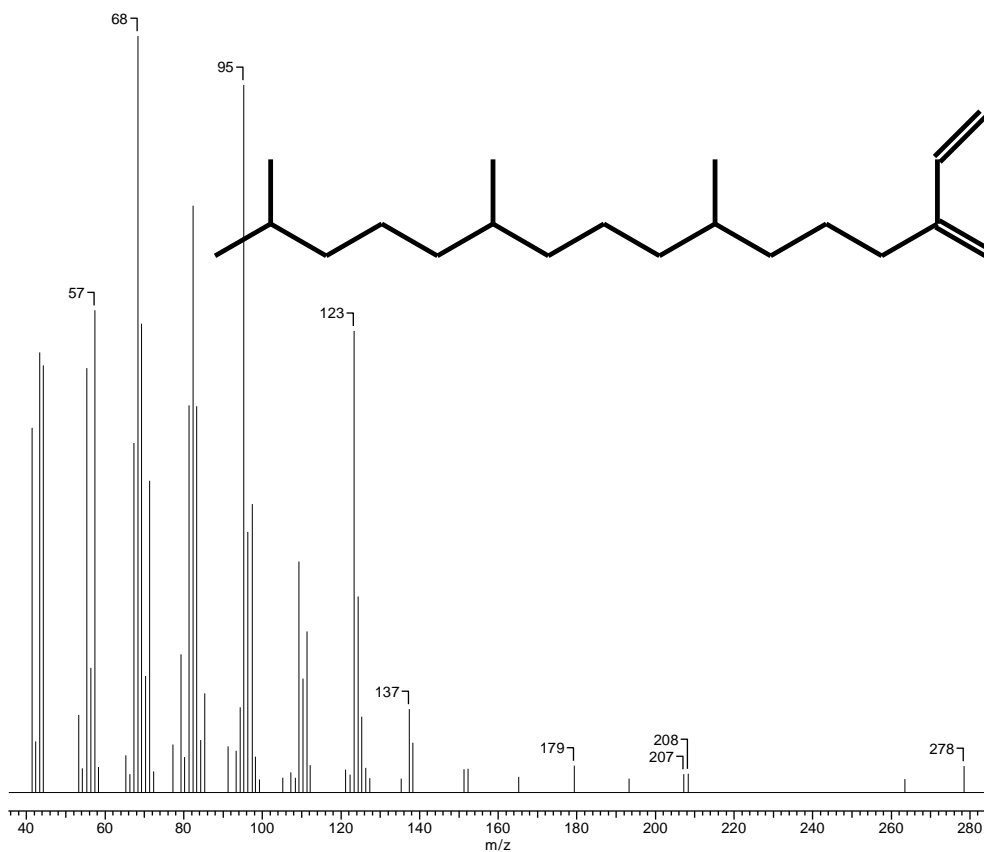
Espectro 13: Espectro de massas do δ -Germacreno (TR 14,50 minutos).

Fração em hexano

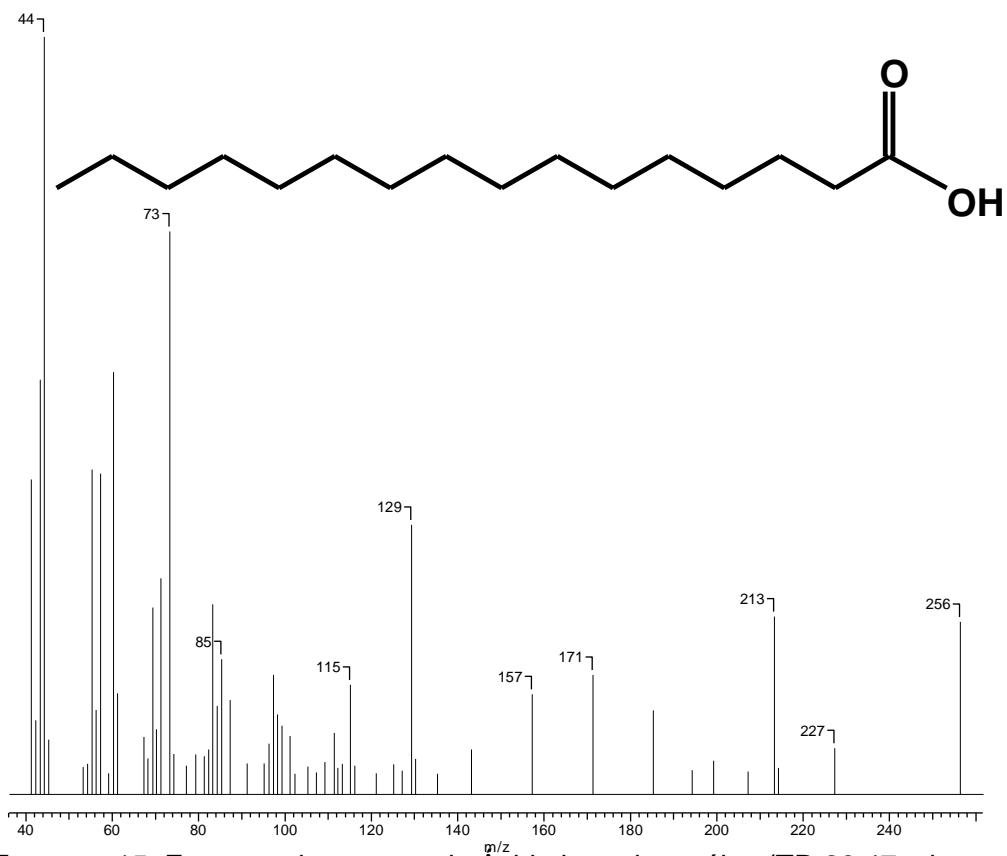
A fração em hexano das folhas e caules de *B. segetum* foi analisada por CG-EM, sendo identificadas as seguintes substâncias: Neofitadieno (TR 26,08 minutos), Ácido hexadecanóico (TR 28,47 minutos), Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos), Fitol (TR 31,33 minutos) e Linoleolato de etila (TR 32,32 minutos) (Cromatograma 5, pág. 101; Espectro 14, pág. 102; Espectro 15, pág. 102; Espectro 16, pág. 103; Espectro 17, pág. 103; Espectro 18, pág. 104).



Cromatograma 5: Cromatograma da fração em hexano do extrato dos caules e folhas de *Bidens segetum*.



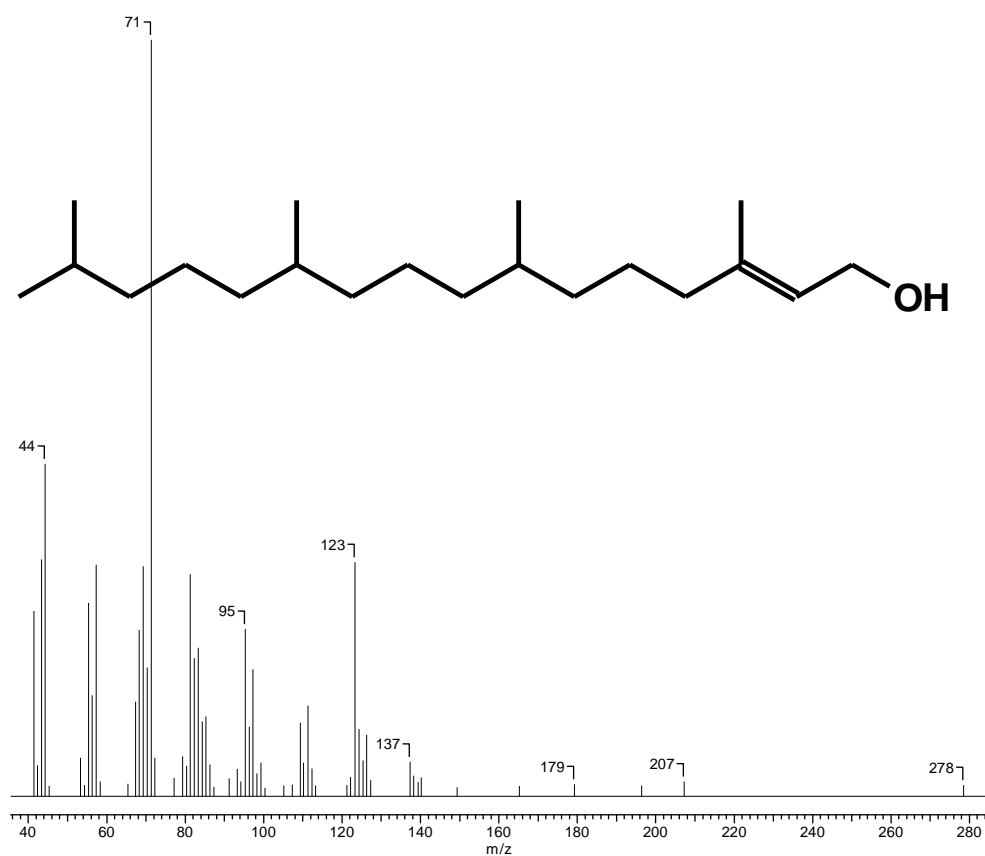
Espectro 14: Espectro de massas do Neofitadieno (TR 26,08 minutos).



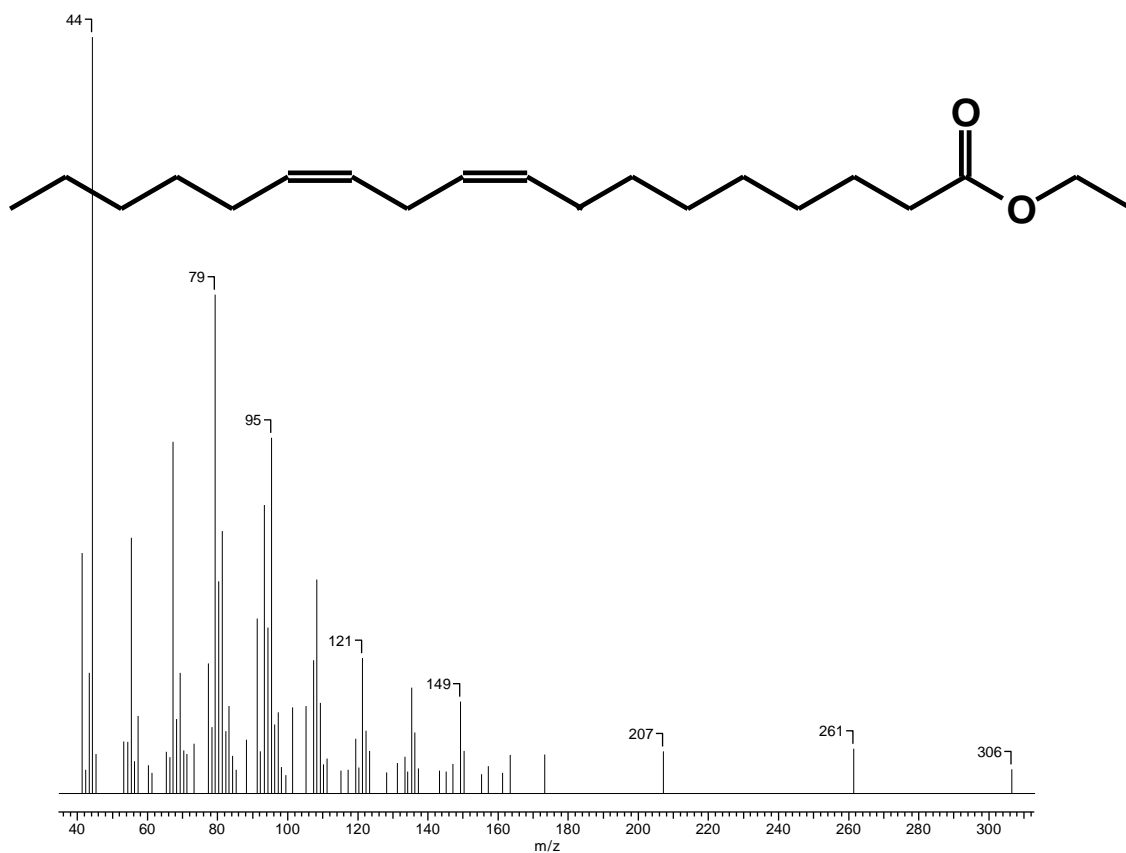
Espectro 15: Espectro de massas do Ácido hexadecanóico (TR 28,47 minutos).



Espectro 16: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos).



Espectro 17: Espectro de massas do Fitol (TR 31,33 minutos).

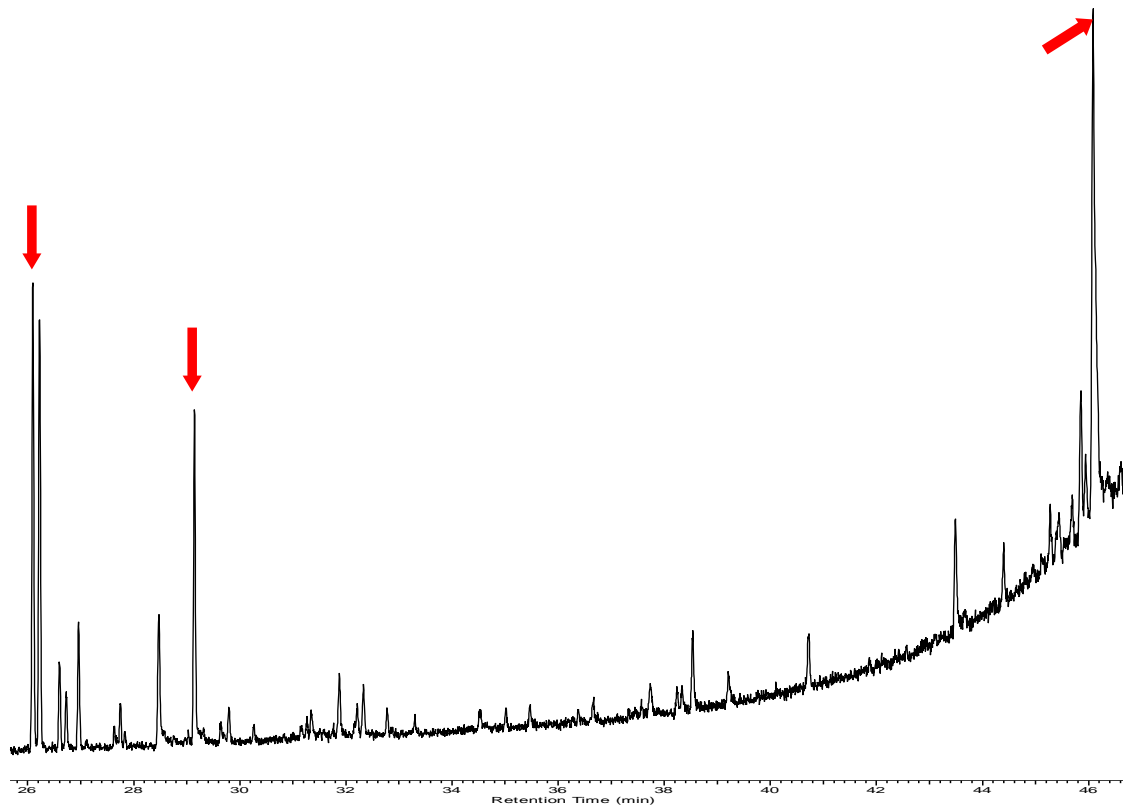


Espectro 18: Espectro de massas do Linoleolato de etila (TR 32,32 minutos).

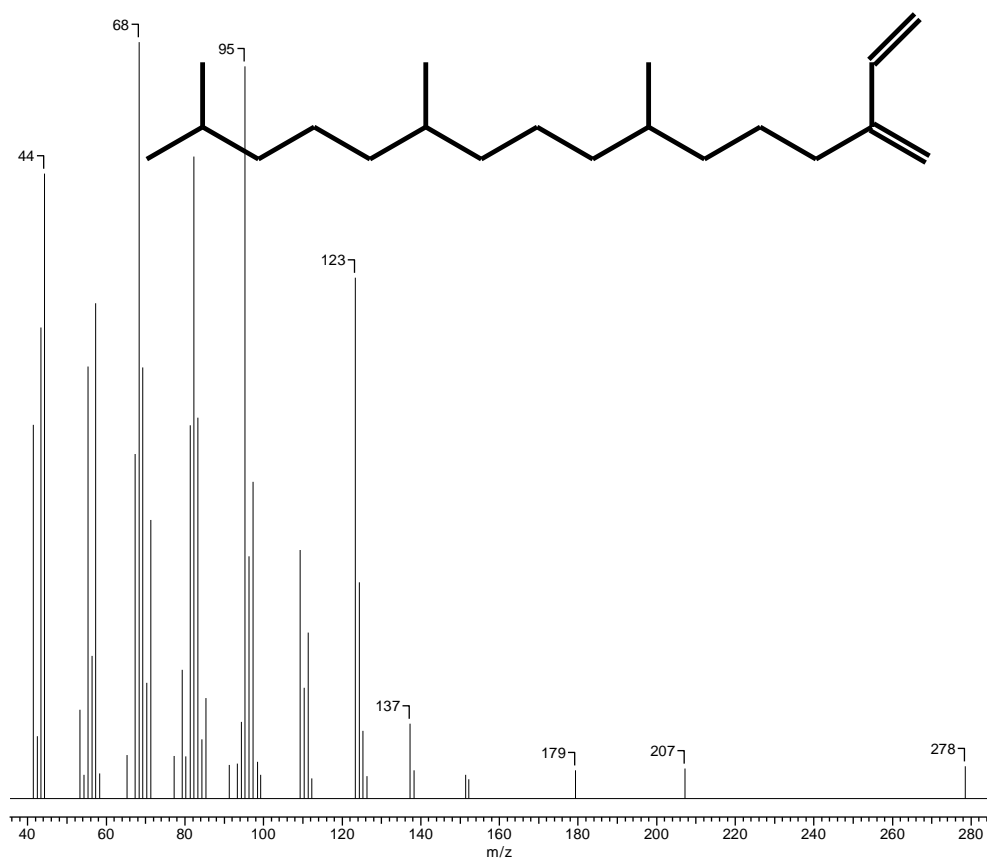
Estudo das partes aéreas de *Pterocaulon alopecuroides*:

Fração em hexano

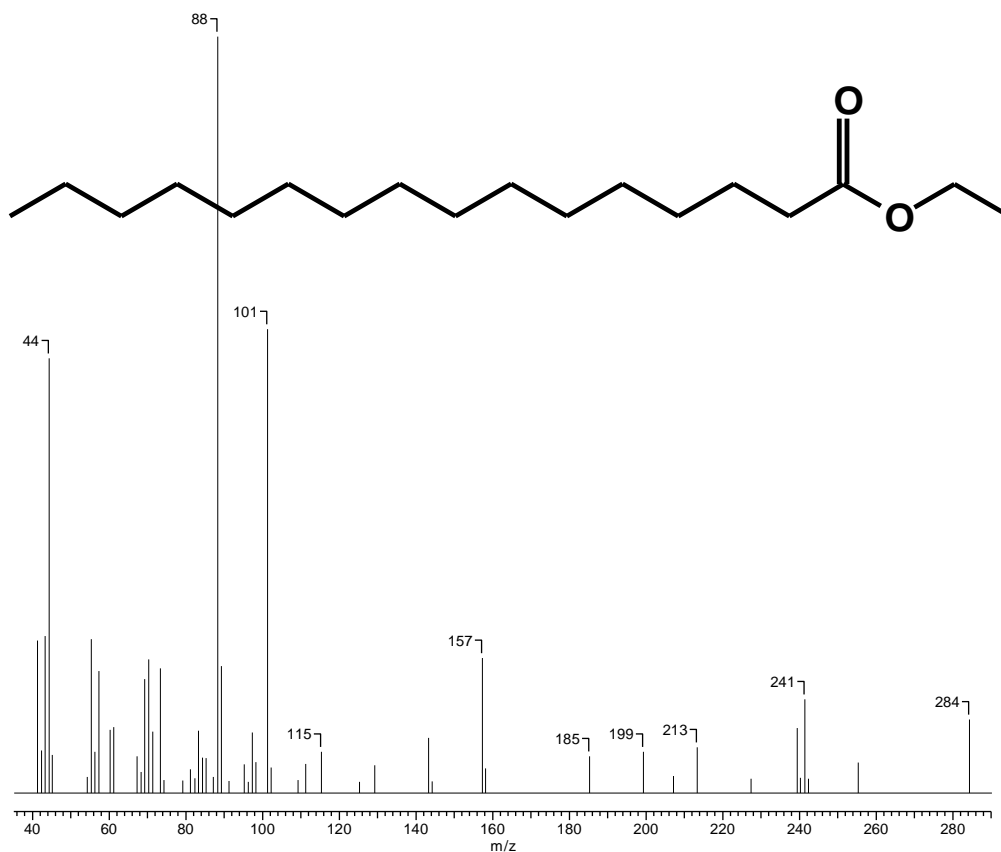
A fração hexânica das partes aéreas de *P. alopecuroides* foi analisada por CG-EM, sendo identificadas as seguintes substâncias: Neofitadieno (TR 26,08 minutos), Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos) (Cromatograma 6, pág. 105; Espectro 19, pág.105 ; Espectro 20, pág. 106).



Cromatograma 6: Cromatograma da fração hexânica do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



Espectro 19: Espectro de massas do Neofitadieno (TR 26,08 minutos).

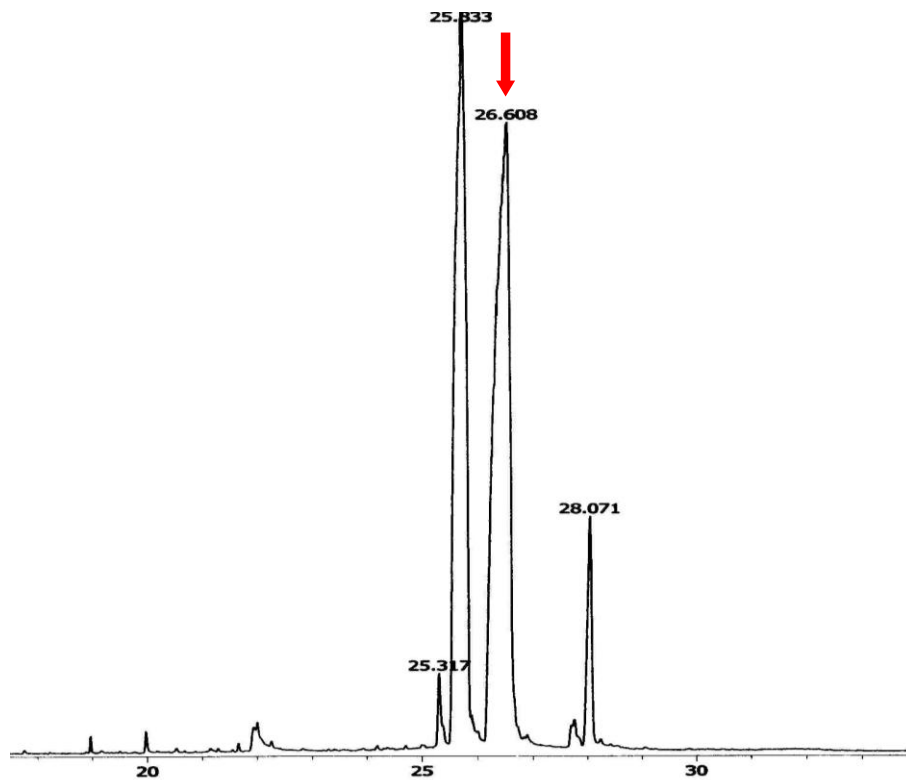


Espectro 20: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 29,13 minutos).

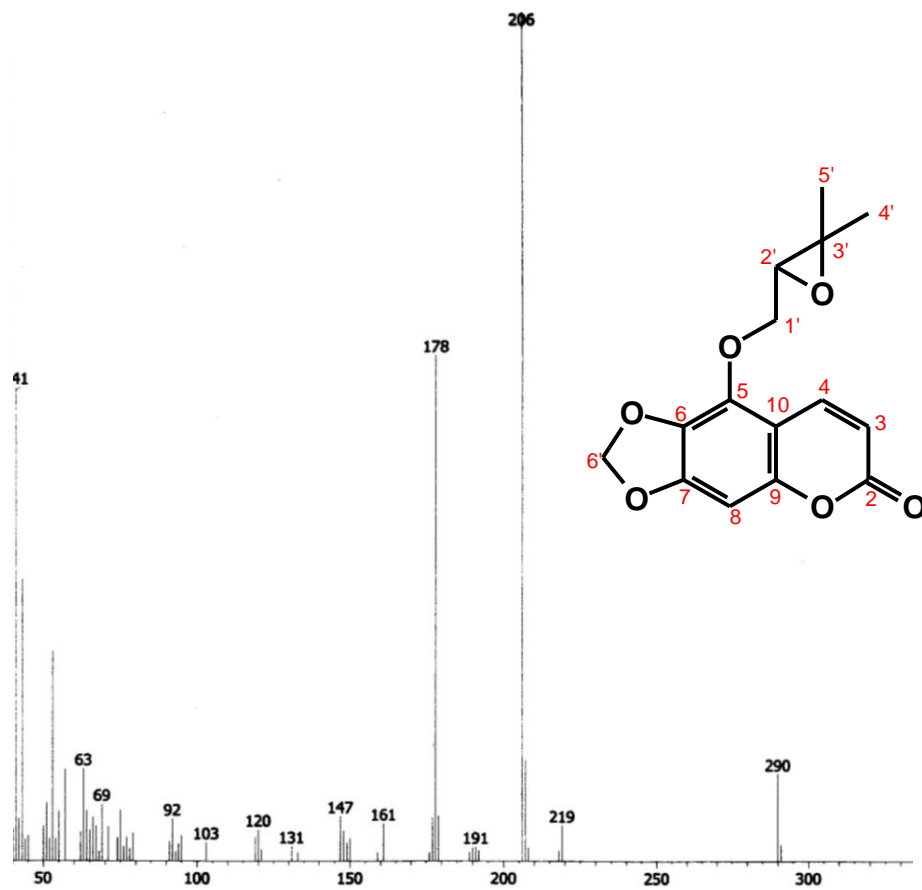
Fração em diclorometano

A fração em diclorometano das partes aéreas de *P. alopecuroides* sofreu processo de separação cromatográfica em aparelho de cromatografia contra-corrente, resultando em 121 frações ao final da corrida. As frações recolhidas foram reunidas em dezesseis frações principais. As frações principais n^{os} 10, 12 e 13 foram purificadas por cristalização. Dessa forma foi possível isolar as amostras B, C e D, identificadas como as seguintes substâncias: 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (TR 26,61 minutos, amostra B); 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostras C e D). Os espectros de RMN ¹H das amostras B, C e D apresentam pares de dupletos típicos de cumarinas não substituídas nas posições 3 e 4, com constantes de acoplamento $J \sim 9,8$ Hz e deslocamentos químicos próximos a δ 6,27 e δ 8,15. Pode ser verificado que a posição 8 também encontra-se

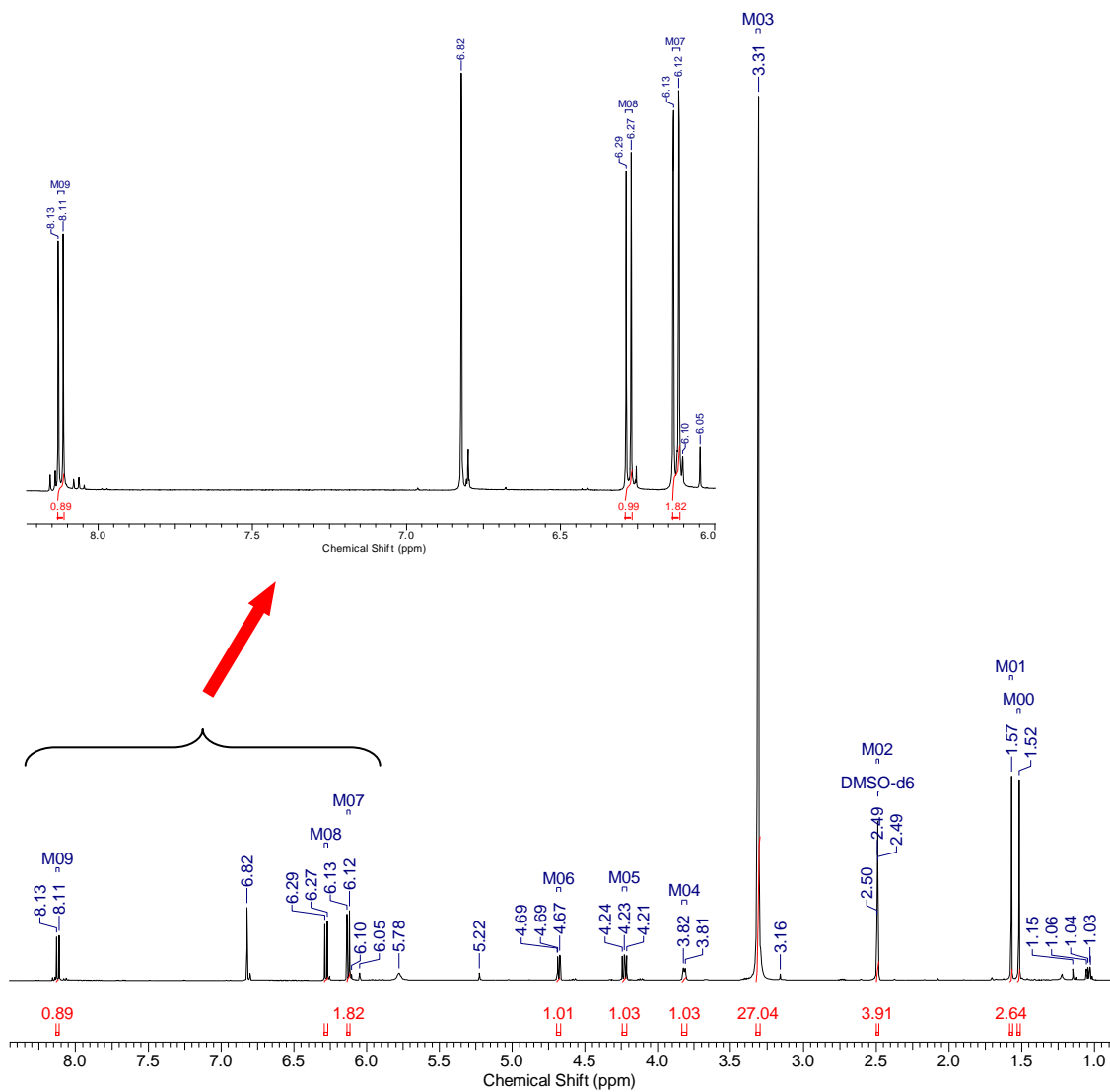
livre nas 3 amostras, o que pode ser observado pela presença de simpletos próximos a δ 6,80. Os espectros de correlação confirmaram a presença de um grupo metilenodioxílico ocupando as posições 6 e 7 do anel cumarínico, com deslocamentos químicos próximos a δ 6,12 e constantes de acoplamento J diferindo de acordo com o grupo substituinte na posição 5. Os substituintes prenila das amostras B, C e D apresentam um par de simpletos, com 3 átomos de hidrogênio cada, em δ 1,03 e δ 1,12 (amostras C e D) e em δ 1,52 e δ 1,57 (amostra B) o que indica a presença de grupo dimetila geminal. As amostras C e D, que mostraram valores mais baixos de δ , possuem grupos hidroxila nas posições 2' e 3'. A amostra B possui grupo epóxido na mesma posição e seu grupo prenila está ligado ao anel cumarínico, provavelmente por isso possui valores de deslocamento químico maiores (**amostra B**: Cromatograma 7, pág. 108; Espectro 21, pág. 109; Espectro 22, pág. 110; Espectro 23, pág. 111; Espectro 24, pág. 111; Espectro 25, pág. 112; Espectro 26, pág. 112; Espectro 27, pág. 113; Espectro 28, pág. 113; **amostra C**: Espectro 29, pág. 114; Espectro 30, pág. 115; Espectro 31, pág. 115; Espectro 32, pág. 116; Espectro 33, pág. 117; Espectro 34, pág. 117; **amostra D**: Espectro 35, pág. 118; Espectro 36, pág. 119; Espectro 37, pág. 119; Espectro 38, pág. 120; Espectro 39, pág. 120; Espectro 40, pág. 121 ; Espectro 41, pág. 121).



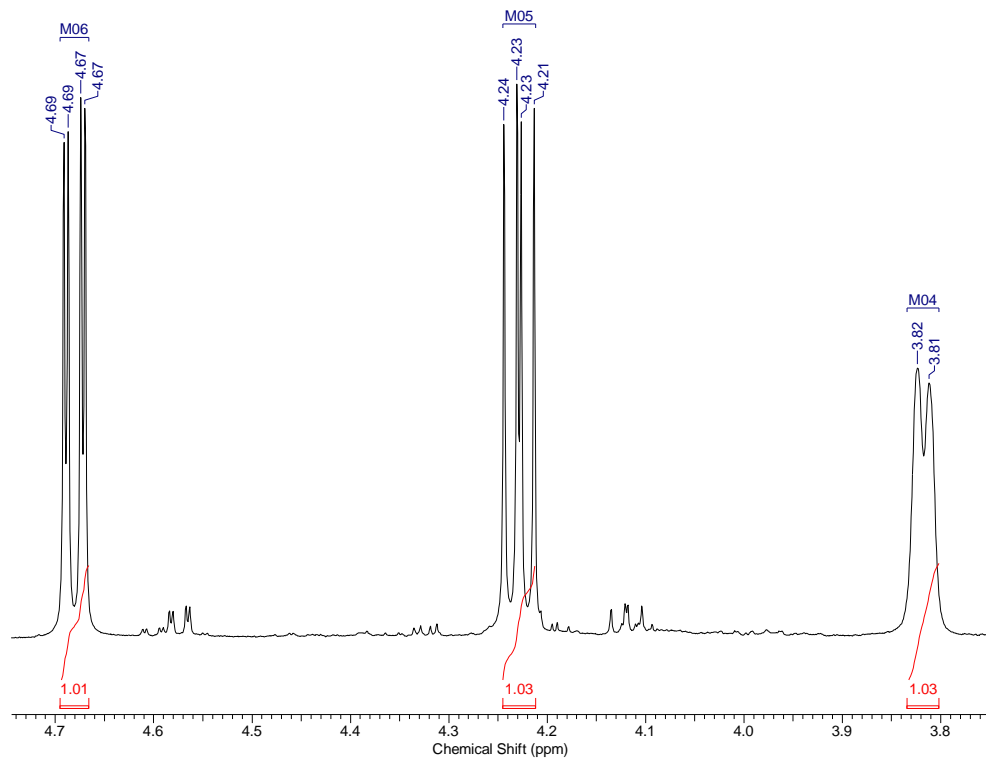
Cromatograma 7: Cromatograma da amostra B obtida da fração em diclorometano do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



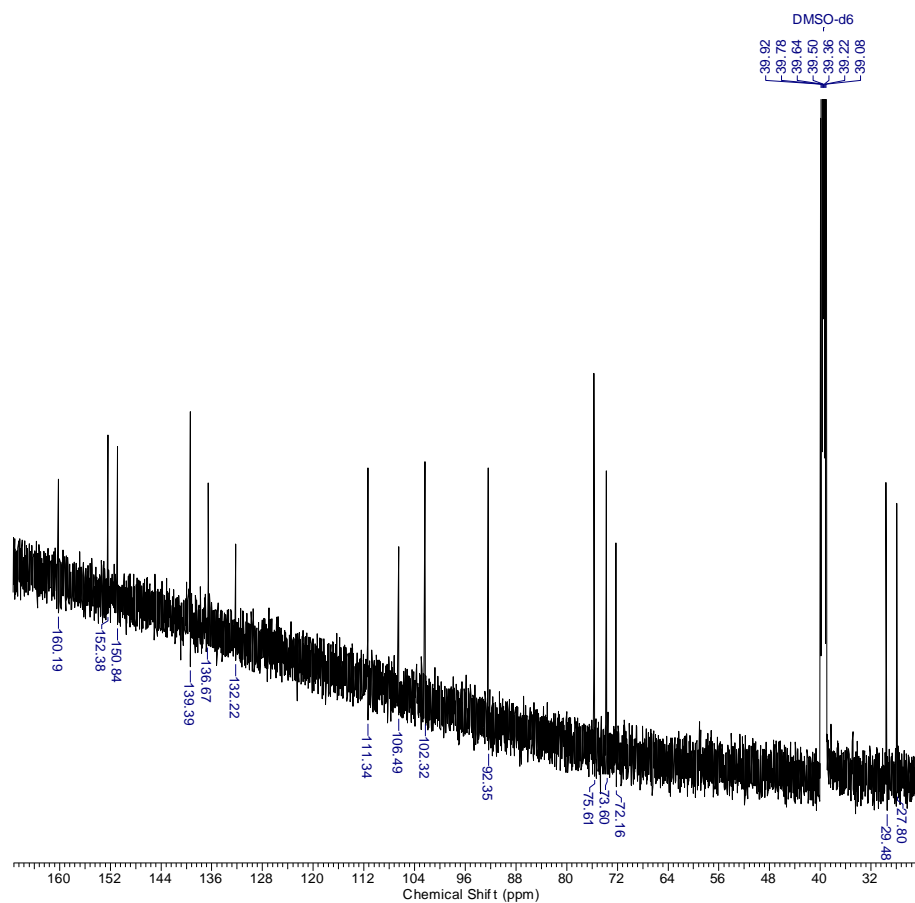
Espectro 21: Espectro de massas da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (TR 26,61 minutos, amostra B).



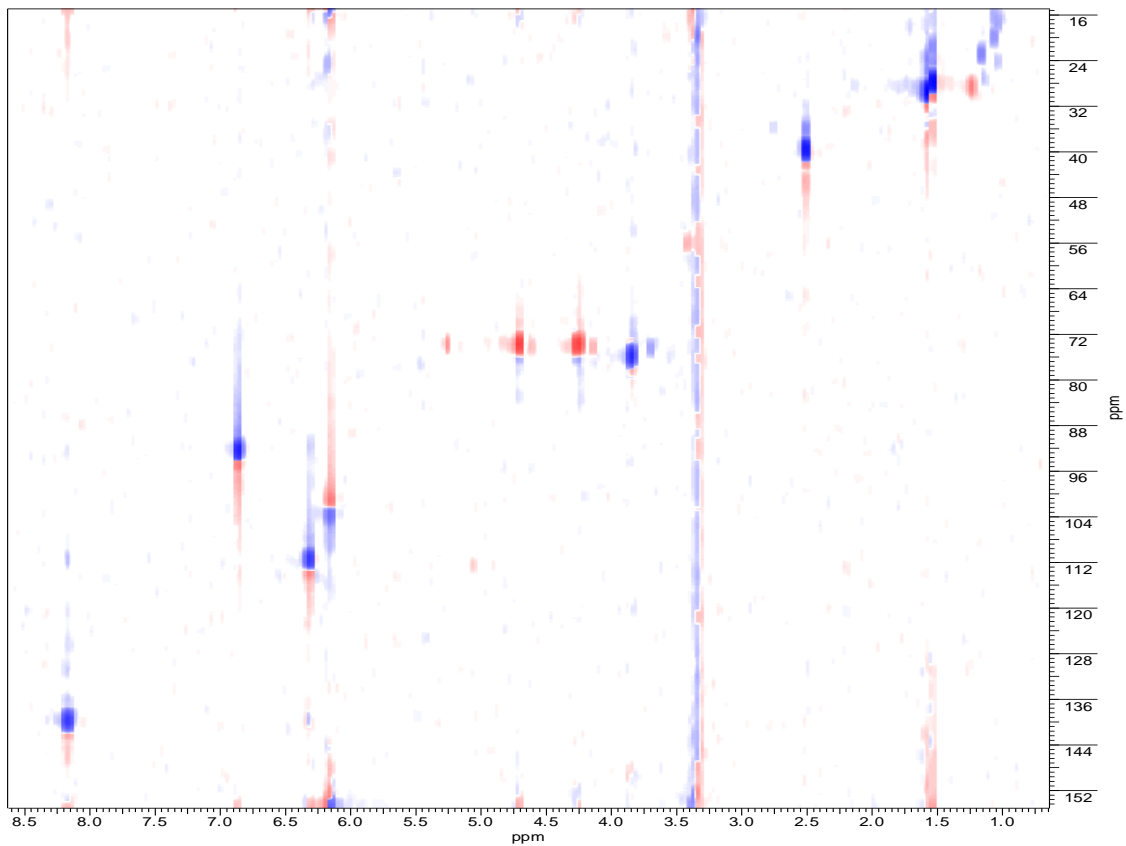
Espectro 22: Espectro de RMN ¹H da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).



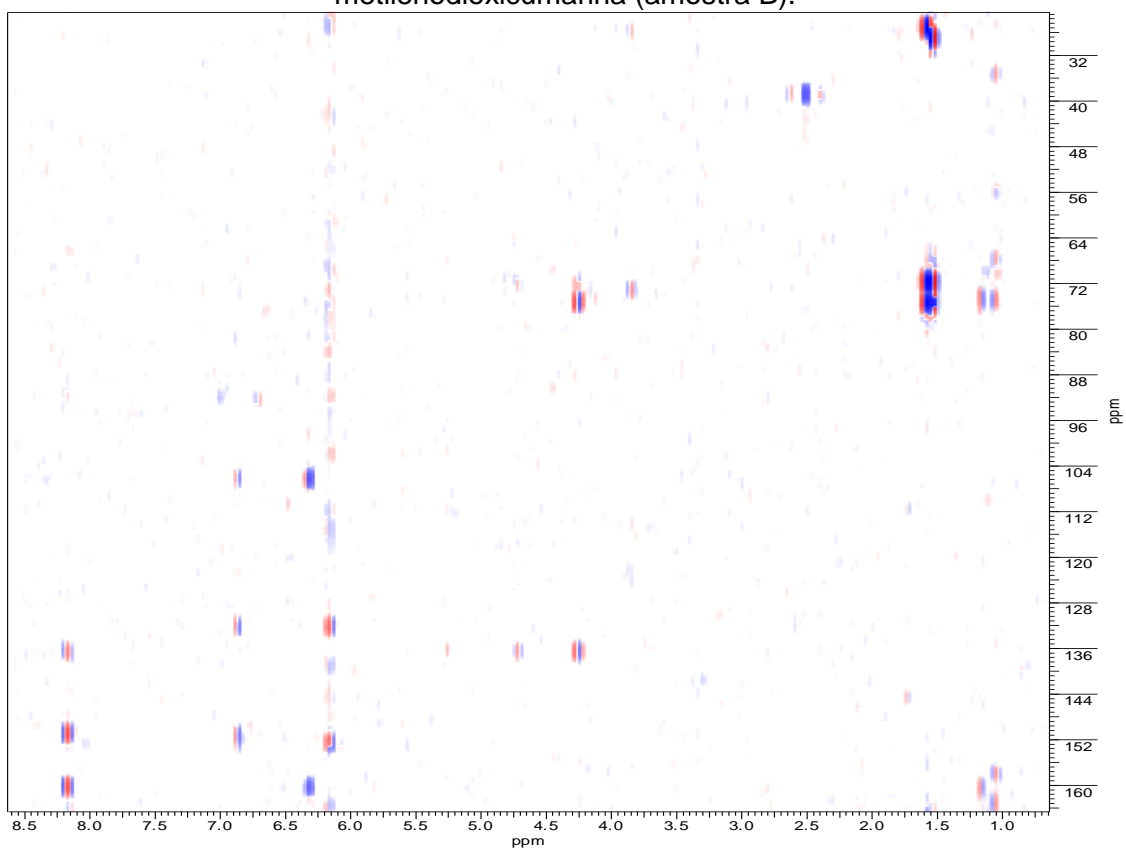
Espectro 23: Expansão do espectro de RMN ^1H da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioximarina (amostra B).



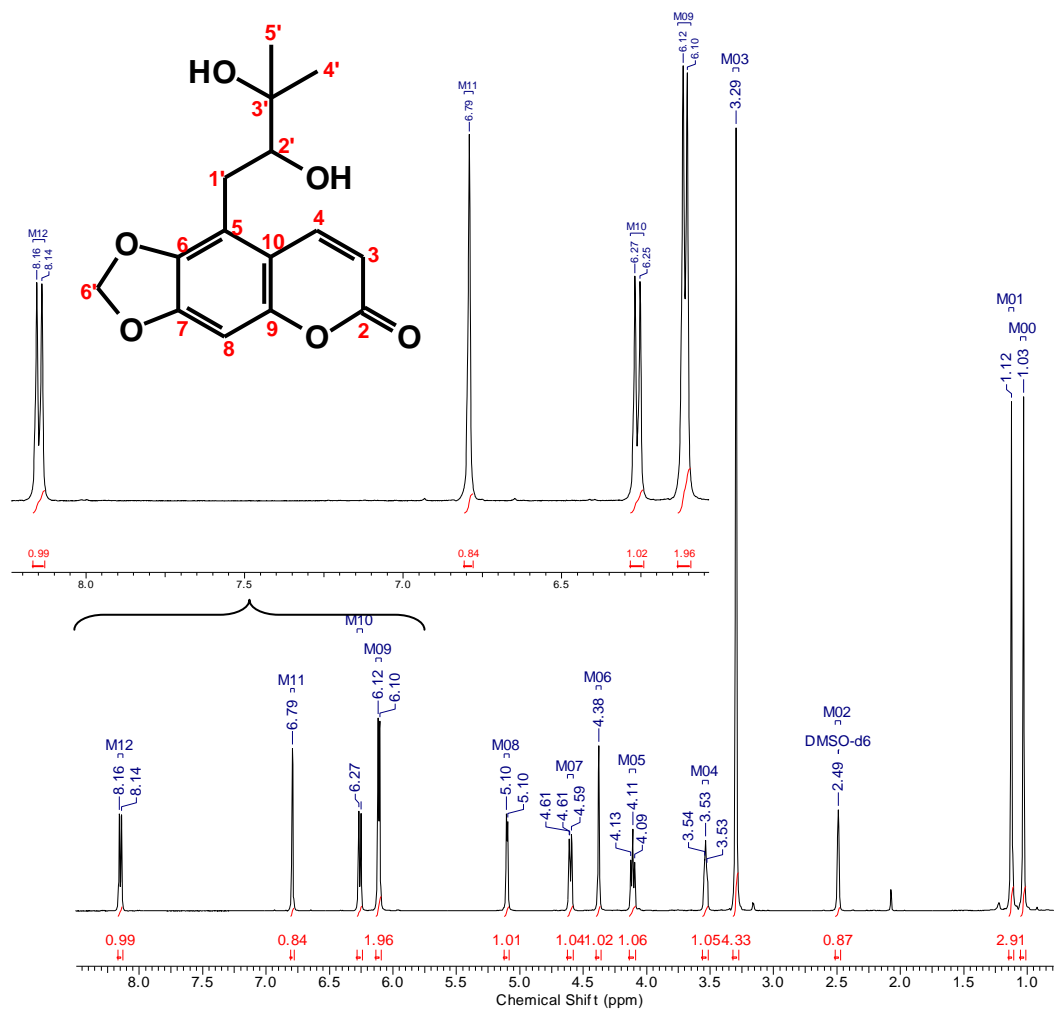
Espectro 24: Espectro de RMN ^{13}C da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioximarina (amostra B).



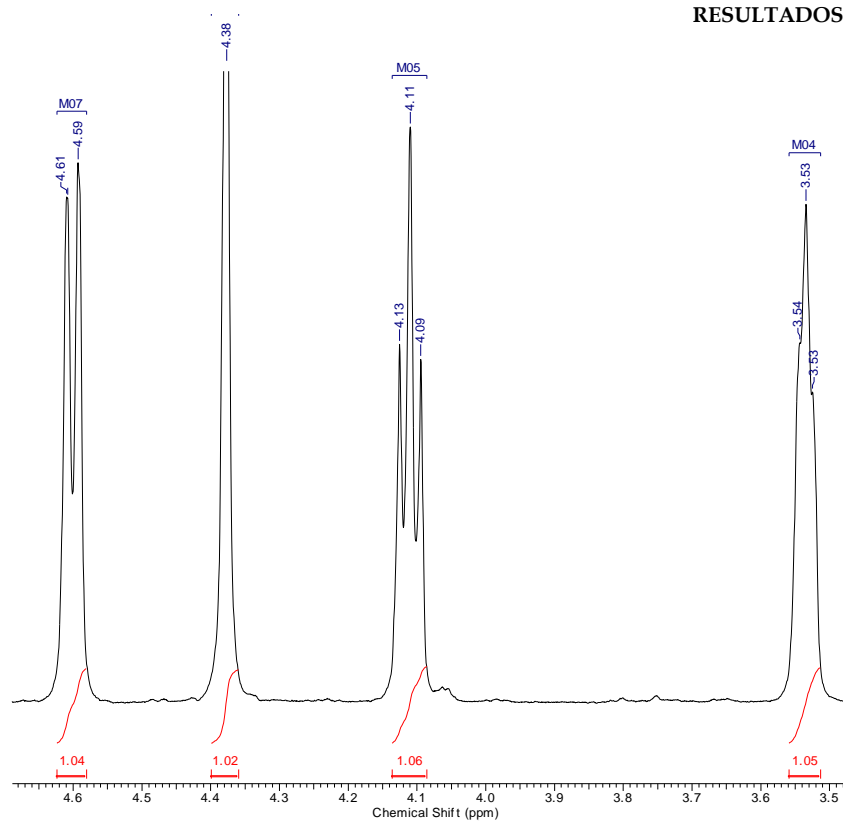
Espectro 27: Espectro de correlação HSQC da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).



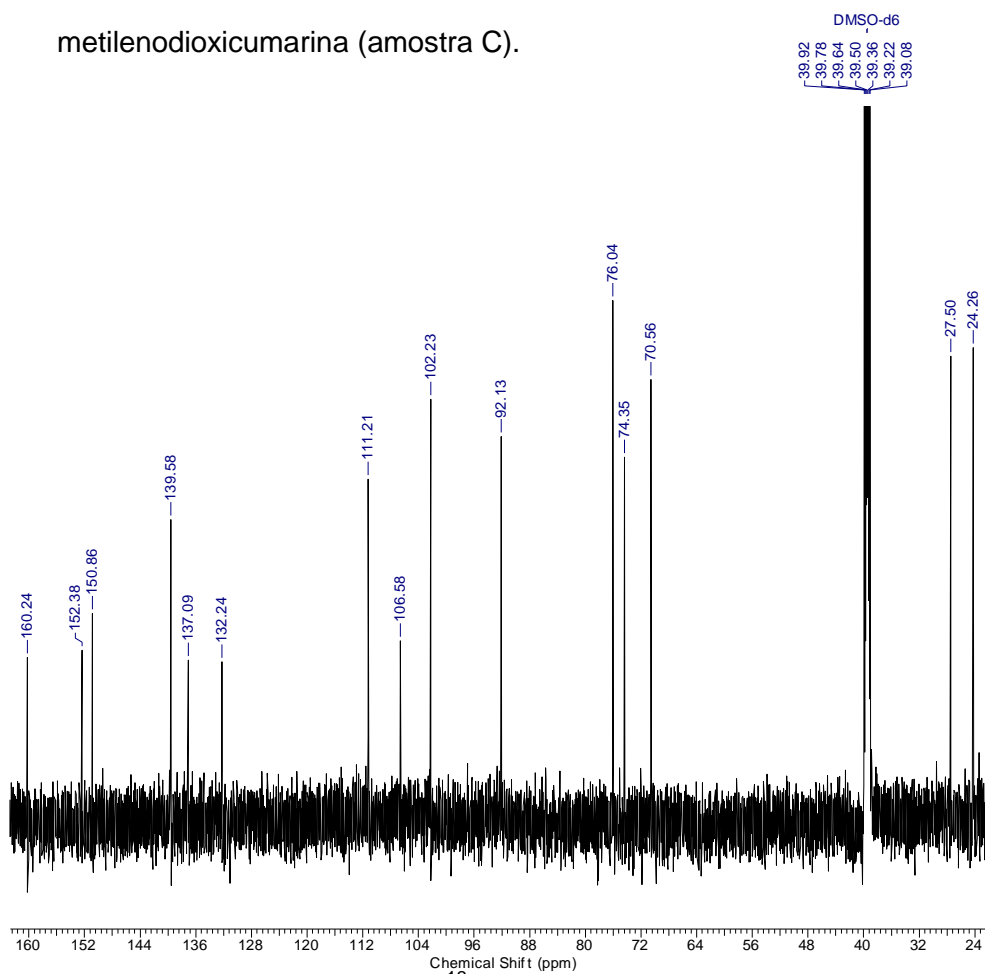
Espectro 28: Espectro de correlação HMBC da 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra B).



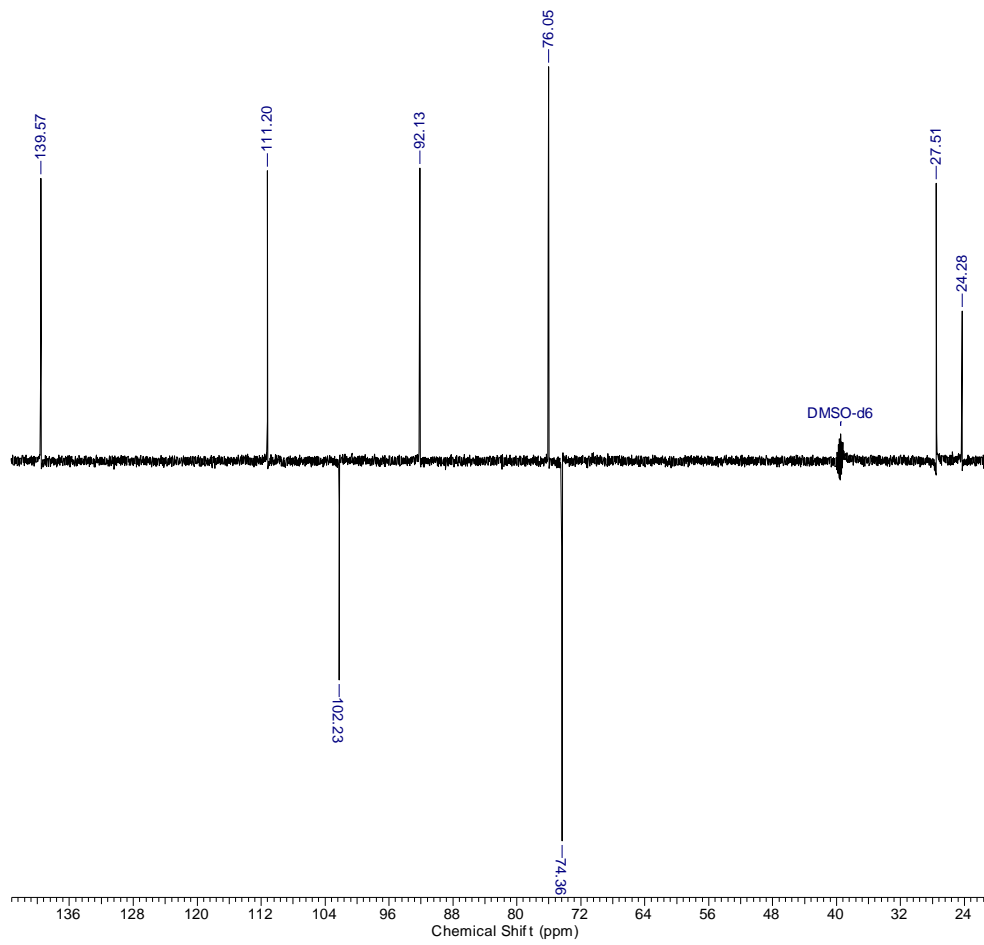
Espectro 29: Espectro de RMN ¹H da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra C).



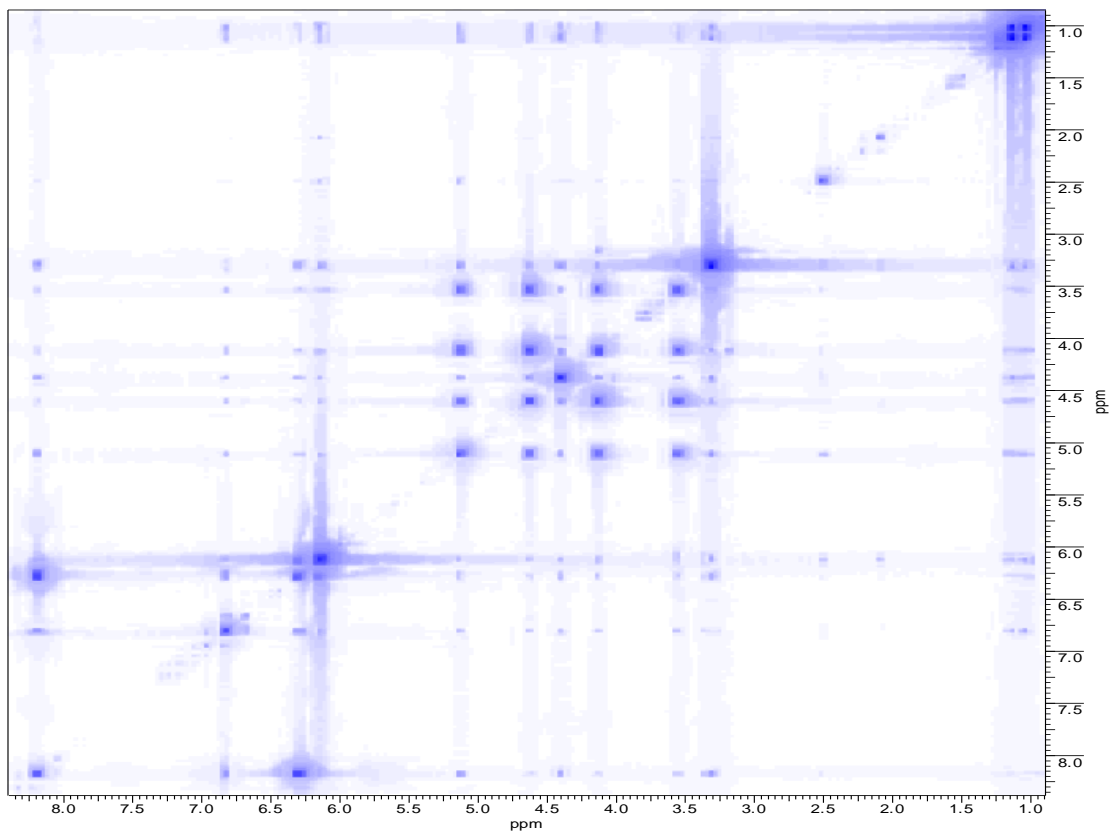
Espectro 30: Expansão do espectro de RMN ^1H da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioximarina (amostra C).



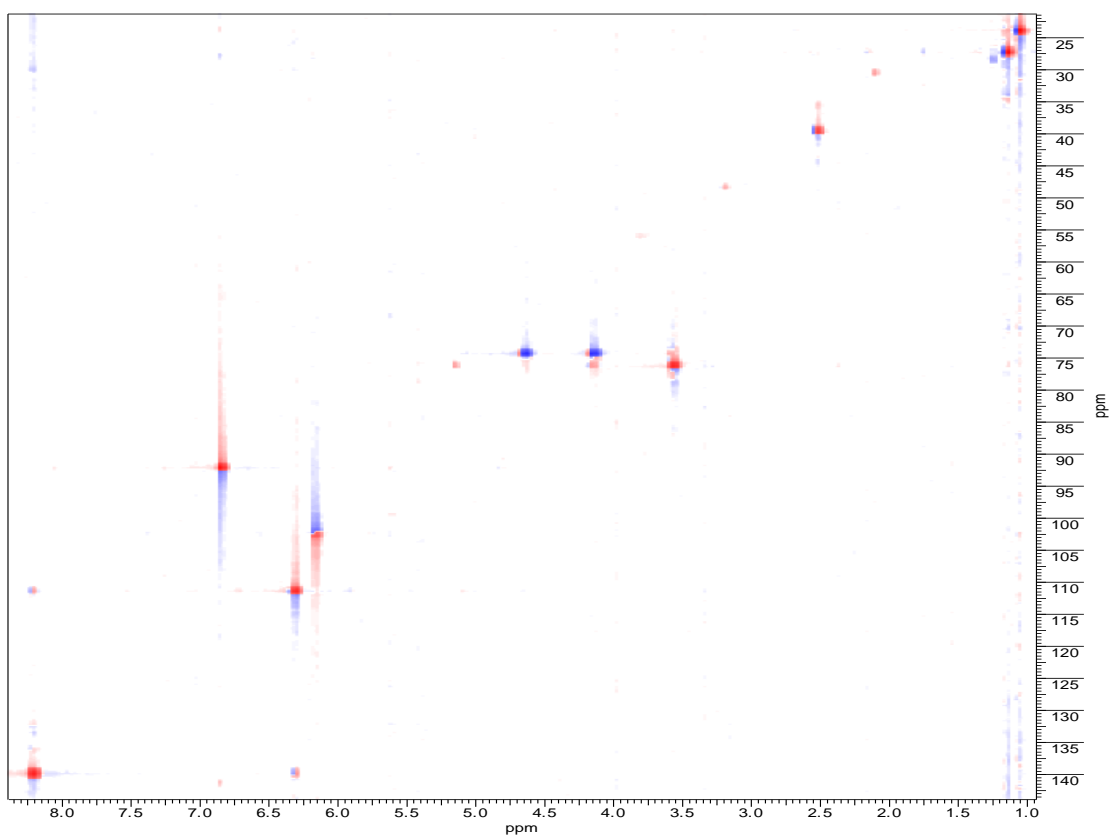
Espectro 31: Espectro de RMN ^{13}C da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioximarina (amostra C).



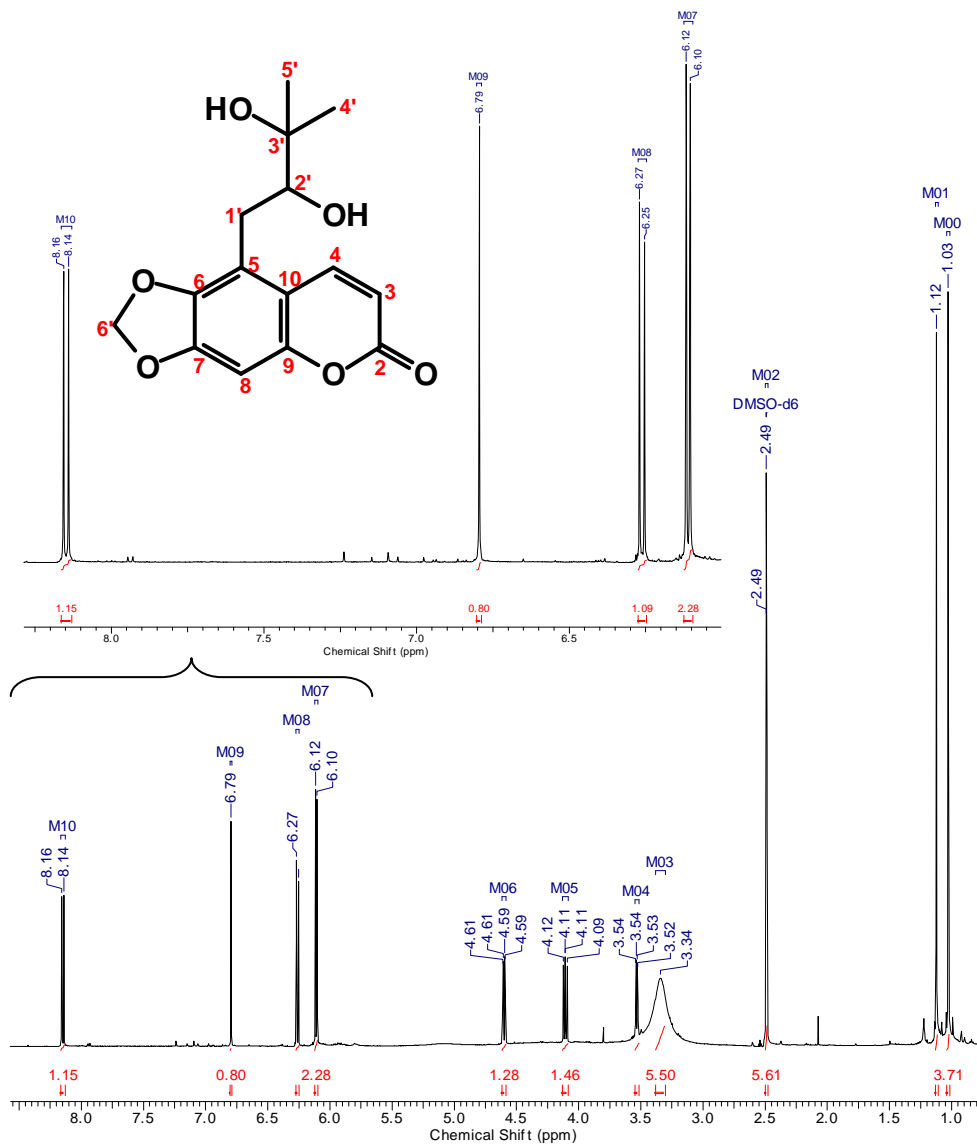
Espectro 32: DEPT 135 da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina
(amostra C).



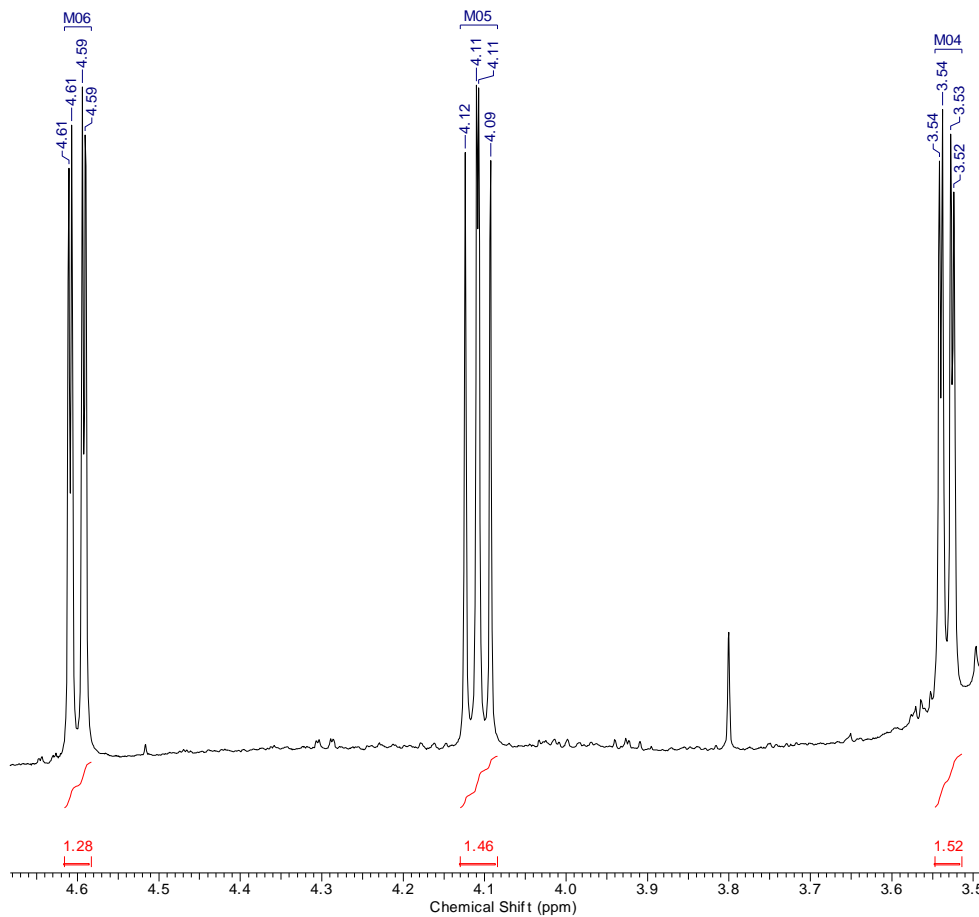
Espectro 33: Espectro de correlação CoSy H-H da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).



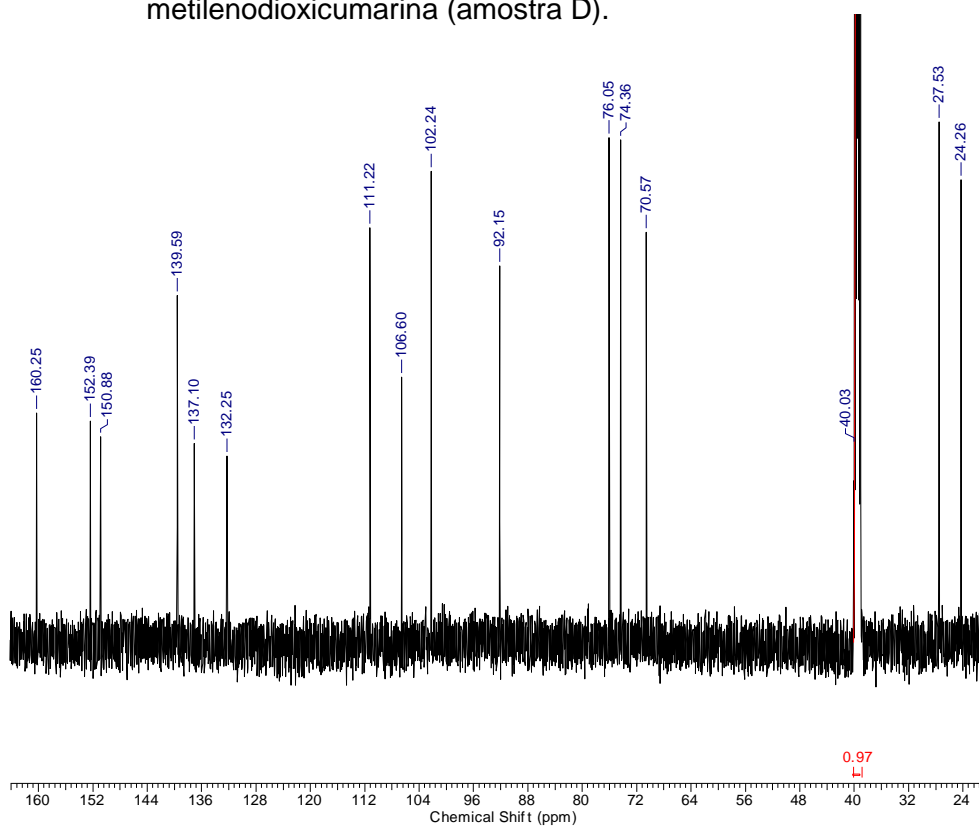
Espectro 34: Espectro de correlação HSQC da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra C).



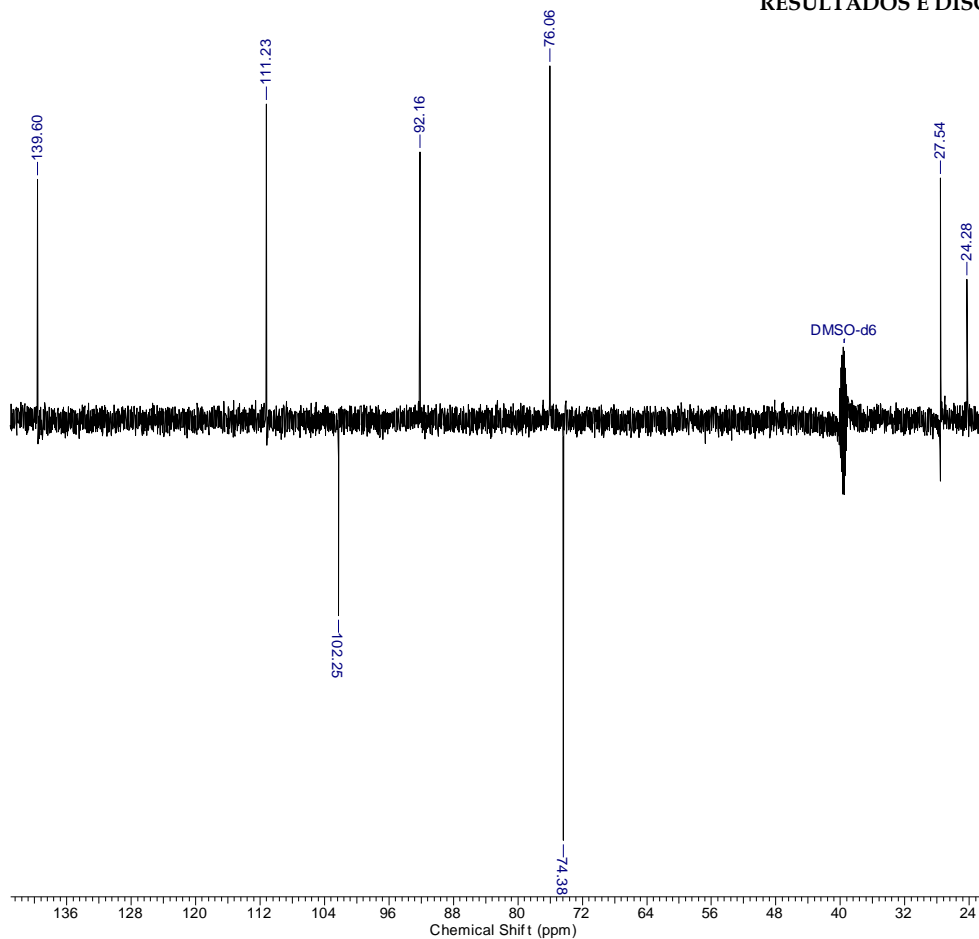
Espectro 35: Espectro de RMN ^1H da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra D).



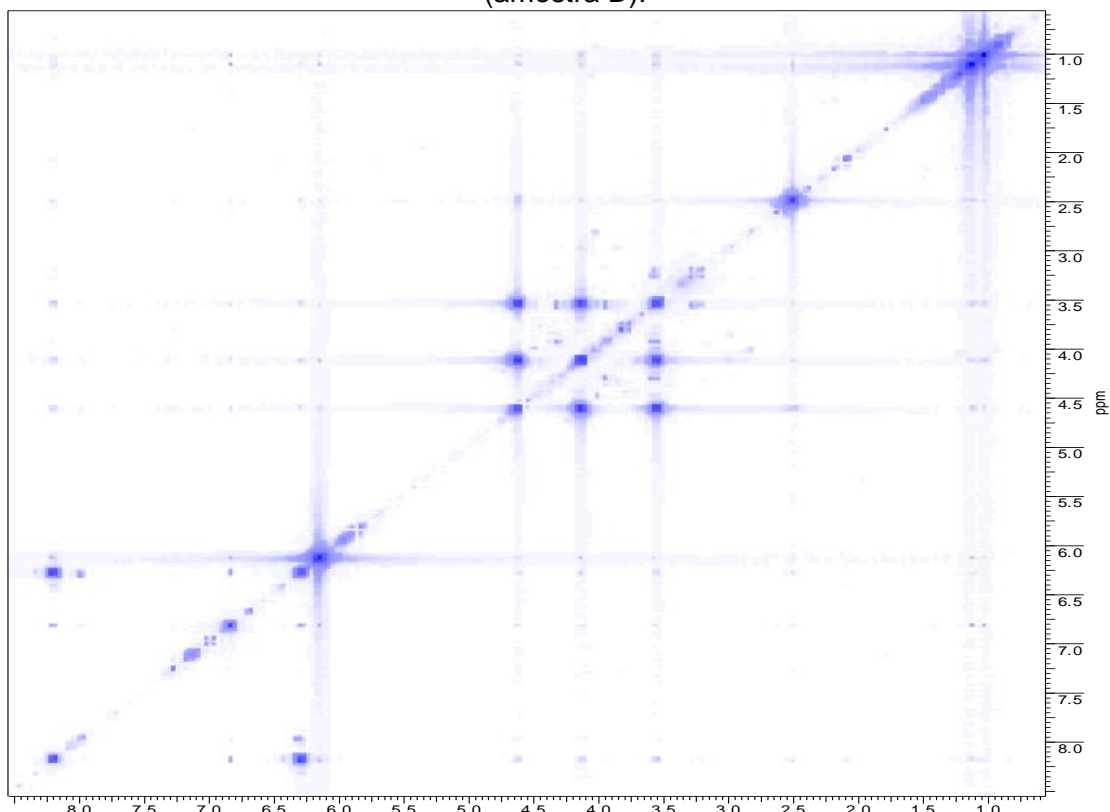
Espectro 36: Expansão do espectro de RMN ¹H da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).



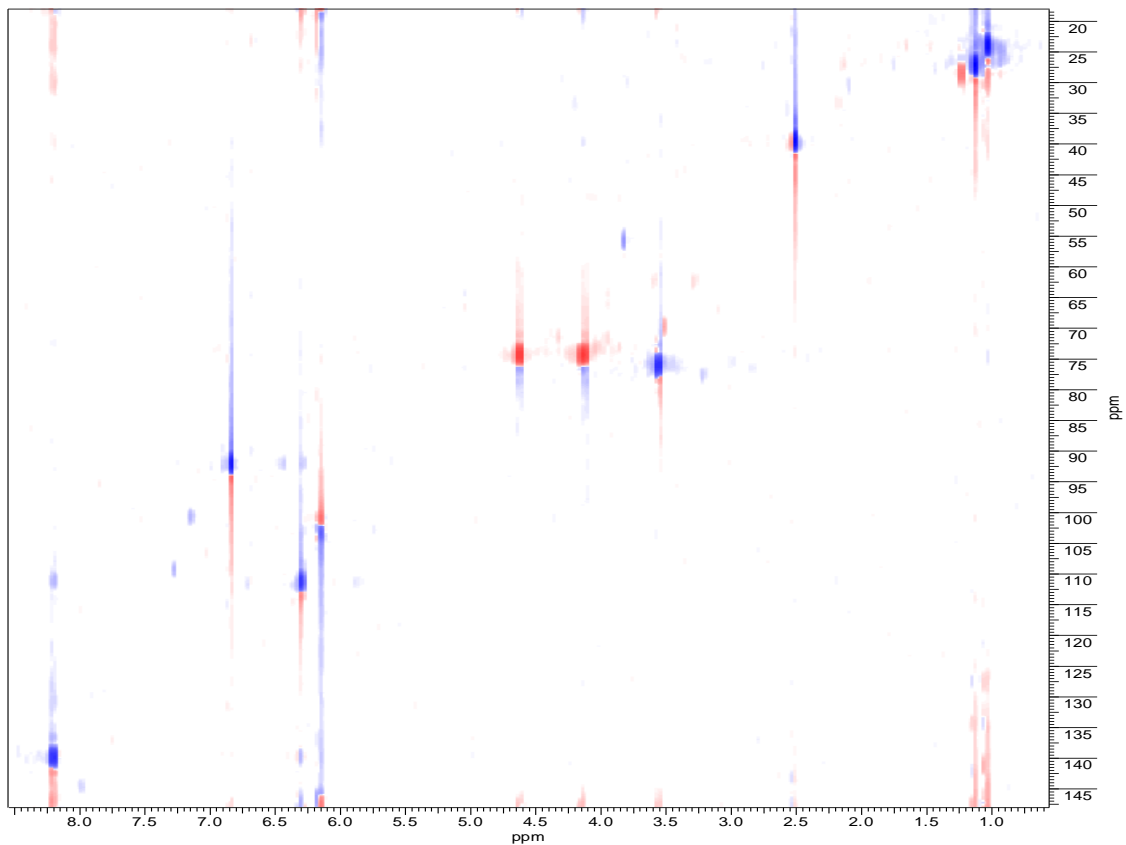
Espectro 37: Espectro de RMN ¹³C da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra D).



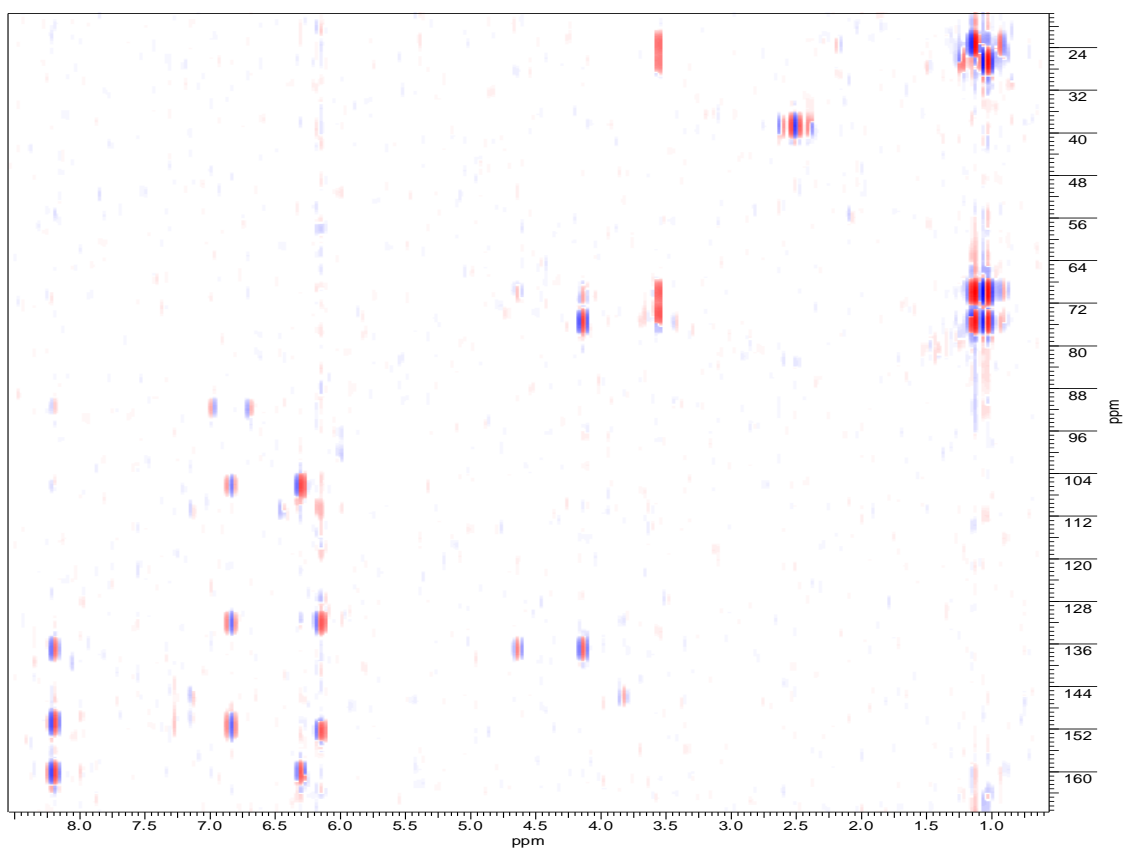
Espectro 38: DEPT 135 da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra D).



Espectro 39: Espectro de correlação 2D CoSy H-H da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra D).



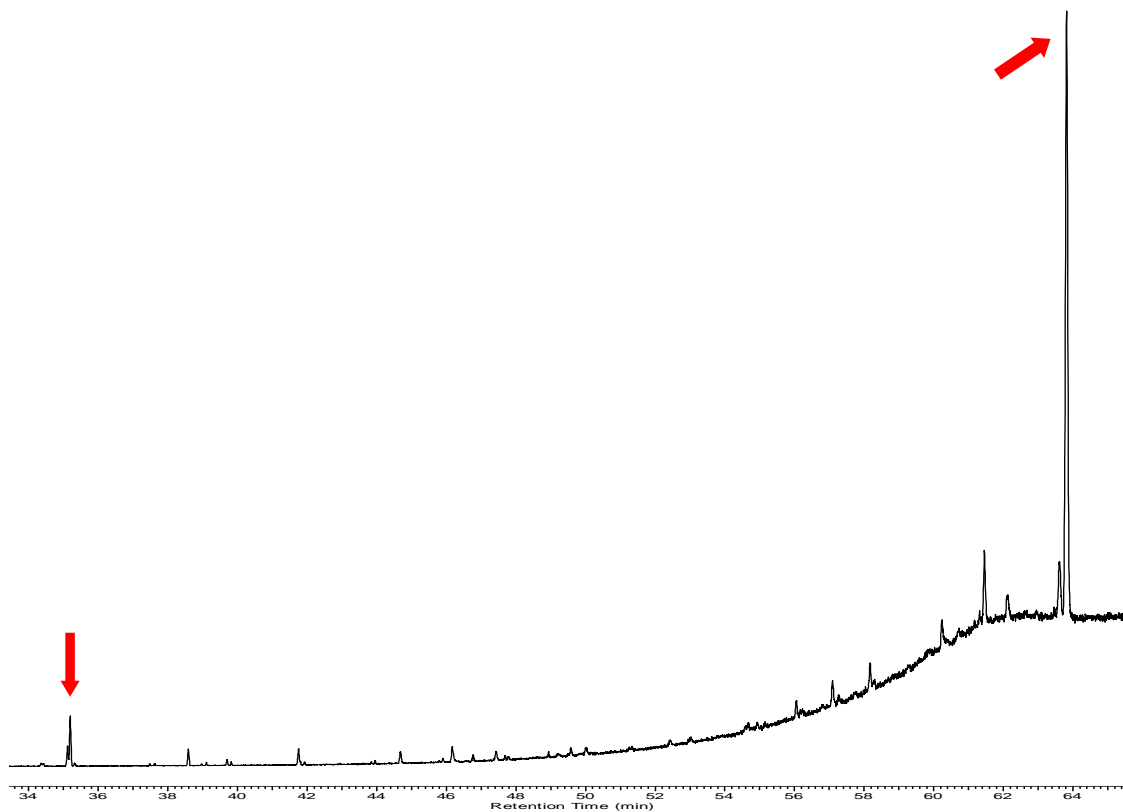
Espectro 40: Espectro de correlação HSQC da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra D).



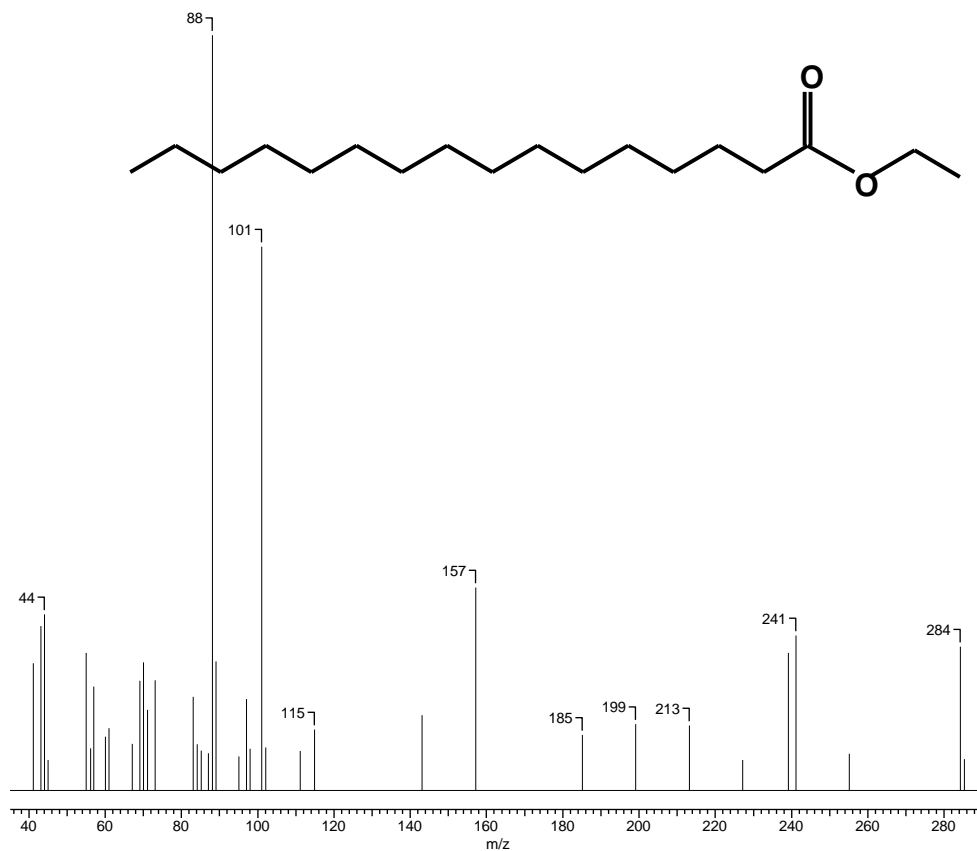
Espectro 41: Espectro de correlação HMBC da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra D).

Fração em acetato de etila

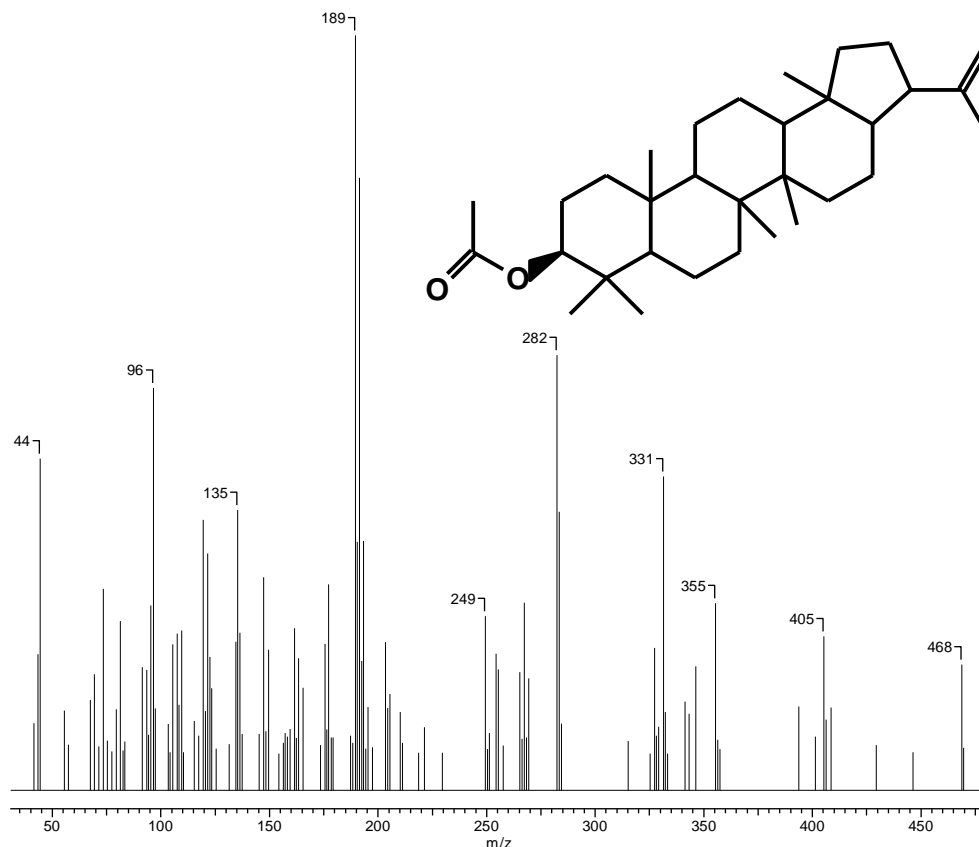
A fração em acetato de etila das partes aéreas de *P. alopecuroides* sofreu processo de separação cromatográfica em aparelho de cromatografia contra-corrente, resultando em 109 frações, que foram reunidas em treze frações principais. As frações principais n^{os} 1, 2 e 9 foram filtradas com carvão ativo e em seguida analisadas por CG-EM, sendo identificadas as seguintes substâncias: Hexadecanoato de etila (TR 35,17 minutos), 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (TR 63,79 minutos), da fração principal n^o 1; 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona (TR 31,52 minutos), Hexadecanoato de metila (TR 33,54 minutos), Heptadecanoato de metila (TR 35,18 minutos), 4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido (TR 42,93 minutos), Estigmasterol (TR 58,70 minutos), α -Amirina (TR 60,00 minutos), 3 α -Acetato de 12-oleanenila (TR 61,43 minutos), Taraxasterol (TR 62,14 minutos), 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (TR 63,79 minutos), da fração principal n^o 2; Ciclotetradecano (TR 18,99 minutos), 5-Octadeceno (TR 21,03 minutos), da fração principal n^o 9 (**fração principal n^o 1**: Cromatograma 8, pág. 123; Espectro 42, pág. 123; Espectro 43, pág. 124; **fração principal n^o 2**: Cromatograma 9, pág. 124; Espectro 44, pág. 125; Espectro 45, pág. 125; Espectro 46, pág. 126; Espectro 47, pág. 126; Espectro 48, pág. 127; Espectro 49, pág. 127; Espectro 50, pág. 128; Espectro 51, pág. 128; Espectro 52, pág. 129; **fração principal n^o 9**: Cromatograma 10, pág. 129; Espectro 53, pág. 130; Espectro 54, pág. 130).



Cromatograma 8: Cromatograma da fração principal nº 1 obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.

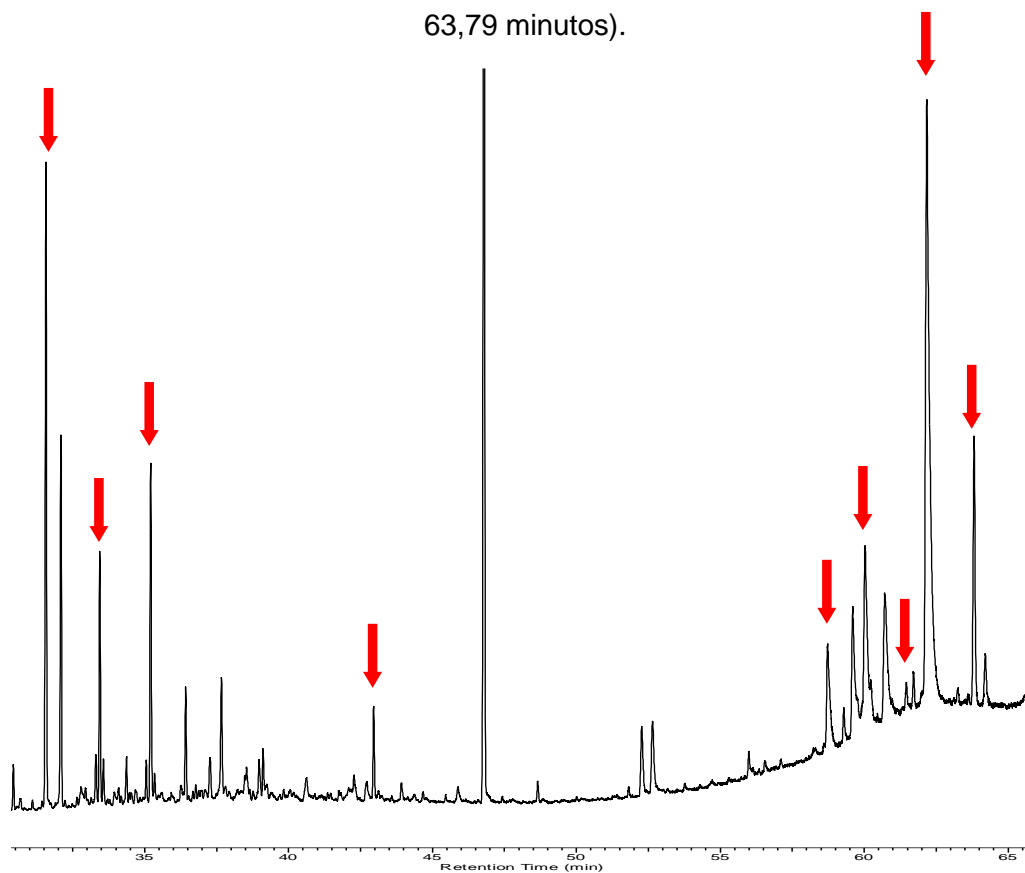


Espectro 42: Espectro de massas do Hexadecanoato de etila (TR 35,17 minutos).

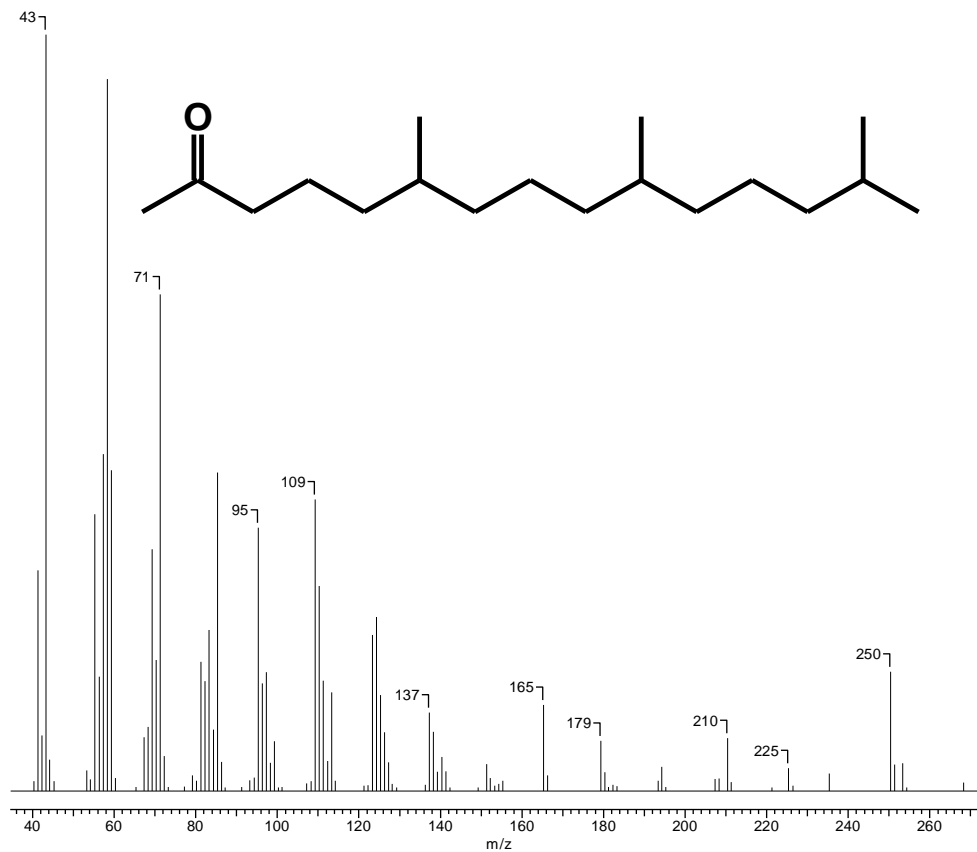


Espectro 43: Espectro de massas do 3 β -Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (TR

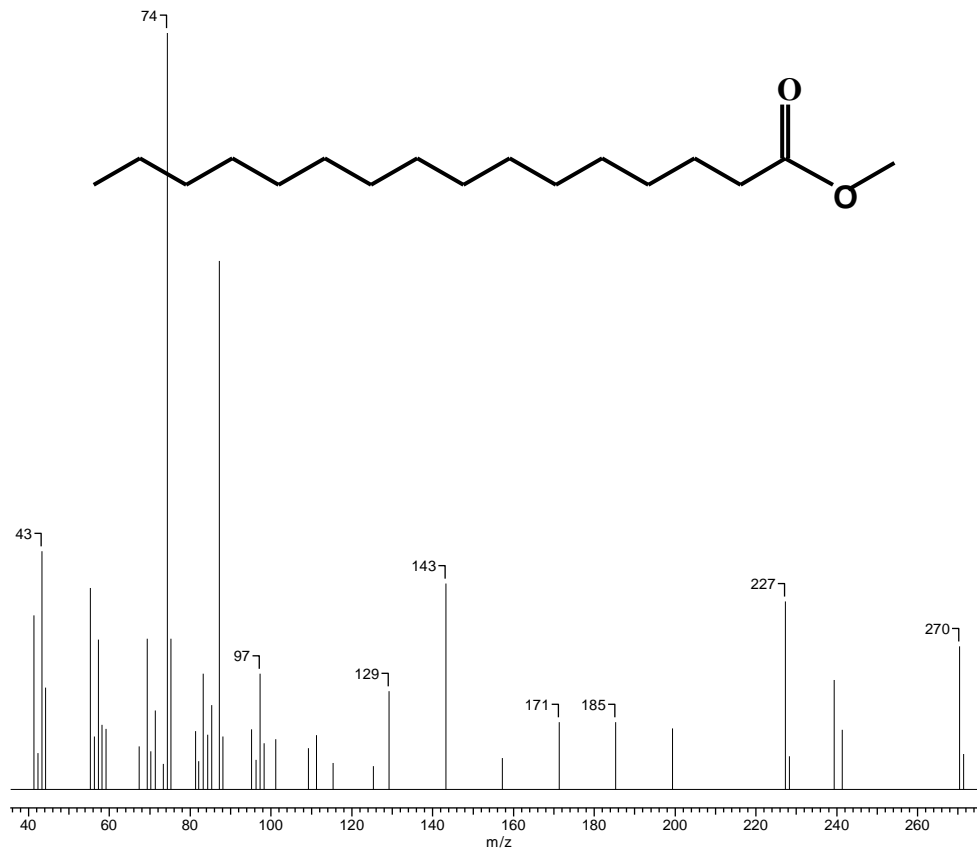
63,79 minutos).



Cromatograma 9: Cromatograma da fração principal n^o 2 obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



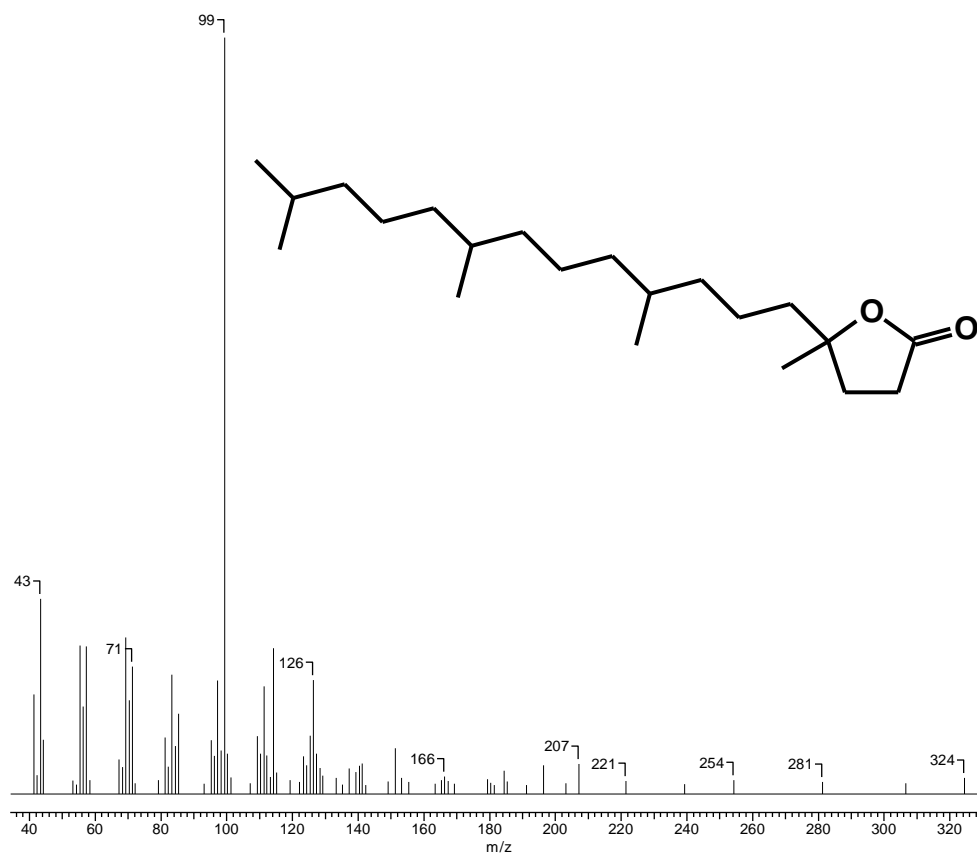
Espectro 44: Espectro de massas do 6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona (TR 31,52 minutos).



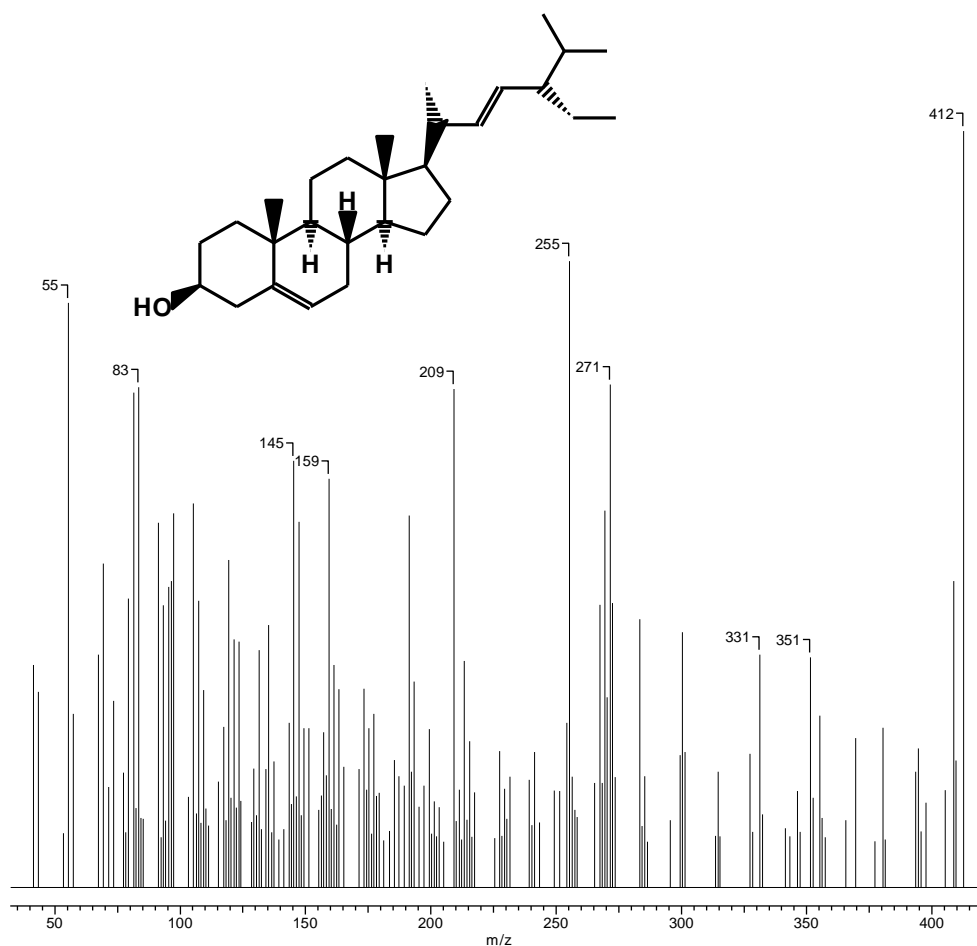
Espectro 45: Espectro de massas do Hexadecanoato de metila (TR 33,54 minutos).



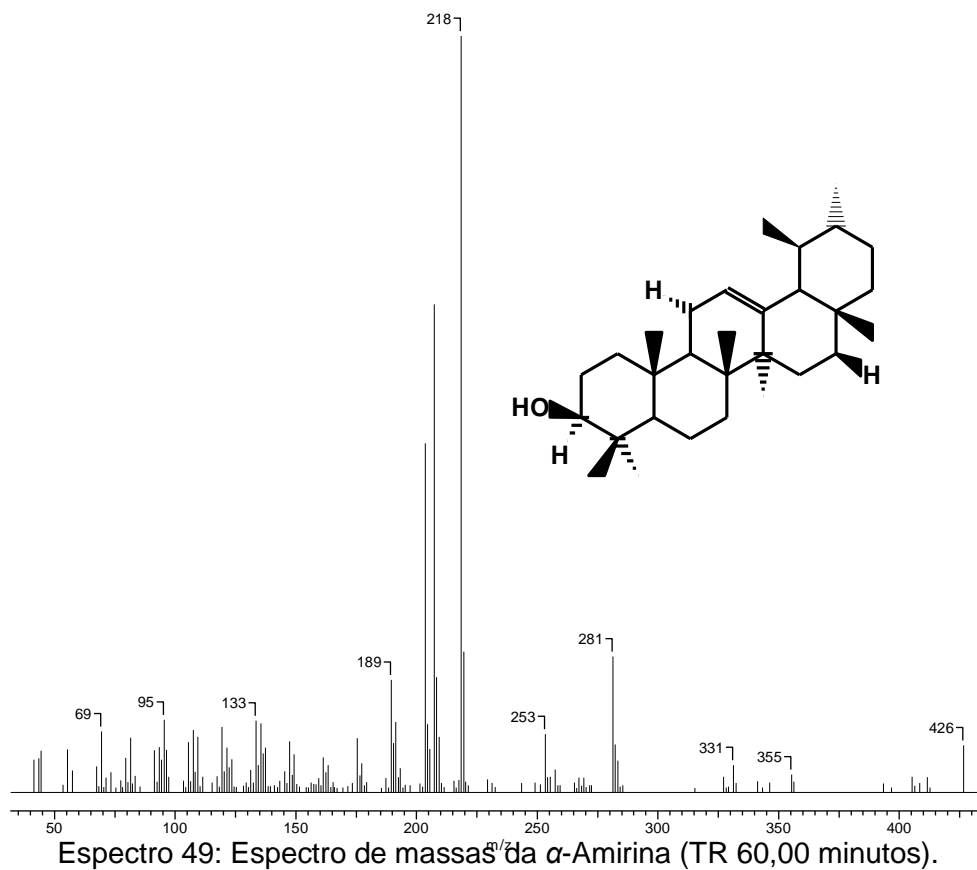
Espectro 46: Espectro de massas do Heptadecanoato de metila (TR 35,18 minutos).



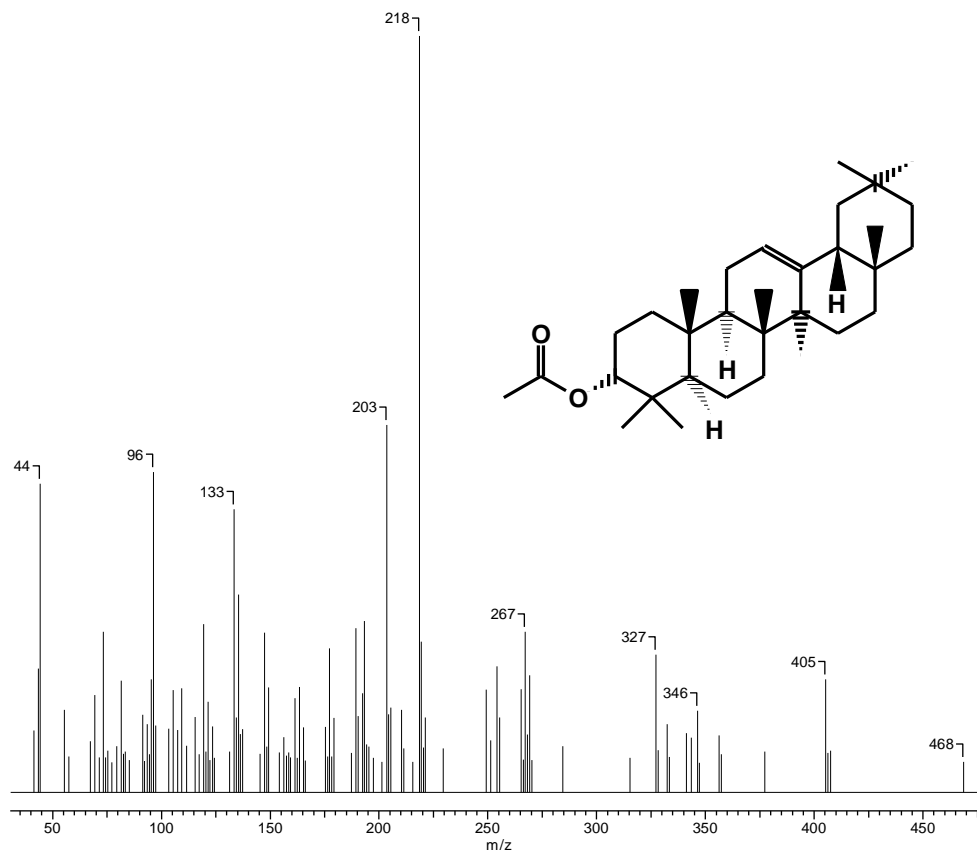
Espectro 47: Espectro de massas do 4,8,12,16-Tetrametil-4-heptadecanolido (TR 42,93 minutos).



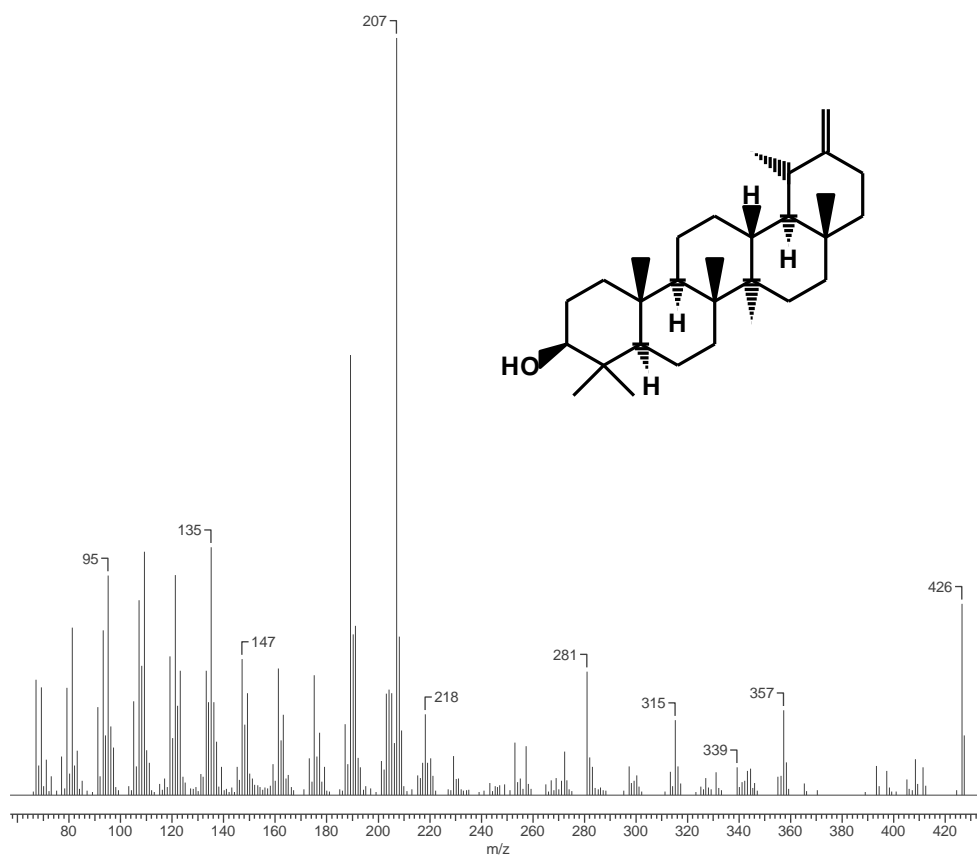
Espectro 48: Espectro de massas do Estigmasterol (TR 58,70 minutos).



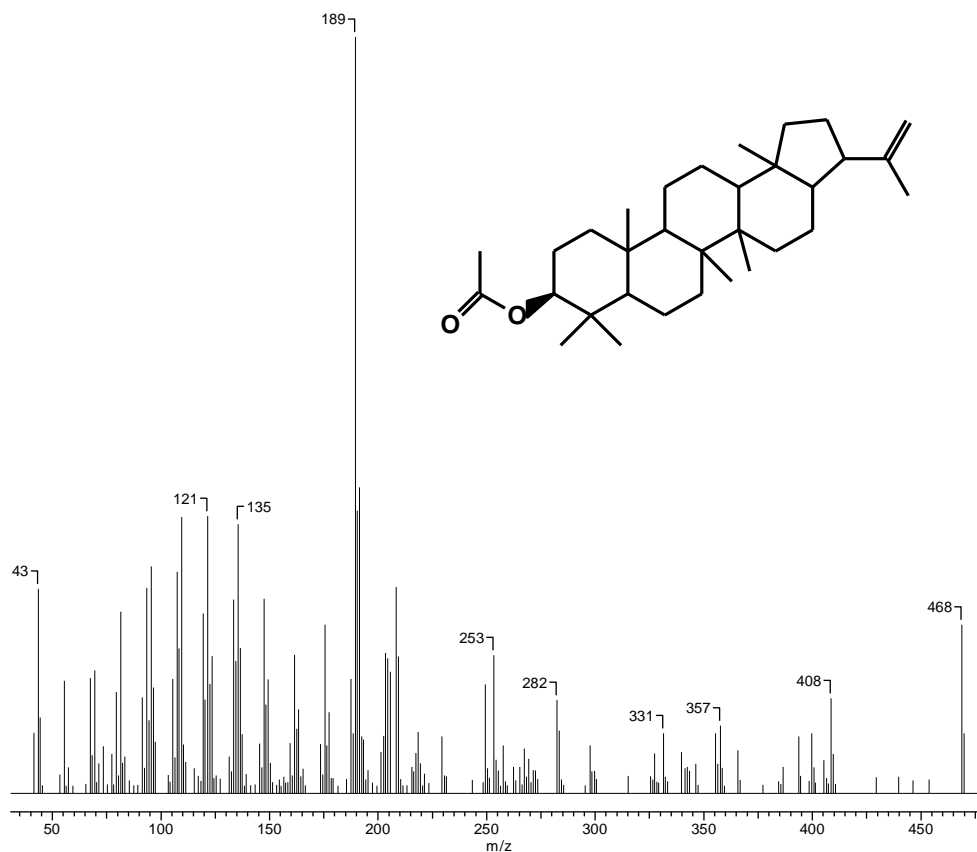
Espectro 49: Espectro de massas da α -Amirina (TR 60,00 minutos).



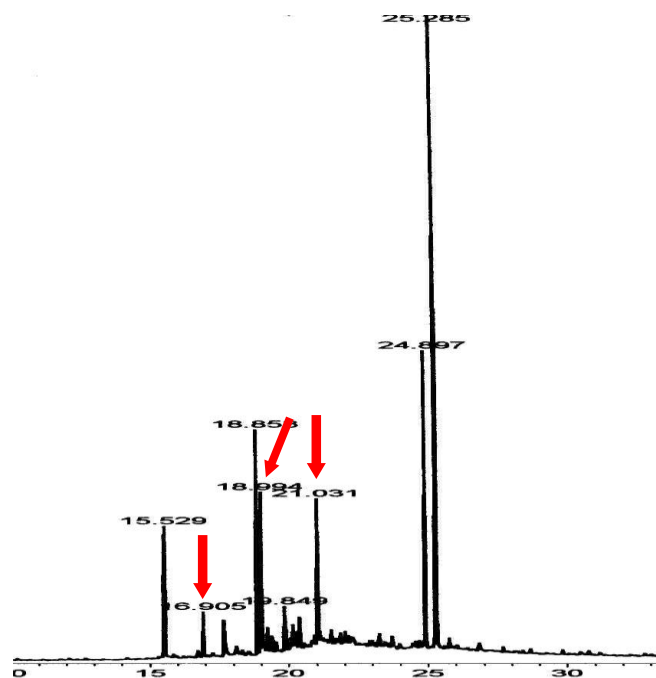
Espectro 50: Espectro de massas do 3α-Acetato de 12-oleanenila (TR 61,43 minutos).



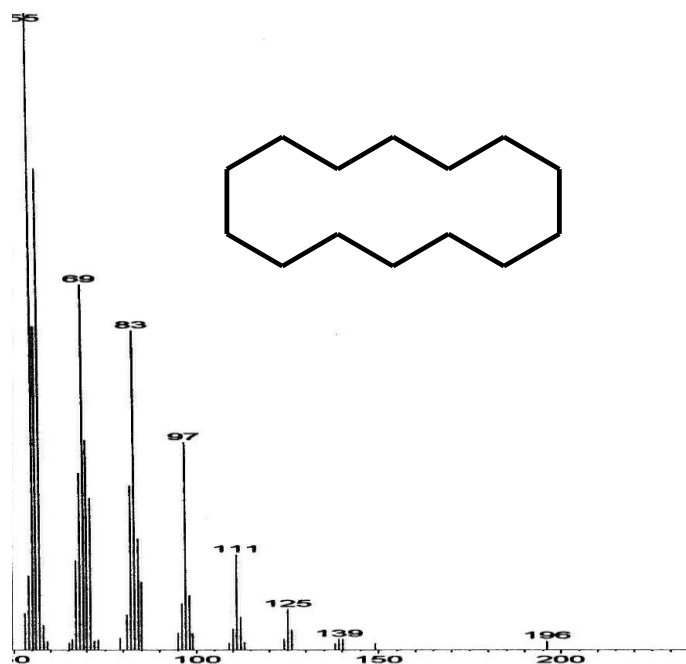
Espectro 51: Espectro de massas do Taraxasterol (TR 62,14 minutos).



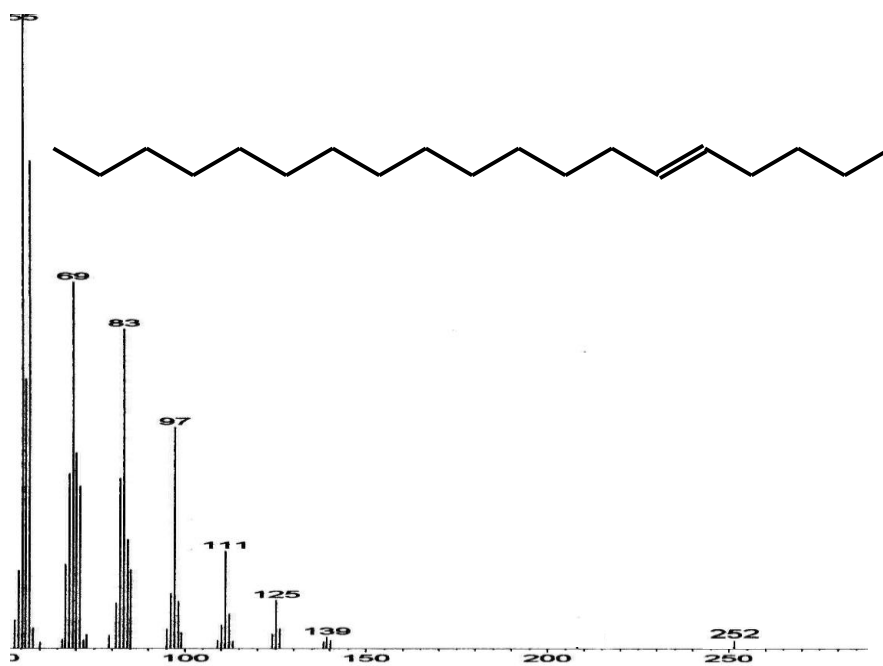
Espectro 52: Espectro de massas do 3β-Acetato de A`-neogammacer-22(29)-enila (TR 63,79 minutos).



Cromatograma 10: Cromatograma da fração principal nº 9 obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



Espectro 53: Espectro de massas do Ciclotetradecano (TR 18,99 minutos).

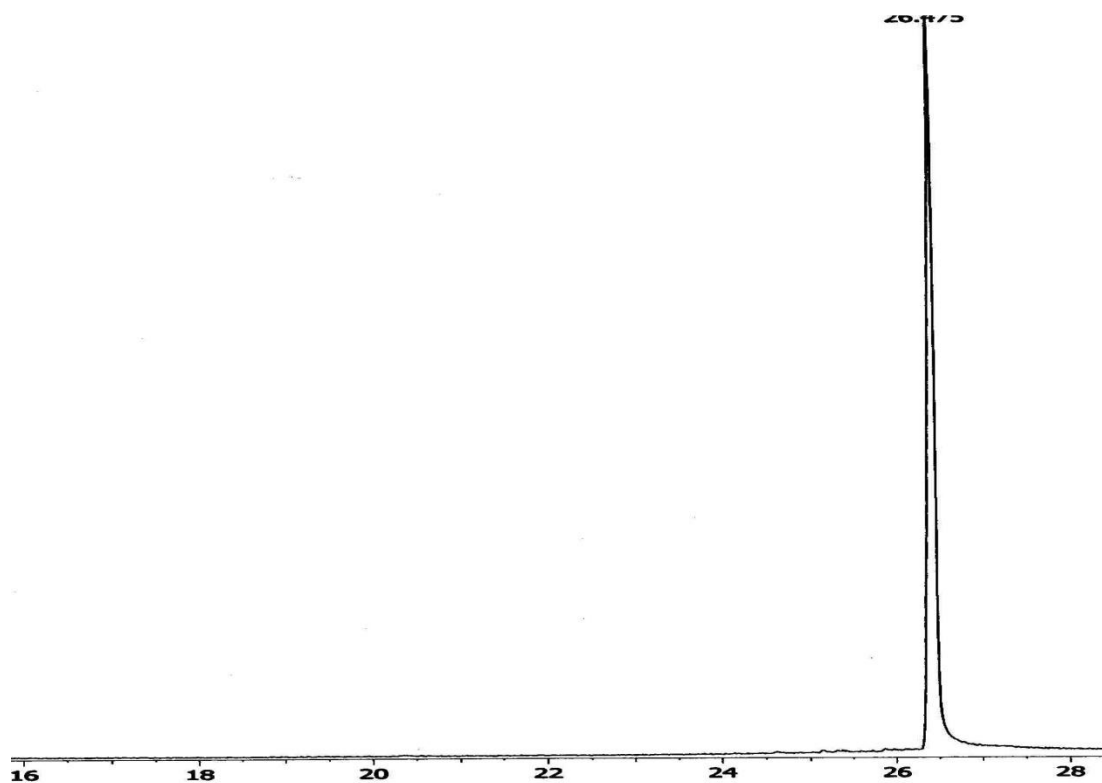


Espectro 54: Espectro de massas do 5-Octadeceno (TR 21,03 minutos).

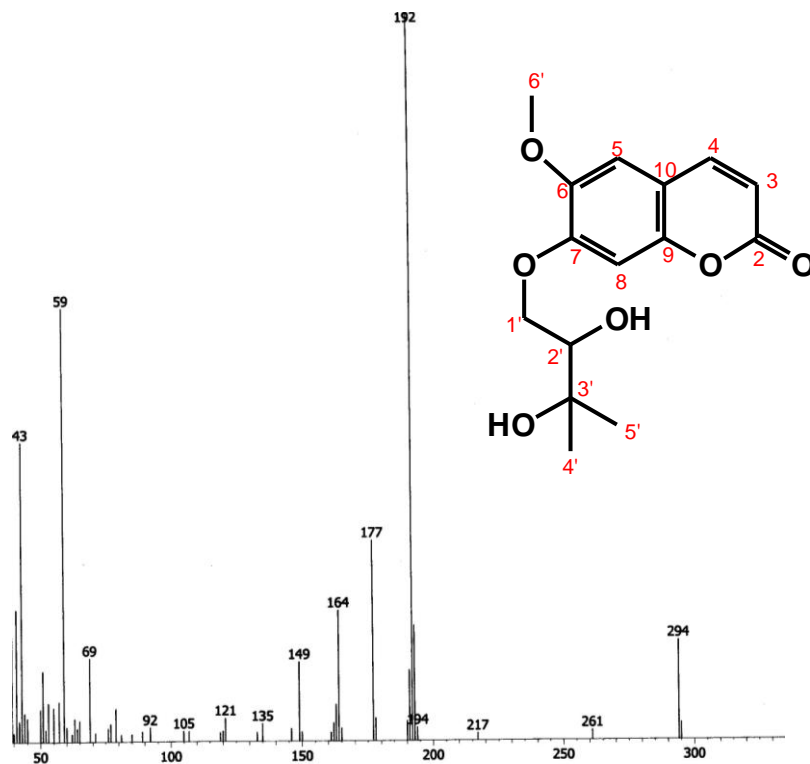
A fração principal nº 12 sofreu processo de separação em coluna de Sephadex®, obtendo-se 73 frações que foram reunidas em doze frações menores. As frações menores nºs 2, 3 e 4 foram purificadas por cristalização, resultando nas amostras E, F e G. A fração menor nº 11 foi nomeada amostra H. A porção não cristalizada da fração menor nº 2 foi analisada em placa cromatográfica preparativa, sendo separada em sete frações finais. A fração final nº 1 foi denominada amostra I. Foram identificadas como as seguintes substâncias: 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,48 minutos amostra E; TR 26,63 minutos amostra F; TR 26,54 minutos amostra I), Quercetina (amostra G), 5-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxícumarina (TR 27,82 minutos amostra H)

Os espectros de RMN ^1H das amostras E, F, H e I apresentam pares de dupletos típicos de cumarinas não substituídas nas posições 3 e 4, com constantes de acoplamento $J=9,8$ Hz (amostra H) e $J=9,4$ Hz (amostras E, F e I) e deslocamentos químicos de δ 6,18 e δ 8,26 (amostra H) e próximos a δ 6,23 e δ 7,83 (amostras E, F e I). As posições 5 e 8 também encontram-se livres nas amostras E, F e I, o que pode ser observado pela presença de simpletos próximos a δ 6,94 e δ 7,09. A amostra H possui apenas a posição 8 livre (simpleto em δ 6,77). Os espectros de correlação confirmaram a presença de um grupo metilenodioxílico ocupando as posições 6 e 7 do anel cumarínico da amostra H, com deslocamentos químicos δ 6,18. Os grupos substituintes prenila das 4 amostras de cumarinas apresentam um par de simpletos, com 3 átomos de hidrogênio cada, próximos a δ 1,23 e δ 1,27, o que indica a presença de grupo dimetila geminal; também possuem 3 sinais de duplos dupletos com deslocamentos químicos e constantes de acoplamento muito semelhantes ($\delta\sim 3,77$ com $J\sim 2,4$ e $8,0$; $\delta\sim 4,02$ com $J\sim 8,0$ e $10,0$; $\delta\sim 4,33$ e $J\sim 2,4$ e $10,0$), indicando tratar-se do mesmo substituinte. Um simpleto próximo a δ 3,87 nas amostras E, F e I foi atribuído ao grupo metoxila em anel aromático, o qual encontra-se substituído na posição 6 (Cromatograma 11, pág. 132; Espectro 55, pág. 133; Espectro 56, pág. 134; Espectro 57, pág. 135; Espectro 58, pág. 136; Espectro 59, pág. 137; Espectro 60,

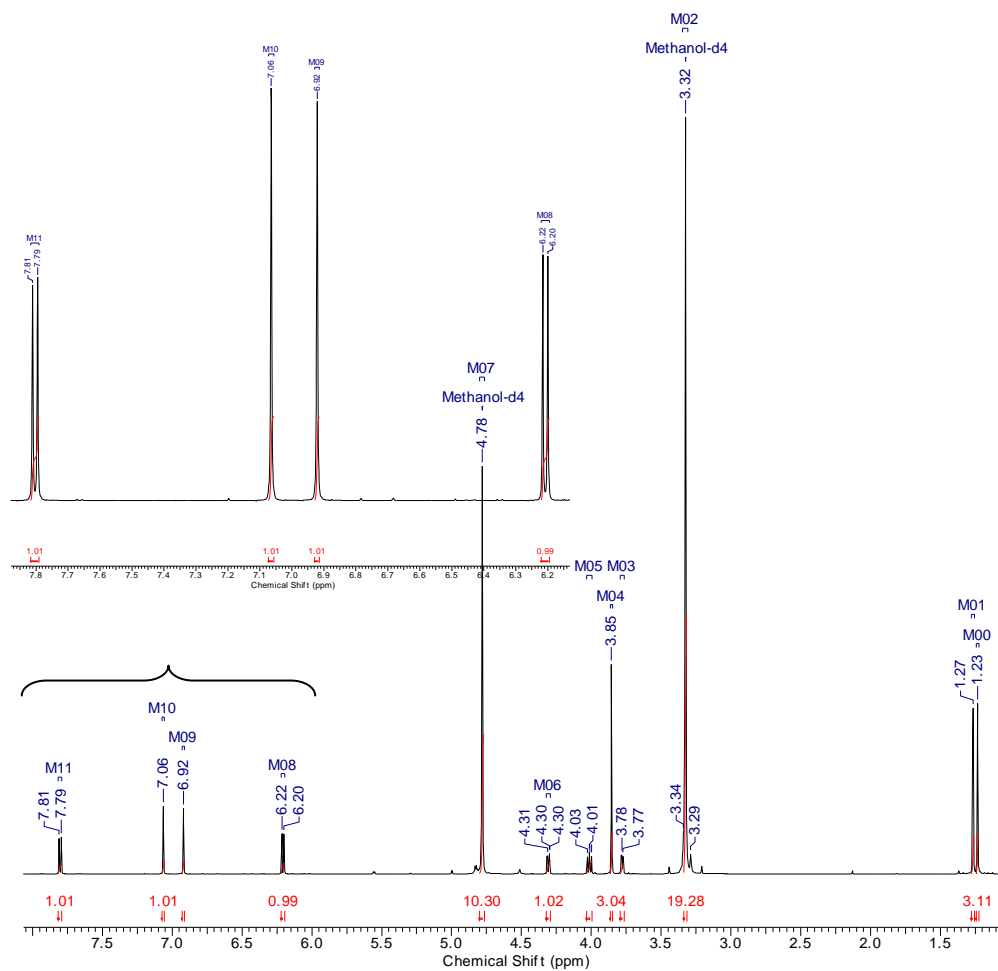
pág. 138; Espectro 61, pág. 138; Espectro 62, pág. 139; Cromatograma 12, pág. 139; Espectro 63, pág. 140; Espectro 64, pág. 140; Espectro 65, pág. 141; Espectro 66, pág. 142; Espectro 67, pág. 143; Espectro 68, pág. 144; Espectro 69, pág. 144; Espectro 70, pág. 145; Espectro 71, pág. 146; Espectro 72, pág. 147; Espectro 73, pág. 148; Espectro 74, pág. 148; Espectro 75, pág. 149; Espectro 76, pág. 149; Cromatograma 13, pág. 150; Espectro 77, pág. 150; Espectro 78, pág. 151; Espectro 79, pág. 152; Espectro 80, pág. 153; Espectro 81, pág. 154; Espectro 82, pág. 155; Espectro 83, pág. 155; Espectro 84, pág. 156; Cromatograma 14, pág. 157; Espectro 85, pág. 157; Espectro 86, pág. 158; Espectro 87, pág. 159; Espectro 88, pág. 160; Espectro 89, pág. 161; Espectro 90, pág. 161; Espectro 91, pág. 162).



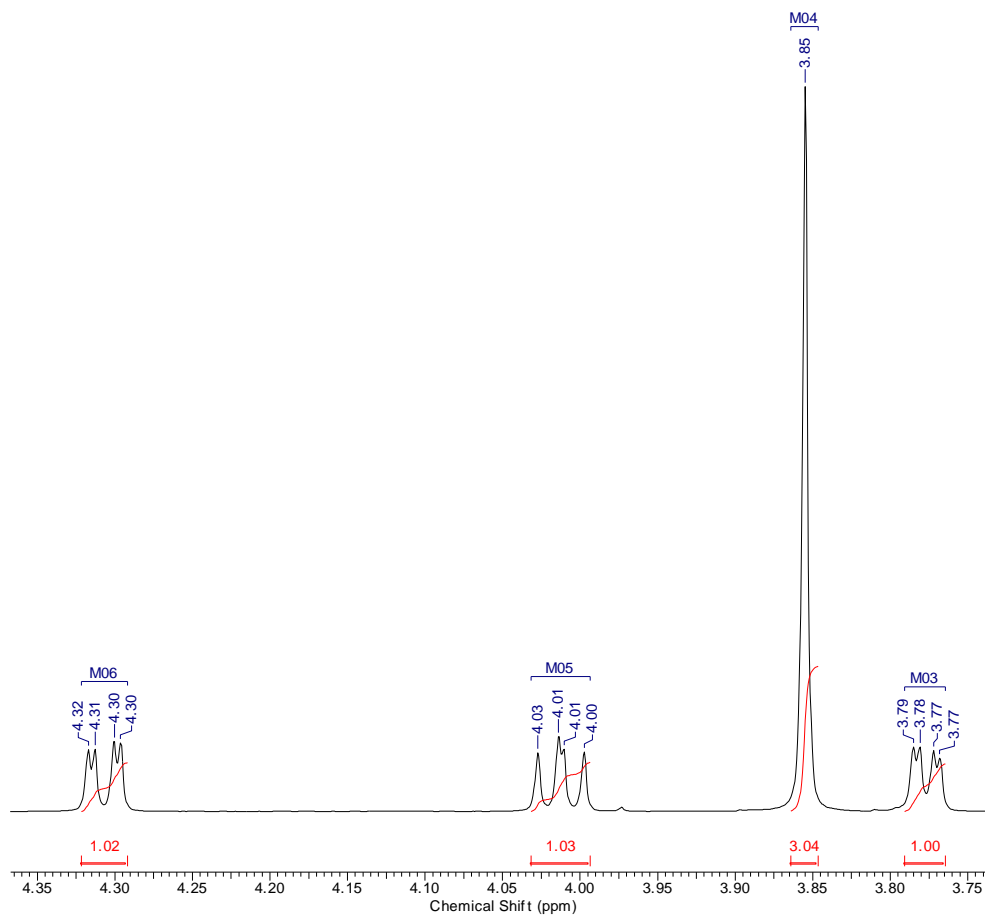
Cromatograma 11: Cromatograma da amostra E obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



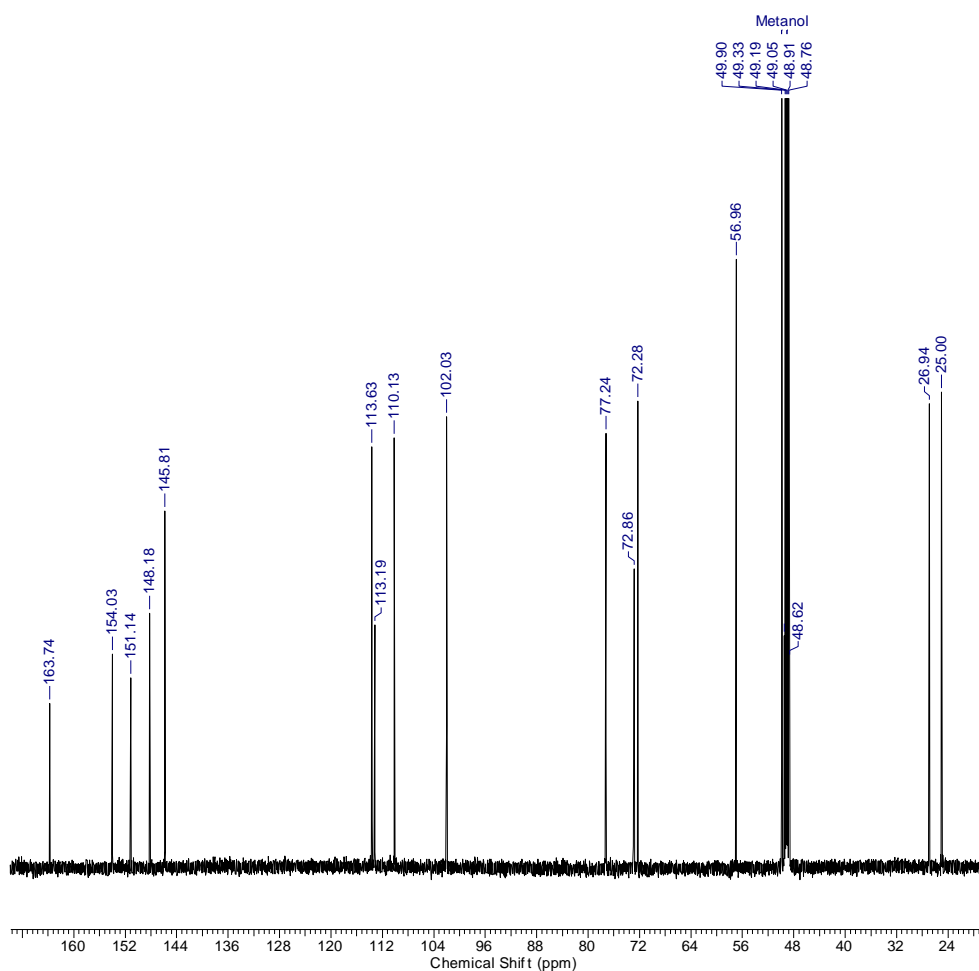
Espectro 55: Espectro de massas da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,48 minutos, amostra E).



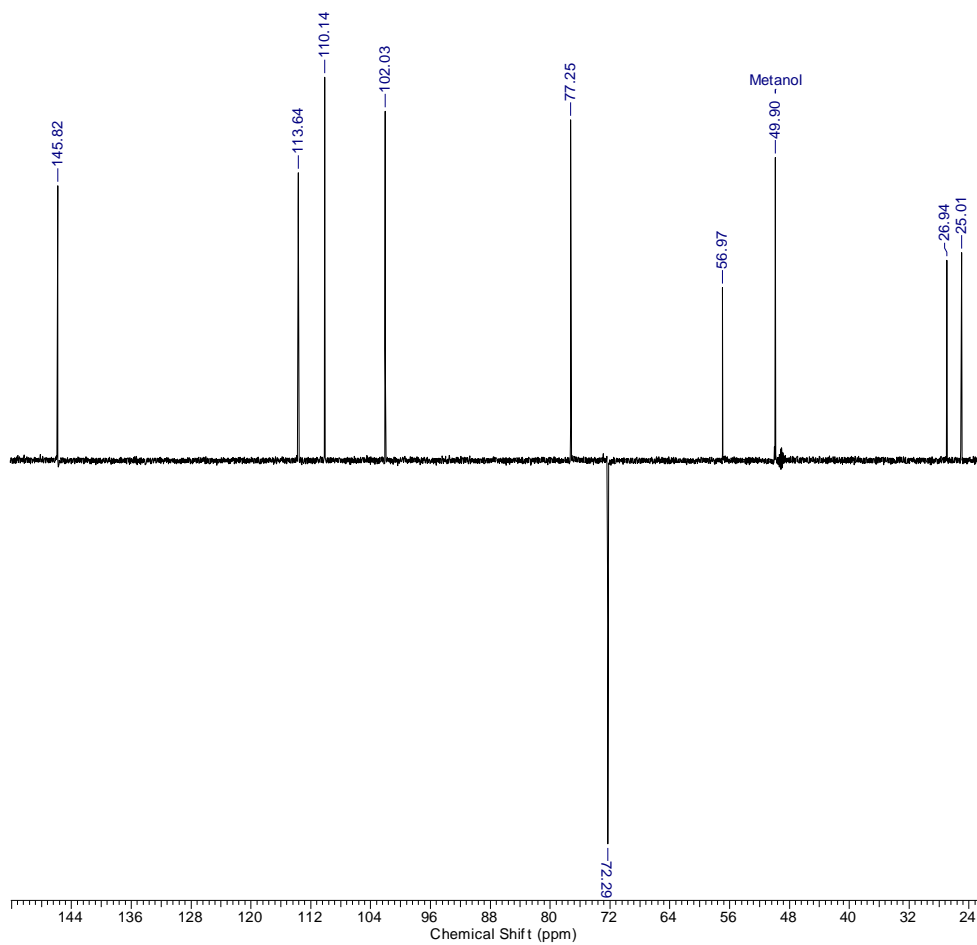
Espectro 56: Espectro de RMN ¹H da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).



Espectro 57: Expansão do espectro de RMN ^1H da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).

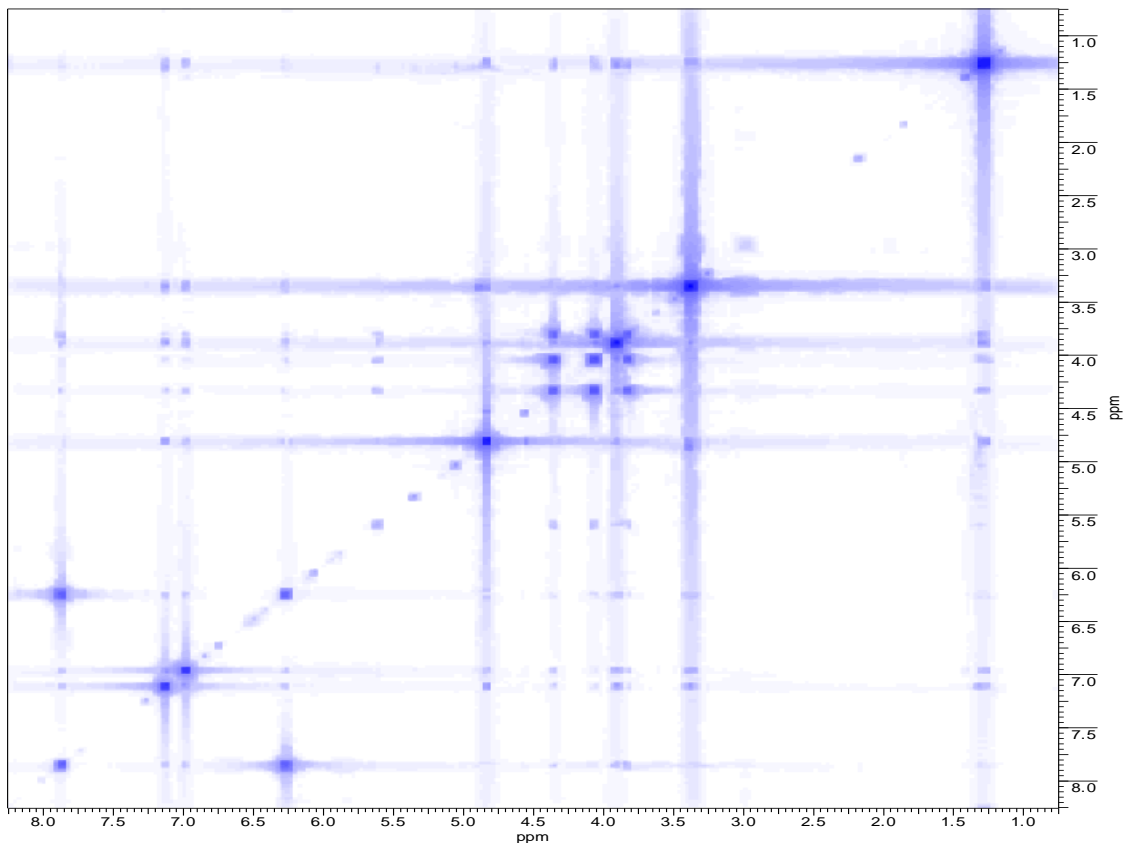


Espectro 58: Espectro de RMN ^{13}C da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).

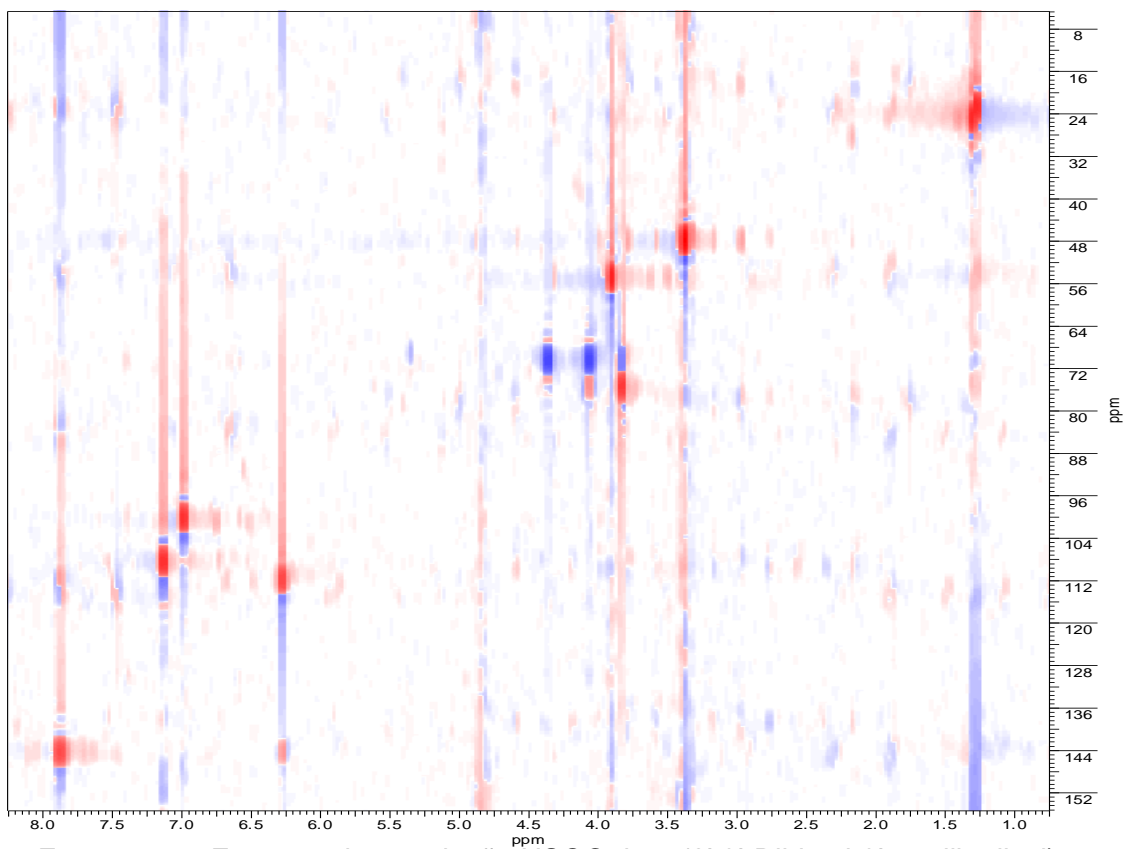


Espectro 59: DEPT 135 da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra

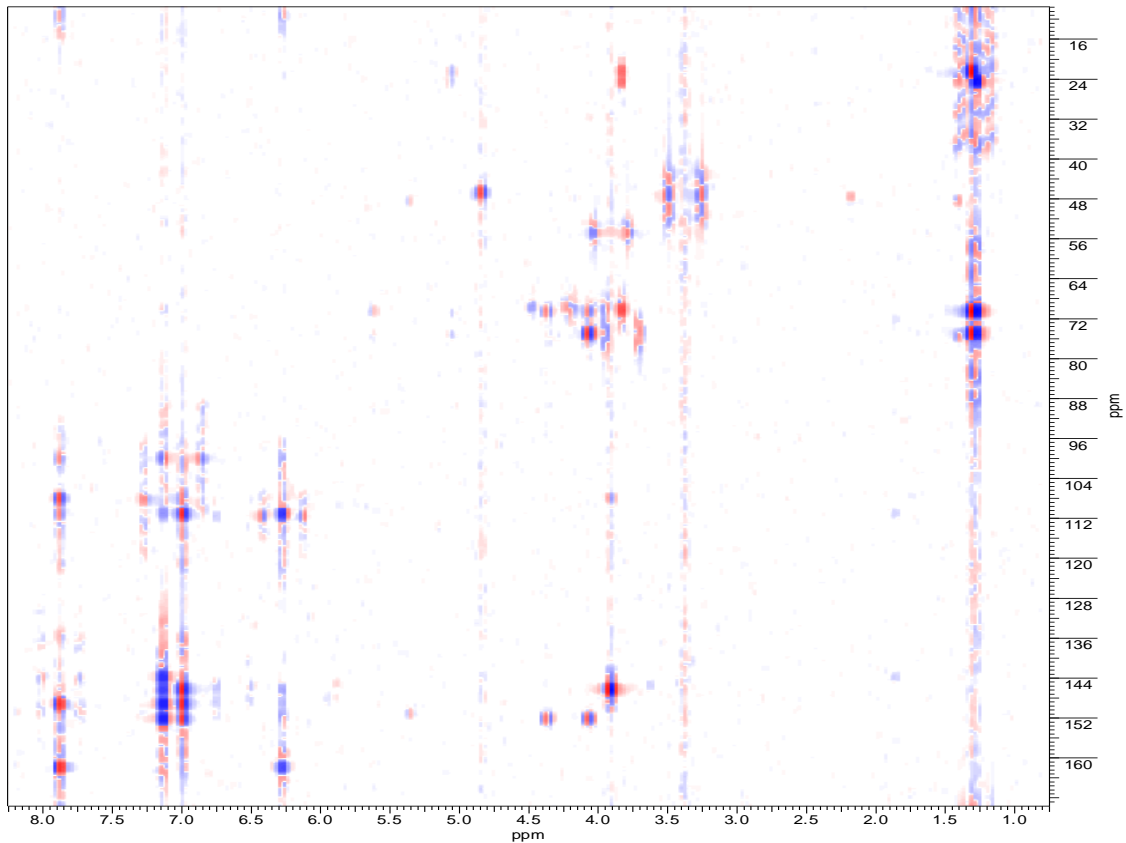
E).



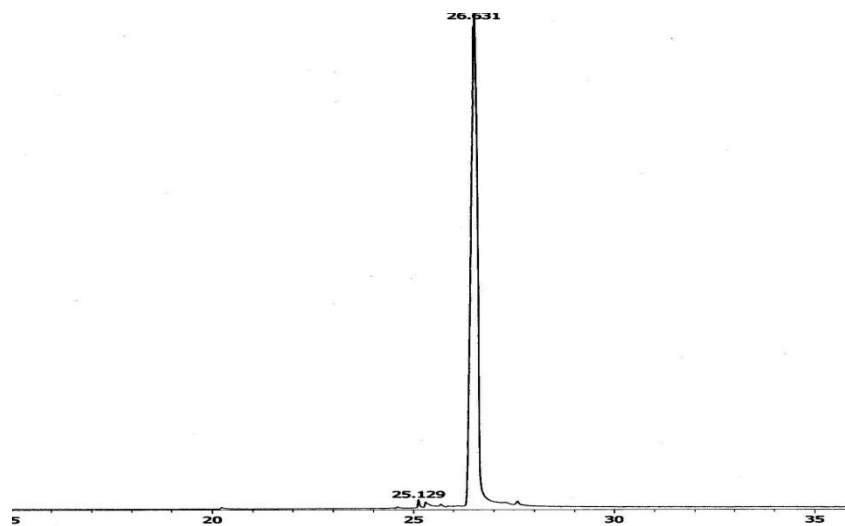
Espectro 60: Espectro de correlação CoSy H-H da 7-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).



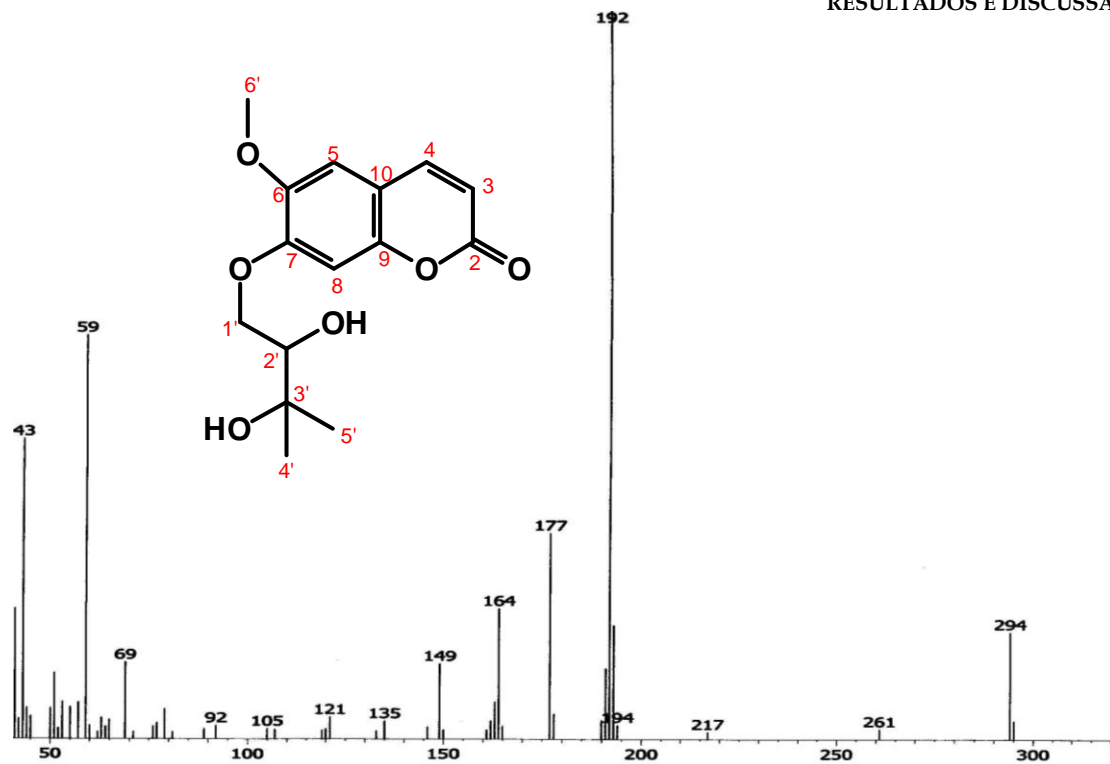
Espectro 61: Espectro de correlação HSQC da 7-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).



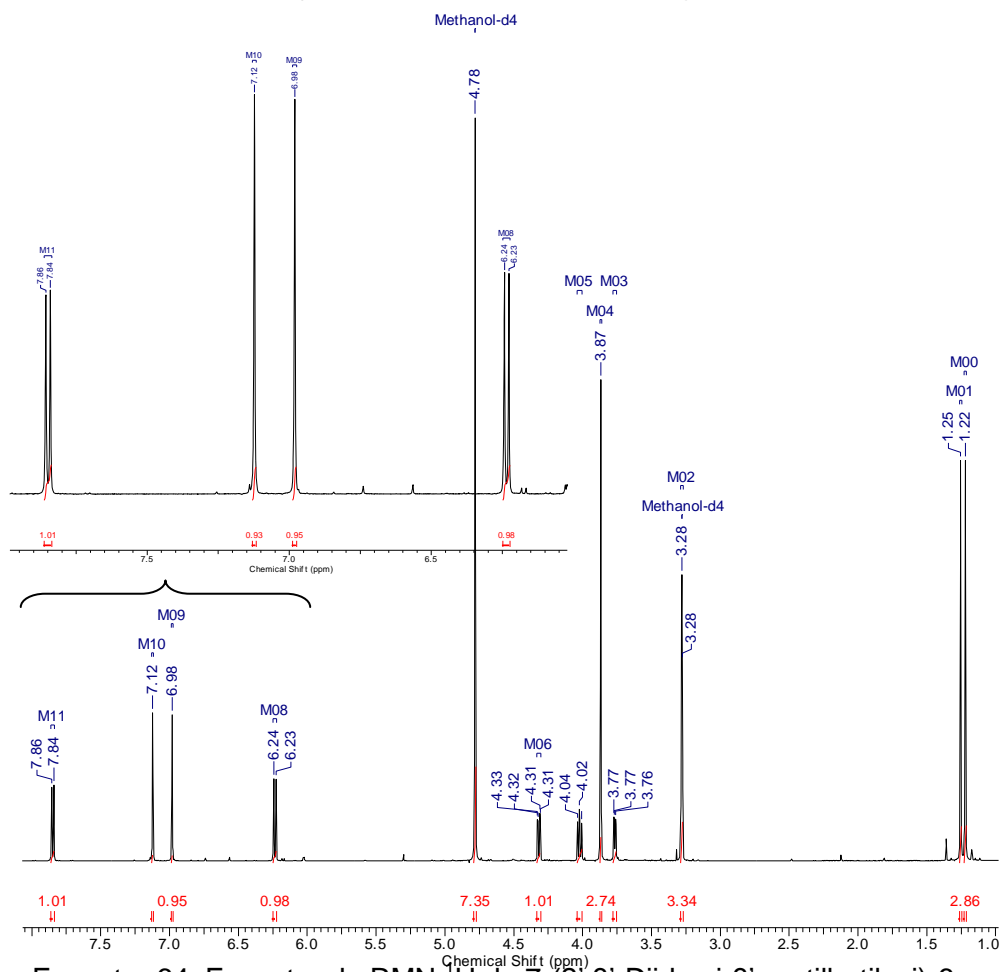
Espectro 62: Espectro de correlação HMBC da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E).



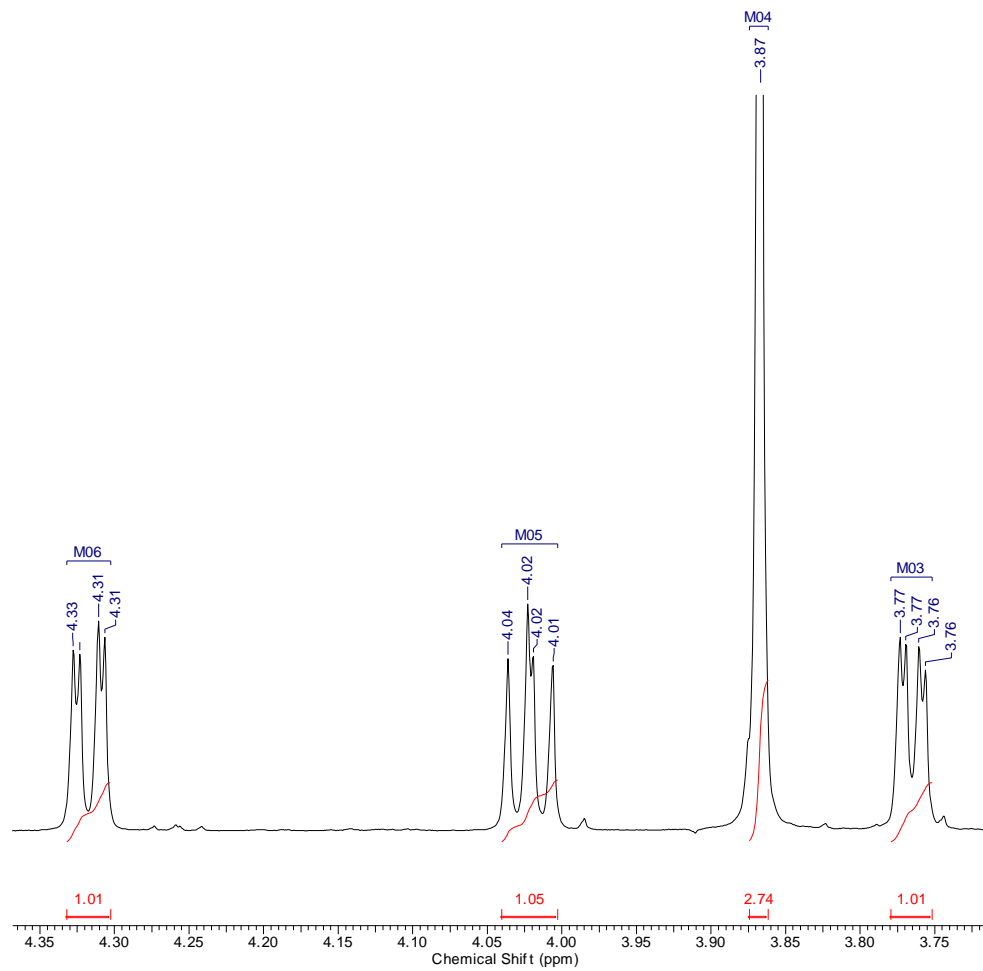
Cromatograma 12: Cromatograma da amostra F obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



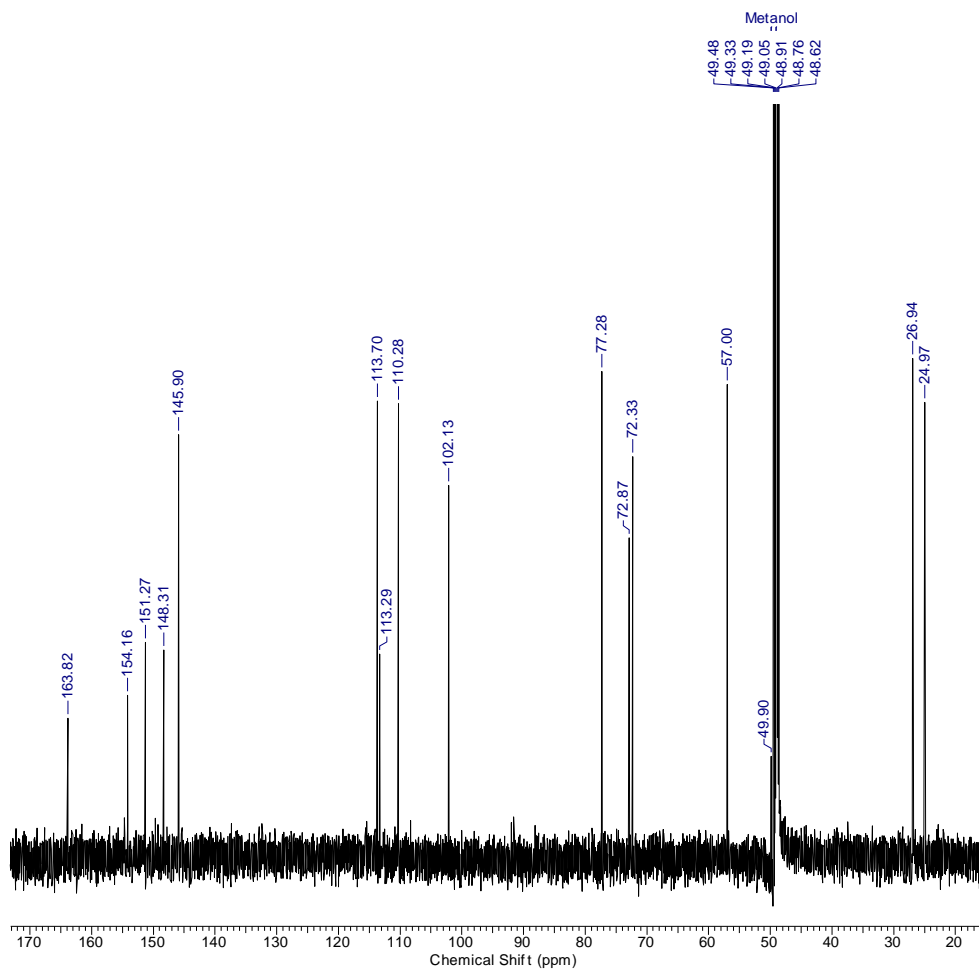
Espectro 63: Espectro de massas da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,63 minutos, amostra F).



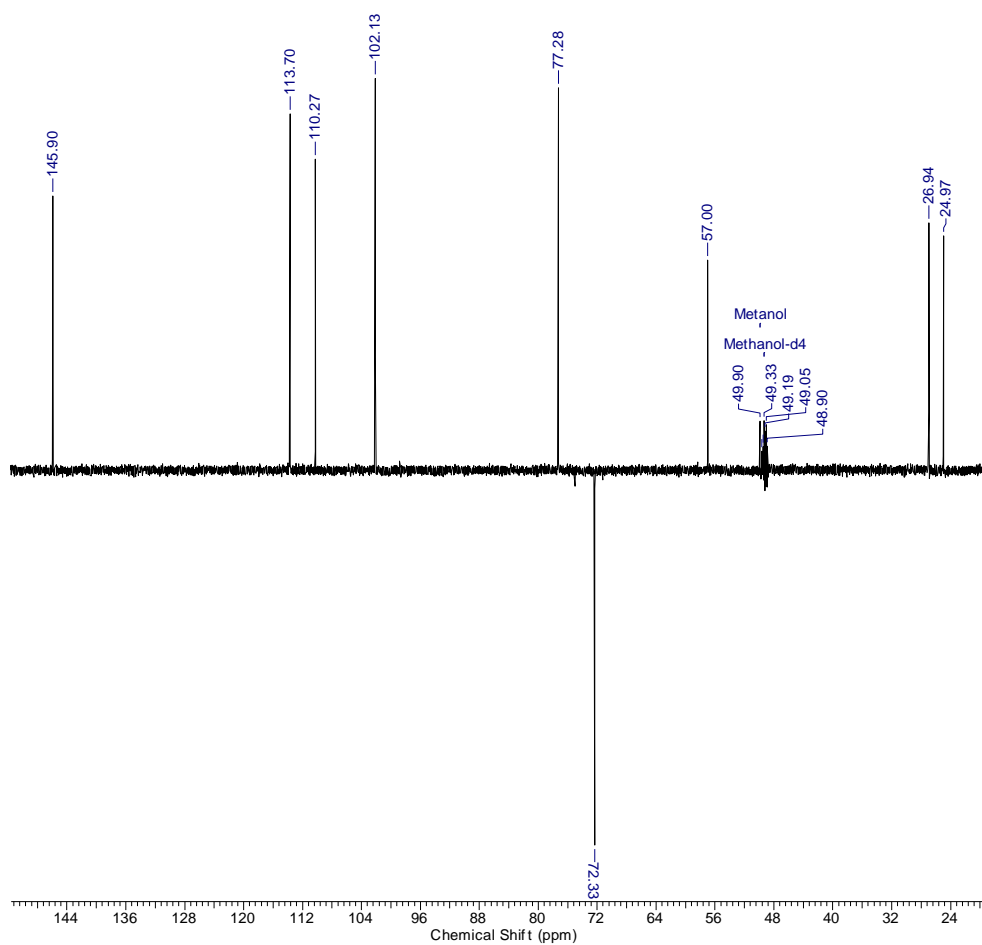
Espectro 64: Espectro de RMN ¹H da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F).



Espectro 65: Expansão do espectro de RMN ^1H da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F).

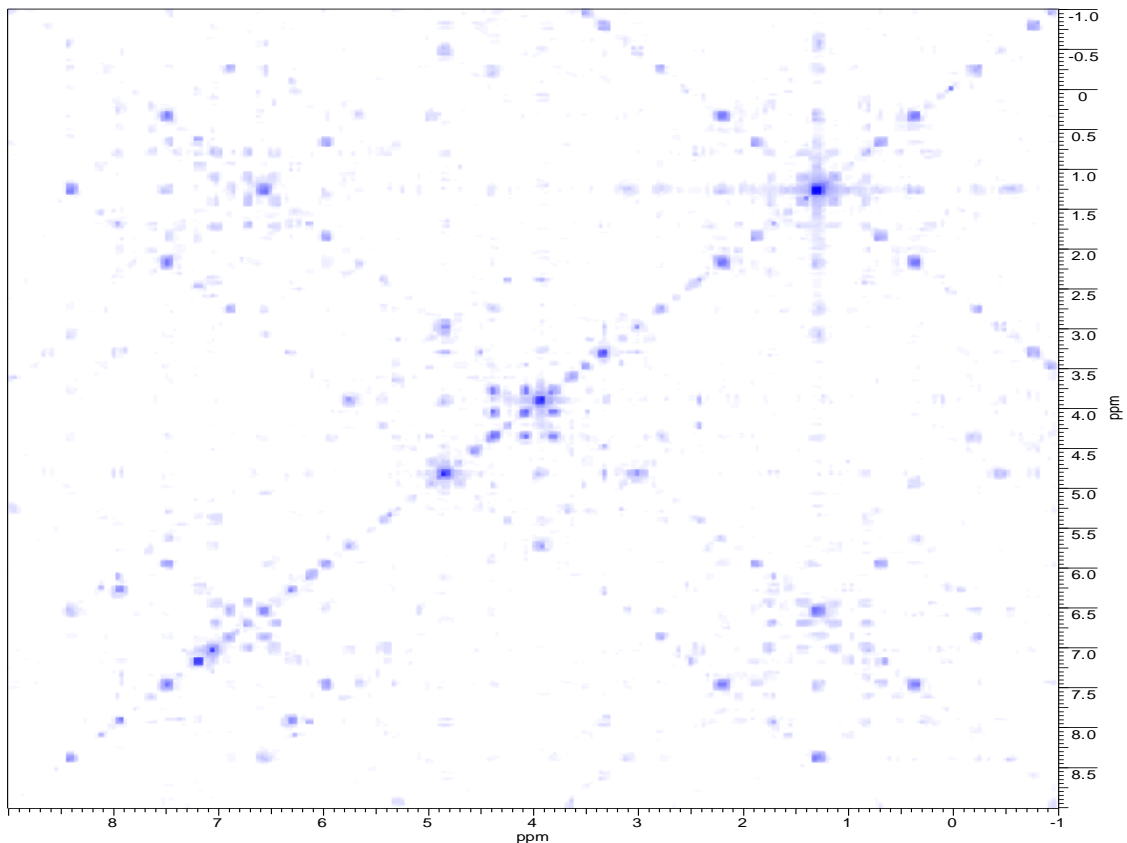


Espectro 66: Espectro de RMN ^{13}C da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F).

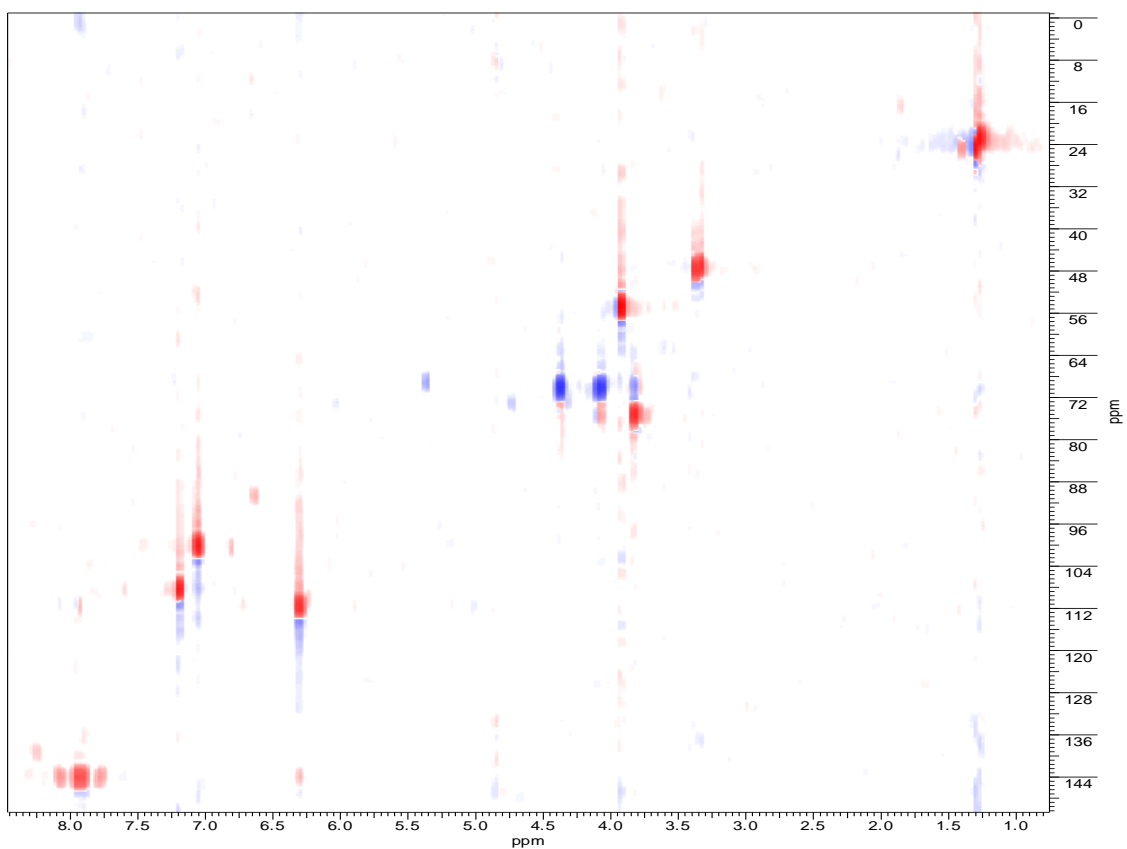


Espectro 67: DEPT 135 da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra

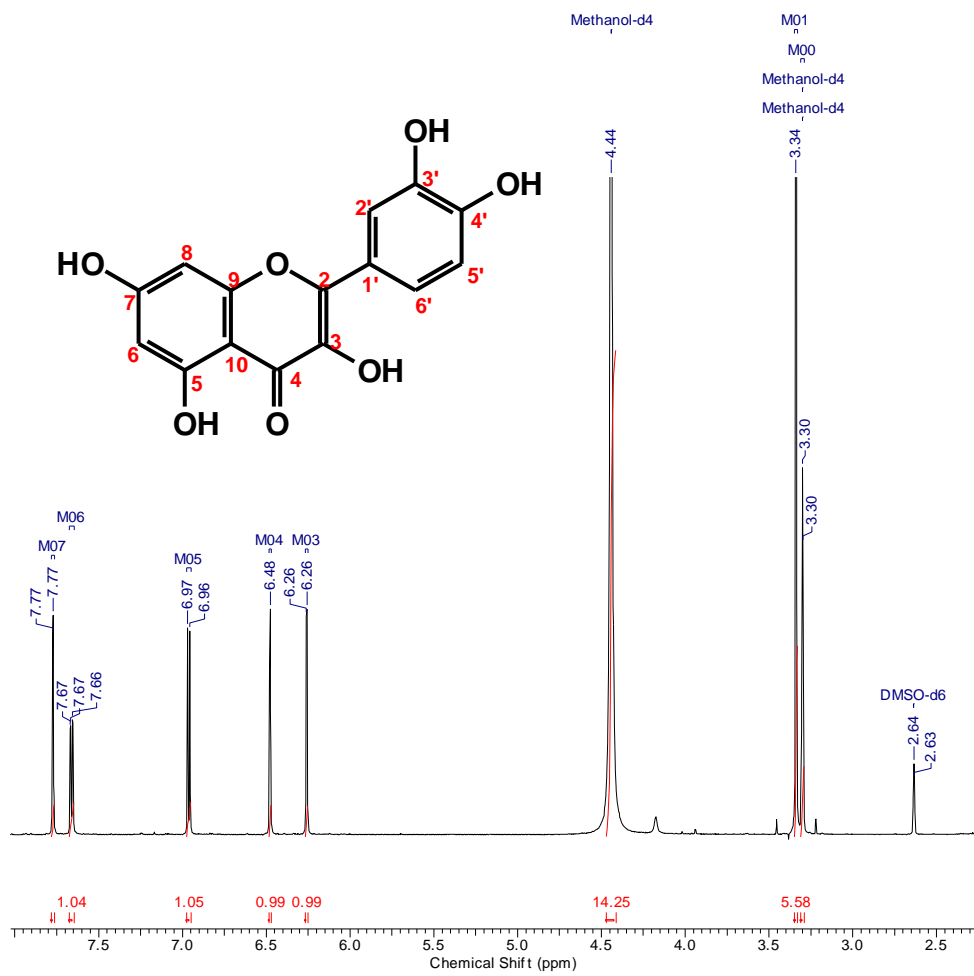
F).



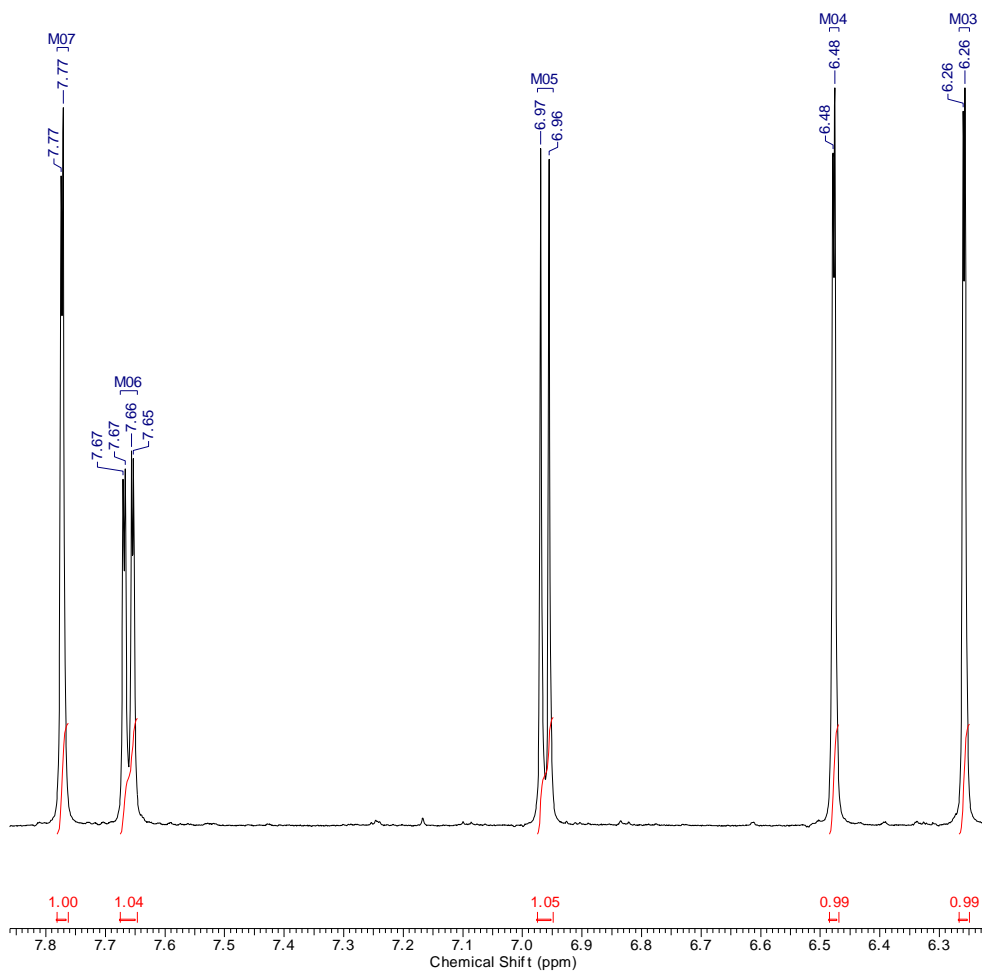
Espectro 68: Espectro de correlação CoSy H-H da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F).



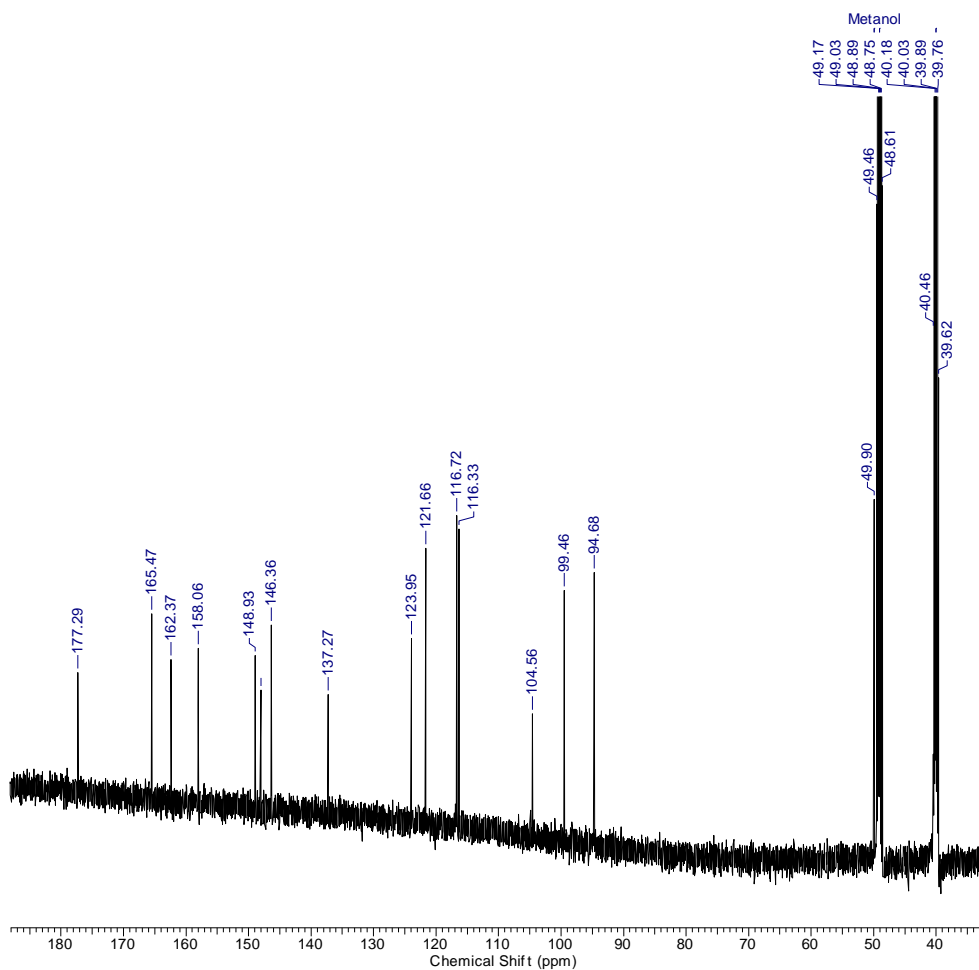
Espectro 69: Espectro de correlação HSQC da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra F).



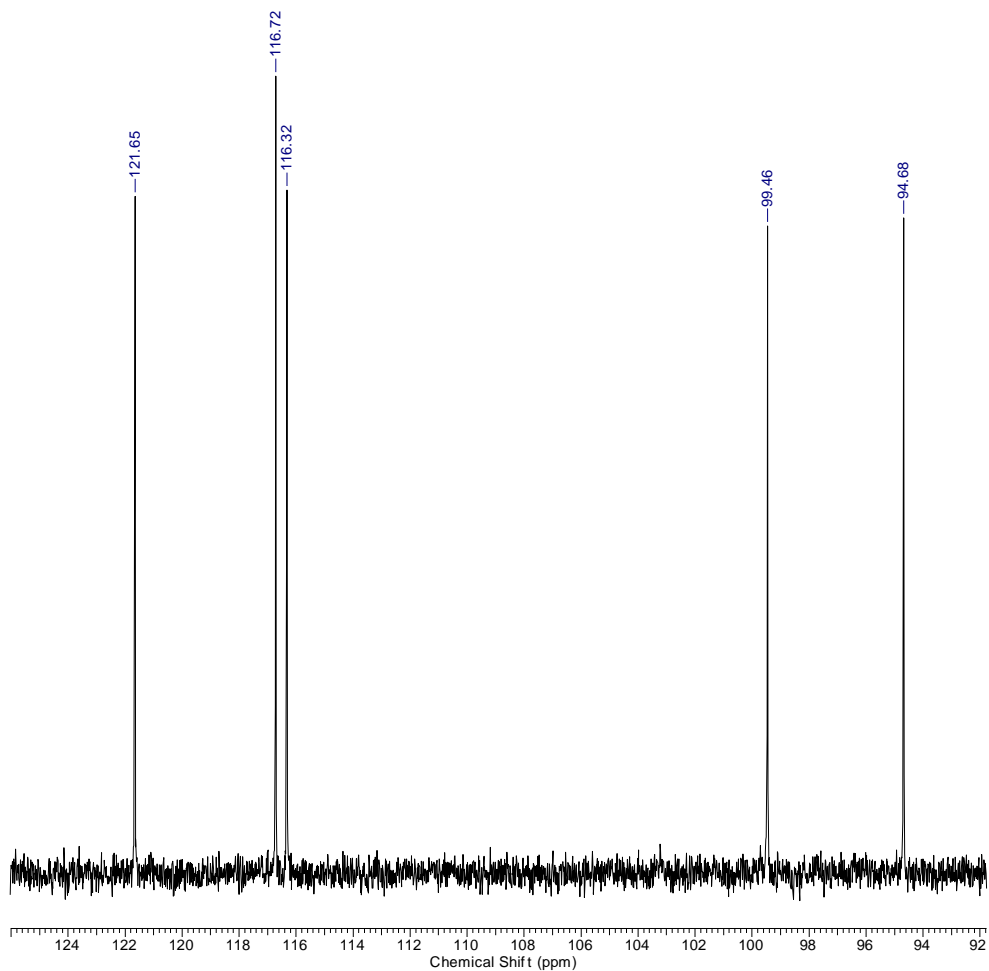
Espectro 70: Espectro de RMN ¹H da Quercetina (amostra G).



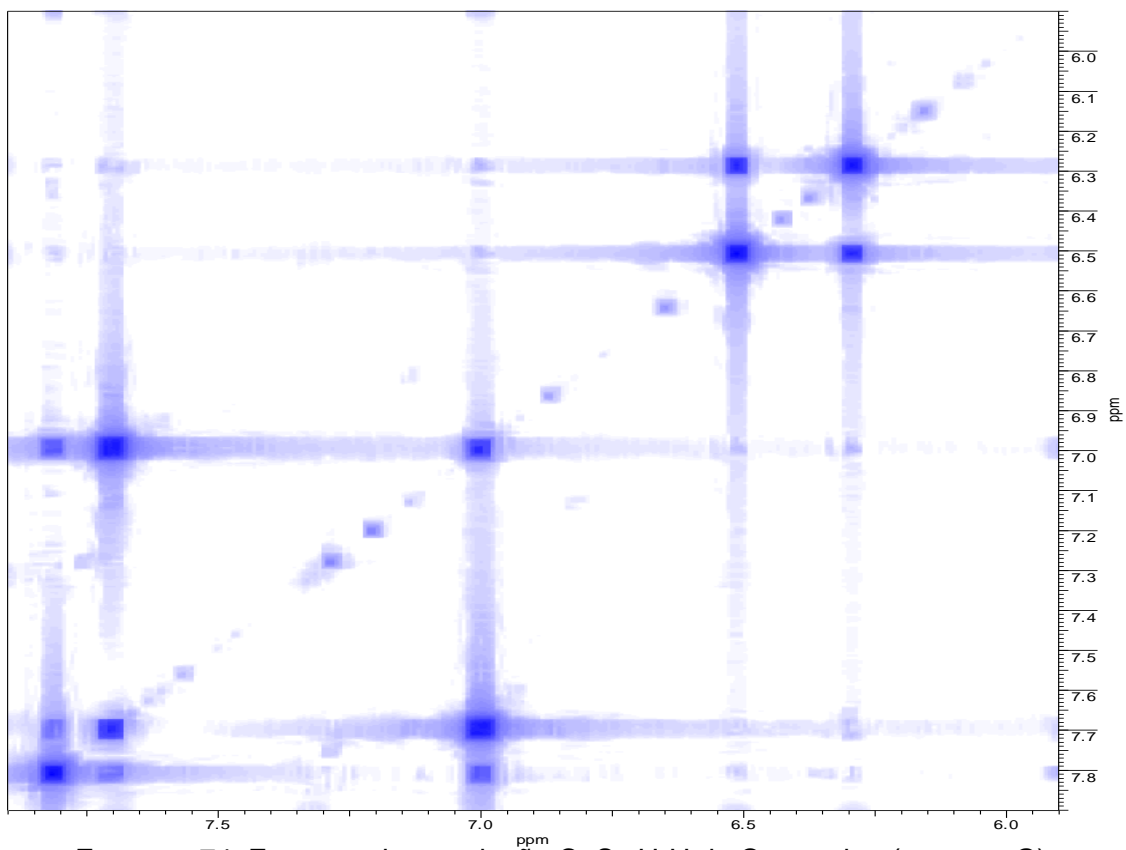
Espectro 71: Expansão do espectro de RMN ¹H da Quercetina (amostra G).



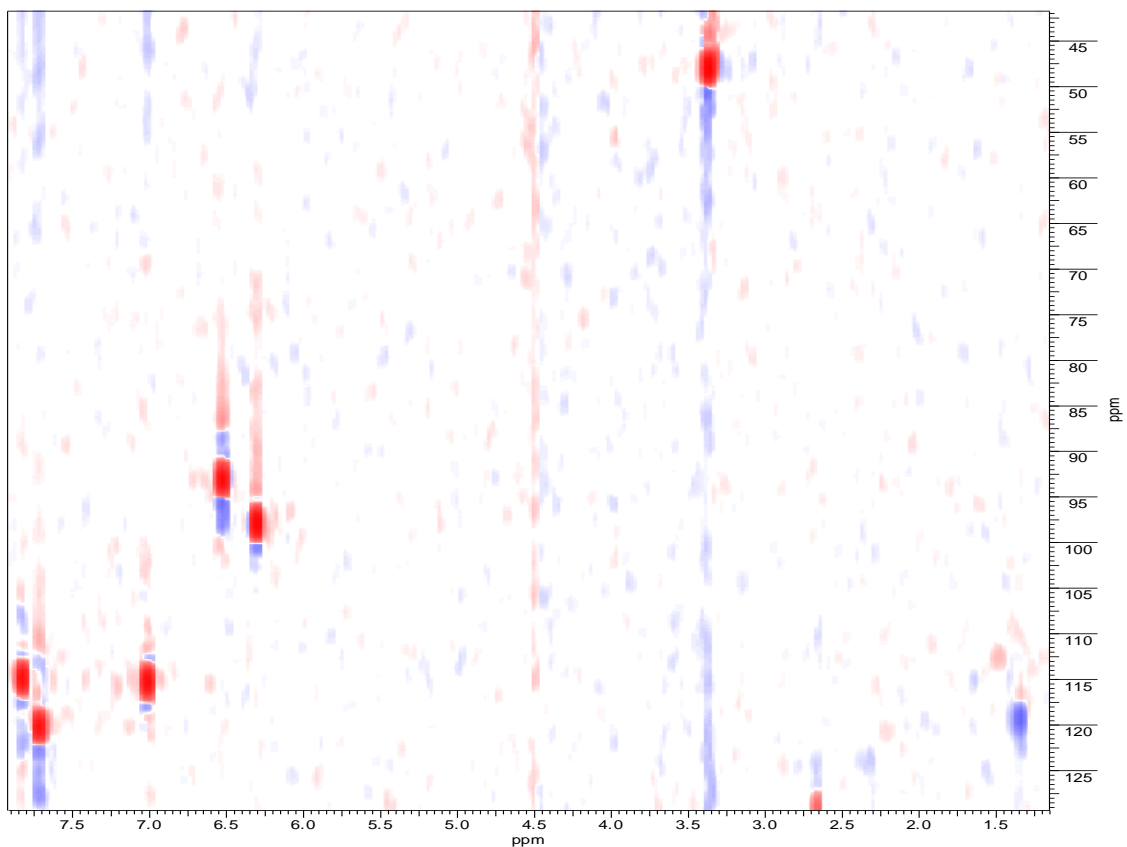
Espectro 72: Espectro de RMN ¹³C da Quercetina (amostra G).



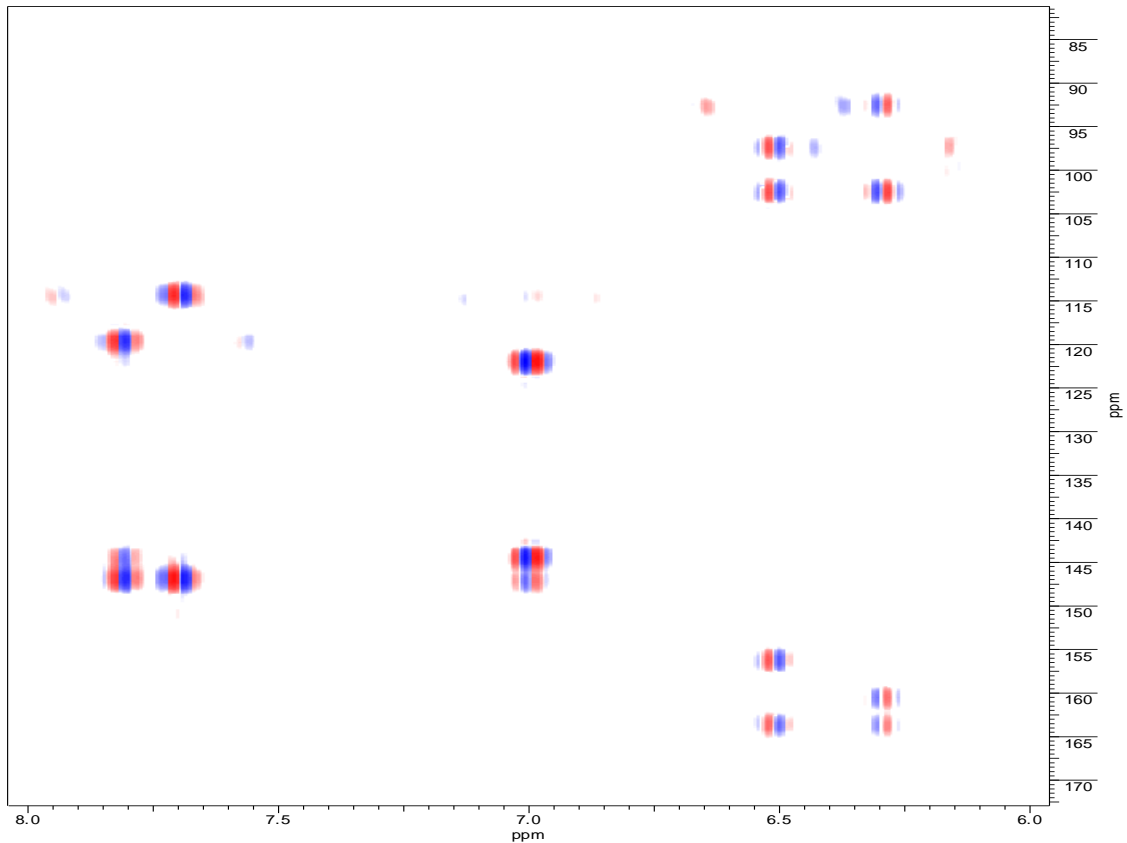
Espectro 73: DEPT 135 da Quercetina (amostra G).



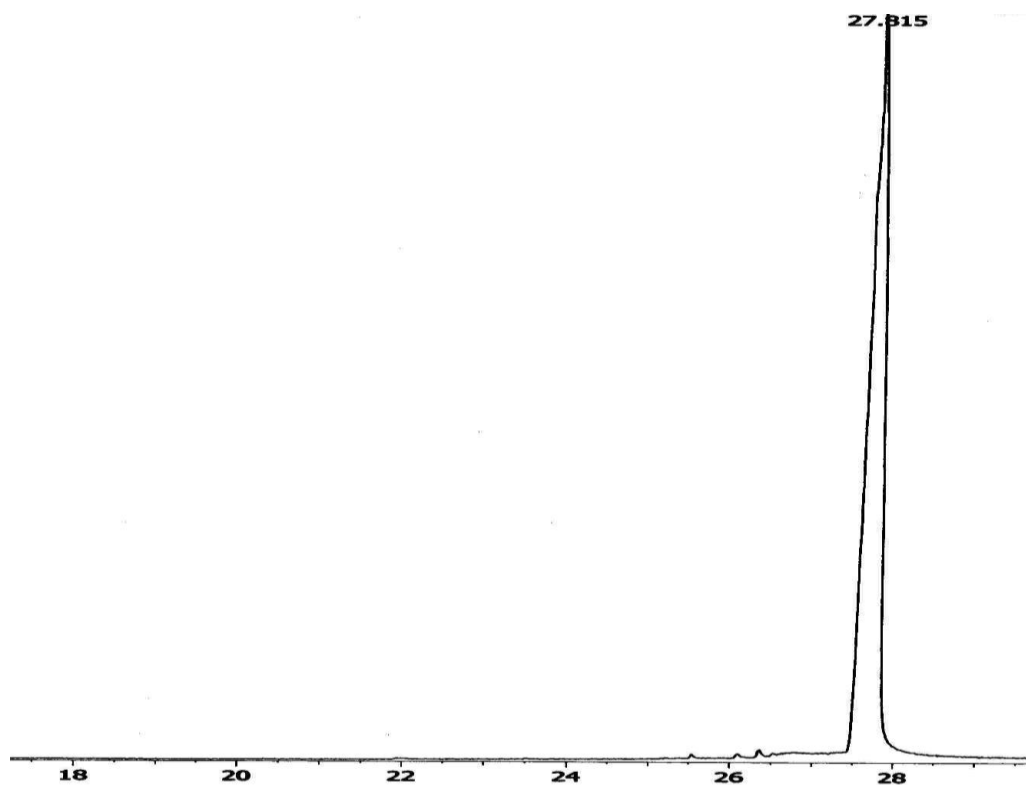
Espectro 74: Espectro de correlação CoSy H-H da Quercetina (amostra G).



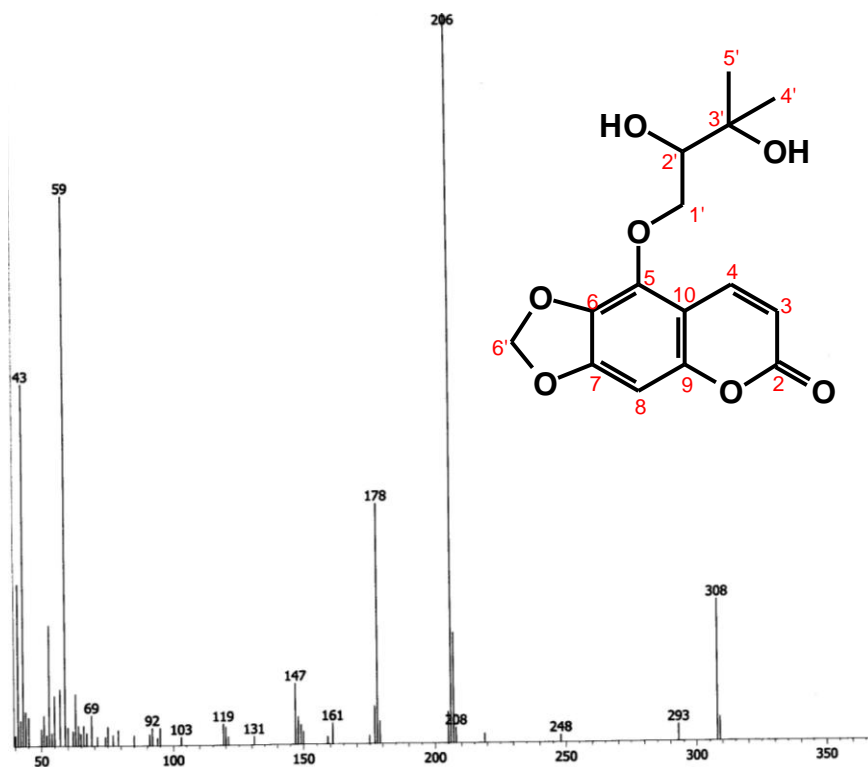
Espectro 75: Espectro de correlação HSQC da Quercetina (amostra G).



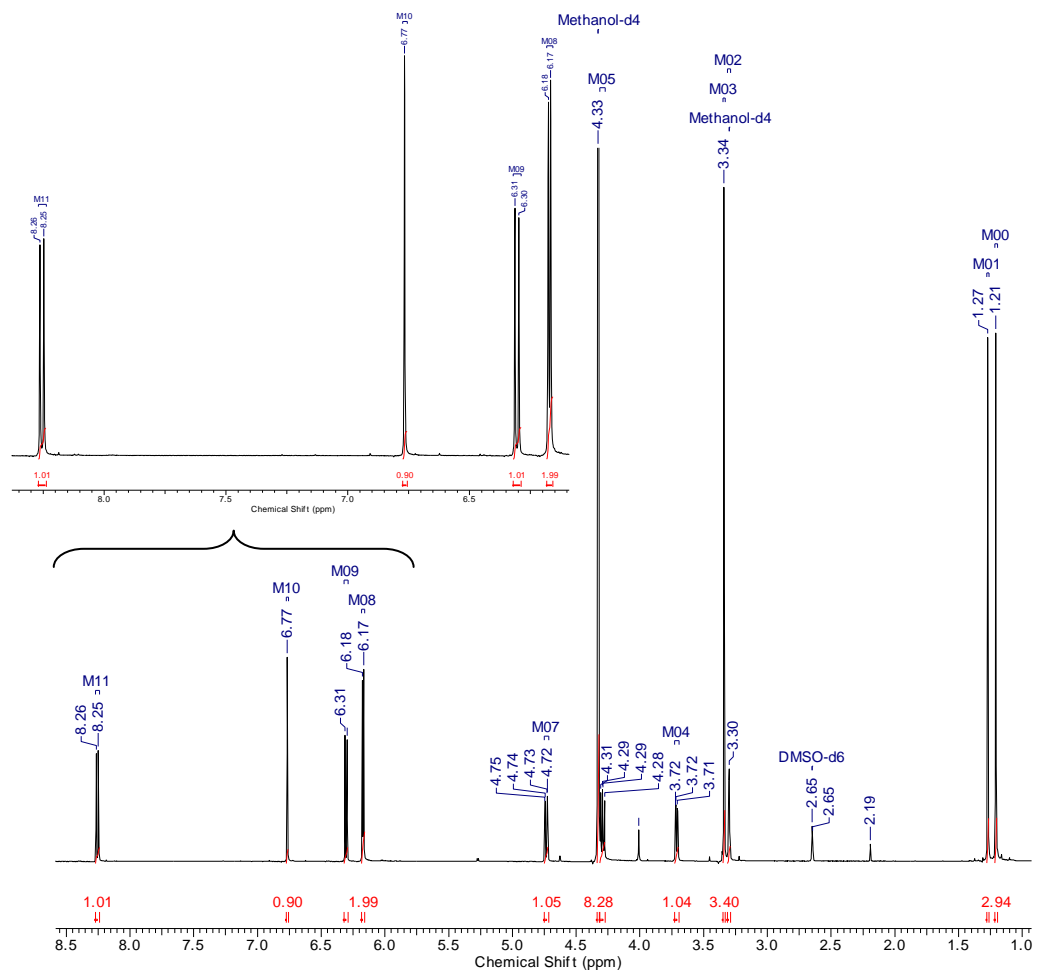
Espectro 76: Espectro de correlação HMBC da Quercetina (amostra G).



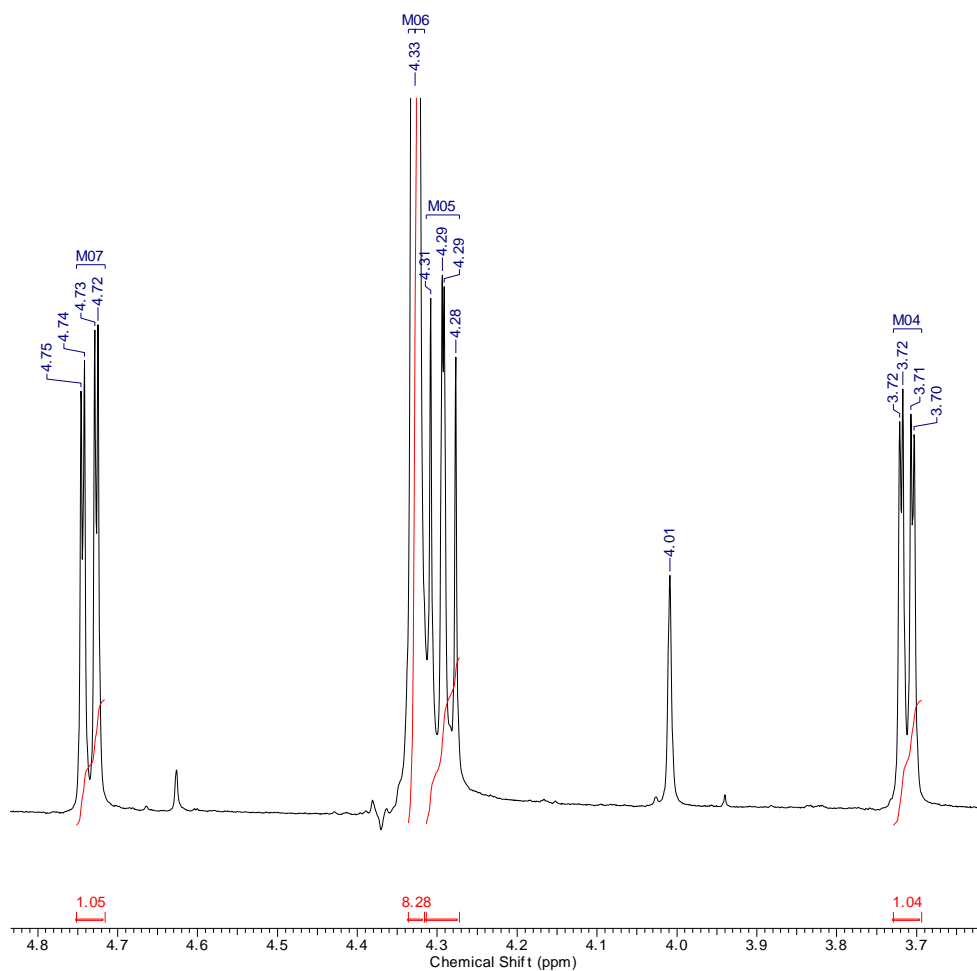
Cromatograma 13: Cromatograma da amostra H obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



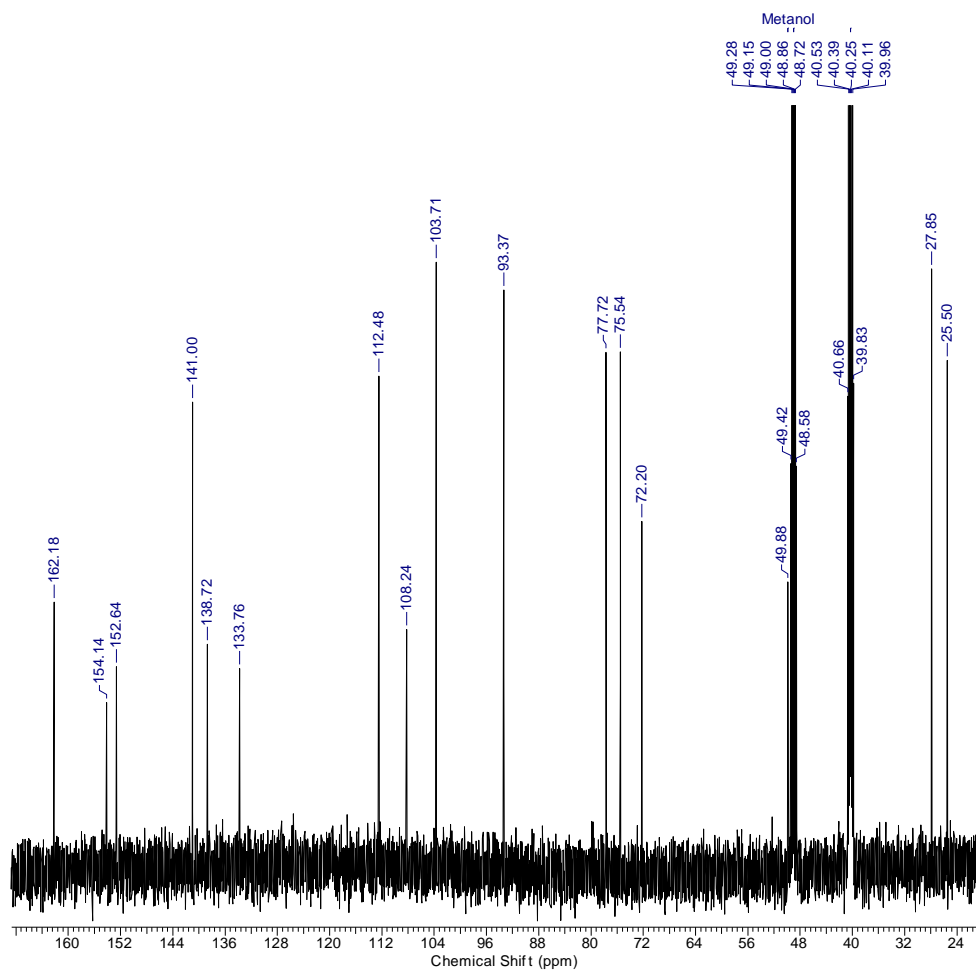
Espectro 77: Espectro de massas da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (TR 27,82 minutos, amostra H).



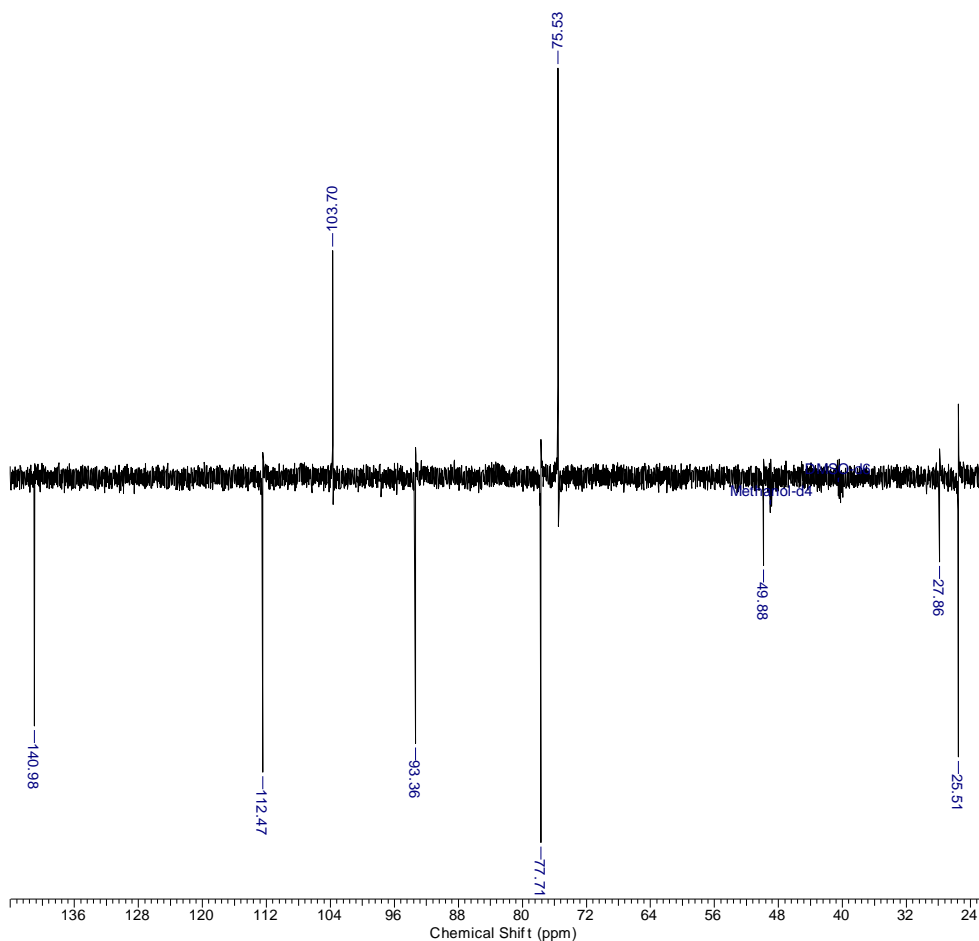
Espectro 78: Espectro de RMN ¹H da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra H).



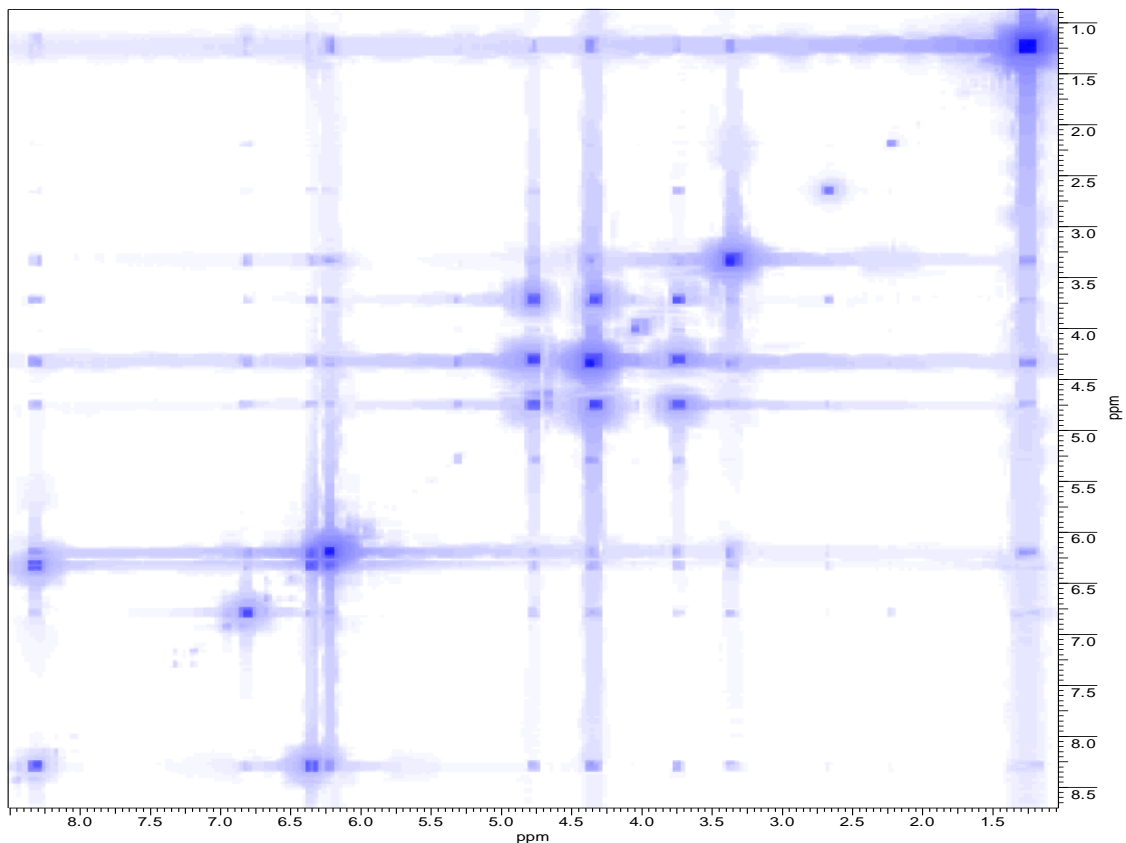
Espectro 79: Expansão do espectro de RMN ¹H da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra H).



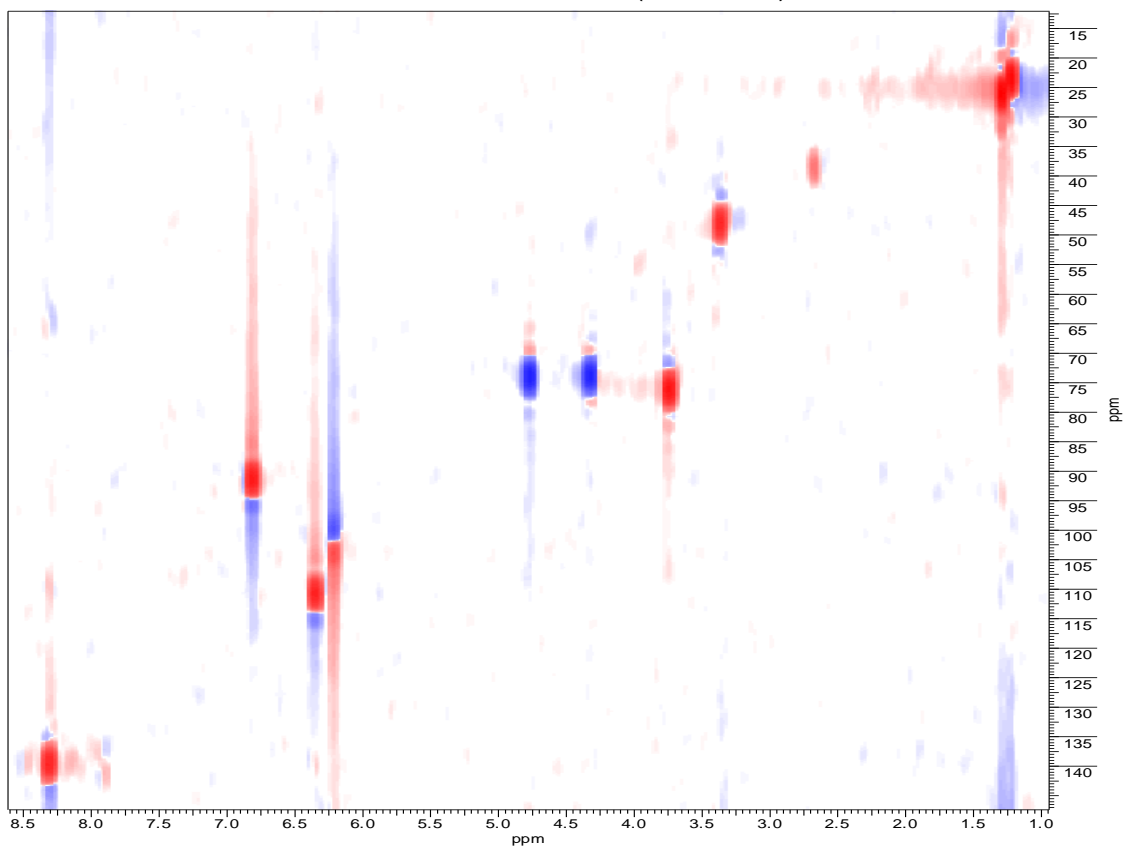
Espectro 80: Espectro de RMN ^{13}C da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina (amostra H).



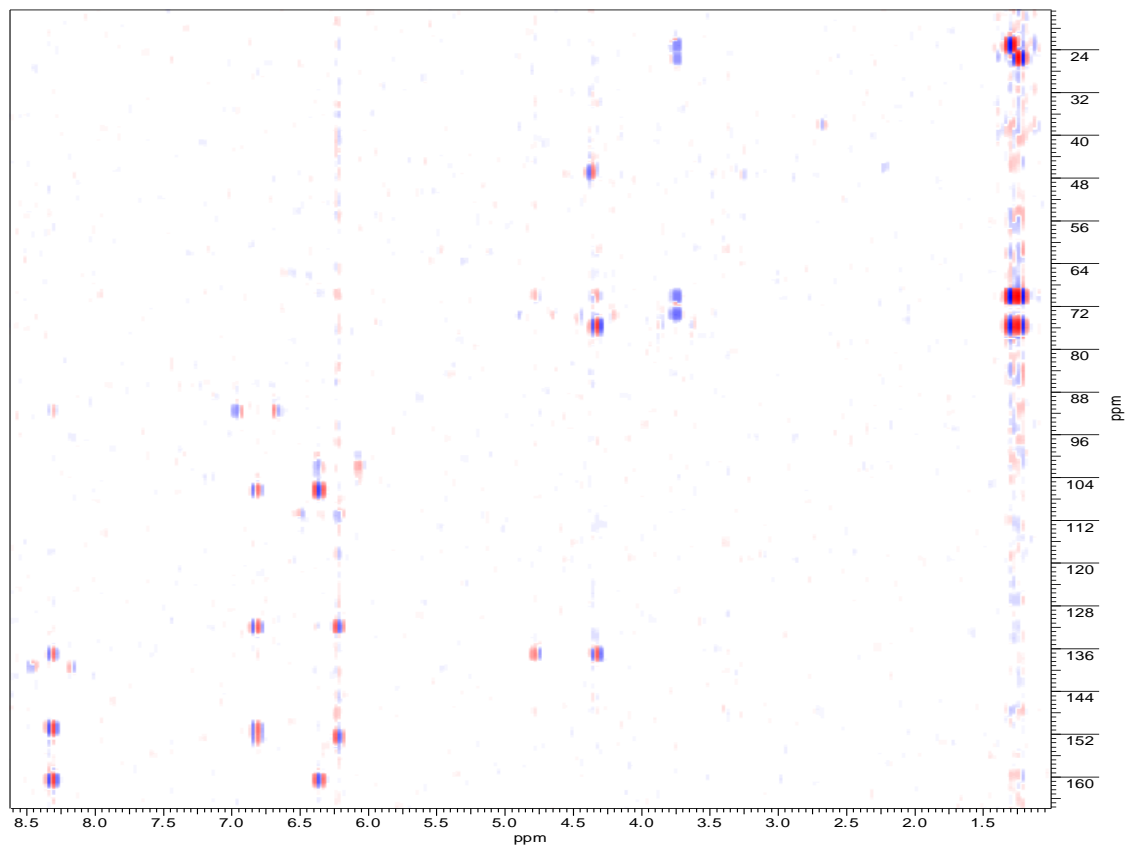
Espectro 81: DEPT 135 da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina
(amostra H).



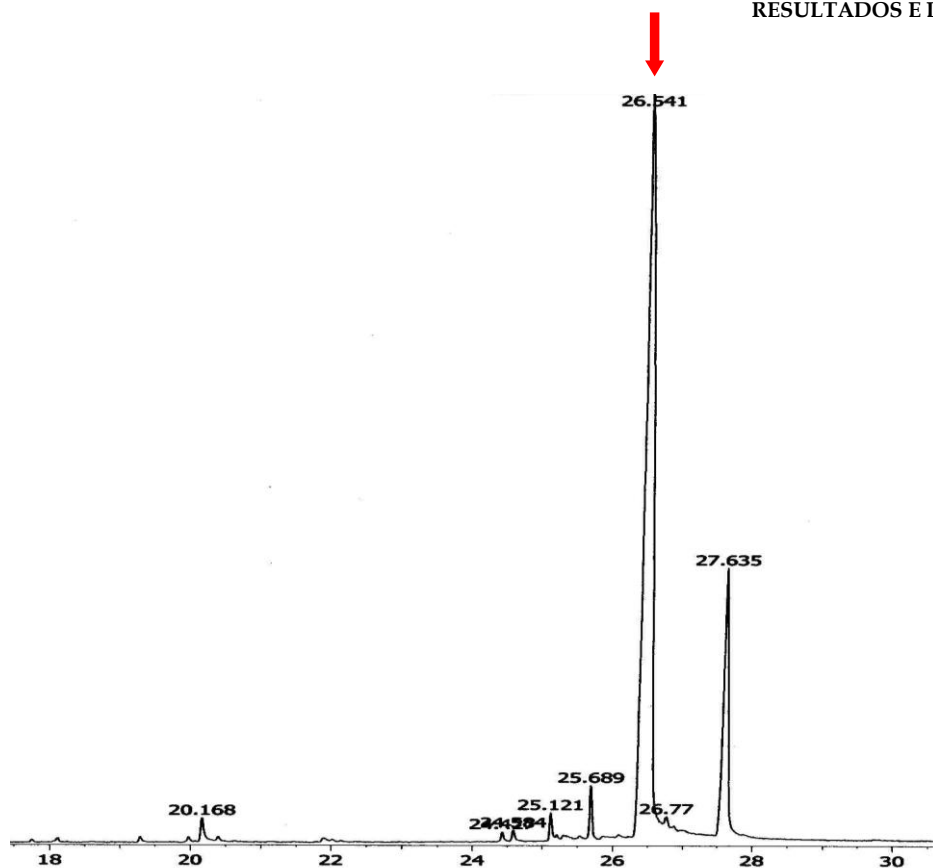
Espectro 82: Espectro de correlação CoSy H-H da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra H).



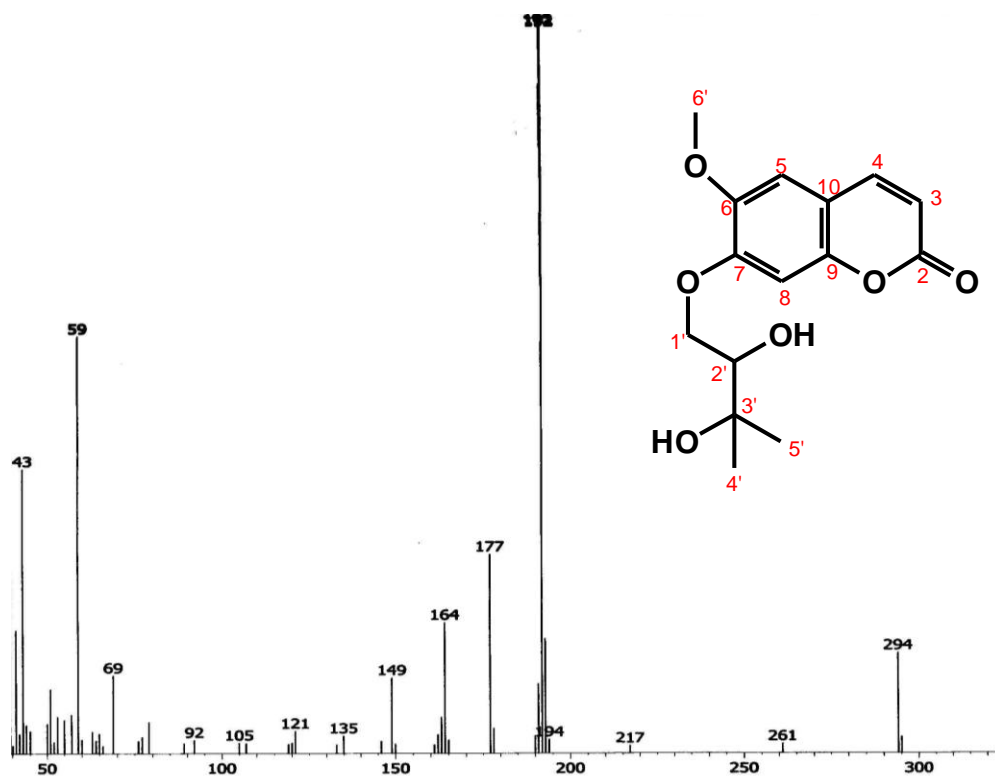
Espectro 83: Espectro de correlação HSQC da 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra H).



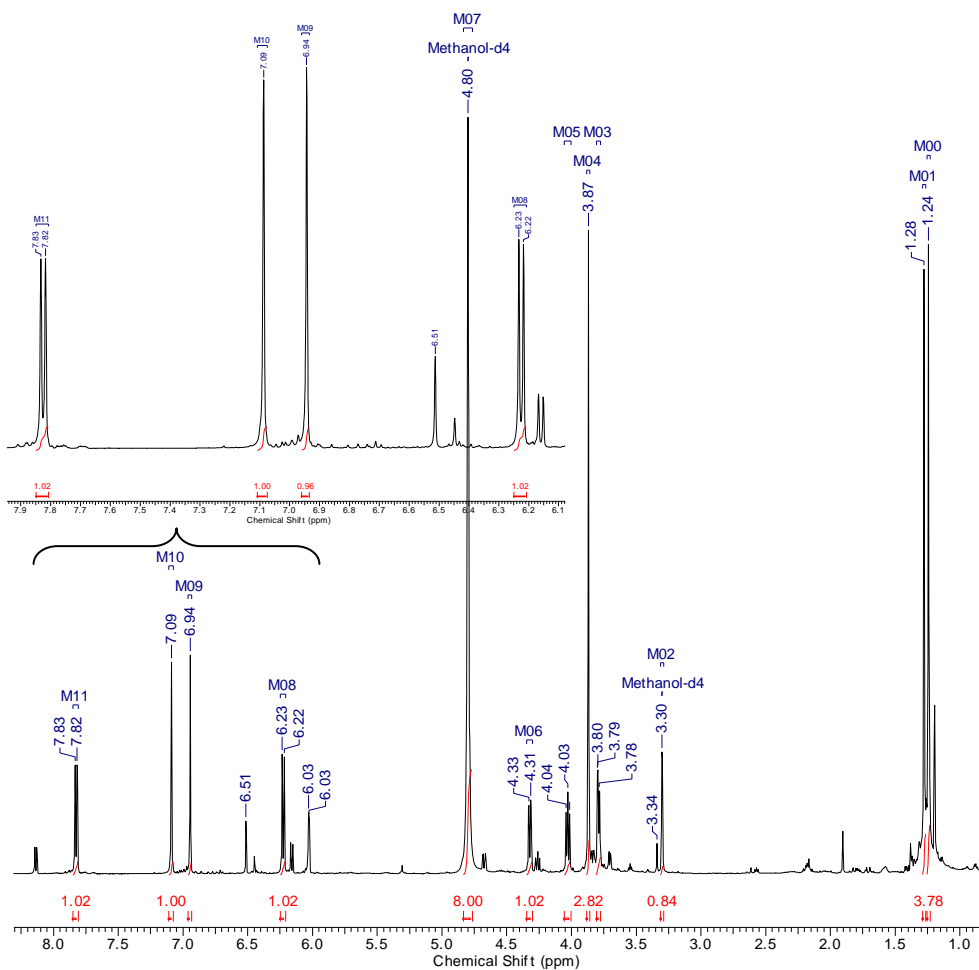
Espectro 84: Espectro de correlação HMBC da 5-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina (amostra H).



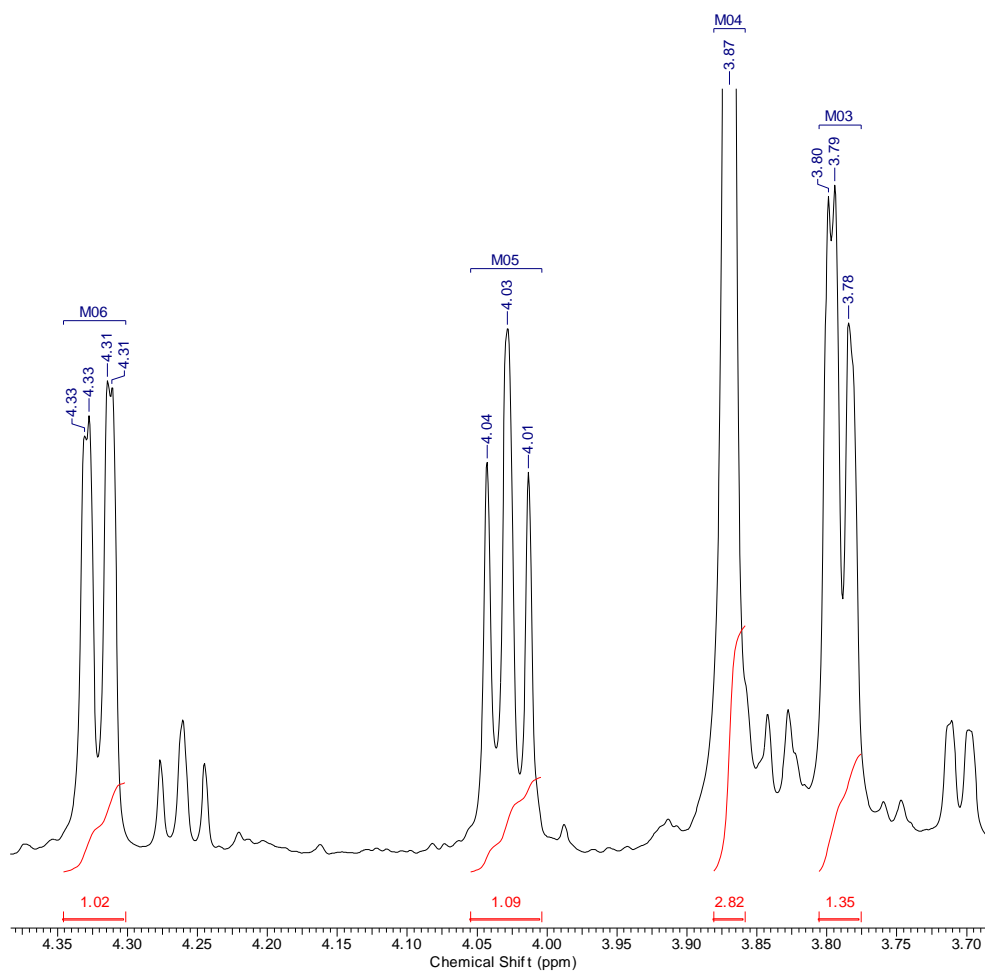
Cromatograma 14: Cromatograma da amostra I obtida da fração em acetato de etila do extrato das partes aéreas de *P. alopecuroides*.



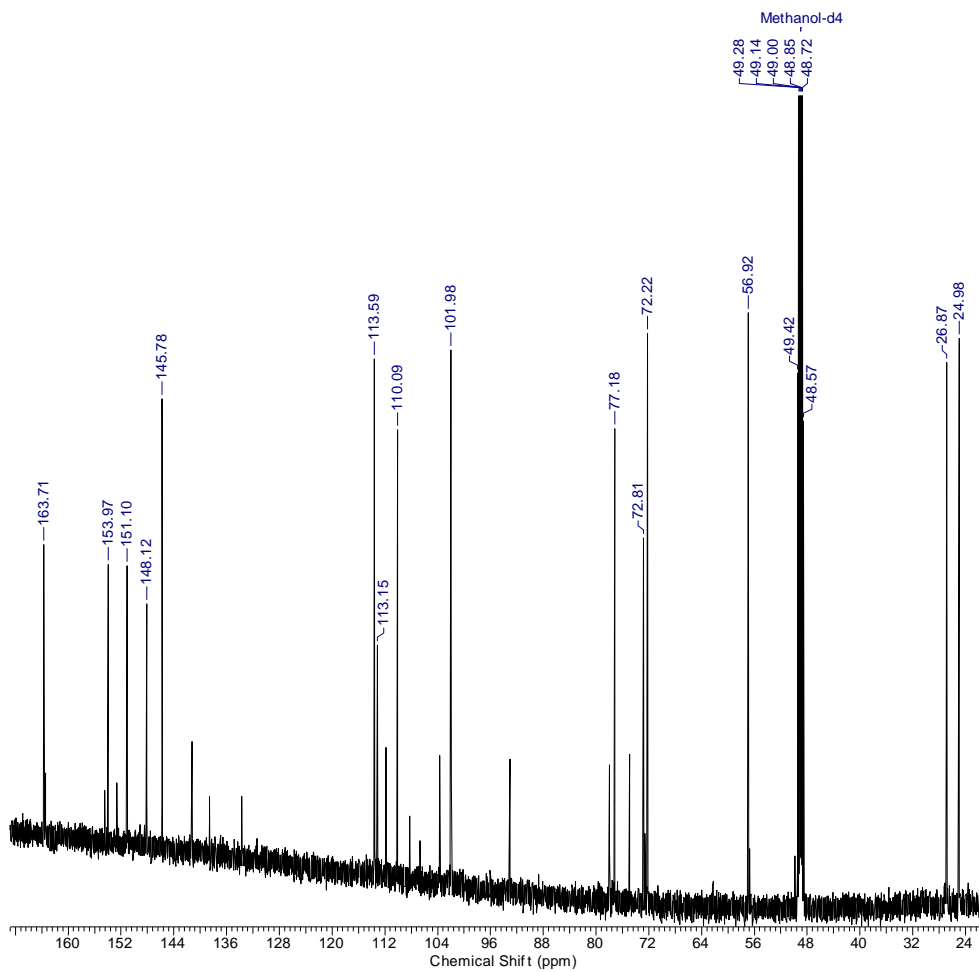
Espectro 85: Espectro de massas da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (TR 26,54 minutos amostra I).



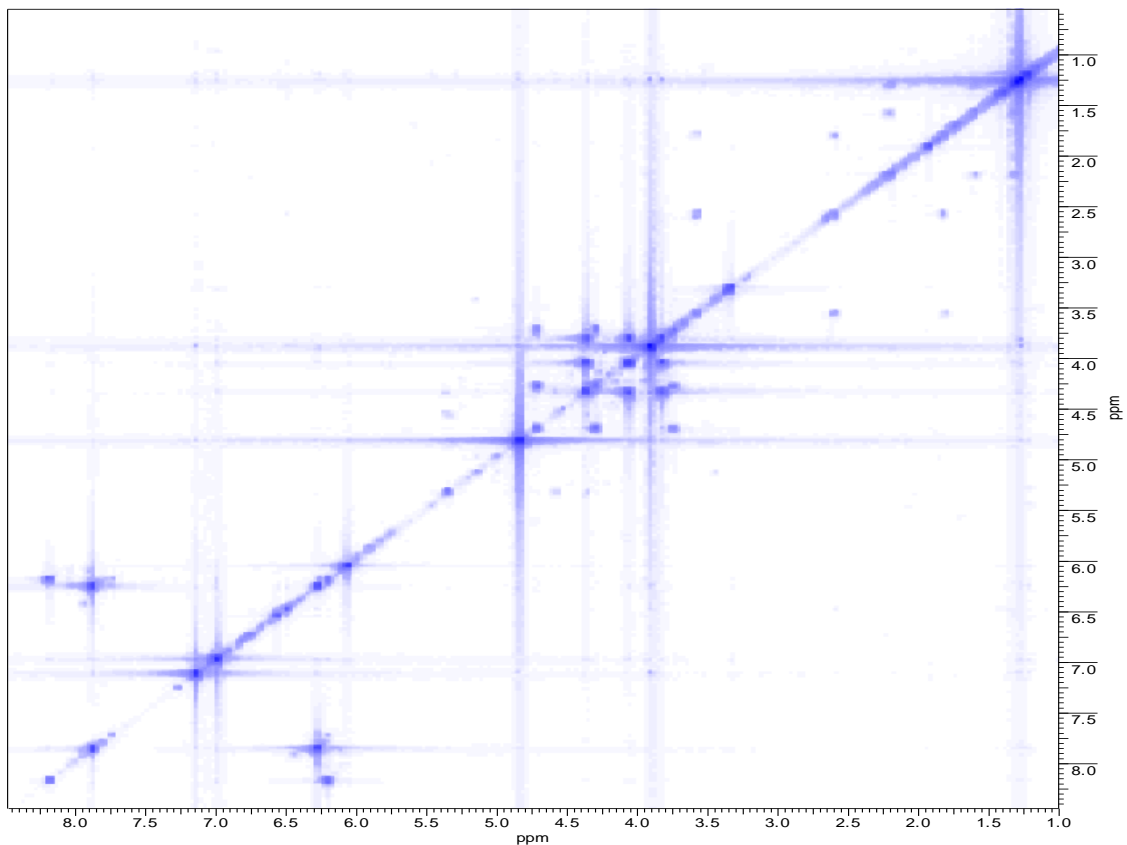
Espectro 86: Espectro de RMN ¹H da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).



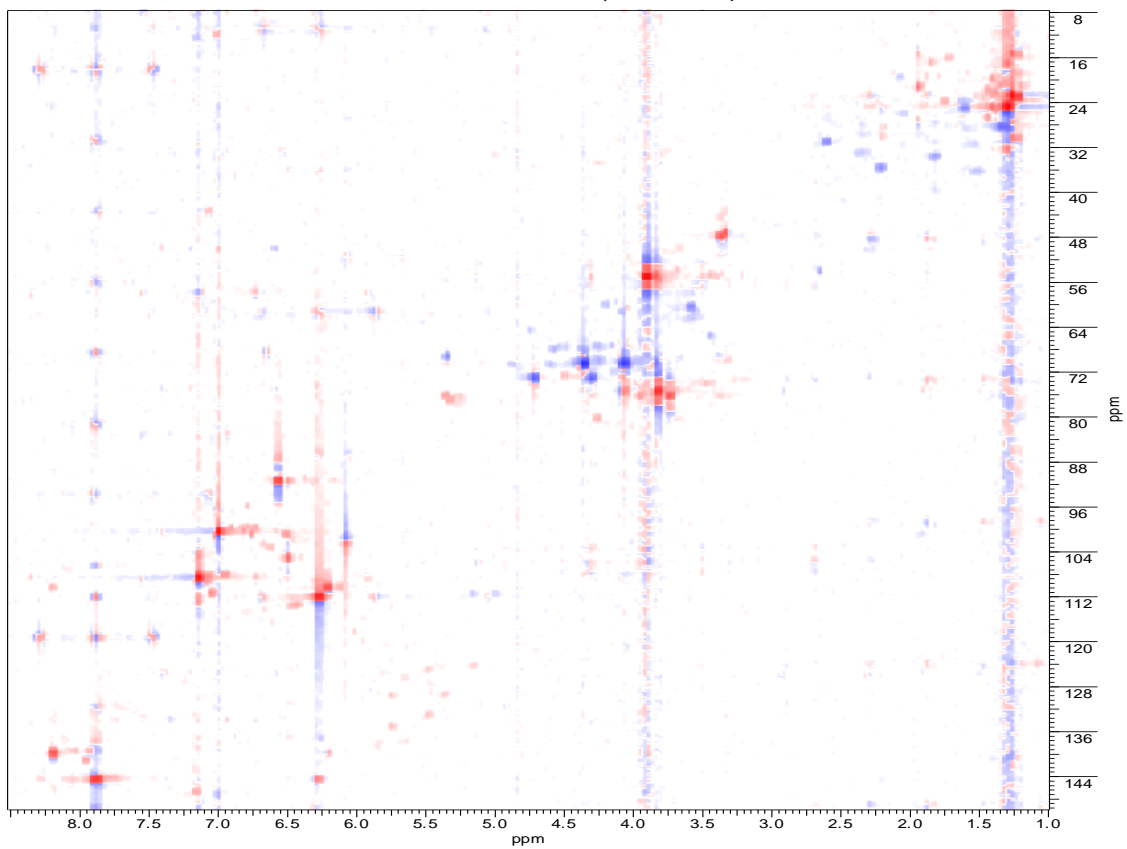
Espectro 87: Expansão do espectro de RMN ^1H da 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).



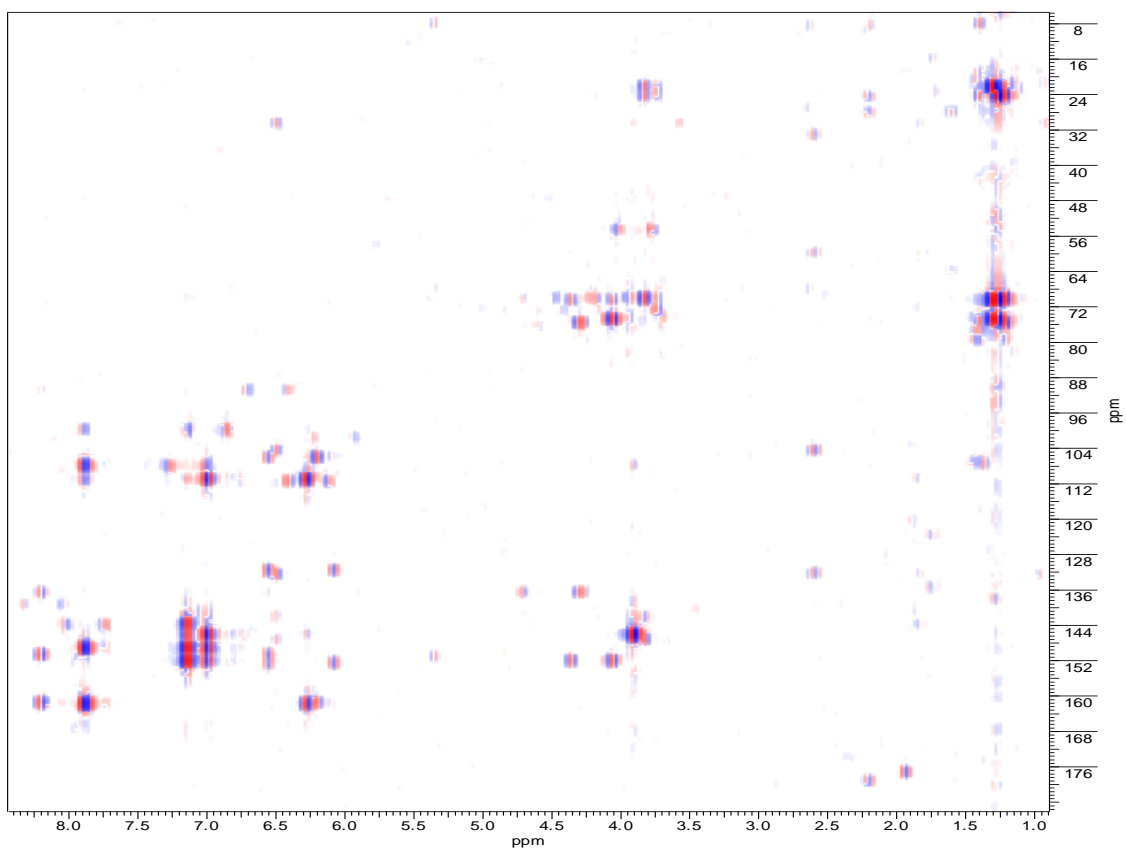
Espectro 88: Espectro de RMN ^{13}C da 7-(2',3'-Dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).



Espectro 89: Espectro de correlação CoSy H-H da 7-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).



Espectro 90: Espectro de correlação HSQC da 7-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).



Espectro 91: Espectro de correlação HMBC da 7-(2',3'-Diidroxil-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra I).

ENSAIOS FARMACOLÓGICOS

Ensaio químico:

Atividade antioxidante

Foram avaliados os extratos etanólicos totais das flores e dos caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides*, assim como também foram testadas as suas respectivas frações em diclorometano, acetato de etila, *n*-butanol e o resíduo aquoso.

O ensaio de atividade antioxidante realizado demonstrou intensa atividade das frações em acetato de etila de *B. segetum* e *P. alopecuroides*, de um modo geral. Os extratos etanólicos totais dos caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P.*

alopecuroides apresentaram ótimo IAA, provavelmente devido aos constituintes encontrados em suas respectivas frações em butanol e em acetato de etila. Todavia, o extrato etanólico das flores de *B. segetum* apresentou atividade antioxidante fraca, apesar do excelente IAA de suas frações em acetato de etila e em diclorometano, o que pode ter sido causado pela ação antagônica de constituintes da fração em butanol e resíduo aquoso, além da menor concentração das substâncias no extrato bruto. Apenas a fração em diclorometano de *P. alopecuroides*, a fração em diclorometano dos caules e folhas de *B. segetum*, o extrato etanólico das flores de *B. segetum* e sua fração em *n*-butanol apresentaram IAA menor do que o do padrão de *Ginkgo biloba*. O melhor IAA obtido foi o da fração em acetato de etila de flores de *B. segetum*, porém, até o momento, esse extrato não teve sua composição química desvendada (Tabela XI, pág. 164; Gráfico 1, pág. 165; Gráfico 2, pág. 166; Gráfico 3, pág., 167).

Como citado anteriormente (ver pág. 27 e 28), a presença de substituintes pode influenciar a atividade antioxidante de cumarinas e flavonóides. Essa informação vai ao encontro dos dados mostrados nesse estudo, como pode ser observado ao se analisar os resultados obtidos para: a fração em diclorometano de flores de *B. segetum*, na qual identificou-se uma cumarina simples com substituintes hidroxila em 6 e 7, que obteve forte atividade antioxidante; a fração em diclorometano de *P. alopecuroides*, na qual a presença de cumarinas substituídas nas posições 6 e 7 por grupos metilenodioxílicos não mostrou aumento de atividade; a fração em acetato de etila de *P. alopecuroides*, que apresentou alto IAA provavelmente devido à presença da quercetina (hidroxila nos anéis A e B, com ligação dupla nas posições 2,3 e grupo hidroxila na posição 3 do anel C) e não pela presença de cumarinas substituídas nas posições 6 e 7.

Tabela XI: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de flores de *B. segetum* (EFBS) e suas frações em *n*-Butanol (BFBS), Acetato de etila (AEFBS) e Diclorometano (DFBS); do extrato etanólico de caules/folhas de *B. segetum* (BSLSEE) e suas frações em *n*- Butanol (BCFBS), Acetato de etila (AECFBS) e Diclorometano (DCFBS); do extrato etanólico de *P. alopecuroides* (EPA) e suas frações em *n*- Butanol (BPA), Acetato de etila (AEPA) e Diclorometano (DPA) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle.

Amostras	Atividade Antioxidante (%) ± Erro padrão						CE50 µg/ml	IAA
	5 µg/ml	10 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	125 µg/ml	250 µg/ml		
EFBS	4,04±0,59	8,32±1,38	18,13±2,55	28,58±2,73	68,25±1,36	91,51±0,49	84,97	0,40
BFBS	2,19±0,85	10,36±0,50	25,31±0,59	54,40±0,72	90,30±0,36	93,68±0,46	51,72	0,65
AEFBS	28,48±0,56	52,54±0,39	89,05±0,22	92,21±0,02	93,88±0,13	94,07±0,14	7,67	4,40
DFBS	14,56±0,60	22,22±0,58	40,93±0,93	70,20±1,00	90,47±0,80	93,56±0,14	27,95	1,21
ECFBS	11,70±1,64	23,57±1,30	53,17±0,77	82,97±0,71	88,20±0,40	89,74±0,73	24,36	1,38
BCFBS	25,93±0,32	30,01±0,89	65,40±1,19	92,85±0,02	94,67±0,17	95,30±0,28	15,14	2,23
AECFBS	17,92±1,39	33,94±0,81	75,39±2,62	92,64±0,12	94,15±0,10	94,62±0,08	14,89	2,26
DCFBS	0,10±0,08	4,63±0,95	15,32±0,81	33,49±0,94	77,60±0,29	90,65±0,11	72,11	0,47
EPA	21,34±0,33	31,42±0,64	55,18±2,97	85,52±0,27	89,25±0,23	90,42±0,35	19,06	1,77
BPA	14,06±0,79	29,44±0,71	70,08±0,20	90,88±0,21	92,79±0,12	93,77±0,18	17,71	1,90
AEPA	16,55±0,48	28,51±0,02	60,36±0,65	90,06±0,29	93,80±0,12	94,49±0,08	18,81	1,79
DPA	6,63±0,42	9,04±0,55	14,16±0,36	22,48±0,33	45,30±0,41	71,64±0,38	140,41	0,24
EGb 761	4,15±0,38	10,53±0,51	28,32±0,43	57,81±0,53	90,47±0,62	95,73±0,33	49,79	0,68

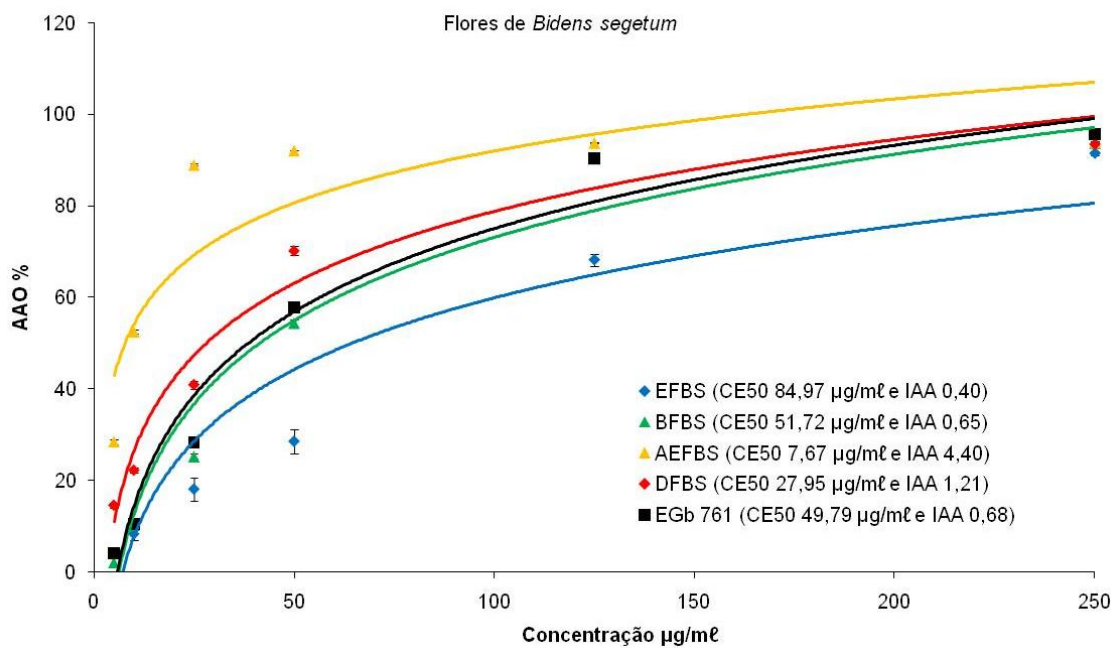


Gráfico 1: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de flores de *B. segetum* (EFBS) e suas frações em *n*-Butanol (BFBS), Acetato de etila (AEFBS) e Diclorometano (DFBS) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle.

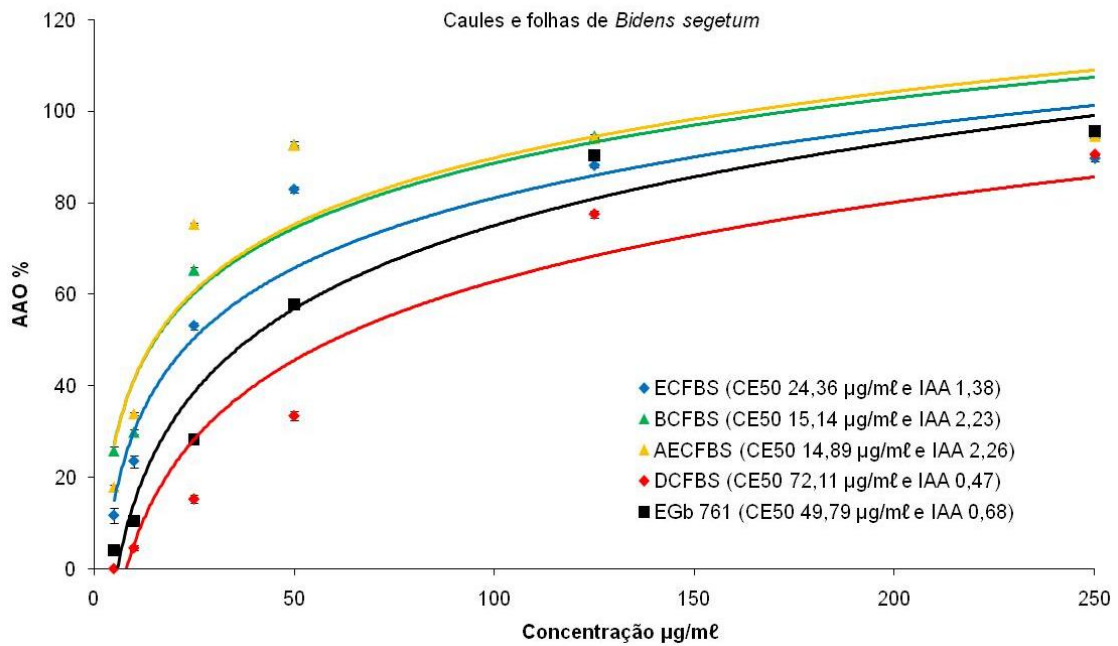


Gráfico 2: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de caules/folhas de *B. segetum* (BSLSEE) e suas frações em *n*- Butanol (BCFBS), Acetato de etila (AECFBS) e Diclorometano (DCFBS) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle.

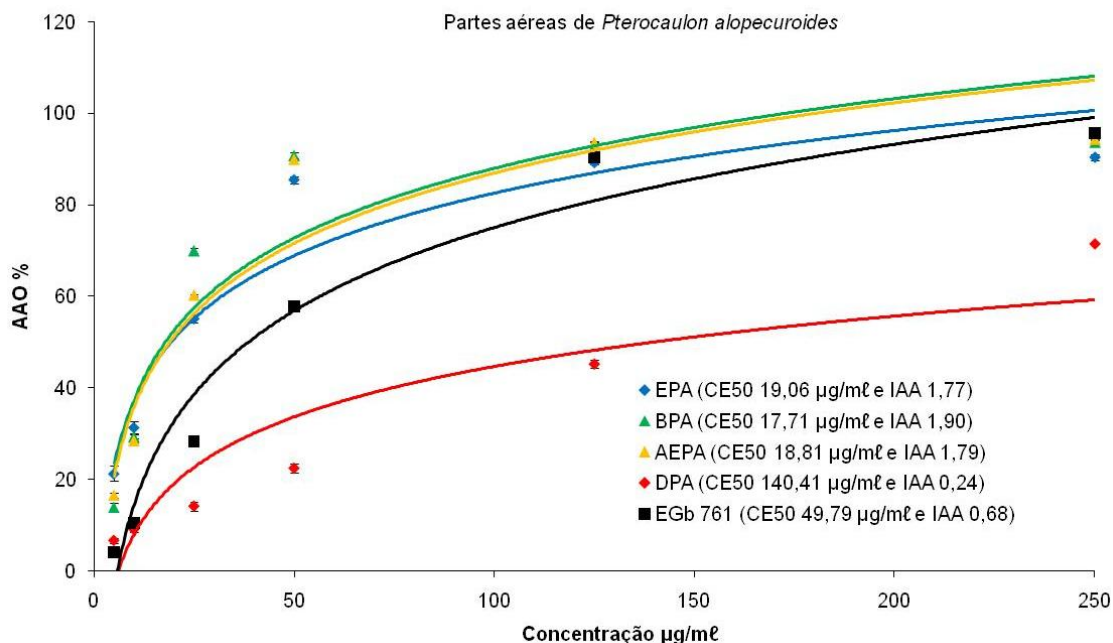


Gráfico 3: Percentual de atividade antioxidante, CE50 e índice de atividade antioxidante (IAA) do extrato etanólico de *P. alopecuroides* (EPA) e suas frações em *n*-Butanol (BPA), Acetato de etila (AEPA) e Diclorometano (DPA) e do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761 usado como controle.

Ensaio biológicos:

Atividade antimicrobiana

Neste ensaio foram avaliados os extratos etanólicos das flores e dos caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides*, bem como suas respectivas frações em hexano, diclorometano, acetato de etila, butanol e resíduo aquoso. As amostras foram testadas frente às cepas de fungos *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *Fonsecaea pedrosoi*, e de bactérias *Staphylococcus aureus* MRSA e *Staphylococcus aureus* ATCC.

Nenhum dos extratos testados foi capaz de inibir as cepas utilizadas neste estudo pela metodologia empregada. Houve formação de um halo de inibição muito pequeno nos testes realizados com a fração em diclorometano das flores de *B. segetum*, com o extrato etanólico de *P. alopecuroides* e sua fração em acetato de etila, frente às cepas

de *S. aureus* MRSA e *T. rubrum*, e ainda frente à cepa de *C. albicans* (apenas para a fração em acetato de etila de *P. alopecuroides*).

A discreta formação de halo de inibição nos extratos de *P. alopecuroides*, ricos em cumarinas, pode indicar uma ação sinérgica dessas substâncias, não acentuada por sofrer interferência dos demais constituintes dos extratos. Além das cumarinas, outras substâncias presentes nos extratos de *Pterocaulon alopecuroides*, como flavonóides e terpenóides, poderiam estar contribuindo para essa pequena atividade. Outros ensaios deverão ser realizados com a finalidade de avaliar a atividade antimicrobiana das cumarinas isoladas e/ou de misturas de cumarinas.

A formação de pequeno halo de inibição para as cepas de *S. aureus* MRSA e *T. rubrum* nos ensaios com a fração em diclorometano das flores de *B. segetum*, na qual foi identificada uma cumarina 6,7-diidroxilada, parece estar de acordo com estudos relacionados à estrutura-atividade de cumarinas (ver pág. 29). Entretanto, outros testes deverão ser realizados com a cumarina isolada.

Atividade antiviral

A atividade antiviral dos extratos etanólicos das flores e de caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides* foi avaliada contra os vírus herpes simplex e adenovírus. Também testou-se a atividade da cumarina isolada da fração em acetato de etila de *P. alopecuroides*, 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina (amostra E), apenas frente ao vírus herpes simplex.

Nenhum dos extratos etanólicos totais de *B. segetum* apresentou atividade significativa contra os vírus herpes simplex ou adenovírus. O extrato etanólico total de *P. alopecuroides* também não demonstrou atividade inibitória significativa contra o vírus herpes simplex tipo 1 resistente ao aciclovir (HSV-1-ACVr) e contra o adenovírus 19. Entretanto, esse extrato mostrou-se levemente ativo contra o vírus herpes simplex tipo 2 resistente ao aciclovir (HSV-2-ACVr) com um percentual de inibição maior do

que 70% (Tabela XII, pág. 170). De acordo com esses resultados, a cumarina isolada (amostra E) foi testada nas mesmas condições, mostrando um índice de inibição viral contra HSV-2-ACVr quase duas vezes maior do que o obtido para o extrato de *P. alopecuroides*. A cumarina, isolada da fração em acetato de etila de *P. alopecuroides*, também foi ativa contra HSV-1-ACVr. A ausência de atividade inibitória contra HSV-1-ACVr no extrato etanólico de *P. alopecuroides* pode ser devido ao baixo conteúdo de substâncias ativas no extrato total e/ou à interferência de outros constituintes do extrato.

Esses resultados trazem evidências da importância de *P. alopecuroides* no tratamento de herpes simplex. *Pterocaulon sphacelatum* possui atividade antiviral, o que sugere que outras espécies do gênero *Pterocaulon* também podem ter atividade inibitória. Cumarinas também já foram relacionadas à atividade de inibição viral (ver pág. 31). Os resultados aqui apresentados sugerem que a 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina pode ser uma das substâncias responsáveis pela atividade inibitória contra o vírus herpes simplex. Outros ensaios serão realizados buscando-se elucidar o mecanismo de ação da 7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina contra o vírus herpes simplex.

Tabela XII: Concentração Máxima Não Tóxica (CMNT), Índice de Inibição Viral (IIV) e Porcentagem de Inibição (PI) para extrato etanólico de *Pterocaulon alopecuroides*, extratos etanólicos de *Bidens segetum* e para a cumarina isolada (amostra E), contra o vírus herpes simplex tipos 1 e 2 e contra adenovírus 19.

Amostras	Herpes					Conjuntivite		
	CMNT	HSV-1-ACVr		HSV-2-ACVr		CMNT	Adenovírus 19	
	µg/ml	IIV	PI	IIV	PI	µg/ml	IIV	PI
Extrato etanólico de <i>P. alopecuroides</i>	200	0	0	0,65	77,6	100	0,13	25,9
Extrato etanólico de caules/folhas de <i>B. segetum</i>	200	0	0	0	0	50	0,25	43,8
Extrato etanólico de flores de <i>B. segetum</i>	200	0	0	0,15	29,2	100	0	0
7-(2',3'-Diidroxí-3'-metilbutíloxi)-6-metoxicumarina	100	0,8	84,1	1,24	94,2	-----	-----	-----

Atividade hipoglicemiante

Foram testados os extratos etanólicos totais de flores e de caules/folhas de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides*, solubilizados em solução aquosa de DMSO a 20%.

Nos testes realizados todos os extratos apresentaram resultados significativos ($p < 0,05$) a partir de 2 horas após administração dos extratos em pelo menos uma das doses testadas (Tabela XIII, pág. 171). Os grupos controle H₂O destilada e DMSO só apresentaram diminuição significativa da glicemia após 6 horas, obviamente devido ao jejum prolongado dos camundongos normoglicêmicos.

Tabela XIII: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), nas doses de 50mg/kg, 100mg/kg e 200mg/kg sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

	Tempo	0 h	2 h	4 h	6 h
	Controle	H ₂ O	93,5 \pm 2,3	93,5 \pm 4,0	84,3 \pm 3,3
DMSO		101,3 \pm 6,8	94,7 \pm 6,0	81,0 \pm 6,5	61,8 \pm 3,9***
50 mg/kg	FB	102,3 \pm 2,0	96,5 \pm 1,9	91,2 \pm 2,7*	73,3 \pm 3,2***
	CB	98,8 \pm 2,4	90,7 \pm 1,1	87,2 \pm 2,3**	60,2 \pm 2,9***
	P	95,5 \pm 2,0	81,7 \pm 2,7**	66,3 \pm 2,3***	50,2 \pm 1,9***
100 mg/kg	FB	73,7 \pm 4,1	59,0 \pm 2,6*	52,2 \pm 4,0***	47,5 \pm 2,0***
	CB	87,8 \pm 3,0	62,8 \pm 2,6***	56,5 \pm 0,9***	47,0 \pm 1,2***
	P	103,8 \pm 3,6	70,8 \pm 4,7***	66,0 \pm 4,5***	46,3 \pm 3,2***
200 mg/kg	FB	90,3 \pm 3,8	71,0 \pm 3,1**	57,5 \pm 5,4***	49,2 \pm 3,4***
	CB	110,5 \pm 4,4	85,2 \pm 3,2***	58,2 \pm 3,2***	49,0 \pm 3,8***
	P	89,8 \pm 3,4	77,3 \pm 2,4	79,2 \pm 4,1	60,8 \pm 4,1***

O extrato etanólico das partes aéreas de *P. alopecuroides* apresentou a melhor atividade hipoglicemiante nas doses de 50mg/kg e 100mg/kg, pois os resultados foram muito significativos (p<0,01) a partir de duas horas após a administração do extrato e os percentuais de redução da glicemia após 6 horas foram maiores do que os dos grupos controle (Gráfico 4, pág. 172; Gráfico 5, pág. 173). Esses percentuais foram de 47,4% para a dose de 50mg/kg e 55,4% para a dose de 100mg/kg. Todavia, o aumento da dose para 200mg/kg provocou uma diminuição do efeito hipoglicemiante.

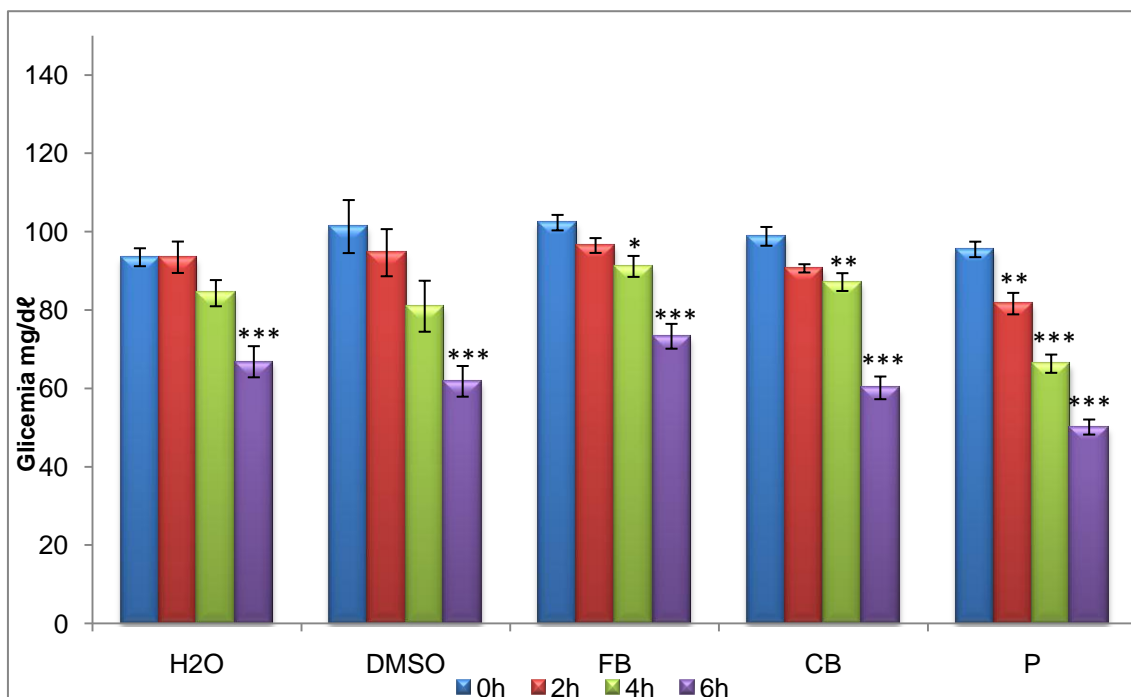


Gráfico 4: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), na dose de 50mg/kg, sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

O extrato etanólico de caules/folhas de *B. segetum* apresentou a melhor atividade hipoglicemiante na dose de 200mg/kg, pois os resultados foram extremamente significativos ($p < 0,001$) já a partir de duas horas após a administração do extrato (Gráfico 6, pág. 174). A diminuição da glicemia foi diretamente proporcional à dose administrada, com percentuais de redução de 39,1%, 46,5% e 55,7% para as doses de 50mg/kg, 100mg/kg e 200mg/kg, respectivamente, após 6 horas. Esse perfil também foi observado para o extrato das flores de *B. segetum*, cujos percentuais de redução da glicemia após 6 horas foram de 28,3% (50mg/kg), 35,5% (100mg/kg) e 45,5% (200mg/kg).

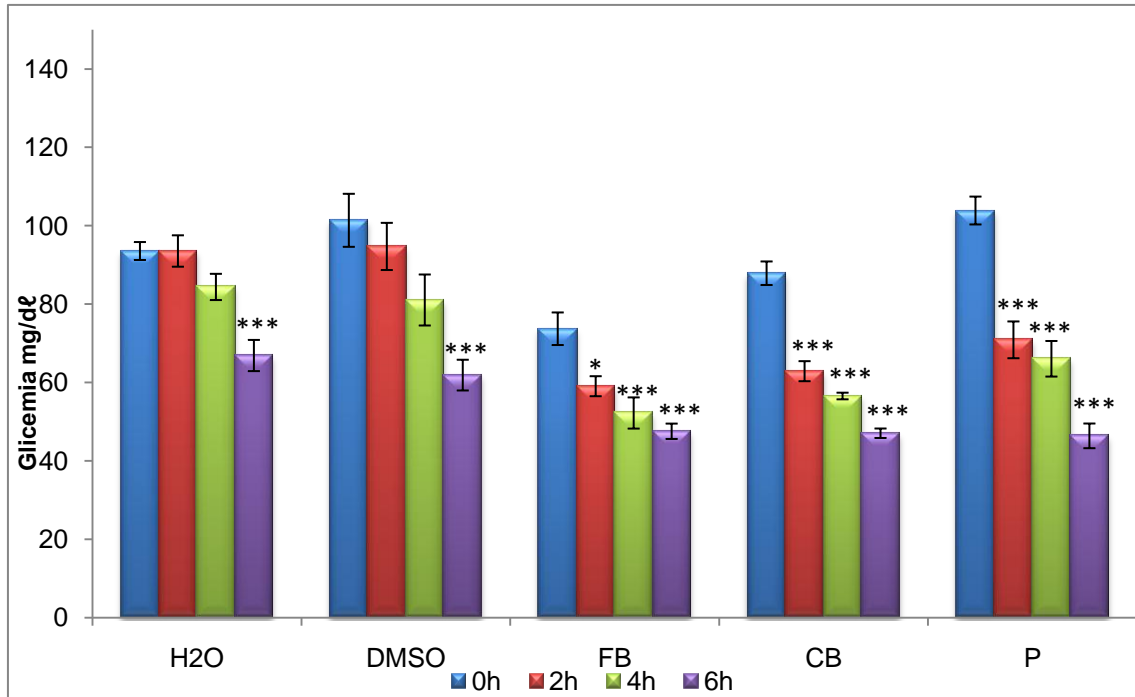


Gráfico 5: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), na dose de 100mg/kg, sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

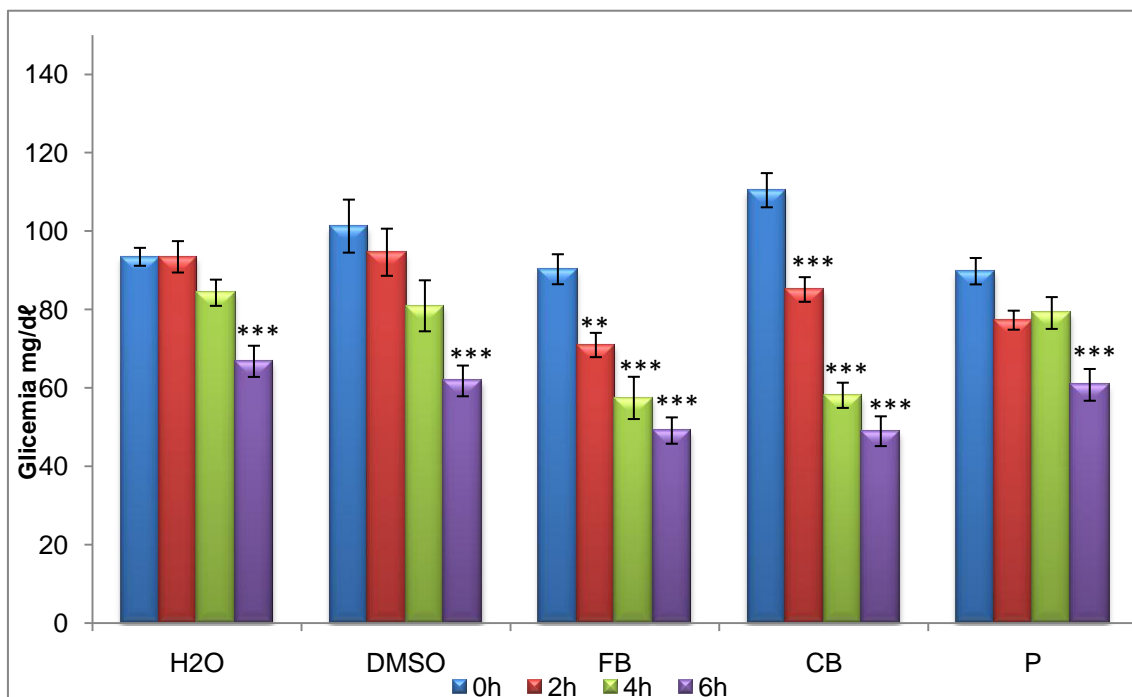


Gráfico 6: Efeito dos extratos etanólicos totais de flores (FB) e de caules/folhas de *B. segetum* (CB) e das partes aéreas de *P. alopecuroides* (P), na dose de 200mg/kg, sobre a glicemia (mg/dl) de camundongos. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão (n = 8). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Esse estudo preliminar indicou que os extratos das flores, das folhas/caules de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides* exercem efeito hipoglicemiante significativo em camundongos normoglicêmicos. A magnitude dessa redução da glicemia mostrou-se dependente da dose, embora tenha ocorrido diminuição da atividade hipoglicemiante apenas do extrato de *P. alopecuroides* na dose de 200mg/kg. Diferentes mecanismos de redução dos níveis de glicose no sangue já foram identificados em plantas (SYIEM *et al.*, 2002). Uma investigação química e farmacológica mais aprofundada deverá ser realizada com o intuito de elucidar o mecanismo de ação e isolar e identificar os princípios ativos dos extratos das duas espécies de Asteraceae.

Ensaio de citotoxicidade

Foram testados os extratos etanólicos das flores e de caules/folhas de *B. segetum* ou das partes aéreas de *P. alopecuroides* na concentração de 100µg/ml em DMSO para avaliação da atividade citotóxica.

Todos os três extratos testados apresentaram grande efeito citotóxico frente a células carcinogênicas. O extrato das flores de *B. segetum* e o extrato de *P. alopecuroides* mostraram atividades muito próximas a do controle positivo Triton X e cerca de 30% maiores do que a atividade do padrão de terfenadina. Esses resultados oferecem evidências de que os extratos de *B. segetum* e *P. alopecuroides* podem desempenhar papel importante nas pesquisas sobre tratamento do câncer e as frações dos extratos dessas duas espécies também necessitam ser avaliadas (Tabela XIV, pág. 176).

Outras espécies do gênero *Pterocaulon* já foram testadas com sucesso em ensaios de atividade citotóxica e de inibição tumoral (ver pág. 33 e 34), entretanto, este parece ser o primeiro registro de atividade citotóxica de espécie do gênero *Bidens*.

Tabela XIV: Efeito citotóxico (EC) de extratos etanólicos de *Pterocaulon alopecuroides* e *Bidens segetum*.

Conteúdo dos poços	Branco	Controle negativo	Controle positivo	Amostras (200 µℓ cada)	EC (%)
Meio de cultura DMEM + 1% (p/v) BSA	200µℓ	100µℓ	-----	-----	-----
Mastócitos NRL-2H3	-----	100µℓ	100µℓ	100µℓ	0
Solução Triton-X (2% em meio de cultura)	-----	-----	100µℓ	-----	100
Extrato etanólico de <i>P. alopecuroides</i> (100 µg/ml em DMSO)	-----	-----	-----	100µℓ	96,26
Extrato etanólico de flores de <i>B. segetum</i> (100 µg/ml em DMSO)	-----	-----	-----	100µℓ	98,79
Extrato etanólico de caules/folhas de <i>B. segetum</i> (100 µg/ml em DMSO)	-----	-----	-----	100µℓ	90,16
Padrão de Terfenadina 100mM em DMSO	-----	-----	-----	100µℓ	66,43

CONCLUSÕES

✓ O estudo químico de *Bidens segetum* evidenciou a presença de 6,7-Diidroxicumarina, sendo esta a primeira descrição dessa cumarina em espécie do gênero *Bidens*.

✓ O estudo químico de *P. alopecuroides* evidenciou a presença das cumarinas 5-(3'-Metil-2',3'-epoxibutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina, 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutil)-6,7-metilenodioxycumarina, e 5-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxycumarina, sendo esta a primeira descrição dessas cumarinas para essa espécie.

✓ Os ensaios de atividade antioxidante sugerem que cumarinas 6,7-diidroxiladas e flavonóides hidroxilados nos anéis A e B, com ligação dupla nas posições 2,3 e grupo hidroxila na posição 3 do anel C são os principais responsáveis pela atividade dos extratos testados.

✓ Nos ensaios de atividade antimicrobiana, a formação de pequeno halo de inibição para os extratos de *P. alopecuroides* e *B. segetum* pode estar relacionada à presença de cumarinas, flavonóides e terpenóides, cuja atividade estaria sendo inibida por interferência dos demais constituintes dos extratos.

✓ Os resultados dos testes de atividade antiviral sugerem que a 7-(2',3'-Diidroxi-3'-metilbutiloxi)-6-metoxicumarina pode ser uma das substâncias responsáveis pela atividade inibitória de *P. alopecuroides* contra o vírus herpes simplex.

✓ O estudo de atividade hipoglicemiante indicou que os extratos das flores e das folhas/caules de *B. segetum* e das partes aéreas de *P. alopecuroides* exercem efeito

hipoglicemiante significativo e a magnitude desse efeito é diretamente proporcional à dose administrada.

✓ Os resultados dos ensaios de atividade citotóxica oferecem evidências de que os extratos de *B. segetum* e *P. alopecuroides* podem desempenhar papel importante nas pesquisas sobre tratamento do câncer, sendo este o primeiro registro de atividade citotóxica de espécie do gênero *Bidens*.

✓ Finalmente, pode-se concluir que ambas as espécies de Asteraceae podem vir a ser investigados mais intensamente quanto ao seu perfil químico e farmacológico, visando sua utilização principalmente no tratamento da herpes simplex e da diabetes, e ainda como potencial agente para tratamento de câncer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAJO, C.; BOFFILL, M.Á.; CAMPOA, J.; MÉNDEZA, M.A.; GONZÁLEZ, Y.; MITJANS, M. & VINARDELL, M.P. In vitro study of the antioxidant and immunomodulatory activity of aqueous infusion of *Bidens pilosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 319–323. 2004.

ABU-AMSHA, R.; BURKE, V.; MORI, T.A.; BEILIN, L.J.; PUDDEY, I.B. & CROFT, K.D. Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects. *Free Radic Biol Med*, **30**, 636-642. 2001.

ALVARENGA, S.A.V.; FERREIRA, M.J.P.; EMERENCIANO, V.P. & CABROL-BASS, D. Chemosystematic studies of natural compounds isolated from Asteraceae: characterization of tribes by principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **56**, 27–37. 2001.

ALVAREZ, A.; POMAR, F.; SEVILLA, M.A. & MONTERO, M.J. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. *Journal of Ethnopharmacology*, **67**, 333–340. 1999.

AOKI, K.; ISHIWATA, S.; SAKAGAMI, H.; KUSAMA, K. & KATAYAMA, T. Modification of apoptosis-inducing activity of gallic acid by saliva. *Anticancer Res*, **21**, 1879-1883. 2001.

ARCE, L.; RIOS, A. & VOLCARCEL, M. Determination of Heterocyclic Aromatic Amines in Fried Beefsteak, Meat Extract, and Fish by Capillary Zone. *J.Chromatogr.*, **827**, 113-120. 1998.

AVANCINI, C.A.M. Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas do sul do Brasil. *Tese de doutorado*, Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 2002. *Apud* STEIN, A.C.; SORTINO, M.; AVANCINI C.; ZACCHINO, S. & VON POSER, G. Ethnoveterinary medicine in the search for antimicrobial agents: Antifungal activity of some species of *Pterocaulon* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **99** (2), 211-214. 2005.

BARKLEY, T.M; BROUILLET, L. and STROTHER, J.L. Asteraceae. *Flora of North America*, **19-21**, 3-13. 2006.

BARR, A. Traditional bush medicines. An aboriginal Pharmacopoeia. *Greenhouse Publications*, Melbourne. 184. 1988. *Apud* MACLEOD, J.K. & RASMUSSEN, H.B. A hydroxy- β -caryophyllene from *Pterocaulon serrulatum*. *Phytochemistry*, **50** (1), 105-108. 1999.

BARR, A.; CHAPMAN, J.; SMITH, N.; WIGHTMAN, G.; KNIGHT, T.; MILLS, L.; ANDREWS, M. & ALEXANDER, V. Traditional aboriginal medicines in the Northern territory of Australia. Aboriginal communities of the Northern territory. *Conservation commission of the Northern territory*, Darwin. 1993.

BARROSO, G.M. Sistemática de Angiospermas do Brasil. *Viçosa: Imprensa Universitária*, **3**. 1991.

BAUER, R.; REDL, K. & DAVIS, B. Four polyacetylenes glucosides from *Bidens camphylotricha*. *Phytochemistry*, **31**, 2035-2037. 1992.

BEILLEROT, A.; DOMÍNGUEZ, J.C.R.; KIRSCH, G. & BAGREL, D. Synthesis and protective effects of coumarin derivatives against oxidative stress induced by doxorubicin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **18**, 1102-1105. 2008.

BERKE, G. Debate: the mechanism of lymphocyte-mediated killing. Lymphocyte-triggered internal target disintegration. *Immunol. Today*, **12**, 396. 1991.

BOHLMANN, F.; ABRAHAM, W.R.; KING, R.M. & ROBINSON, H. Thiophene acetylenes and flavanols from *Pterocaulon virgatum*. *Phytochemistry*, **20** (4), 825-827. 1981.

BORGES, F.; ROLEIRA, F.; MILHAZES, N.; SANTANA, L. & URIARTE, E. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. *Current Medicinal Chemistry*, **12**(8), 887-916. 2005.

BRAKO, L. & ZARUCCHI, J.L. Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*, **45**, 1-1286. 1993.

BRANDÃO, M.G.L; GRANDI, T.S.M.; ROCHA, E.M.M.; SAWYER, D.R. & KRETTLI, A.U. Survey of medicinal plants used as antimalarial in the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, **36**, 175-182. 1992 Apud BRANDÃO, M.G.L; KRETTLI, A.U.; SOARES, L.S.R; NERY, C.G.C & MARINUZZI, H.C. Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, **57**, 131-138. 1997.

BRANDÃO, M.G.L.; KRETTLI, A.U.; SOARES, L.S.R; NERY, C.G.C & MARINUZZI, H.C. Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, **57**, 131-138. 1997.

BRANDÃO, M.G.L; NERY, C.G.C.; MAMÃO, M.A.S. & KRETTLI, A.U. Two methoxylated flavones glycosides from *Bidens pilosa*. *Phytochemistry*, **48** (2), 397-399. 1998.

BURDA, S. & OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49** (6), 2774-2779. 2001.

CABRERA, A.L. Flora de la Provincia de Buenos Aires – Compositae. Parte IV-Compuestas Coleccion Cientifica del I.N.T.A. *Buenos Aires*, 139-140. 1963.

CABRERA, A.L. & RAGONESE, A.M. Revisión del género *Pterocaulon* (Compositae). *Darwiniana*, **21**(2-4), 185-257. 1978.

CAMARGO, M.E.M.; BERDEJA, B. & MIRANDA, G. Diuretic effect of the aqueous extract of *Bidens odorata* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, **95**, 363–366. 2004.

CARIBÉ, J. & CAMPOS, J.M. Plantas que ajudam o homem: Guia prático para a época atual. *Editora Cultrix*, **8ª edição**, 127. 2002.

CASTRO, L. & FREEMAN, B.A. Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, **17**(2), 163–165. 2001.

CHIANG, Y.M.; CHUANG, D.Y.; WANG, S.Y.; KUO, Y.H.; TSAI, P.W. & SHYUR, L.F. Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, **95**, 409-419. 2004.

COOK, J.A. & MITCHELL, J.B. Viability measurements in mammalian cell system. *Anal. Biochem.*, **179**, 1. 1989.

CORDELL, G.A.; BEECHER, C.W. & PEZZUTO, J.M. Can ethopharmacology contribute to development of new anticancer? *Journal of Ethnopharmacology*, **32**, 117–133. 1991.

CORRÊA, A.D.; BATISTA, R.S. & QUINTAS, L.E.M. Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica. *Editora Vozes*, **2ª. Edição**, Petrópolis, RJ, 170-171. 1998.

DA COSTA, F.B.; TERFLOTH, L. & GASTEIGER, J. Sesquiterpene lactone-based classification of three Asteraceae tribes: a study based on self-organizing neural networks applied to chemosystematics. *Phytochemistry*, **66**, 345–353. 2005.

DEBENEDETTI, S.L.; FERRARO, G.E. & COUSSIO, J.D. Flavonols isolated from *Pterocaulon virgatum* (L.). *Acta Farmaceutica Bonaerense*, **2**(1), 1-3. 1983.

DEBENEDETTI, S.L.; NADINIC, E.L.; GOMEZ, M.A. & COUSSIO, J.D. Polyphenols isolated from *Pterocaulon purpurascens*, I. 6-Hydroxyflavonoids. *Journal of Natural Products*, **50** (3), 512-513. 1987.

DEBENEDETTI, S.L.; NADINIC, E.L.; COUSSIO, J.D.; DE KIMPE, N.; DUPON, J.F. & DECLERQ, J.P. Purpureanol, a highly oxygenated coumarin from *Pterocaulon purpurascens*. *Phytochemistry*, **30** (8), 2757-2758. 1991.

DEBENEDETTI, S.L.; NADINIC, E.L.; GOMEZ, M.A.; COUSSIO, J.D.; DE KIMPE, N. & BOEYKENS, M. Purpurasol, a highly oxygenated coumarin from *Pterocaulon purpurascens*. *Phytochemistry*, **31** (9), 3284-3285. 1992.

DEBENEDETTI, S.L.; PALACIOS, P.S.; WILSON, E.G. & COUSSIO, J.D. HPLC analysis of caffeoylquinic acids contents in Argentine medicinal plants. *Acta Horticulturae*, **333**, 191-199. 1993.

DEBENEDETTI, S.L.; PALACIOS, P.S.; NADINIC, E.L.; COUSSIO, J.D.; DE KIMPE, N.; BOEYKENS, M.; DUPON, J.F. & DECLERQ, J.P. 5-(3'-Methyl-2'-butenyloxy)-6,7-methylenedioxy coumarin, a 5,6,7-trioxygenated coumarin from *Pterocaulon virgatum*. *Journal of Natural Products*, **57**(11), 1539-1542. 1994a.

DEBENEDETTI, S.L.; PALACIOS, P.S.; WILSON, E.G. & COUSSIO, J.D. Polyphenols of *Pterocaulon polystachium*. *Fitoterapia*, **65**(2), 188-189. 1994b.

DEBENEDETTI, S.L.; NADINIC, E.L.; GOMEZ, M.A.; COUSSIO, J.D.; DE KIMPE, N. & BOEYKENS, M. Purpurasolol, a highly oxygenated coumarin from *Pterocaulon purpurascens*. *Phytochemistry*, **42** (2), 563-564. 1996.

DEBENEDETTI, S.L.; DE KIMPE, N.; BOEYKENS, M.; COUSSIO, J.D. & KESTELEYN, B. Structural revision of four coumarins from *Pterocaulon* species. *Phytochemistry*, **45** (7), 1515-1517. 1997.

DEBENEDETTI, S.L.; NADINIC, E.L.; COUSSIO, J.D.; DE KIMPE, N. & BOEYKENS, M. Two 6,7-dioxygenated coumarins from *Pterocaulon virgatum*. *Phytochemistry*, **48** (4), 707-710. 1998.

DEBENEDETTI, S.L.; TEHRANI, K.A.; VAN PUYVELDE, L. & DE KIMPE, N. Isopurpurasol, a coumarin from *Pterocaulon virgatum*. *Phytochemistry*, **51** (5), 701-703. 1999.

DECKER, T. & LOHMANN-MATTHES, M.L. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *J. Immunol. Methods*, **15**, 61–69. 1988.

DIMO, T.; RAKOTONIRINA, S.; KAMGANG, R.; TAN, P.V.; KAMANYI, A. & BOPELET, M. Effects of leaf aqueous extract of *Bidens pilosa* (Asteraceae) on KCl- and norepinephrine-induced contractions of rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, **60**, 179-182. 1998.

DIMO, T.; NGUELEFACK, T.B.; KAMTCHOUING, P.; DONGO, E.; RAKOTONIRINA, A. & RAKOTONIRINA, S.V. Effets hypotensifs de l'extrait au méthanol de *Bidens pilosa* Linn chez les rats hypertendus. *Académie des sciences*, **322**, 323-329. 1999.

DIMO, T.; AZAY, J.; TAN, P.V.; PELLECUER, J.; CROS, G.; BOPELET, M. & SERRANO, J.J. Effects of the aqueous and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* leaf on fructose-hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **76**, 215-221. 2001.

DIMO, T.; RAKOTONIRINA, S.V.; TAN, P.V.; AZAY, J.; DONGO, E. & CROS, G. Leaf methanol extract of *Bidens pilosa* prevents and attenuates the hypertension induced by high-fructose diet in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **83**, 183-191. 2002.

ELDNA, P.; KALLERSJO, M. & ANDERBERG, A.A. Phylogenetic Placement and Circumscription of Tribes Inuleae s. str. and Plucheeae (Asteraceae): Evidence from Sequences of Chloroplast Gene *ndhF*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **13** (1), 50–58. 1999.

EMERENCIANO, V.P.; MILITÃO, J.S.L.T.; CAMPOS, C.C.; ROMOFE, P.; KAPLAN, M.A.C.; ZAMBON, M.; BRANT, A.J.C. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochemistry Systematics and Ecology*, **29**, 947-957. 2001.

FAROMBI, E.O. & NWAOKEAFOR, I.A. Antioxidant mechanisms of kolaviron: studies on serum lipoprotein oxidation, metal chelation and oxidative membrane damage in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **32** (8), 667-674. 2005.

FASSETT, N.C. A Manual of Aquatic Plants. The University of Wisconsin Press, Madison, WI. 1957. Apud HAINES, A. *Botanical Notes* available online at <http://www.woodlotalt.com/publications/publications.htm>, **9**, 1. 2003.

FYLAKTAKIDOU, K.C.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.J.; LITINAS, K.E. & NICOLAIDES, D.N. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. *Current Pharmaceutical Design*, **10**(30), 3813-3833. 2004.

FUNK, V.; HOLLOWELL, T.; BERRY, P.; KELLOFF, C. & ALEXANDER, S.N. Checklist of the Plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana). *Contributions from the United States National Herbarium*, **55**: 1-584. 2007.

GOLENIOWSKI, M.E.; BONGIOVANNI, G.A.; PALACIO, L.; NUNEZ, C.O. & CANTERO, J.J. Medicinal plants from the “Sierra de Comechingones”, Argentina. Review. *Journal of Ethnopharmacology*, **107**, 324–341. 2006.

GONÇALVES, J.L.S.; LEITÃO, S.G.; ROMANOS, M.T.V.; MIRANDA, M.M.F.S.; SANTOS, M.G.M. & WIGG, M.D. In vitro antiviral effect of flavonoid-rich extracts of *Vitex polygama* (Verbenaceae) against acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1. *Phytomedicine*, **8** (6), 477-480. 2001.

GROMBONE-GUARATINI, M.T.; SILVA-BRANDÃO, K.L.; SOLFERINI, V.N.; SEMIR, J. & TRIGO, J.R. Sesquiterpene and polyacetylene profile of the *Bidens pilosa* complex (Asteraceae: Heliantheae) from Southeast of Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology*, **33**, 479–486. 2005.

HARBORNE, J.B. & WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**, 481-504. 2000.

HEEMANN, A.C.W.; MIGUEL, O.G. & MIGUEL, M.D. Review of *Pterocaulon* genus - Phytochemical aspects and biological activities. *Visao Academica*, **5**(1), 53-60. 2004.

HEEMANN, A.C.W.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D.; SASAKI, C.M. & MONACHE, F.D. Estudo fitoquímico da espécie *Pterocaulon interruptum* DC. (Asteraceae). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **42** (4), 2006.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R. & BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13** (10), 572-584. 2002.

HEYWOOD, V.H. Flowering plants of the world. *Oxford University Press: New York*. 1993.

HILI, P.; EVANS, C.S. & VENESS, R.G. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in Applied Microbiology*, **24**, 269-275. 1997.

HO, C.T.; CHEN, Q.; SHI, H.; ZHANG, K.Q. & ROSEN, R.T. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev Med*, **21**, 520-525. 1992.

INOUE, M.; SUZUKI, R.; SAKAGUCHI, N.; LI, Z.; TAKEDA, T.; OGIHARA, Y.; JIANG, B.Y. & CHEN, Y. Selective induction of cell death in cancer cells by gallic acid. *Biol Pharm Bull*, **18**, 1526-1530. 1995.

JAWETZ, E. Princípios de ação dos antimicrobianos. In: Farmacologia básica e clínica. KATZUNG, B.G. 6ª edição, *Guanabara Koogan*, Rio de Janeiro. 1998a.

JAWETZ, E. Quimioterapia e profilaxia antivirais. In: Farmacologia básica e clínica. KATZUNG, B.G. 6ª edição, *Guanabara Koogan*, Rio de Janeiro. 1998b.

JOHNS, S.R.; LAMBERTON, J.A.; PRICE, J.R. & SIOUMIS, A.A. Identification of coumarins isolated from *Lepiniopsis ternatensis* (Apocynaceae), *Pterocaulon sphacelatum* (Compositae), and *Melicope melanophloia* (Rutaceae). *Australian Journal of Chemistry*, **21**, 3079–3080. 1968.

JOLY, A.B. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. 7ª ed. *Cia Editora Nacional, São Paulo*. 1967.

JOLY, A.B. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. 10ª ed. *Cia Editora Nacional, São Paulo*. 1991.

KANLAYAVATTANAKUL, M.; RUANGRUNGSI, N.; WATANABE, T. & ISHIKAWA, T. Chemical constituents of *Pterocaulon redolens*. *Heterocycles*, **61**, 183-187. 2003.

KATERERE, D.R.; GRAY, A.I.; NASH, R.J. & WAIGH, R.D. Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae. *Phytochemistry*, **63**, 81-88. 2003.

KERRY, N.L. & ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis*, **135**, 93-102. 1997.

KHAN, M.R.; KIHARA, M. & OMOLOSO, A.D. Anti-microbial activity of *Bidens pilosa*, *Bischofia jaanica*, *Elmerillia papuana* and *Sigesbekia orientalis*. *Fitoterapia*, **72**, 662-665. 2001.

KHAN, M.T.H.; ATHER, A.; THOMPSON, K.D. & GAMBARI, R. Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*, **67**, 107-119. 2005.

KINGSTON, D. Taxol and other anticancer agents from plants. In: COOMBES, J.D. *New Drugs from Natural Sources*. *Information Press, Oxford*, 101-119. 1992.

KIRKIACHARIAN, S.; THUY, D.T.; SICSIC, S.; BAKHCHINIAN, R.; KURKJIAN, R. & TONNAIRE, T. Structure–activity relationships of some 3-substituted-4-hydroxycoumarins as HIV-1 protease inhibitors. *Farmaco*, **57**, 703-708. 2002.

KISSMANN, K.G. & GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. 2ª ed., São Paulo: BASF A.S., 978 páginas. 1999 *Apud* SOUZA, F.O. Asteraceae no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP. *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 147 páginas. 2007.

KOGA, T.; MORO, K.; NAKAMORI, K.; YAMAKOSHI, J.; HOSOYAMA, H.; KATAOKA, S. & ARIGA, T. Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *J Agric Food Chem*, **47**, 1892-1897. 1999.

KOOLMAN, J. & RÖHM, K.H. Bioquímica Texto e atlas. *Editores Artmed*, 3ª edição, Porto Alegre, 478 páginas. 2005.

KRÄHENBÜHL, O. & TSCHOPP, J. Debate: the mechanism of lymphocyte-mediated killing. Perforin-induced pore formation. *Immunol. Today*, **12**, 399. 1991.

LANDRAULT, N.; POUCHERET, P.; RAVEL, P.; GASC, F.; CROS, G. & TEISSEDE, P.L. Antioxidant capacities and phenolics levels of French wines from different varieties and vintages. *J Agric Food Chem*, **49**, 3341-3348. 2001.

LIEN, E.J.; REN, S.; BUI, H.H. & WANG, R. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, **26** (3-4), 285-294. 1999.

MACLEOD, J.K. & RASMUSSEN, H.B. A hydroxy- β -caryophyllene from *Pterocaulon serrulatum*. *Phytochemistry*, **50** (1), 105-108. 1999.

MAES, D.; DEBENEDETTI, S. & DE KIMPE, N. New coumarins from *Pterocaulon virgatum* (L.) DC. *Biochemical Systematics and Ecology*, **34**(2), 165-169. 2006.

MAGALHÃES, A.F.; MAGALHÃES, E.G.; LEITÃO FILHO, H.F.; FRIGHETTO, R.T.S. & BARROS, S.M.G. Coumarins from *Pterocaulon balansae* and *P. lanatum*. *Phytochemistry*, **20** (6), 1369-1371. 1981.

MAGALHÃES, A.F.; MAGALHÃES, E.G.; JUNIOR, V.N. & LEITÃO FILHO, H.F. Polyacetylenes from *Pterocaulon* species. *Phytochemistry*, **28**(9), 2497-9. 1989.

MARTIN, A. & CLYNES, M. Acid phosphatase: endpoint for in vitro toxicity tests. In *Vitro Cell. Dev. Biol.*, **27A**, 183–184. 1991.

MARTINO, V.S.; DEBENEDETTI, S.L. & COUSSIO, J.D. Caffeoylquinic acids from *Pterocaulon virgatum* and *Pluchea sagittalis*. *Phytochemistry*, **18** (12), 2052. 1979.

Mc LAFFERTY, F.W. & STAUFFER, D.B. The wiley / NBS registry of mass spectral data. Volumes I – V, *Wiley Interscience Pub.*, New York. 1989.

MENSOR, L.L. Avaliação da atividade antioxidante em plantas brasileiras. *Tese de Mestrado*. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 1999.

MONGELLI, E.; PAMPURO, S.; COUSSIO, J.; SALOMON, H. & CICCIA, G. Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plants used in Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, **71** (1-2), 145-151. 2000.

NAKAJIMA, J.N. A família Asteraceae no Parque Estadual da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 467páginas. 2000.

N'DOUNGA, M.; BALANSARD, G.; BABADJAMIAN, A.; DAVID, P.T & GASQUET, M. Contribution a l'étude de *Bidens pilosa* L. Identification et activité antiparasitaire de la phényl-1-heptatriyn-1,3,5. *Plantes Medicinales et Phytothérapie*, **17** (2), 64-75. 1983.

NESOM, G.L. Pterocaulon. *Flora of North America*, **19- 21**, 59 e 475-476. 2006.

NISHIMURA, T.; TOKU, K. & FUKUYASU, H. Antiviral compounds. XII. Antiviral activity of aminohydrazones of alkoxyphenyl substituted carbonyl compounds against influenza virus in eggs and mice. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, **50**, 39-46. 1977.

OLIVEIRA, F. & AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. *Editores Atheneu: São Paulo*. 1993.

OLIVEIRA, F.Q.; ANDRADE-NETO, V.; KREULI, A.U. & BRANDÃO, MG.L. New evidences of antimalarial activity of *Bidens pilosa* roots extract correlated with polyacetylene and flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 39-42. 2004.

PALACIOS, P.S.; ROJO, A.A.; COUSSIO, J.D.; DE KIMPE, N.; DEBENEDETTI, S.L. 6,7-dioxygenated and 5,6,7-trioxygenated coumarins from *Pterocaulon polystachium*. *Planta Medica*, **65**(3), 294-295. 1999.

PATEL, R. & ROMPALO, A. Managing patients with genital herpes and their sexual partners. *Infectious Disease Clinics of North America*, **19**(2), 427-438. 2005.

PAYA, M.; SILLA, M.; VAYA, E.; ALCARAZ, M.J.; COUSSIO, J.D.; FERRARO, G.; MARTINO, V.; HNATYSZYN, O.; DEBENEDETTI, S.L. Inhibitory effects of various extracts of Argentine plant species on free-radical-mediated reactions and human neutrophil functions. *Phytotherapy Research*, **10**(3), 228-232. 1996.

PEREIRA, R.L.C.; IBRAHIM, T.; LUCCHETTI, L.; SILVA, A.J.R. & MORAES, V.L.G. Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of methanolic extract and the polyacetylene isolated from *Bidens pilosa* L. *Immunopharmacology*, **43**, 31-37. 1999.

POLEWSKI, K.; KNIAT, S. & SLAWIŃSKA D. Gallic acid, a natural antioxidant, in aqueous and micellar environment: spectroscopic studies. *Current Topics in Biophysics*, **26**(2), 217-227. 2002.

POPOCA, J.; AGUILAR, A.; ALONSO, D. & VILLARREAL, M.L. Cytotoxic activity of selected plants used as antitumorals in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **59**, 173-177. 1998.

PRIGOL, M.; WILHELM, E.A.; SCHNEIDER, C.C. & NOGUEIRA, C.W. Protective effect of unsymmetrical dichalcogenide, a novel antioxidant agent, in vitro and an in vivo model of brain oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, **176**, 129-136. 2008.

PRUSKI, J.F. Asteraceae. In Flora of the Venezuelan Guayana. BERRY, P.E.; HOLST, B.K. & YATSKIEVYCH. *Missouri Botanical Garden*, St. Louis, **3** (Araliaceae-Cactaceae), 177-393. 1997.

RAFFA, R.B.; RAWLS, S.M. & BEYZAROV, E.P. Atlas de farmacologia de Netter. 1ª edição, *Artmed*, Porto Alegre. 2006.

RANG, H.P.; DALE, M.M. & RITTER, J.M. Farmacologia. 4ª edição, *Guanabara Koogan*, Rio de Janeiro. 2001.

REED, L.J. & MUENCH, H. A simple method of estimating fiftyf percents endpoints. *American Journal of Hygiene*, **27**, 493-497. 1938.

REHAKOVA, Z.; KOLECKAR, V.; CERVENKA, F.; JAHODAR, L.; SASO, L.; OPLETAL, L.; JUN, D. & KUCA, K. DPPH Radical Scavenging Activity of Several Naturally Occurring Coumarins and Their Synthesized Analogs Measured by the SIA Method. *Toxicology Mechanisms and Methods*, **18** (5), 413-418. 2008.

RIVEIRO, M.E.; SHAYO, C.; MONCZOR, F.; FERNÁNDEZ, N.; BALDI, A.; DE KIMPE, N.; ROSSI, J.; DEBENEDETTI, S. & DAVIO, C. Induction of cell differentiation in human leukemia U-937 cells by 5-oxygenated-6,7-methylenedioxy coumarins from *Pterocaulon polystachyum*. *Cancer Letters*, **210** (2), 179-188. 2004.

RODRIGUEZ, D.J.; CHULIA, J.; SIMÕES, C.M.O.; AMOROS, M.; MARIOTTE, A.M. & GIRRE, L. Search for *in vitro* antiviral activity of a new isoflavonic glycoside from *Ulex europaeus*. *Planta Medica*, **56**, 59-62. 1990.

SAKAGAMI, H.; SATOH, K.; HATANO, T.; YOSHIDA, T. & OKUDA T. Possible role of radical intensity and oxidation potential for gallic acid-induced apoptosis. *Anticancer Res*, **17**, 377-380. 1997.

SALINAS, M.H.R. Famílias de Dicotiledoneas Venezolanas II. Subclases Rosidae y Asteridae – Evolucion, Filogenia, Generos. *Centro Jardín Botánico, Venezulea*, 108-109 e 173-180. 1992.

SANTOS, M.P.; SCHWARTSMANN, G.; ROESLER, R.; BRUNETTO, A.L. & ABUJAMRA, A.L. Sodium butyrate enhances the cytotoxic effect of antineoplastic drugs in human lymphoblastic T-cells. *Leukemia Research*, **33**, 218–221. 2009.

SARKER, S.D.; BARTHOLOMEW, B.; NASH, R.J. & ROBINSON, N. 5-O-methylhoslundin: An unusual flavonoid from *Bidens pilosa* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**, 591-593. 2000.

SCHERER, R. & GODOY, H.T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, **112**, 654-658. 2009.

SCHMIDT, K.N.; TRAENCKNER, E.B.; MEIER, B. & BAEUERLE, P.A. Induction of oxidative stress by okadaic acid is required for activation of transcription factor NF-kappa B. *J Biol Chem*, **270**, 27136-27142. 1995.

SCHWARTZMAN, R. A. & CIDLOWSKI, J. A. Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Rev.*, **14**, 133. 1993.

SEMPLE, S.J.; REYNOLDS, G.D; O'LEARY, M.C. & FLOWER, R.L.P. Screening of Australian medicinal plants for antiviral activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **60** (2), 163-172. 1998.

SEMPLE, S.J.; NOBBS, S.F.; PYKE, S.M.; REYNOLDS, G.D. & FLOWER, R.L.P. Antiviral flavonoid from *Pterocaulon sphacelatum*, an Australian aboriginal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **68** (1-3), 283-288. 1999.

SHERTZERA, H.G.; SCHNEIDERA, S.N.; KENDIGA, E.L.; CLEGG, D.J.; D'ALESSIO, D.A.; JOHANSSON, E. & GENTERA, M.B. Tetrahydroindenoindole inhibits the progression of diabetes in mice. *Chemico-Biological Interactions*, **177**, 71-80. 2009.

SILBERNAGL, S. & DESPOPOULOS, A. Fisiologia Texto e atlas. *Editora Artmed*, 5ª edição, Porto Alegre, 436 páginas. 2003.

SINGH, B. & CHAUHAN, N. Modification of psyllium polysaccharides for use in oral insulin delivery. *Food Hydrocolloids*, **23**, 928–935. 2009.

SOUZA, F.O. Asteraceae no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia , SP. *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 147 páginas. 2007.

STANCZYK, M.; GROMADZINSKA, J. & WASOWICZ, W. Roles of reactive oxygen species and selected antioxidants in regulation of cellular metabolism. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, **18**(1), 15-26. 2005.

STEFANELLO, M.E.A. Avaliação estatística de plantas medicinais: química, farmacologia e sistemática. *Tese de Doutorado em Química* - Universidade de São Paulo, São Paulo, 208 pág. 1993.

STEIN, A.C.; SORTINO, M.; AVANCINI C.; ZACCHINO, S. & VON POSER, G. Ethnoveterinary medicine in the search for antimicrobial agents: Antifungal activity of some species of *Pterocaulon* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **99** (2), 211-214. 2005.

STEIN, A.C.; ALVAREZ, S.; AVANCINI C.; ZACCHINO, S. & VON POSER, G. Antifungal activity of some coumarins obtained from species of *Pterocaulon* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **107**(1), 95-98. 2006.

STROTHER, J.L. & WEEDON, R.R. Bidens. *Flora of North America*, **21**, 184-185 e 205-206. 2006.

SYIEM, D.; SYNGAI, G.; KHUP, P.Z.; KHONGWIR, B.S.; KHARBULI, B. & KAIANG, H. Hypoglycemic effects of *Potentilla fulgens* L. in normal and alloxaninduced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **83**, 55-61. 2002.

TAN, P.V; DIMO, T. & DONGO, E. Effects of methanol, cyclohexane and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* on various gastric ulcer models in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**, 415-421. 2000.

TERASAKA, H.; TAMURA, A.; TAKAYAMA, F.; KASHIMATA, M.; OHTOMO, K.; MACHINO, M.; FUJISAWA, S.; TOGUCHI, M.; KANDA, Y.; KUNII, S.; KUSAMA, K.; ISHINO, A.; WATANABE, S.; SATOH, K.; TAKANO, H.; TAKAHAMA, M. &

SAKAGAMI, H. Induction of apoptosis by dopamine in human oral tumor cell lines. *Anticancer Res*, **20**, 243-250. 2000.

VERA, N.; BARDON, A.; CATALAN, C.A.N.; GEDRIS, T.E. & HERZ, W. New coumarins from *Pterocaulon polystachyum*. *Planta Medica*, **67** (7), 674-677. 2001.

VERA, N.; POPICH, S.; LUNA, L.; CRAVERO, R.; SIERRA, M.G. & BARDON, A. Toxicity and synergism in the feeding deterrence of some coumarins on *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemistry & Biodiversity*, **3**(1), 21-26. 2006.

VERMES, I. & HAANAN, C. Apoptosis and programmed cell death in health and disease. *Adv. Clin. Chem.*, **31**, 177. 1994.

VILEGAS, W.; BORALLE, N.; CABRERA, A.; BERNARDI, A.C.; POZETTI, G.L. & ARANTES, S.F. Coumarins and a flavonoid from *Pterocaulon alopecuroides*. *Phytochemistry*, **38** (4), 1017-1019. 1995.

WANG, J.; YANG, H., LIN, Z.W. & SUN, H.D. Flavonoids from *Bidens pilosa* var. *Radiata*. *Phytochemistry*, **46** (7), 1275-1278. 1997.

WANG, N.; YAO, X., ISHII, R. & KITANAKA, S. Bioactive sucrose esters from *Bidens parviflora*. *Phytochemistry*, **62**, 741-746. 2003.

WU, C.R.; HUANG, M.Y.; LIN, Y.T.; JU, H.Y. & CHING, H. Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins. *Food Chemistry*, **104**, 1464-1471. 2007.

ZARDINI, E.M. Etnobotánica de compuestas argentinas con especial referencia a sus uso farmacológico. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, **3**, 77–99. 1983. *Apud* MONGELLI, E.; PAMPURO, S.; COUSSIO, J.; SALOMON, H. & CICCIA, G. Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plants used in Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, **71** (1-2), 145-151. 2000.

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

ZULUETA, M.C.A.; TADA, M. & RAGASA, C.Y. A diterpene from *Bidens pilosa*. *Phytochemistry*, **38** (6), 1449-1450. 1995.

Documentos iconográficos

<http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2008/NEW01822.html>, 07/12/2008.

<http://dhr.dos.state.fl.us/facts/symbols/images/symbols/coreopsis.jpg>, 05/01/2009.

[http://lh4.ggpht.com/beth.santana68/R54p11NGNEI/AAAAAAAAAS8/S8F_b3ZCVMo/26-01-08_1732%5B1%5D+\(2\)_thumb%5B2%5D](http://lh4.ggpht.com/beth.santana68/R54p11NGNEI/AAAAAAAAAS8/S8F_b3ZCVMo/26-01-08_1732%5B1%5D+(2)_thumb%5B2%5D), 04/11/2008.

http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast, 10/12/2008.

<http://static.howstuffworks.com/gif/define-liatris-blazingstar-gayfeather-1.jpg>, 05/01/2009.

http://www.calfloranursery.com/images/pics/g_h/helianthus_angustifolius.jpg,
05/01/2009.

<http://www.daytonnursery.com/Encyclopedia/Images/Perennials/Rudbeckia%20hirta%20'Autumn%20Colors'%20ivy.JPG>, 05/01/2009.

<http://www.ieadcnf.org.br/ieadcfriburgo.htm>, 04/11/2008.

http://www.naba.org/Chapters/Nabaes/images/Solidago_canadensis_VI-29-2006small.jpg, 05/01/2009.

http://www.risc.org.uk/garden/plants/echinacea_600w.jpg, 05/01/2009.

<http://www.saopedrodaserra.tur.br/lumiar/informacoesgerais.htm>, 04/11/2008.

[http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_\(Nova_Friburgo\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Santa_Luzia_(Nova_Friburgo)), 04/11/2008.

<http://www.ieadcnf.org.br/ieadcfriburgo.htm>, 04/11/2008.

http://z.about.com/d/gardening/1/7/V/F/Aster_Shrader_Smith.jpg, 05/01/2009.

http://zipcodezoo.com/Key/Chromista/Pterocaulon_Genus.asp, 10/12/2008.

http://zipcodezoo.com/Key/Plantae/Bidens_Genus.asp, 10/12/2008.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)