

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

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE DUAS  
ESPÉCIES DE *PRIVA* DE OCORRÊNCIA EM  
PERNAMBUCO**

**JOVITA MARIA DE FARIAS BRAGA**

**RECIFE-2007**

**JOVITA MARIA DE FARIAS BRAGA**

**ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE DUAS ESPÉCIES DE *PRIVA DE*  
OCORRÊNCIA EM PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na Área de Química de Produtos Naturais.

**ORIENTADOR: PROF. DR. HAROUDO SATIRO XAVIER**

**RECIFE- PE**

**2007**

*Jovita Maria de Farias Braga*

*Estudo farmacognóstico de duas espécies de Priva de ocorrência em Pernambuco / Jovita Maria de Farias Braga. – Recife : O Autor, 2007.*

*142 folhas : Il.; quadro; fig.; tab.; graf.*

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

*Inclui bibliografia anexos e apêndices*

*1. Priva lappulacea. 2. Priva bahiensis 3. Verbenaceae 4. Estudo Farmacognóstico I. Título.*

615.322  
615.321

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

UFPE  
CCS2008-132



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

Recife, 15 de fevereiro de 2007.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 15 de fevereiro de 2007 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

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

Assinatura: 

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

Assinatura: 

**EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel** (Deptº de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco).

Assinatura: 

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

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Jane Sheila Higino

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Samuel Daniel de Sousa

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS

Pedro José Rolim Neto

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

Beate Saegesser Santos

## ***DEDICATÓRIA***

*Dedico este trabalho ao meu pai (i.m.), Elias de Albuquerque Farias e aos meus tios (i.m.), Luiz de Albuquerque Farias e Luzia Alves Farias.*

## AGRADECIMENTOS

---

A **DEUS**, Supremo criador de todas as coisas, por ter me dado forças e proteção para que concluísse esta etapa da minha vida profissional.

Aos meus pais, **Elias de Albuquerque Farias** (i.m.), **Josefa Rodrigues de Farias** e **aos meus irmãos**, pelo incentivo e apoio, para que não desistisse deste sonho que outrora foi impedido de ser concluído.

Aos meus tios e pais adotivos, **Luiz de Albuquerque Farias** (i.m.), **Luzia Alves Farias** (i.m.) e **aos meus primos irmãos** pelo grande afeto e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus queridos esposo e filhos: **Fernando Braga da Silva**, **Thiago Fernando de Farias Braga** e **Felipe César de Farias Braga**, pelo amor, pelo apoio dispensado e por suportarem pacientemente tantos momentos em que me ausentei do aconchego familiar.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Haroudo Satiro Xavier**, minha gratidão sem limites por sua paciência, ensinamentos, amizade, dedicação e pela simplicidade com a qual dispensa sua valiosa orientação.

Às **instituições**: Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE; Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE, meu agradecimento sincero por permitir que me ausentasse quando fosse necessário; Laboratório Central do Estado de Pernambuco – LACEN; Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA.

Aos meus amigos de longas datas e que sempre se fazem presentes “nas horas certas e incertas”: **Arlete P. Martins**, **Lúcia Francelino**, **Luísa Roberta**, **Juliana Meira**, **Ana Vasquez**, **Ladmy Dantas**, **Márcia Aparecida**, **Deborah Monteiro** e **Deborah Rios**.

A todos os **professores, técnicos e amigos** do Departamento de Ciências Farmacêuticas e Departamento de Antibióticos.

Aos meus amigos do Laboratório de Farmacognosia, **Janaína Melo**, **Luciana Lima**, **Karina Randau**, **Evani Araújo**, **Késia Peixoto**, **Eliane Carvalho**, **Leonardo Cavalcanti**, **Clébio Pereira**, **José Guedes**, **Marcos Saraiva** e **Diogo Florêncio**, pela convivência saudável, pela colaboração, ensinamentos e apoio.

A todos os colegas de mestrado e em especial aos amigos que tive oportunidade de fazer, **Kristiana Mousinho (minha filha alagoana), Aldo Passilongo, Elisângela Christianne, Laurimar Thomé, Ana Pavla, Jackeline Gomes, Valdelúcia Oliveira e Narimam.**

Aos professores em especial, **Rejane Pimentel, Ivone Antônia de Souza, José Maria Barbosa Filho e Sonia Pereira Leite**, pela cooperação, instrução e orientação.

Aos companheiros de LAFEPE, **José Ricardo, Jannaína Guedes, Luciana Ribeiro e Bruno Guedes**, pelos muitos momentos que me substituíram, compreenderam e apoiaram-me **para que concluísse este trabalho.**

A todas as pessoas que contri buíram direta ou indiretamente para a conclusão desta dissertação. Muito obrigada!!!



*“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso ou pessoas fracassadas. O que existe são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles. Por isso nunca desista dos seus sonhos”*

*Augusto Cury*

	PÁG.
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS .....</b>	xii
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	xiv
<b>LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS .....</b>	xv
<b>LISTA DE QUADROS .....</b>	xviii
<b>RESUMO.....</b>	xix
<b>ABSTRACT.....</b>	xxi
<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	23
<b>2- OBJETIVOS.....</b>	26
2.1- GERAL.....	27
2.2- ESPECÍFICOS.....	27
<b>3- REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	28
<b>3.1 FARMACOBOTÂNICA.....</b>	29
3.1.1 Verbenaceae.....	29
3.1.2 Gênero <i>Priva Adans</i> .....	31
3.1.3 <i>Priva bahiensis</i> .....	32
3.1.4 <i>Priva lappulacea</i> .....	35
3.1.5 Anatomia e histoquímica de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	41
<b>3.2 FARMACOQUÍMICA.....</b>	42
3.2.1 Iridóides de Verbenaceae.....	42
<b>4- PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	46
<b>4.1 Perfil fitoquímico de <i>Priva bahiensis Priva lappulacea</i>.....</b>	47
4.1.1 Materiais e Métodos.....	47

4.1.2 Resultados da Prospecção Fitoquímica.....	48
<b>4.2 Isolamento dos iridóides de <i>Priva bahiensis</i> e <i>Priva lappulacea</i>.....</b>	<b>50</b>
4.2.1 Materiais e Métodos.....	50
4.2.2 Resultados.....	52
<b>5- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
5.1 Bioatividade.....	54
<b>6- CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>57</b>
<b>8- APÊNDICES.....</b>	<b>69</b>
APÊNDICE I: Morfoanatomia, Histoquímica e Perfil Fitoquímico de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	71
APÊNDICE II: Estudos preliminares da propriedade antiinflamatória do extrato bruto metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	89
APÊNDICE III: Avaliação Toxicológica do Extrato Bruto Metanólico das Partes Aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	98
APÊNDICE IV: Avaliação antitumoral da substância pura e do extrato bruto metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae) frente ao Sarcoma 180 e Carcinoma de Erlich.....	106
APÊNDICE V: Atividade Antimicrobiana do Extrato Bruto Metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	116
APÊNDICE VI: Espectro de Ressonância 13C de JL1 – Ipolamida (DMSO-D6).....	127
APÊNDICE VII: RMN 13C – DEPT 135.....	128
APÊNDICE VIII: Espectro de Ressonância 1H- RMN de JL1 – Ipolamida (500 MHz, em DMSO- D6).....	129
<b>9- ANEXOS.....</b>	<b>130</b>
ANEXO I: Normas para publicação de manuscritos na Revista Brasileira de Farmacognosia.....	131
ANEXO II: Normas para publicação na Revista Brasileira de Toxicologia.....	137

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

---

ABREVIATURAS/ SIGLAS/SÍMBOLOS	SIGNIFICADO
EBM	Extrato Bruto Metanólico
DMSO	Dimetilsulfoxido
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
JL	Código dado as substâncias obtidas das espécies de <i>Priva</i> estudadas. JL1 (Ipolamida) e JL2 (Catapol).
E	Esquerda
D	Direita
VAST	Vascular Trópicos
Pl	<i>Priva lappulacea</i>
Pb	<i>Priva bahiensis</i>
P	Padrão
L	Litros
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
DL <sub>50</sub>	Dose Letal para 50 % dos animais de experimentação
UFC	Unidade Formadora de Colônias
v/v	Volume por volume
µg/mL	Micrograma por mililitro
mg/mL	Miligrama por mililitro
CMI	Concentração Mínima Inibitória

TT

Tetraciclina

UV

Ultra Violeta

$\mu\text{m}$

Micrômetro

## LISTA DE TABELAS

---

PÁG.

### APÊNDICE I

<b>Tabela 1</b>	Testes histoquímicos realizados nos órgãos vegetativos de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers.....	75
<b>Tabela 2</b>	Sistemas cromatográficos e reveladores utilizados para operfil fitoquímico de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers.....	76

### APÊNDICE III

<b>Tabela 1</b>	Principais reações comportamentais relacionada às doses administradas da avaliação da toxicidade aguda do extrato bruto metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> , por via intraperitoneal. ....	105
-----------------	---	-----

### APÊNDICE V

<b>Tabela 1</b>	Atividade antibacteriana do extrato bruto metanólico (EBM) de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers., em diferentes concentrações contra bactérias de origem clínica.....	123
-----------------	---	-----

## LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

		PÁG.
<b>Figura 1</b>	Ficha de exsicata, atestando a caracterização e primeiro registro de <i>P. bahiensis</i> em Pernambuco.....	25
<b>Figura 2</b>	Aspecto quadrangular e ramificado do caule de <i>P. bahiensis</i> .....	33
<b>Figura 3</b>	Detalhes de folha de <i>P. bahiensis</i> e <i>P. lappulacea</i> .....	33
<b>Figura 4</b>	Detalhes da inflorescência de <i>P. bahiensis</i> , flor, cálice, brácteas e fruto ainda imaturo.....	34
<b>Figura 5</b>	Detalhes do fruto de <i>Priva bahiensis</i> , com cocos e sementes ornadas de espinhos recurvados. Foto obtida com de lupa (X4).....	34
<b>Figura 6</b>	Mapa de distribuição de <i>P. bahiensis</i> no mundo, atestando sua ampla e exclusiva distribuição no nordeste do Brasil.....	35
<b>Figura 7</b>	Caule de <i>Priva lappulacea</i> mostrando as ramificações, sua forma tetragonal e inserção de folhas opostas e pecioladas com base cuneada. ....	37
<b>Figura 8</b>	Inflorescência terminal de <i>Priva lappulacea</i> , botões florais (E) e frutos (D).....	37
<b>Figura 9</b>	Aspectos florais de <i>Priva lappulacea</i> . ....	38
<b>Figura 10</b>	Fruto imaturo de <i>Priva lappulacea</i> , bolsa (cálice) com inúmeros pelos e bráctea. Foto obtida através de lupa (X 4).....	38
<b>Figura 11</b>	Fruto maduro, em detalhe a superfície dorsal eqüinada com espinhos enfileirados. ....	39
<b>Figura 12</b>	Mapa mostrando a distribuição de <i>Priva lappulacea</i> no mundo.....	40
<b>Figura 13</b>	Sistema de numeração e esqueletos de iridóides, R= H ou açúcar.....	43
<b>Figura 14</b>	Exemplos de iridóides não sililados: valtrato (I) e nepetalactona (II).....	44
<b>Figura 15</b>	Estruturas dos iridóides mais freqüentes em Verbenaceae.....	45
<b>Figura 16</b>	Caracterização do verbascosideo (V) em <i>P. bahiensis</i> (Pb) e <i>Priva lappulacea</i> (Pl).....	49
<b>Figura 17</b>	Flavonóides glicosilados em <i>P. bahiensis</i> (Pb), <i>P. lappulacea</i> (Pl) e padrão (P) = rutina+ác. clorogênico+luteolina-7-glicosideo.....	49
<b>Figura 18</b>	Triterpenos e esteróides nas raízes de <i>P. bahiensis</i> (Pb), <i>P. lappulacea</i> (Pl) e padrão (Pt)= $\beta$ -amirina+ $\beta$ -sitosterol+ac. ursólico	49

<b>Figura 19</b>	Triterpenos e esteróides nas partes aéreas de <i>P. bahiensis</i> (Pb), <i>P. lappulacea</i> (Pl) e padrão (Pt)= $\beta$ -amirina+ $\beta$ -sitosterol+ac. ursólico	49
<b>Figura 20</b>	Esquema de obtenção das substâncias JL1 e JL2 das duas espécies de <i>Priva</i> estudadas.....	51
<b>Figura 21</b>	Estruturas moleculares de JL1 (Ipolamida) e JL2 (Catalpol).....	52

#### APÊNDICE I

<b>Figuras 1-4</b>	<i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae): 1. raiz em secção transversal; 2, córtex radicular; 3, caule em secção transversal; 4, colênquima angular no córtex caulnar e grupos de fibras sobre o floema (setas).....	78
<b>Figuras 5-11</b>	<i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae): 5. pecíolo em secção transversal; 6, detalhe da projeção arredondada do pecíolo; 7 e 8, vista frontal da epiderme foliar, faces adaxial e abaxial, respectivamente; 9, vista transversal da folha, mostrando a nervura principal e mesofilo dorsiventral; 10 e 11, tricomas foliares, conoidal e glandular, respectivamente.....	80
<b>Figuras 12-14</b>	Reações histoquímicas em <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae): 12, alcalóides no clorênquima e células vesiculares do tricoma glandular na lâmina foliar; 13 e 14, amido no córtex radicular e projeção lateral do pecíolo, respectivamente..	82
<b>Figuras 15-18</b>	Reações histoquímicas em <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae): 15 e 16, compostos fenólicos na feloderme radicular e clorênquima do pecíolo, respectivamente; 17 e 18, lignina nas paredes dos elementos de xilema e fibras no caule e nos elementos de condução do xilema na nervura principal, respectivamente.....	82
<b>Figuras 19-20</b>	Reações histoquímicas em <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae): 19, gotículas de compostos graxos de cadeia longa (cutina, suberina e outros lipídios) no parênquima cortical radicular (setas); 20, tanino presente no súber radicular.....	83

#### APÊNDICE II

<b>Gráfico 1</b>	Comparação do desenvolvimento do edema de pata por injeção subplantar de carragenina, em ratos machos tratados por via intraperitoneal.....	95
------------------	---	----



#### APÊNDICE IV

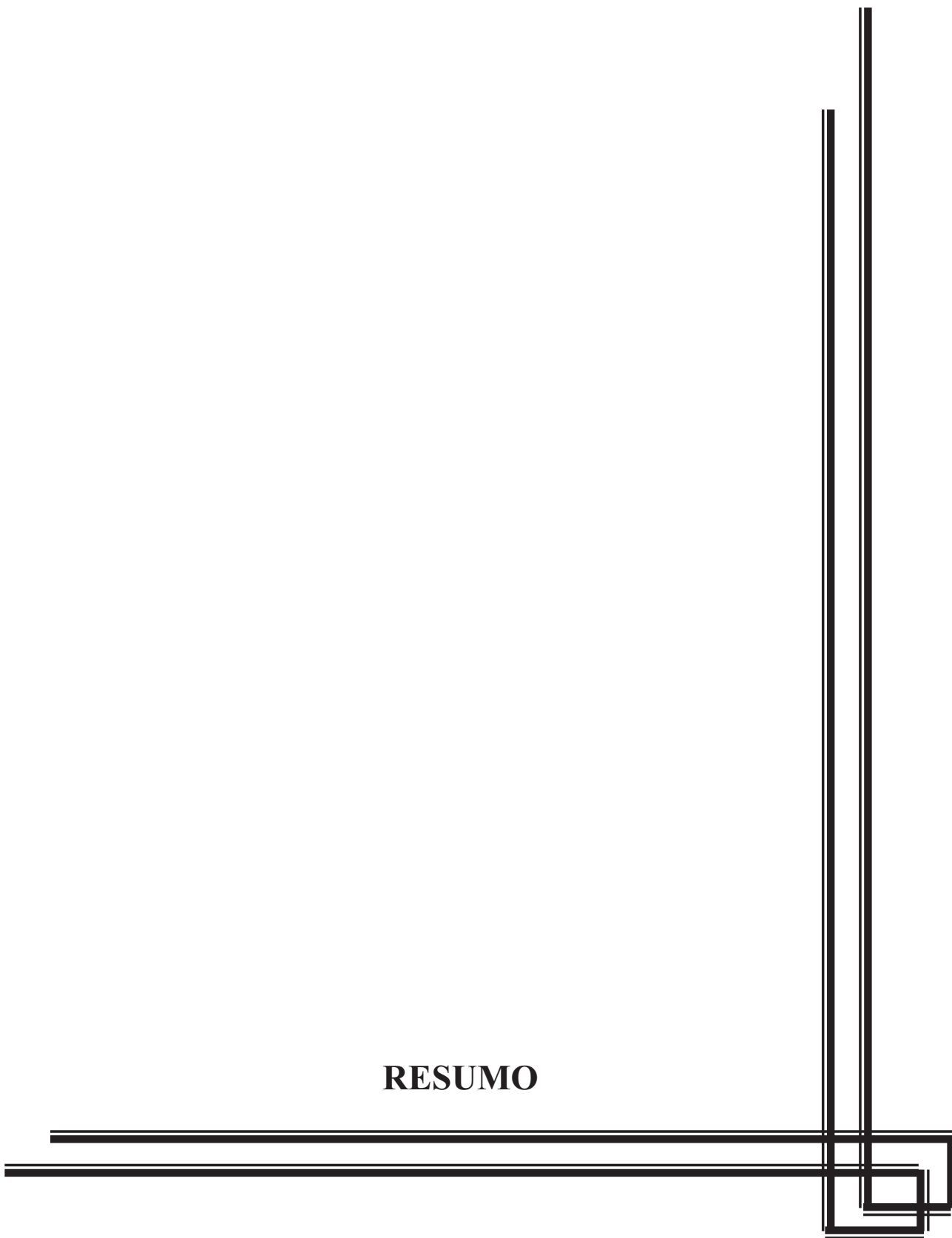
<b>Figura 1</b>	Comparação dos percentuais de inibição do efeito da substância pura Ipolamida (300 mg/kg) e do EBM das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (300 mg/kg) por via intraperitoneal sobre os tumores do Sarcoma 180 em camundongos machos adultos.....	115
<b>Figura 2</b>	Comparação dos percentuais de inibição do efeito da substância pura Ipolamida (300 mg/kg) e do EBM de <i>Priva lappulacea</i> (300 mg/kg) por via intraperitoneal sobre os tumores do Carcinoma de Ehrlich em camundongos machos adulto.....	115

## LISTA DE QUADROS

---

	<b>PÁG.</b>
<b>Quadro 1</b> Dados sobre a sinonímia científica de <i>Priva lappulacea</i> .....	41
<b>Quadro 2</b> Condições cromatográficas da prospecção fitoquímica de <i>P. lappulacea</i> e <i>P. bahiensis</i> .....	48

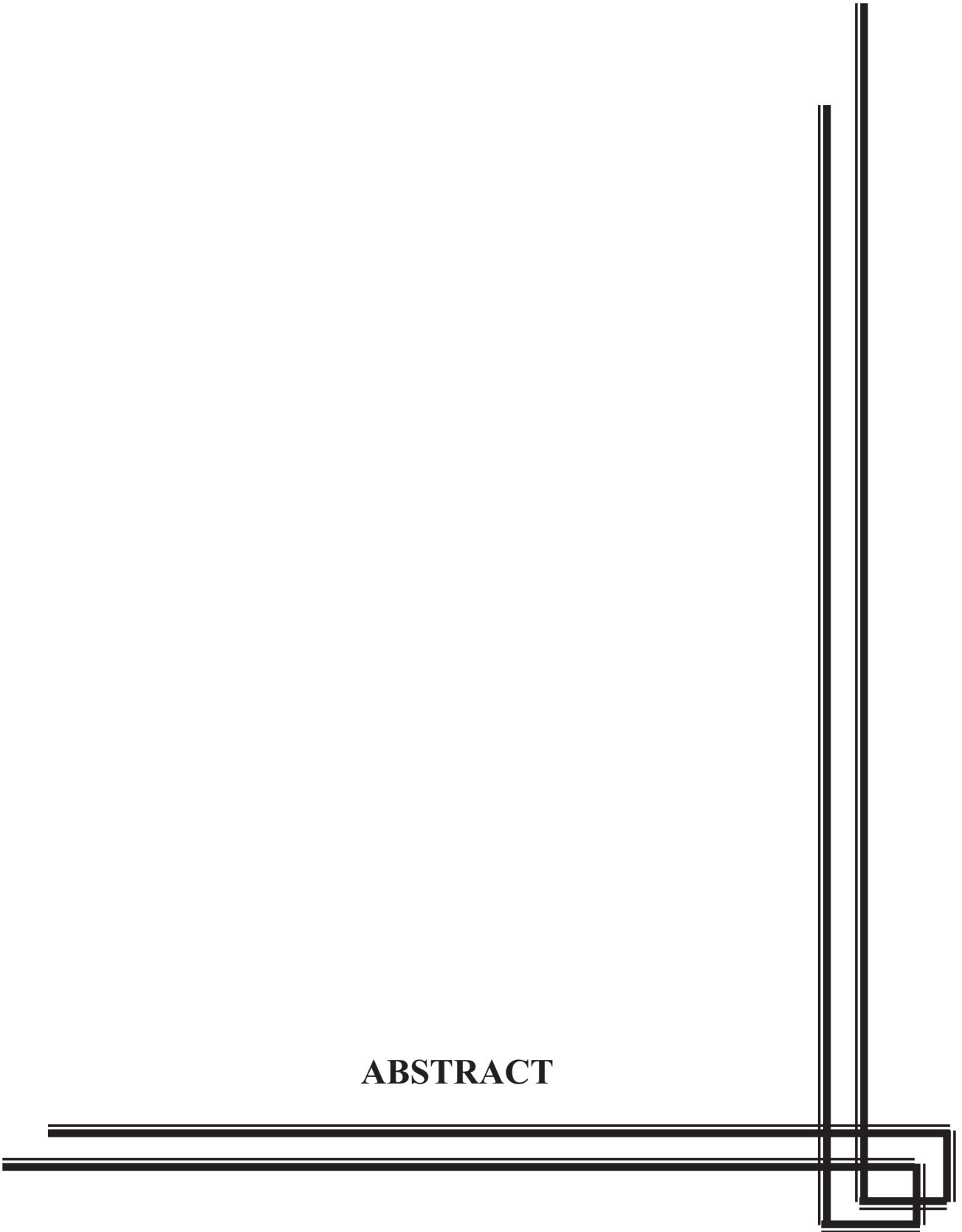
## RESUMO



O gênero *Priva* é de distribuição tropical e está bem representado em nosso país por duas espécies: a *Priva bahiensis* A. DC., nativa e a *Priva lappulacea* (L) Pers.. Ambas são herbáceas terrestres do grupo dos carrapichos e se desenvolvem em terrenos úmidos e semi-ensombreados, sem possuírem um aroma acentuado, traço comum a muitas Verbenaceae. A forte presença, sobretudo de *P. lappulacea*, nos domínios do *Campus* e a falta de citações na literatura pertinente sobre suas características farmacognósticas e de bioatividade nos impulsionou a feitura desse trabalho, de forma a valorizar espécies locais com possíveis potencialidades de emprego como insumo farmacêutico. Após caracterização botânica das duas espécies, efetuamos um diagnóstico mais profundo de *P. lappulacea*, por existir em maior abundância, proporcionando mais fácil aquisição de material para as diversas investigações que foram desenvolvidas. Um estudo farmacobotânico direcionado à anatomia e histo-química desse táxon foi desenvolvido, resultando na obtenção de dados ainda inéditos para o mesmo. Além da definição de um perfil fitoquímico para os dois *taxa*, onde se constatou a predominância de glicosídeos de fenilpropanóides e de iridóides, caracterizando-se por procedimentos e/ou espectroscópicos o verbascosídeo, a ipolamida e o catalpol. Os ensaios de bioatividade realizados especialmente com material oriundo de *P. lappulacea* foram direcionados à definição de sua toxicidade e potencialidades como antiinflamatório, antitumoral e antimicrobiano, proporcionando resultados promissores quanto aos mesmos.

Palavras-chaves: *Priva lappulacea*, *Priva bahiensis* Verbenaceae, estudo farmacognóstico, antiinflamatório, antitumoral, antimicrobiano

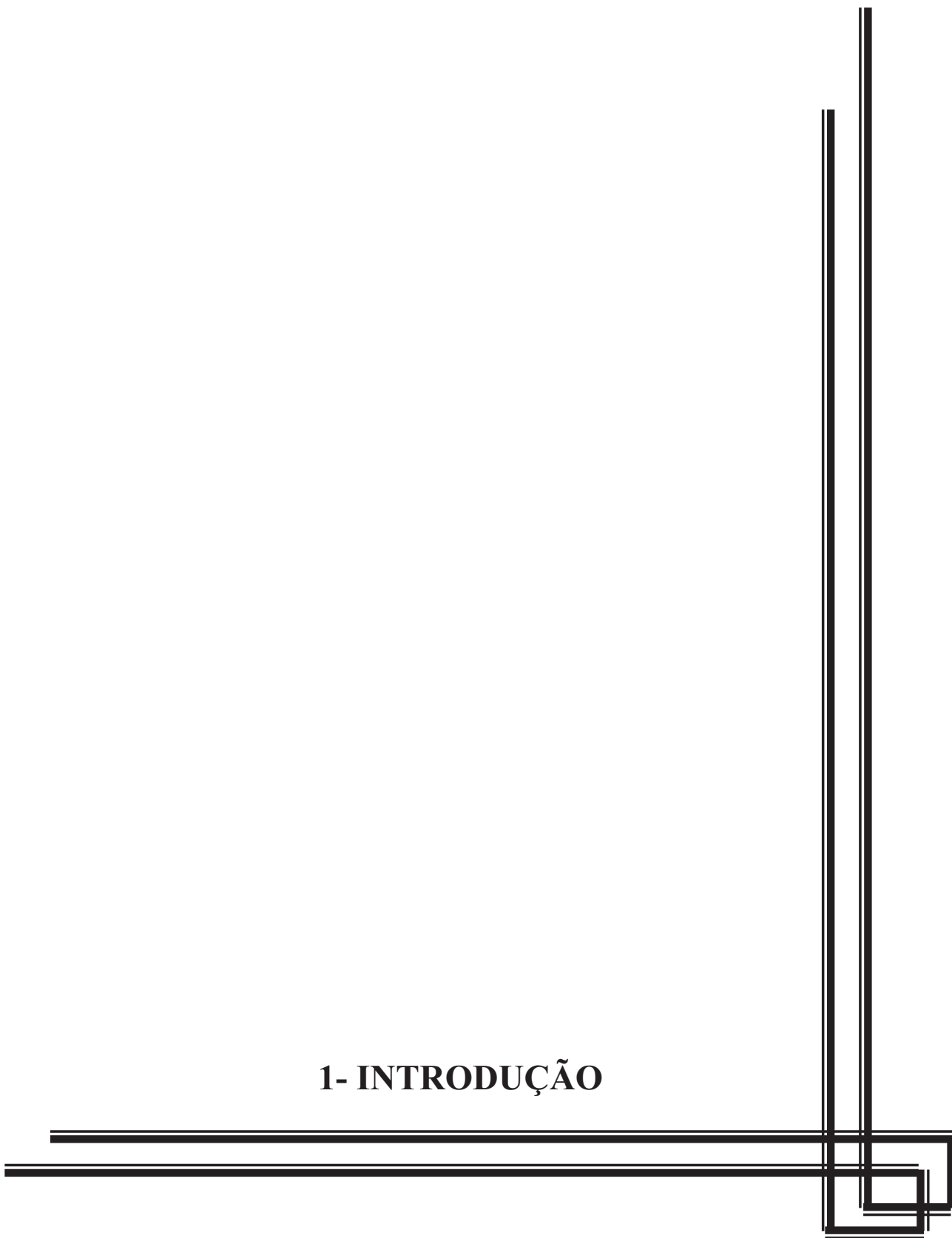
**ABSTRACT**



The *Priva* genus is of tropical distribution and is represented in our country for two species: *Priva bahiensis* A.DC., native and *Priva lappulacea* (L) Pers.. Both are herbaceous terrestrial of the group of the carrapichos, and if they develop in humid and half-sombre lands, without possessing an accented fragrance, common trace to much Verbenaceae. The strong presence, over all of *Priva lappulacea* in the dominion of the Campus and the lack of citations in pertinent literature on its pharmacognostic characteristics and of bioassay in them stimulated the act of this work, of form to value local species with possible potentialities of job as insu mo druggist. After botanical characterization of two species, we effect a deeper diagnosis of *Priva lappulacea*, for existing in bigger abundance, providing more easy acquisition of material for the diverse inquiries that had been developed. A directed pharmacobotanical study the anatomy and histochemistry of this taxon was developed, resulting in the attainment of still unknown data for the same. There of the definition of a phytochemical profile for the two tax, where if it evidenced the predominance of glucosides of phenylpropanoids and iridoids, characterizing itself for chromatographic and or spectroscopic procedures the verbascoside, ipolamide and catalpol. The assays of bioactivity carried through specially with deriving material of *P. lappulacea* had been directed to the definition of its toxicity, and potentialities as antiinflammatory, antitumoral and antimicrobials, providing resulted entertainers how much to the same ones.

Key Words: *Priva lappulacea*, *Priva bahiensis*, Verbenaceae, farmacognóstico, antiinflammatory, antitumoral study, antimicrobials.

## 1- INTRODUÇÃO



A abundância de uma erva no arredor e interior do Campus da Universidade Federal de Pernambuco, e que numa primeira abordagem para sua identificação mostrou tratar-se de uma Verbenaceae, chamou-nos a atenção para a feitura desse trabalho. Revisando um dos principais escritos do passado sob a flora do Nordeste do Brasil, esta que segundo os dizeres de Dom Bento José Pickel<sup>1</sup> “é o campo de estudos dos primeiros naturalistas do Brasil”, não encontramos nenhum relato ou descrição que coincidissem com aquele vegetal (PICKEL, 1948). Como se tratava de uma planta com característica de daninha, encontramos em LORENZI (2000) sua descrição acompanhada de uma foto, indicando tratar-se de *Priva bahiensis* A. DC. Buscamos então no acervo da antiga escola de agronomia de Tapera (PE), hoje inexistente, elaborado pelo mesmo Pickel e disposto na forma de catálogo pelo Prof. Dárdamo de Andrade Lima (ANDRADE LIMA, 1950), o relato desse vegetal em nosso estado, e de fato encontramos duas indicações: uma sob número 561, relativa a material vegetal coletado por Pickel em junho de 1920, em Tapera, determinado por Moldenke e Kunth<sup>2</sup> em março de 1933 e outra, sob o número 2616, referente a material também coletado por Pickel na mesma localidade, em junho de 1931 e determinado por Moldenke cinco anos mais tarde (Figura 1). No decurso dessas investigações iniciais, localizamos nos arredores do *Campus* outra planta bem semelhante a *Priva* que acabamos de relatar, e como constatássemos a ausência de estudos a esses dois *taxa* aliada a importância das Verbenaceae como produtoras de substâncias aromáticas, mas também iridóides, triterpenóides, glicosídeos de fenilpropanóides e flavonóides (JUANG *et al.*, 2005; TOMAS-BARBERAN *et al.*, 1987), e os exemplos existentes de algumas espécies, que mesmo sem um respaldo científico maior, são livremente comercializadas nos grandes centros, pelas propriedades medicinais que apresentam, notadamente *Lantana lilacina* Desf., *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br., e *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl.

---

<sup>1</sup> Naturalista beneditino com relevantes contribuições para o conhecimento da flora brasileira, muito atuante nas décadas de 20 e 30, sendo de sua lavra a criação de alguns de nossos herbários.

<sup>2</sup> Harold N. Moldenke, pesquisador americano (1909); Carl Sigismund Kunth, pesquisador alemão (1788-1850), colaborou na Flora Brasiliensis.

(DE AZEVEDO e SILVA, 2006), resolvemos aprofundar os conhecimentos farmacognósticos e de bioatividade sobre esse vegetal de modo a fornecer um respaldo



seguro à sua aplicação futura como agente medicamentoso. Longe de ser apenas um ensaio com conotações puramente acadêmicas, procuramos valorizar no estudo, vegetais que medram em nossa região, potenciais de nossa flora, que por muitas vezes são preteridos por outras espécies exóticas, nem sempre correspondendo às expectativas medicamentosas nelas depositadas.

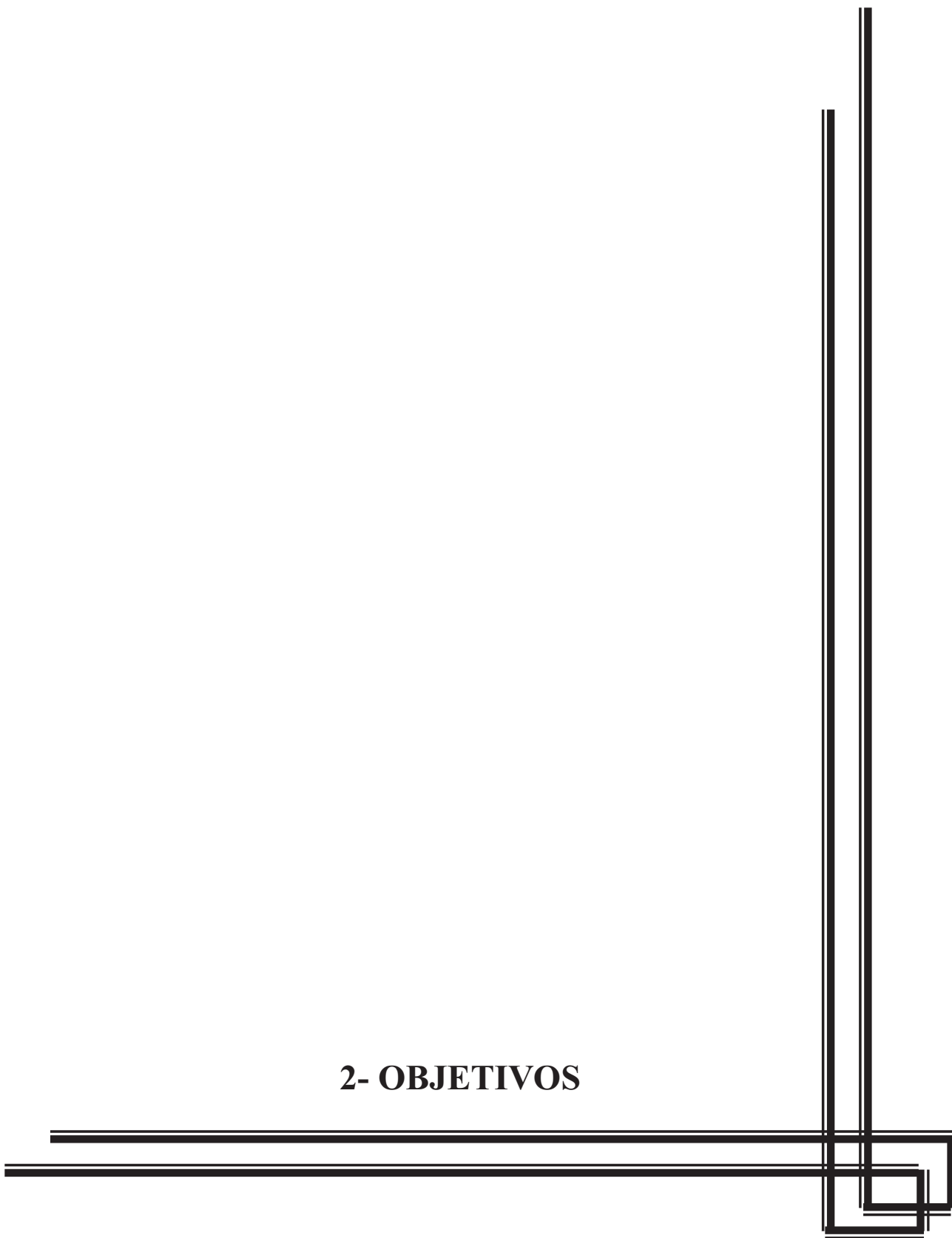
Herb. Schol. Agric. S. Bento.  
PERNAMBUCO  
N.º 2616  
Classe: *Dicotyledoneae*  
Ordem: *Tubiiflorae*  
Familia: *Verbenaceae*  
Tribu: *Verbenaideae - Orveae*  
Genero: *Priva*  
Especie: *lappulacea* (L.) Pers.  
Synonymo: *bahiensis* DC.  
Nome vulgar: \_\_\_\_\_  
Habitat: *Solo húmido em campo de caúna*  
Collegit: *D. Bento Dickel*  
Data: *Peru. Saperá (V. Bento), 1931. Junho 27.*  
Notas: \_\_\_\_\_  
*Det. Killip (1933. B.) Redet. Moldenke (1935. II.)*

Figura 1 – Ficha de exsicata, atestando a caracterização e primeiro registro de *Priva bahiensis* em Pernambuco.<sup>3</sup>

---

<sup>3</sup> O material a que se refere a Figura 1, como podemos observar nos escritos da ficha da exsicata, fora anteriormente (1933) classificado como *Priva lappulacea* por Killip, sendo redeterminado novamente anos mais tarde por Moldenke como sendo *Priva bahiensis*. Encontra-se no acervo botânico de herbário da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA).

## **2- OBJETIVOS**



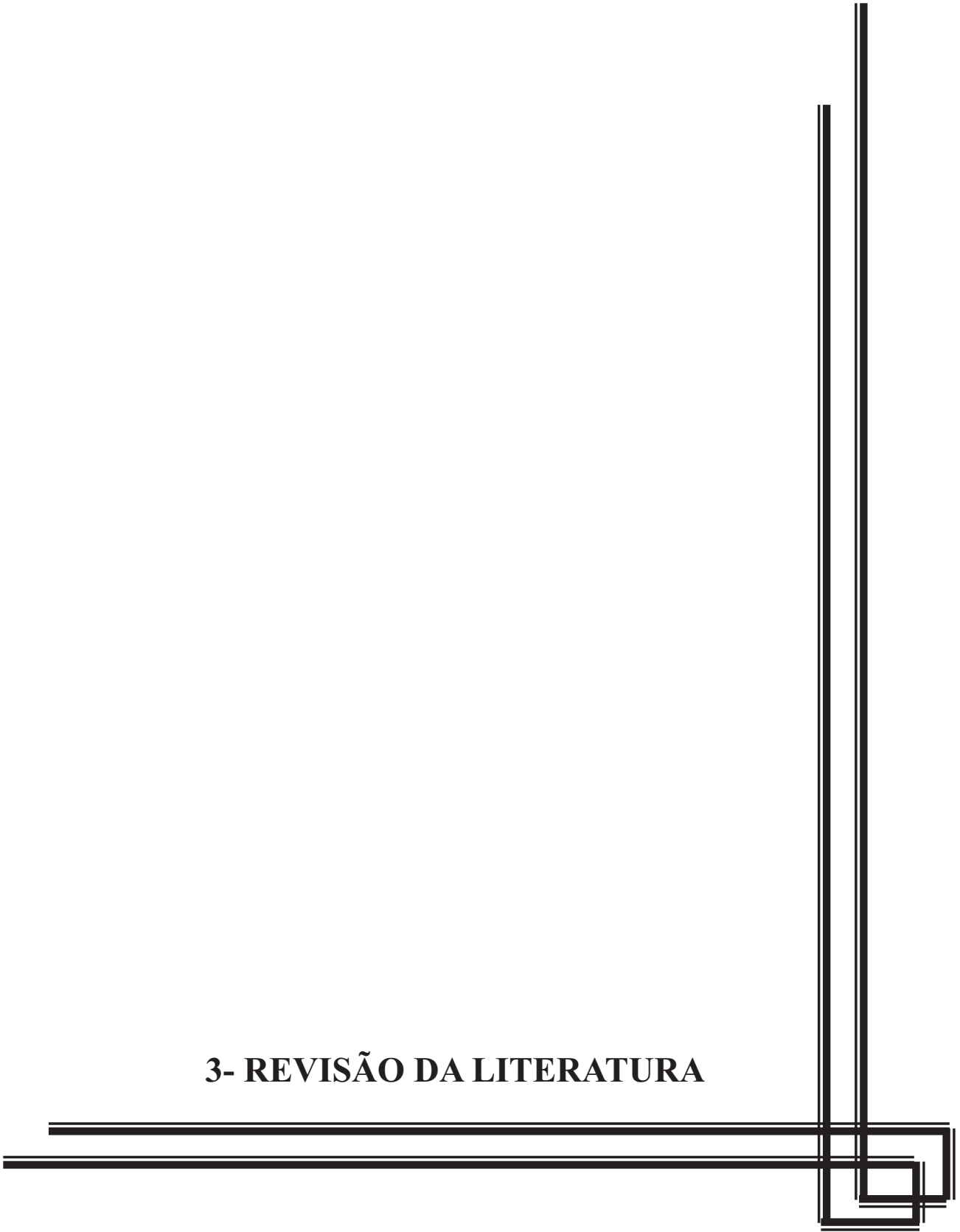
## 2.1. OBJETIVO GERAL

Traçar um esboço farmacognóstico das duas espécies de *Priva* encontradas no *Campus* e arredores da Cidade Universitária (Recife-PE), estudando aspectos ligados à farmacobotânica, farmacologia, farmacogenética, farmacogeografia, farmacocinética e bioatividade concernente às mesmas.

## 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 9 Desenvolver um estudo fitoquímico direcionado primeiramente à obtenção de um perfil dos metabólitos secundários e, em seguida, ao isolamento e caracterização;
- 9 Enfoque a farmacobotânica de *Priva bahiensis* e *Priva lappulacea* apresentando elementos que as definam e possibilitem a caracterização das mesmas;
- 9 Avaliar a toxicidade aguda, através do teste de efeitos gerais e determinar a DL<sub>50</sub> do resíduo de extrato bruto metanólico das partes aéreas do vegetal;
- 9 Avaliar a atividade antitumoral do extrato bruto metanólico e da substância pura frente ao Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich;
- 9 Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos brutos metanólicos das partes aéreas da *Priva lappulacea*.

### **3- REVISÃO DA LITERATURA**



### 3.1 FARMACOBOTÂNICA

#### 3.1.1 Verbenaceae

As *Verbenaceae* estão constituídas em sua grande maioria por ervas e arbustos sendo exceções árvores e lianas. Com origem em *Verbena*, nome atribuído ao gênero por *Linnaeus*, a etimologia do termo adotado por Jaume St. Hilaire em 1815 liga-se ao fato de que “verbena” ou “herbena”, corresponde a *Herba veneris*, erva de Vênus, nome como era conhecida a vervena ou verbena (*Verbena officinalis* L.), planta que no passado gozava de prestígio nos rituais e mágicas da primitiva Roma (RENNÓ, 1963; GARNIER *et al.*, 1961).

De um modo geral, poucos representantes desta família botânica guardam propriedades medicamentosas consagradas pelo vulgo ou confirmadas cientificamente. Os representantes brasileiros mais destacados são *Aloysia triphylla* (L’Hér.) Britton, cujas folhas são empregadas internamente contra resfriados febris, como digestivas, estimulantes, tônicas, anti-espasmódicas, carminativas e calmantes (BOWN, 1995; SIMÕES, 1998). *Lantana Câmara* L. cujo xarope de suas partes aéreas (folhas e flores frescas), é indicado para estados febris e afecções das vias respiratórias: tosse, bronquite, resfriado, catarro, rouquidão, asma e coqueluche (PANIZZA, 1998), a despeito de relatos de toxicidade atribuída a seus triterpenos lantadênicos (MORS, *et al.* 2000). *Lippia microphylla* Cham. cuja inalação de vapores obtidos da infusão de suas folhas é recomendada no tratamento de estados gripais, bronquite e sinusite (MATOS, 2000). *Lippia gracilis* Schauer cuja infusão das folhas é empregada para lavar ferimentos e outras afecções cutâneas (LACOSTE, *et al.*, 1996). *Lippia sidoides* Cham. é o conhecido alecrim pimenta ou alecrim do nordeste, planta bem estudada cujos componentes carvacrol e timol presentes em teor elevado em suas folhas, determinam boa atividade antimicrobiana sobretudo contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium xerosis*, *Candida albicans* *Trichophytum rubrum* e *T. interdigitale* (MATOS, 2000; LACOSTE, *et. al.*, 1996; LEMOS e MONTE, 1992). Talvez uma das espécies de *Lippia* mais difundidas na medicina tradicional seja a *L. alba* (Mill.) N. E. Br., nomeada vulgarmente de “cidreira”, numa alusão ao aroma cítrico de um de seus quimiotipos (MATOS, 1996). A farmacoeologia desse vegetal aponta-o como espasmolítico e calmante brando, notadamente em se tratando de material foliar dos quimiotipos contendo teores razoáveis de citral e limoneno, estudo fitoquímico recente, mostrou a existência de alguns iridóides em todo o vegetal,

principalmente em suas raízes (SENA FILHO, 2007). *Starchytarpheta cayenensis* (Rich.) Vahl. o conhecido “gervão”, planta nativa, que juntamente com outros representantes do gênero (*S. jamaicensis* (L.) Vahl, *S. elatior* Schrad.) são usados em nosso país em forma de infusão das partes aéreas, como estimulante gastrointestinal, contra febres, dispepsia, como diurético e emoliente, contra males crônicos do fígado, incluindo hepatite e, como sudorífico (COIMBRA, 1994; CRUZ, 1995; LORENZI e MATOS, 2002). Na Índia, o infuso das folhas de *Meindica* L. tem sido empregado contra disenteria, febres e inflamações reumáticas (SUBRAMANIAN, 1974). Outros gêneros numericamente importantes dessa família com representantes nativos são *Baillonia*, *Bouchea*, *Casselia*, *Citharexylum*, *Duranta*, *Glandularia*, *Monochilus*, *Petrea*, *Phyla*, *Priva*, *Tamonea* e *Verbenoxylum*. Tratando-se de um grupo de taxonomia complexa, onde a circunscrição tanto da família quanto de vários de seus gêneros e espécies é incerta, seguindo critérios atuais (THORNE, 2000), Verbenaceae e Lamiaceae foram redefinidas, cabendo as primeiras apenas o que tradicionalmente era atribuído à subfamília Verbenoideae. De fato as duas famílias possuem muitas características semelhantes diferindo notadamente quantas aquelas do ovário que nas Lamiaceae é profundamente 4-lobado com estilete ginobásico enquanto que em Verbenaceae o ovário não apresenta lóbulos e o estilete é terminal, estes aspectos não são definitivos, pois existem representantes em ambos os taxa com ovários intermediários (CRONQUIST, 1981). Na literatura há inúmeros relatos sobre a sistemática de Verbenaceae, um dos grandes estudiosos desse táxon (SMITH, 1977), descreveu para a mesma três sub-famílias: Verbenoideae, com inflorescências em racemos ou espigas, e abrigando os gêneros *Priva*, *Verbena*, *Glandularia*, *Lantana*, *Phyla*, *Stylodon* e *Duranta*; Vitiocoideae, diferindo por apresentar cimeiras como inflorescência básica, e composta pelos gêneros *Callicarpa*, *Tectona*, *Clerodendrum* e *Vitex*; e a terceira, Avicennioideae, incluindo o gênero *Avicennia*, (“mangue canoé”, “mangue branco”). Especialistas preferiram segregar *Avicennia* à Aviceniaceae, família monogênica (MOLDENKE, 1960, 1967) e *Callicarpa*, *Clerodendrum* e *Vitex* em Lamiaceae (SCHWARTZBACH AND MCDADÉ, 2002). No Brasil, ocorrem os seguintes gêneros (BARROSO, 1946): *Aegiphila*, *Monochilus*, *Gmelina*, *Petraea*, *Starchytarphetta*, *Lippia*, *Lantana*, *Casselia*, *Cornutia*, *Verbena*, *Premna*, *Priva*, *Tamonea*, *Duranta*, *Callicarpa*, *Citharexylon*, *Taligalea* e *Bouchea*.

### 3.1.2 Gênero *Priva Adans* (KOBUSKI, 1926; MOLDENKE, 1936)

Este gênero é constituído por plantas anuais ou perenes, eretas ou ascendentes, quase sempre pubescentes e ásperas ao tato, possuindo inúmeros tipos de pelos incluindo os uncinados; folhas opostas ou sub-opostas, em geral denteadas ou serreadas; inflorescências dispostas em ráceros mais ou menos espiciformes, terminais e/ou axilares; flores hermafroditas, um tanto zigomorfas, providas de uma pequena bráctea na base; cálice tubuloso na antese (em geral acrescente e mais ou menos persistente na frutificação), com 4 ou 5 dentes curtos, subiguais ou desiguais; corola hipocraterimorfa, com o limbo ligeiramente bilabiado, com 5 lóbulos amplos, mais ou menos desiguais; estames 4, didínamos, inclusos e ligeiramente exsertos, algumas vezes se apresenta um estaminódio diminuto; ovário bicarpelar, com 2 a 4 lóculos e um óvulo por lóculo, estilete incluso ou ligeiramente excerto, estigma com um lóbulo mais largo, ereto ou recurvado, amplo e estigmático no ápice, e outro disposto um pouco mais abaixo, reduzido à semelhança de dente, não estigmatífero; fruto seco ou às vezes carnoso, podendo separar-se quando maduro em dois meri carpos biloculares ou uniloculares, envolto freqüentemente no cálice acrescente e mais ou menos persistente.

O gênero conta atualmente com cerca de 30 espécies de distribuição pantropical, inseridas principalmente em regiões do Novo Mundo, do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina e Chile; algumas espécies ocorrem também na África e Ásia. De acordo com dados colhidos em base de dados do Missouri Botanical Garden, acessada recentemente (<http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>), as espécies e subespécies do gênero *Priva* são:

*P. abyssinica* Jaub. & Spach., 1853-57; *P. adhaerens* (Forssk) Chiov., 1923; *P. africana* Moldenke; *P. aspera* Kunth., 1817 (1818); *P. auricoccea* A Meeuse; *P. bahiensis* A. DC. 1847; *P. boliviana* Moldenke; *P. cordifolia* (L.) Druce., 1917; *P. cordifolia* var. *abyssinica* (Jaub & Spach.) Moldenke, 1936 ; *P. cordifolia* var. *australis* Moldenke, 1936; *P. cordifolia* var. *flabelliformis* Moldenke, 1936; *P. crenata* Schrad., 1831; *P. cuneato-ovata* (Cav.) Rusby, 1900; *P. curtisiae* Kobuski, 1925; *P. dentata* Juss. 1806; *P. echinata* Juss. 1806; *P. flabelliformis* (Moldenke) Fernandes, 1985; *P. forskaolaei* (Vahl.) Jaub. & Spach, 1855 ; *P. grandiflora* (Ortega) Moldenke, 1946 ; *P. hispida* Juss., 1806 ; *P. humbertii* Moldenke, 1951 ; *P. laevis* Juss., 1806 ; *P. lamifolia* M. Martens & Galeotti, 1844 ; *P. lappulacea* (L.) Pers., 1806 ; *P. leptostachya* Juss.; *P. mexicana* (L.) Pers., 1806; *P. meyeri* Jaub. & Spach., 1953-57; *P. meyeri* var. *meyerii*

Jaub. & Spach.; *P. orizabae* S. Watson, 1888; *P. peruviana* Moldenke, 1936; *P. portoricensis* Urb.; *P. tenax* Verdc., 1988; *P. trachelioides* M. Martens & Galeotti, 1844; *P. virgata* (Ruiz & Pav.) Spreng.

Para o Brasil, está assinalada apenas a ocorrência de *P. bahiensis* e *P. lappulacea*. Tivemos oportunidade de coletar exemplares das duas espécies no Campus da UFPE e cercanias, predominando a *P. lappulacea*, sendo mesmo abundante, já *P. bahiensis* ocorre esporadicamente nas proximidades do rio Capibaribe no Bairro da Várzea. A descrição aqui elaborada para estas taxa foi amplamente calcada naquelas realizadas quando de revisões do gênero (KOBUSKI, 1926; MOLDENKE, 1936) e ainda em observações efetuadas com material por nós coletado e de herbários regionais.

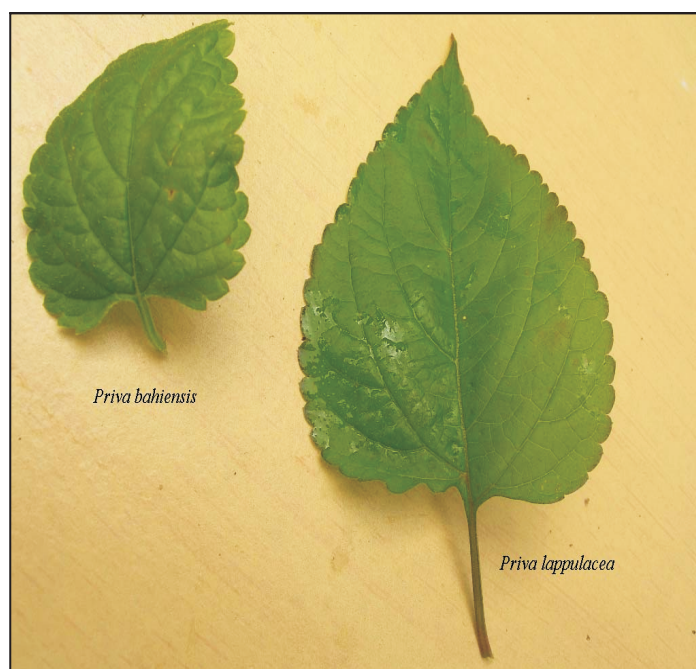
### **3.1.3 *Priva bahiensis* A. DC. 1847**

Vulgarmente é conhecida como “carrapicho” e “mãe Isabel”, o primeiro nome é devido à tendência em aderir a qualquer objeto ou material de lã, algodão ou similar, devido a existência de inúmeros pelos endurecidos e que ornamentam principalmente seus pequenos frutos, servindo obviamente para a dispersão da espécie. “Mãe Isabel”, principalmente usado na Bahia, parece ser uma alusão ao formato lobular intumescido do cálice que no fruto prestes a maturação e maduro, assemelha-se aos quadris robustos das antigas mulheres das senzalas. Não encontramos nenhuma sinonímia científica para essa espécie. Trata-se de uma erva perene de pequeno porte, ereta ou ascendente com até 1.0 m de altura; caule tetragono (Figura 2), ramificado, encoberto de pelos muito finos; folhas curtamente pecioladas, oval, subcordadas, com 2,8-4,0 cm de comprimento por 1,0-2,0 cm de largura, grosseiramente serrilhada (Figura 3), estreitando-se na base do pecíolo, com pubescência de pelos grossos acima e finamente abaixo; racemos terminais com 2,0 cm de comprimento, flores solitárias, separadas, nas axilas das brácteas; estas com 3-4 mm de comprimento, duas vezes maiores que os pedicelos, mais ou menos lineares, pubescentes; cálice delgado, tubular, 5-denteado, densamente uncinado-hispido, principalmente entre as nervuras, com 4-5 mm de comprimento, acrescente, tornando-se muito inflado, globoso; corola com duas vezes o tamanho do cálice; frutos obcordados, atenuados na base (Figura 4), separando-se em dois cocos biloculares na maturação com superfície dorsal convexa, portando em toda sua extensão, duas fileiras delgadas de espinhos encurvados, transversalmente enrugado entre as duas fileiras de espinho, superfície comissural escavada e marginada (Figura 5).





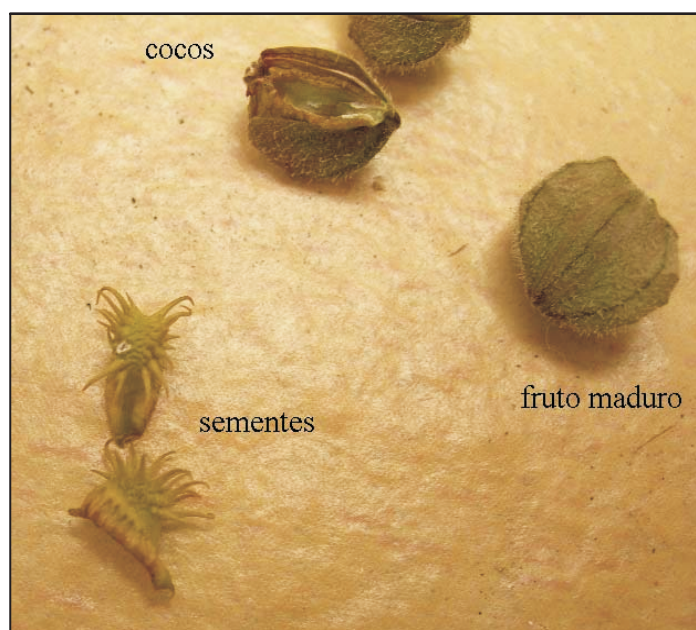
**Figura 2** – Aspecto quadrangular e ramificado do caule de *Priva bahiensis* (Foto: Haroudo S. Xavier, 2006)



**Figura 3** – Detalhes de folhas de *Priva bahiensis* e *Priva lappulacea*. (Foto: Haroudo S. Xavier, 2006)



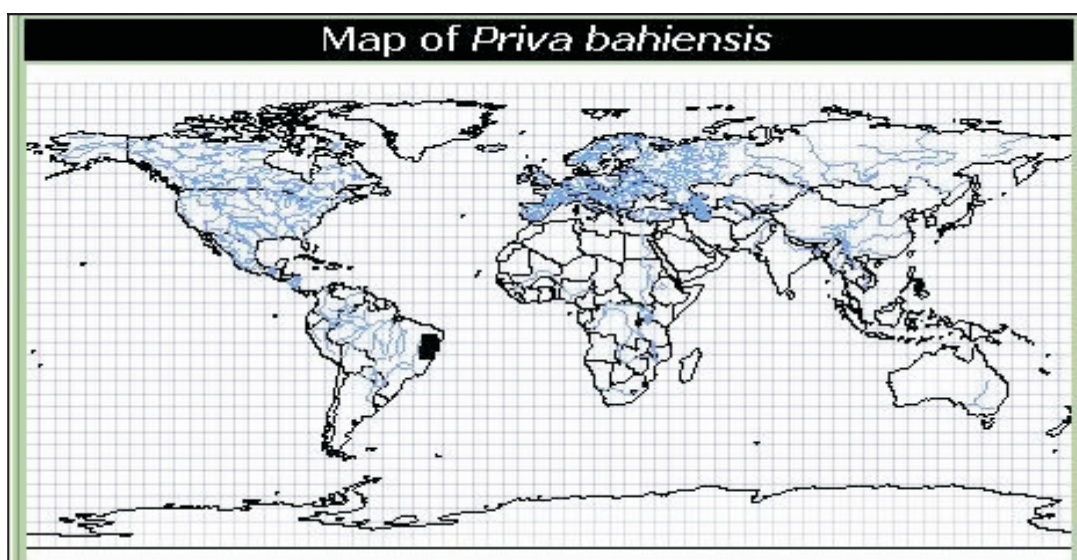
**Figura 4** – Detalhes da inflorescência de *P. bahiensis*, flor, cálice, brácteas e fruto ainda imaturo. (Foto: Haroudo S. Xavier, 2006)



**Figura 5** – Detalhes do fruto de *Priva bahiensis*, com cocos e sementes ornadas de espinhos recurvados. Foto obtida através de lupa (X 4) por Haroudo S. Xavier, 2006.

Algumas descrições da ocorrência desse vegetal nativo obtém-se na base de dados do Missouri Botanical Garden's VAST (VAScular Tropicos): [http:// mobot.mobot.org /W3T/Search/vast.html](http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html), foi acessado em 31/01/2006 e neste endereço também está disponibilizado uma imagem na forma de mapa de sua ocorrência no globo (Figura 6).

Conferindo fichas de exsicatas, do herbário do IPA<sup>4</sup>, verificamos que a ocorrência desse vegetal tinha sido já assinalada em Tapera, em terras do engenho São Bento ali existente à época<sup>5</sup>, sendo o material determinado por Moldenke e Kunt. Outras indicações de coleta encontram-se registradas no herbário citado, destacando-se sua presença entre Triunfo (PE) e Flores (PE) (registro 19795, col. José de Paula Lanna & Alberto Coelho-25-05-1971), e entre Triunfo e Princesa Izabel (PB) (registro 48507, col. V. C. Lima & Fernando Gallindo-25-02-1986).



**Figura 6** – Mapa de distribuição de *P. bahiensis* no mundo, atestando sua ampla e exclusiva distribuição no nordeste do Brasil (parte enegrecida do mapa).  
Fonte: Missouri Botanical Garden –BD.

#### **3.1.4 *Priva lappulacea* (L.) Pers. 1807**

De sinóníma científica ampla (Quadro 1), cujos dados transcrevemos do Missouri Botanical Garden's (VAST) através do site <http://mobot.mobot.org/W3T/>

<sup>4</sup> Instituto de Pesquisas Agronômicas do Nordeste da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária.

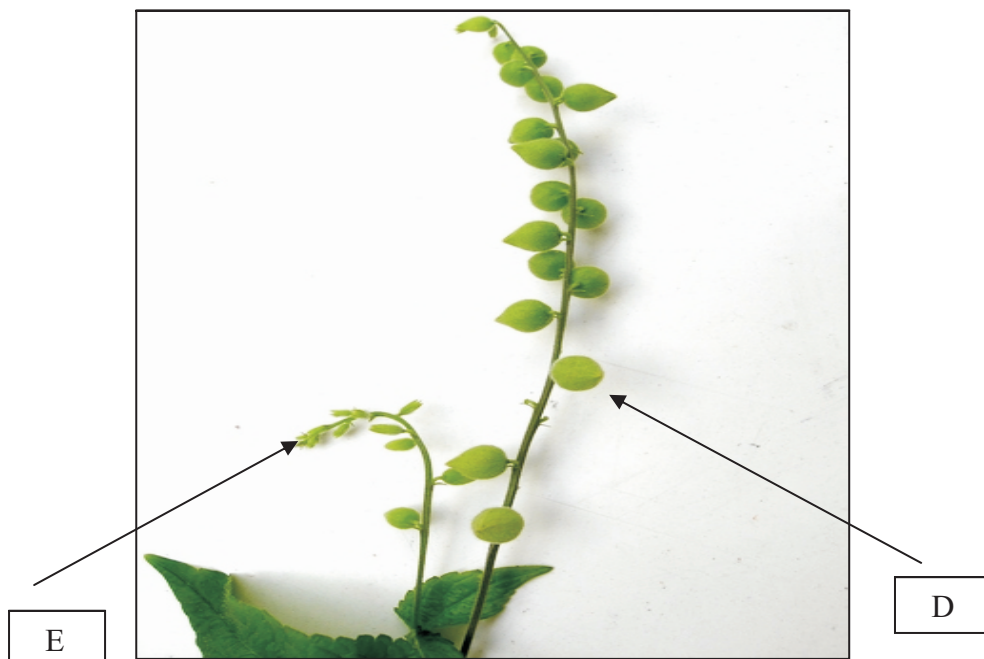
<sup>5</sup> Região atualmente em grande parte submersa pela barragem de Tapacurá.

Search/vast.html, acessada em 30 de janeiro de 2006, e estão disponibilizados no Quadro 1, tem esta espécie uma denominação vulgar no Brasil muito semelhante àquela de *P. bahiensis*, táxon com o qual foi confundido em duas obras editadas recentemente em nosso país (LORENZI, 2000; SOUZA & LORENZI, 2005), onde é conhecida por “carrapicho”, “pega-pega”, “mãe Isabel”,

Planta herbácea perene com até 1,0 m de altura; caule ramificado, estendido, prostrado ou ascendente a ereto, tetrágono, estriado, as partes mais jovens densa e espaçadamente cobertas por pubescência de pelos esbranquiçados retos, encurvados ou uncinados, glabrescente com a idade (Figura 7); folhas opostas, pecioladas com 1 a 3 cm de largura e 2 a 8 cm de tamanho, ápice agudo a acuminado, base em geral truncada ou cuneada e decorrente, raras vezes subcordada, borda crenado-serrilhada (Figura 2 e 7); inflorescência predominantemente terminal à semelhança de racemos espiciformes medindo de 5 a 15 cm de tamanho; chegando até a 20 cm durante a frutificação (Figura 8), flexuosos, pedúnculos e raques pubescentes com inúmeros pelos esbranquiçados retos ou em sua maioria uncinados, pedicelos delgados, de 1 a 1,5 mm de tamanho, brácteas de dimensões aproximadamente iguais ao cálice tubuloso com 2 a 3 mm de largura, quase truncado no ápice, com 5 dentes bem curtos, apenas apiculados, densamente hispido com numerosos pelos esbranquiçados uncinados freqüentemente misturados com outros lisos, retos, alargados; corola rósea ou violeta, algumas vezes branca, de 3 a 6 mm de tamanho, com um diâmetro de aproximadamente 6 mm, pubescente interna e externamente (Figura 9); estames 4, didínamos, ovário levemente tetralobado, tetralocular, com um óvulo por lóculo; cálices frutíferos amplamente ovóides a urceolados ou subesféricos, estreitando-se no ápice, terminando por 5 dentes diminutos persistentes, membranosos, inflados, encerrando o fruto à semelhança de uma bolsa, acrescente e persistente, de 5 a 7 mm de tamanho e uns 3 a 5 mm de diâmetro, densamente hispida com pelos curtos uncinados esbranquiçados, glabra internamente, sobre pedicelos ascendente acompanhados de uma bráctea, ambos medindo cerca de 2 mm (Figura 10); fruto livre dentro do cálice, oblongo, quadrangular, com aproximadamente 3 a 4 mm por 2,5 a 4 mm de largura, seco e duro, com a superfície dorsal rugosa e equinada portando duas fileiras marginais paralelas de fortes espinhos com 0,5 a 1 mm, fruto maduro separando-se em dois mericarpos iguais, com a superfície comissural plana ou quase plana, o mericarpo bilocular com uma semente em cada lóculo (Figura 11).



**Figura 7** – Caule de *Priva lappulacea* mostrando as ramificações, sua forma tetragonal e inserção de folhas opostas e pecioladas com base cuneada. (Foto: Haroudo S. Xavier, 2006)



**Figura 8** – Inflorescência terminal de *Priva lappulacea*, botões florais (E) e frutos (D). (Foto: Haroudo S. Xavier, 2006)



**Figura 9** – Aspectos florais de *Priva lappulacea*.  
(Foto: Haroudo S. Xavier, 2006)



**Figura 10** – Fruto imaturo *Priva lappulacea*,  
bolsa (cálice) com inúmeros pelos e bráctea. Foto  
obtida através de lupa (X 4) por Haroudo S. Xavier,  
2006.

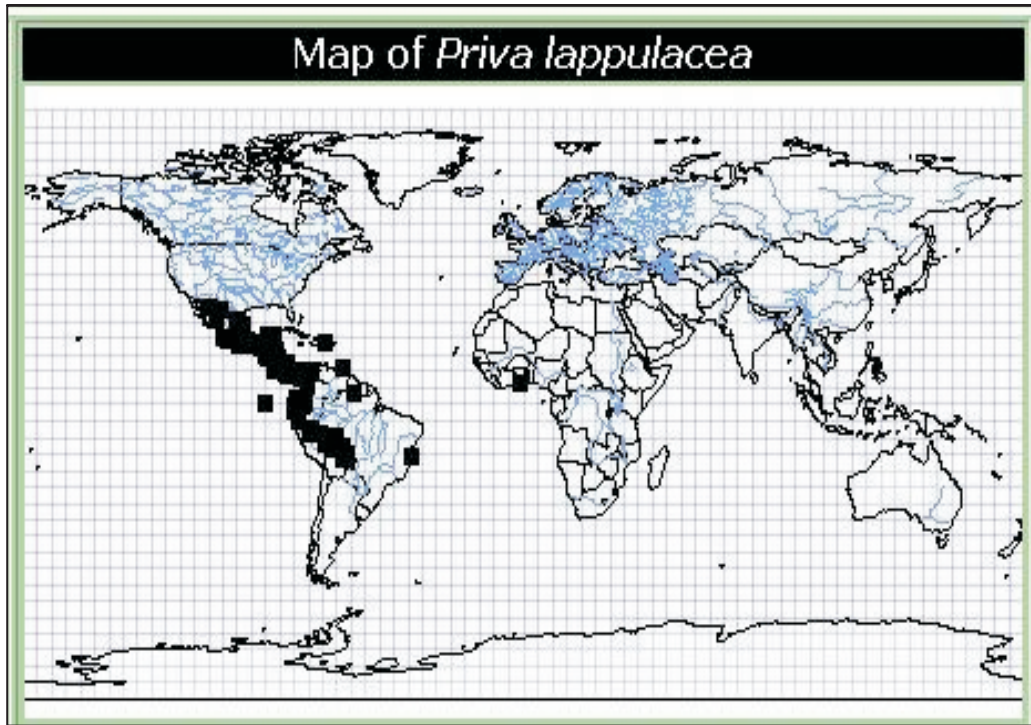


**Figura 11** – Fruto maduro, em detalhe a superfície dorsal eqüinada com espinhos enfileirados. Foto obtida através de lupa (X 4) por Haroudo S. Xavier, 2006

Planta com características de daninha, *Priva lappulacea* em nossa região floresce e frutifica durante todo o ano, sendo mais evidente após as primeiras chuvas do período invernososo de abril a julho. Amplamente distribuída em todo o continente americano desde o Texas e Flórida por toda a América Central e do Sul, a Figura 12, obtida em site do Missouri Botanical Garden's<sup>6</sup> expressa essa distribuição.

---

<sup>6</sup> Missouri Botanical Garden's VAST (VAscular Tropicos):  
<http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>, acessado em 31/01/2006.



**Figura 12** – Mapa mostrando a distribuição de *Priva lappulacea* no mundo.  
Fonte: Missouri Botanical Garden's.



**Quadro 1** – Dados sobre a sinonímia científica de *Priva lappulacea*.

<i>Priva echinata</i> Juss.	<i>Priva echinata</i> Jussieu, Ann. Mus. Natl. Hist. Nat. 7: 69. 1806, nom. illegit. BASIONYM: <i>Verbena lappulacea</i> Linnaeus 1753.
<i>Priva lamiifolia</i> M.Martens & Galeotti	<i>Priva lamiifolia</i> M. Martens & Galeotti, Bull. Acad. Roy. Sci. Bruxelles 11(2): 325. 1844. TYPE: MEXICO: Veracruz: La Antigua, s.d., Galeotti 7098 (holotype: BR;isotypes: G, K).
<i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. forma albiflora Moldenke	<i>Priva lappulacea</i> (Linnaeus) Persoon, forma albiflora Moldenke, Phytologia 17: 114. 1968. TYPE: PANAMA: Bocas del Toro: Changuinola to 5 mi. S at the junction of Río Changuinola and Río Terebe, 17-19 Dec 1966, Lewis <i>et al.</i> 926 (holotype: MO).
<i>Tamonea lappulacea</i> (L.)Poir.	<i>Tamonea lappulacea</i> (Linnaeus) Poiret, in Lamarck, Encycl. 7: 568. 1806. BASIONYM: <i>Verbena lappulacea</i> Linnaeus 1753.
<i>Verbena lappulacea</i> L.	<i>Verbena lappulacea</i> Linnaeus, Sp. Pl. 19. 1753. TYPE: JAMAICA: Without data (neotype: LINN 35.5). Neotypified by R. W. Sanders, in R. A. Howard, Fl. Less. Antill., Dicot. 3: 238. 1989.
<i>Zapania lappulacea</i> (L.) Lam.	<i>Zapania lappulacea</i> (Linnaeus) Lamarck, Tabl. Encycl. 1: 59. 1791. BASIONYM: <i>Verbena lappulacea</i> Linnaeus 1753.

Foi levado em consideração o fato da *Priva lappulacea* ser a espécie mais abundante e efetuou-se uma descrição microscópica, considerando a vasta distribuição da mesma e, seu possível aproveitamento como insumo farmacêutico. Essa descrição, aliada os dados de natureza fitoquímica em sua maioria por nós obtidos, gerou uma publicação cujo resumo transcrevemos a seguir, podendo o material enviado para publicação ser visualizado no apêndice 1.

**3.1.5 Anatomia e histoquímica de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae).**

Visando contribuir para o controle de qualidade de fitoterápicos do bioma caatinga, este estudo descreve a anatomia e caracteres histoquímicos em órgãos vegetativos de *Priva lappulacea* (L.) Pers. Cortes transversais e paradérmicos, à mão

livre, de material fresco fixado, foram utilizados para análise anatômica e histoquímica, sob microscopia óptica. O caule quadrangular apresenta medula ampla e oca. O pecíolo exibe extensões laterais arredondadas. *Tricomas tectores* e glandulares estão distribuídos em toda porção aérea do vegetal; estômatos anomocíticos estão presentes em ambas as epidermes. Todos os órgãos são ricos em diferentes grupos de metabólitos predominando amido e compostos fenólicos, especialmente em folhas. A descrição anatômica e os testes histoquímicos aqui mostrados são inéditos para *Priva lappulacea*. Essa análise microscópica resultou em um artigo que foi encaminhado para publicação na Revista Brasileira de Farmacognosia (Apêndice I).

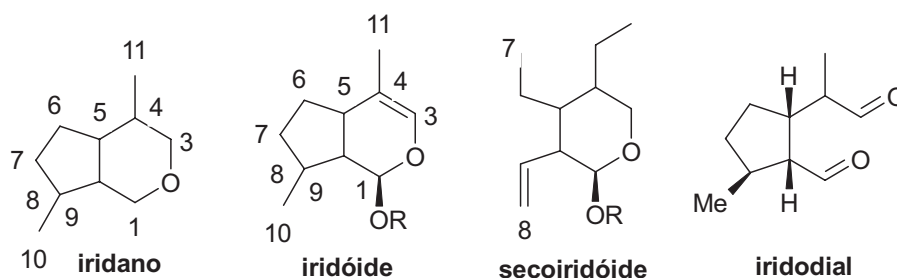
### 3.2 FARMACOQUÍMICA

As substâncias já relatadas em Verbenaceae incluem notadamente mono e sesquiterpenos constantes em óleos essenciais de diversos gêneros, mas principalmente em *Lippia*, *Aloysia* e *Lantana*, chegando mesmo, à constância e teor razoável de alguns componentes a definir quimiotipos em determinadas espécies (TUCKER, 2004; STASHENKO *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 1999). *Lantana* é também pródigo em biossintetizar terpenos maiores e em algumas espécies bem característicos, os lantandenos de *Lantana câmara* L. são um bom exemplo (JUANG *et al.* 2005; GHISALBERTI, 2000; SHARMA, 1988). Naftoquinonas e isoflavonas grupo de substâncias em geral presentes em Fabaceae ocorrem esporadicamente em Verbenaceae (MACKOVA *et al.*, 2006; SANTOSA, 2003; ZHONG & WANG, 2002). Flavonóides antocianínicos, quercetínicos, quempferólicos, apigenínicos e luteolínicos são de ocorrência comum (HARBORNE *et al.* 1974), já a presença de neolignananas tem sido constatada excepcionalmente (GOTTLIEB, 1988). Os iridóides são pela sua abundância e diversidade estrutural, o principal grupo de substâncias biossintetizadas por essa família, e sua ocorrência nos taxa que estudamos e que constituem o eixo principal de nosso trabalho, mereceu um delineamento mais aprofundado.

#### 3.2.1 Iridóides de Verbenaceae

Este talvez seja à luz dos conhecimentos atuais, o principal grupo de metabólitos secundários dessa família de vegetais superiores. Os iridóides apresentam uma pronunciada distribuição em angiospermas notadamente em Lamiaceae, Verbenaceae, Scrophulariaceae, Plantaginaceae, Rubiaceae e Apocynaceae (HARBORNE, 1998). Sendo não raro, utilizadas como marcadores taxonômicos ao

nível de gênero e subgênero (RIMPLER, 1986). Quimicamente são monoterpenos modificados, apresentando um esqueleto formado por um núcleo ciclopentano unido à  $\alpha$ -pirona, conjunto estrutural conhecido como iridano (cis-2-oxabícclo-[4,3,0]-nonano). *Lato sensu*, também são incluídos os secoiridóides, caracterizados pela ruptura da ligação entre C-7 e C-8 do anel ciclopentânico (Figura 13).

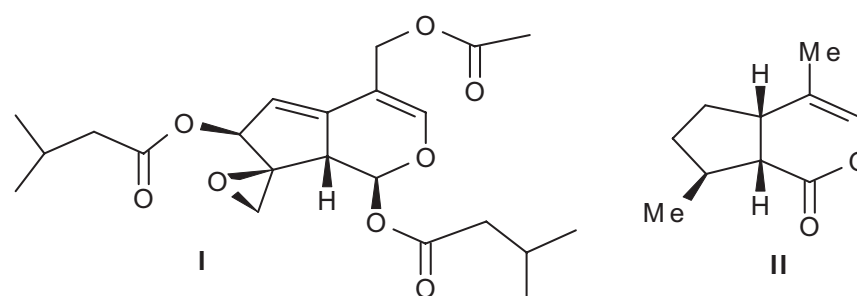


**Figura 13** – Sistema de numeração e esqueletos de iridóides, R= H ou açúcar.

A designação iridoide teve origem no fato de que estas substâncias derivam do iridodial (Figura 13), metabólito isolado da formiga australiana *Iridomyrmex detectus* que o biossintetiza para sua defesa frente a outros insetos (DA CUNHA *et al.* 2005; CAVILL *et al.* 1956; CAVILL E FORD, 1960; TRIM & HILL, 1952). À semelhança do que ocorre com o indican, quando de sua transformação em índigo<sup>1</sup>, alguns iridoide glicosilados sofrem hidrólises e suas agliconas após oxidação ao ar, transformam-se em derivados de coloração azulada, o que no passado levou alguns pesquisadores a nomeá-los de pseudo-indicans (MULERT, 2001).

Em geral se distinguem três tipos de iridóides: os não glicosilados (aglicônicos) ou *stricto sensu*, os glicosilados e os secoiridóides ou *lato sensu*. Os iridóides não glicosilados cujos exemplos clássicos são os valtratos existentes na valeriana (*Valeriana officinalis* L.) e a nepetalactona da erva-dos-gatos (*Nepeta cataria* L.) caracterizados pela sua ação sedativa (PROENÇA DA CUNHA, 2005), cujas estruturas podem ser visualizadas na Figura 14.

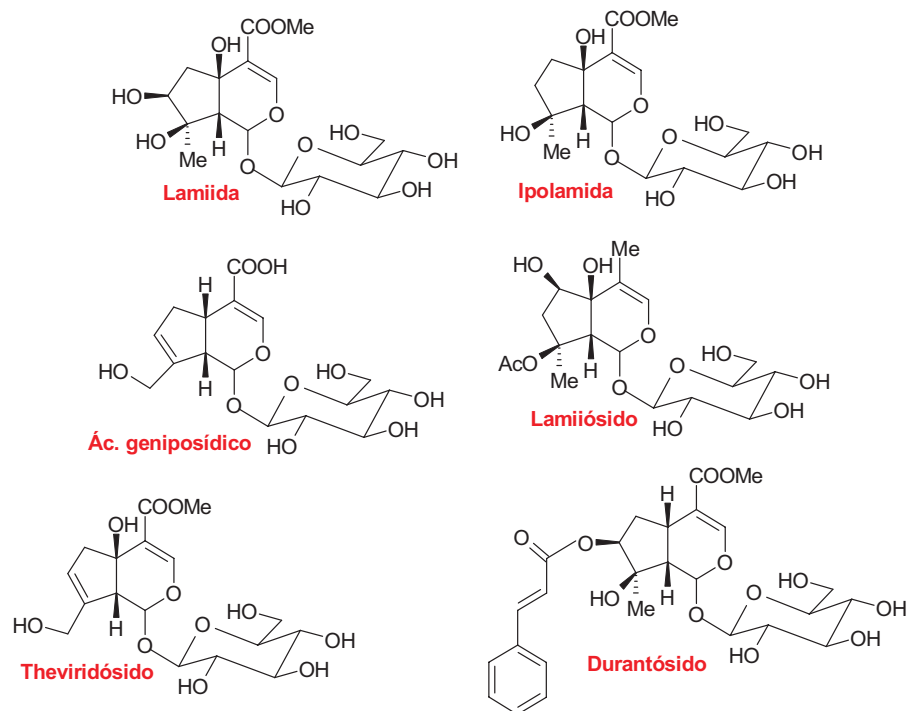
<sup>1</sup>O índigo é um pigmento azul conhecido de épocas remotas, resultante de hidrólise enzimática ou ácida do indican, glicosídeo natural existente em alguns vegetais principalmente representantes do gênero *Indigofera* (Fabaceae).



**Figura 14** – Exemplos de iridóides não glicosilados: valtrato (I) e nepetalactona (II).

Os iridóides glicosilados representam o grupo mais numeroso com mais de 300 estruturas conhecidas. Os secoiridóides originam-se dos *stricto sensu* por ruptura da ligação 7,8 do núcleo ciclopentânico (Figura 13), cada um conta com cerca de mais de 100 representantes já descritos (BRUNETON, 1993). A maioria dos glicosídeos de iridóides *lato sensu* são glucosídeos, a ligação heterosídica sendo feita entre a hidroxila do carbono anomérico da D-glucose e a hidroxila do carbono 1 da aglicona (Figura 13), são exemplos muito conhecidos a loganina que contribui para o amargor da noz-vômica (*Strychnos nux-vomica* L.), o asperulósido e a aucubina (Figura 14), estes constituindo os primeiros iridóides isolados e constantes em muitas Rubiaceae (BOURQUELOT & HÉRISSEY, 1906).

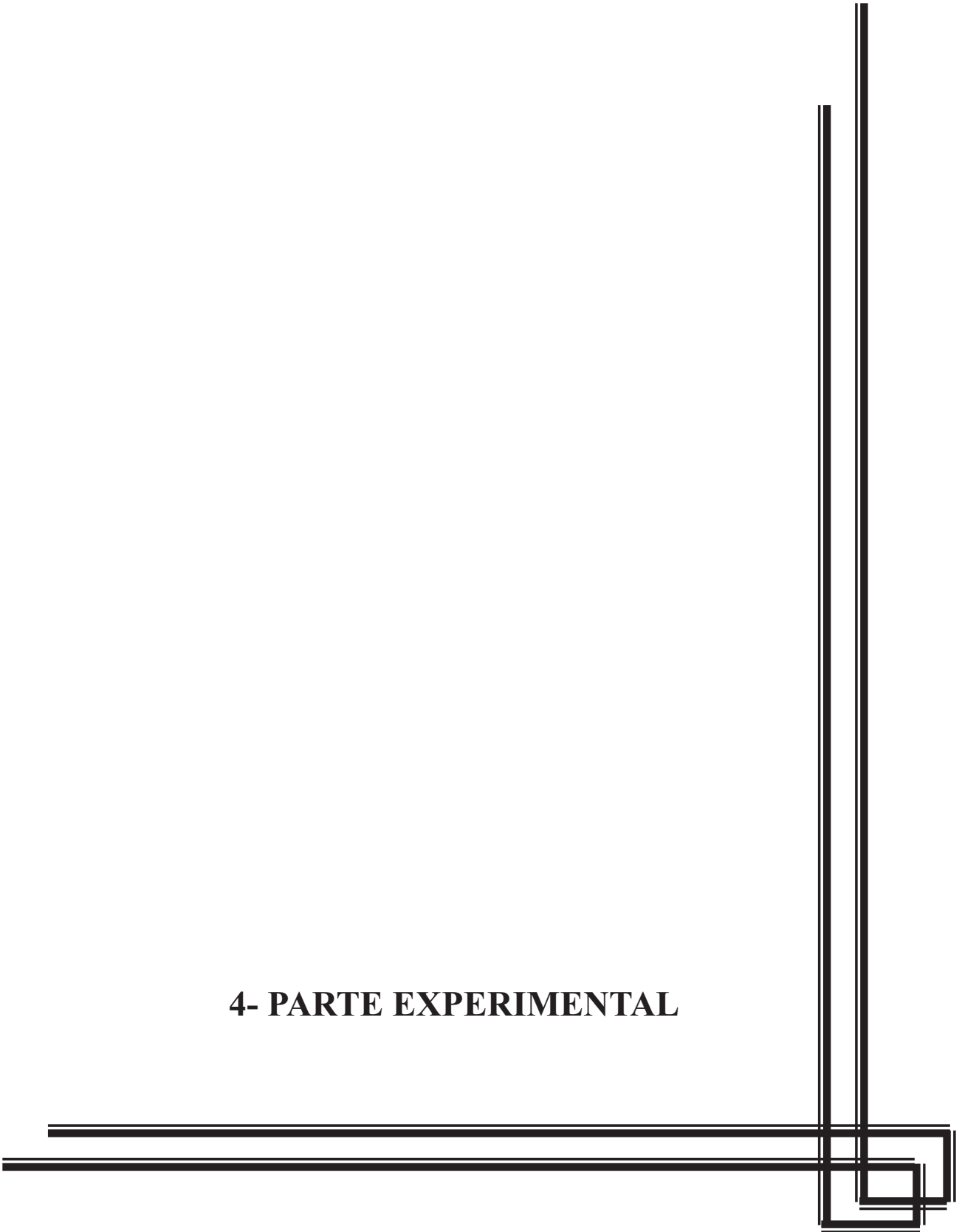
Os iridóides de Verberaceae encontram-se principalmente glicosilados, sendo os mais freqüentes a lamiida (*Bouchea* – *Chascarum* – *Citharexylum* – *Duranta* – *Glandularia* – *Lantana*), a ipolamida (*Glandularia* – *Lantana* - *Priva* – *Stachyrtapheta*), o ácido geniposídico que às vezes se encontra em forma de sal sódico (*Aloysia* – *Junella* – *Lippia* – *Rhaphithamnus* - *Lantana* ), o teviridósido e o lamiósido (*Bouchea* – *Citharexylum* – *Duranta*). Existem alguns iridóides bem característicos de determinado táxon um exemplo marcante são os durantósidos em número de cinco e freqüentes em *Duranta*. A Figura 15 mostra as estruturas desses iridóides mais comuns em gêneros de Verbenaceae.



**Figura 15** – Estruturas dos iridóides mais freqüentes em Verbenaceae.

Em *Priva lappulacea* já foram relatados: ipolamida e catalpol (WILMANN, 1997), dados que confirmamos em nossos estudos.

## **4- PARTE EXPERIMENTAL**



#### 4.1 Perfil fitoquímico de *Priva bahiensis* e *Priva lappulacea*

Como forma de conhecer as características fitoquímicas das duas espécies aqui abordadas, precedendo um trabalho fitoquímico mais profundo e buscando definir a melhor maneira de proceder na metodologia de extração e isolamento dos metabólitos presentes, realizamos uma prospecção embasada principalmente nos escritos de Harborne (1998) e Wagner (1996), porém procedimentos clássicos ainda em voga foram também considerados.

##### 4.1.1 Material e Métodos

Cerca de 5 g de raízes e partes aéreas das duas espécies, fragmentadas grosseiramente com um microprocessador doméstico, foram submetidos à infusão metanólica com agitação permanente durante 30 minutos. Dessa forma, após filtração dos infusos, alíquotas (15 µL) aplicadas em placas prontas de gel de sílica G 60, Merck (Alemanha), art. 105554, empregando-se sistemas de desenvolvimento adequados, com polaridade e constituições distintas, de forma a se investigar tanto as moléculas com características aglicônicas, quanto àquelas glicosídicas, revelando-se os cromatogramas com reagentes específicos para cada grupo. Para a determinação dos polifenóis, alcalóides, glicosídeos de iridóides e saponósidos, utilizou-se como fase móvel o sistema acetato de etila-ácido fórmico-ácido acético-água (100:11:11:26). O reagente de Dragendorff, segundo proposição de Munier e Macheboeuf, foi empregado para a pesquisa de alcalóides (WAGNER, 1996) difenilborinato de aminoetanol (=Naturstoffreagenz A) seguido de observação no U.V. (365 nm) para os polifenóis compreendidos por flavonóides, derivados cîâmicos e glicosídeos de fenilpropanóides (WAGNER, 1996), excluindo-se as proantocianidinas que foram investigadas empregando-se solução a 1% de vanilina em ácido clorídrico concentrado (ROBERTSON, 1956) e as cumarinas visualizadas a 365 nm; os iridóides com vanilina sulfúrica (WAGNER, 1996). Para os ensaios de triterpenos e esteróides empregou-se como fase móvel o sistema tolueno-acetato de etila (90:12) e como revelador o reagente de Lierbermann-Bouchard, modificado (SHARMA e DAWRA, 1991). Na determinação de açúcares redutores a fase móvel foi constituída de n- butanol-acetona-tampão fosfato, pH 5,0 (40:50:10), revelando-se o cromatograma com cloreto de trifeniltetrazólio (RUSSEL, 1982). Para os saponosidos evocou-se a afrogenicidade dessas substâncias, sabendo-se que suas soluções aquosas quando agitadas vigorosamente, produzem

espuma abundante e persistente, precedendo esse ensaio à análise por cromatografia. A investigação de antraquinonas foi efetuada com o ensaio clássico de Bornsträger (WATTIEZ & STERNON, 1935). O Quadro 2 apresenta as condições experimentais dos ensaios de prospecção fitoquímica.

#### 4.1.2 Resultados da Prospecção Fitoquímica

Os dois vegetais mostraram-se muito semelhantes quanto à composição em metabólitos secundários, estes sendo representados majoritariamente por iridóides glicosilados, fenilpropano glicosídeos, alguns flavonóides, triterpenos e esteróides. Não foram constatados, alcalóides, cumarinas, taninos catéquicos (proantocianidinas condensadas), leucoantocianidinas, saponósidos e antraquinonas. Ensaio de co-cromatografia em camada delgada com amostras autênticas dessas substâncias nos permitiu identificar o verbascosídeo (fenilpropanoglicosídeo) e a luteolina (flavona), presentes nas partes aéreas das duas espécies em estudo (Figuras 16 e 17).  $\beta$ -sistoterol e  $\beta$ -amirina foram igualmente constatados nas raízes e partes aéreas dos dois vegetais. (Figuras 18 e 19). Nessas circunstâncias também foi possível constatar a identidade de um dos iridóides como sendo a ipolamida (Figura 19).

**Quadro 2** – Condições cromatográficas da prospecção fitoquímica de *P. lappulacea* e *P. bahiensis*.

METABÓLITOS	MÉTODO	REAGENTE	REFERÊNCIA
Alcalóides	A	Dragendorff	WAGNER, 1986
Triterpenos	B	Liebermann	SHARMA, 1991
Esteróides	B	Liebermann	SHARMA, 1991
Iridóides	A	Vanilina sulfúrica	HARBONE, 1998
Saponósidos	-	Afrogenicidade	COSTA, 1967
Flavonóides	A	Difenilborinato	WAGNER,
Cumarinas	C	UV-365 nm	WAGNER, 1986
Taninos catéquicos	A	Vanilina clorídrica	ROBERTSON, 1956
Leucoantocianidinas	A	Vanilina clorídrica	ROBERTSON, 1956
Fenilpropanoglicosídeos	A	Difenilborinato	WAGNER,
Derivados cinâmicos	A	Difenilborinato	WAGNER,
Açúcares redutores	D	trifeniltetrazólio	RUSSEL,
Antraquinonas	-	Bornstragen	WATTIEZ, 1935

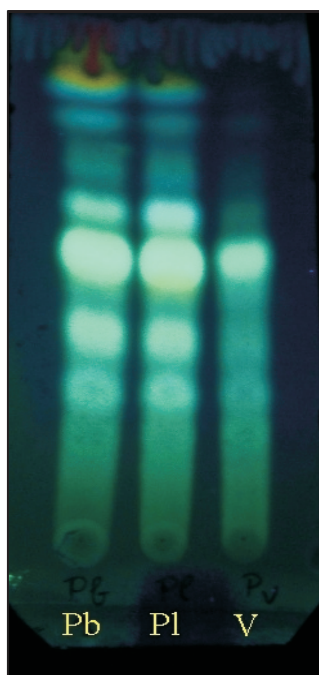
A = Acetato de etila-ácido acético-ácido fórmico-água (100:11:11:26, v/v)

B = Tolueno-acetato de etila (90:10, v/v)

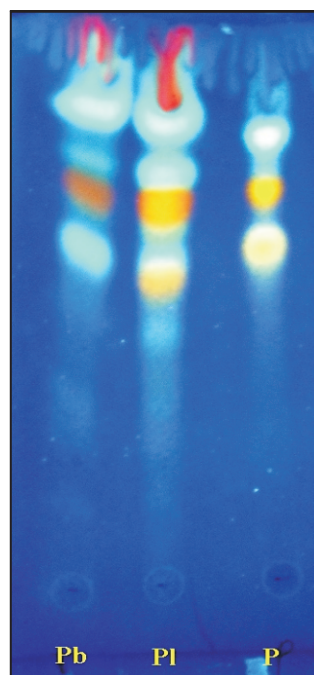
C = Tolueno-acetato de etila-ácido fórmico (6:4:1, v/v)

C = n-butanol-acetona-tampão fosfato pH 5,0 (4:5:1, v/v)





**Figura 16** – Caracterização do verbascosido (V) em *P. bahiensis* (Pb) e *Priva lappulacea* (Pl).



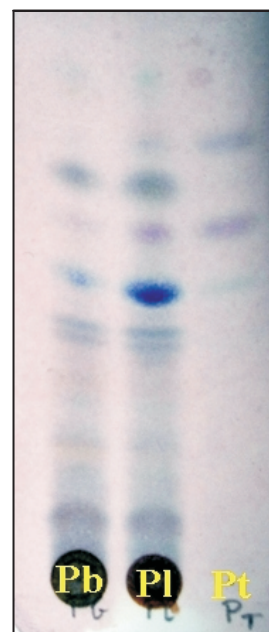
**Figura 17** – Flavonóides glicosilados em *P. bahiensis* (Pb), *P. lappulacea* (Pl) e padrão (P) = rutina+ác. clorogênico+luteolina-7-glicosido.



**Figura 18** – Triterpenos e esteróides nas raízes de *P. bahiensis* (Pb), *P. lappulacea* (Pl) e padrão (Pt) =  $\beta$ -amirina+  $\beta$ -sitosterol+ác. ursólico.

b-amirina

b-sitosterol



**Figura 19** - Triterpenos e esteróides nas partes aéreas de *P. bahiensis* (Pb), *P. lappulacea* (Pl) e padrão (Pt) =  $\beta$ -amirina +  $\beta$ -sitosterol + ac. ursólico.

## 4.2 Isolamento dos iridóides de *Priva bahiensis* e *Priva lappulacea*

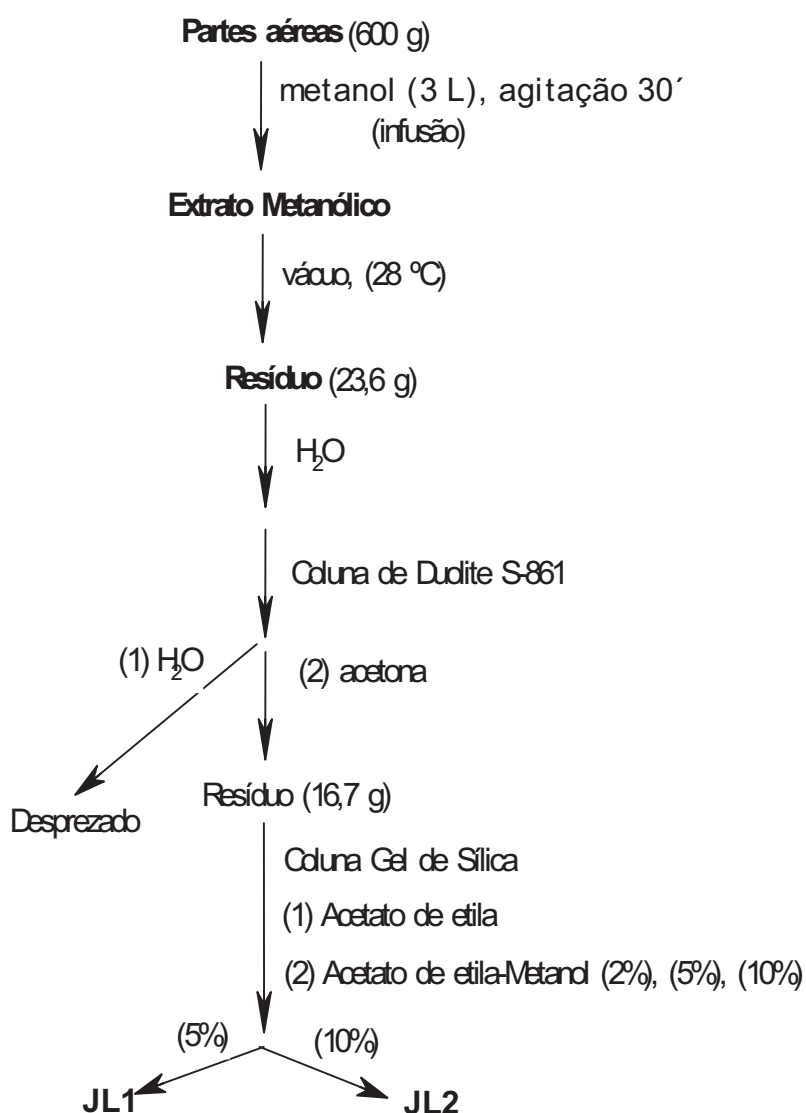
A constatação de que iridóides glicosilados eram as principais substâncias presentes nas duas espécies de *Priva*, e que estes aparentemente não haviam sido descritos, nos conduziu ao desenvolvimento de uma marcha extrativa buscando seu isolamento e caracterização.

### 4.2.1 Material e Métodos

Amostras de 600 g de folhas recentemente coletadas foram reduzidos a pequenos fragmentos com um microprocessador doméstico e submetidos à infusão metanólica (3 L), após 30 minutos de agitação constante. Após filtração, o solvente foi eliminado a vácuo, à temperatura ambiente (28 °C), resultando um resíduo castanho esverdeado (23,6 g). Este material foi retomado em água destilada e submetido à uma coluna de fase reversa preparada com Duolite S-861 suspensa em água destilada, sendo desenvolvida com essa fase móvel até obtenção de 5 L de eluente (XAVIER, 1988), monitorando-se as frações aquosas por CCD empregando-se placas prontas de gel de sílica Merck-Alemanha (art. 105553) e vanilina clorídrica como reagente para determinar a presença de algum iridóide. Finalmente procedeu-se a desadsorção dos iridóides empregando-se acetona (3 L). As frações acetônicas foram monitoradas por CCD e reunidas aquelas contendo as substâncias iridoídicas. Após eliminação do solvente a vácuo e à temperatura ambiente (28 °C), obteve-se um resíduo castanho-claro (16,7 g). Parte deste material (8 g) foi submetida à cromatografia de adsorção em gel de sílica Merck para coluna (70-230 mesh), empacotada com 800 g de fase estacionária em acetado de etila, procedendo-se a eluição inicialmente com esta fase móvel, alterando-se a polaridade no decurso da cromatografia adicionando-se 2%, 5% e 10% de metanol. Obtendo-se desta forma 120 frações de 50 mL cada uma. As frações iniciais (14-27) mostraram-se compostas por material polifenólico, perceptível pela coloração amarelada das mesmas e monitoramento por CCD. As frações obtidas com 5% de metanol (67-89) mostraram conter o iridóide de menor polaridade em boa concentração, mas ainda com impurezas, este material foi reunido e após eliminação do solvente a vácuo forneceu um pó esbranquiçado pesando 560 mg, codificado como JL1. As frações restantes eram uma mistura dos dois iridóides, este material após eliminação do solvente a vácuo forneceu 114 mg de pó esbranquiçado, sendo codificado como JL2. Para obtenção de JL1 puro foi necessário recromatografar duas vezes a amostra em condições cromatográficas idênticas, empregando-se 200 g de gel de sílica como fase

estacionária. JL2, no entanto mostrou-se difícil purificação, mas obteve-se após algumas recromatografias (3) cerca de 20 mg de material praticamente puro, o esquema a seguir resume o procedimento extrativo efetuado (Figura 20).

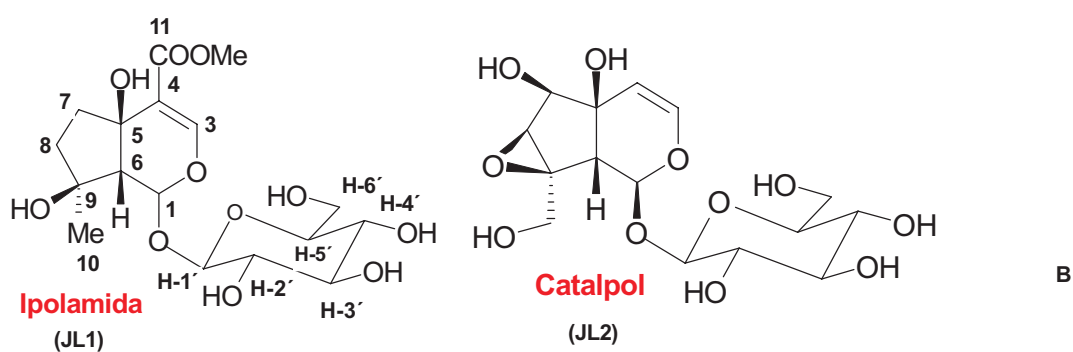
Um protocolo de extração e isolamento, com as mesmas características desse que ora relatamos e empregado em material vegetal oriundo de *P. lappulacea* foi efetuado com *P. bahiensis*, resultando no isolamento e caracterização dos mesmos iridóides.



**Figura 20** – Esquema de obtenção das substâncias JL1 e JL2 das duas espécies de *Priva* estudadas.

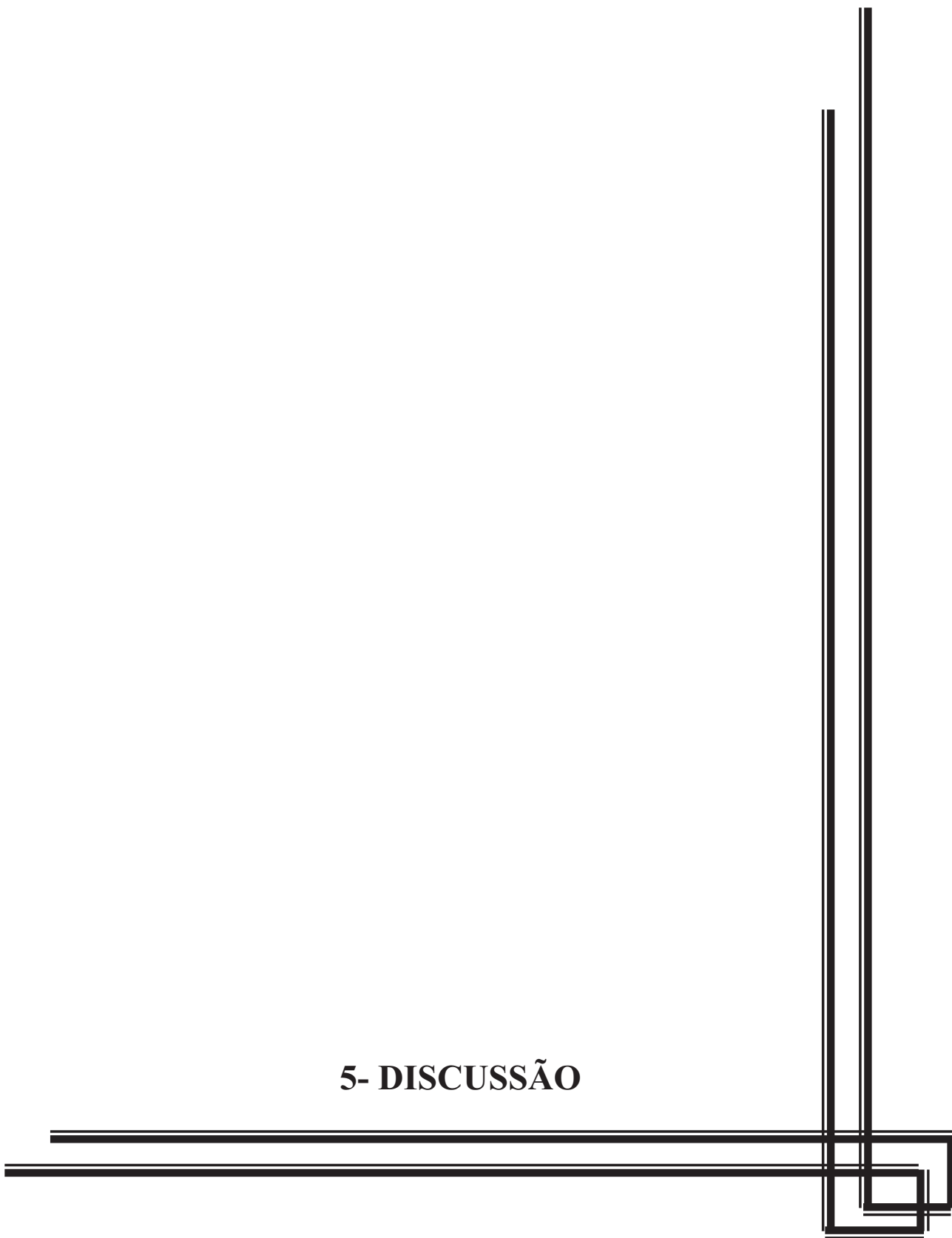
## 4.2.2 Resultados

A identificação de JL1 e JL2 foi efetuada por cromatografia em camada delgada comparando-se com padrões autênticos, JL1 foi ainda caracterizado por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear protônica e de carbono treze (Apêndice VI, VII, VIII), além de comparação com dados da literatura (MULERT, 2001), tratando-se de ipolamida (Figura 21). JL2 com base em dados de cromatografia e da literatura (MULERT, 2001) mostrou tratar-se de catalpol (Figura 21).



**Figura 21** – Estruturas moleculares de JL1 (Ipolamida) e JL2 (Catalpol).

## **5- DISCUSSÃO**



## **5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS**

### **5.1 Bioatividade**

Os ensaios de bioatividade foram conduzidos com extrato de material vegetal oriundo de *Priva lappulacea* considerando que o material disponível relativo a *Priva bahiensis* era muito pouco e já havíamos empregado sua maior parte nos protocolos farmacobotânicos e fitoquímicos. A definição teve como critério a disponibilidade em nossas instituições e, principalmente com base nos tipos de substâncias detectados: flavonóides, fenilpropanoglicosídeos, triterpenos/esteróides e, sobretudo iridóides glicosilados, pois são estes em realidades sobejamente majoritários nessa taxa. Dessa forma procedeu-se inicialmente o estabelecimento da toxicidade, procedendo-se então os outros ensaios: todos sendo alvo de preparação e encaminhamento à publicação, e se encontram definidos nos Apêndices I, II, III, IV e V.

## 6- CONCLUSÃO

## 6- CONCLUSÃO

A estrutura anatômica dos órgãos vegetativos de *Priva lappulacea* (L.) Pers. foram descritos e caracteres auxiliares foram identificados, contribuindo para o diagnóstico desta espécie, ampliando assim o conhecimento das *Verbenaceae*.

A prospecção fitoquímica das partes aéreas comprovou a presença de flavonóide (luteolina), fenilpropanóide (verbascosídeo), triterpeno (ác. ursólico), esteróide ( $\beta$ -sitosterol), açúcar redutor (glicose) e iridóides (ipolamida e catapol).

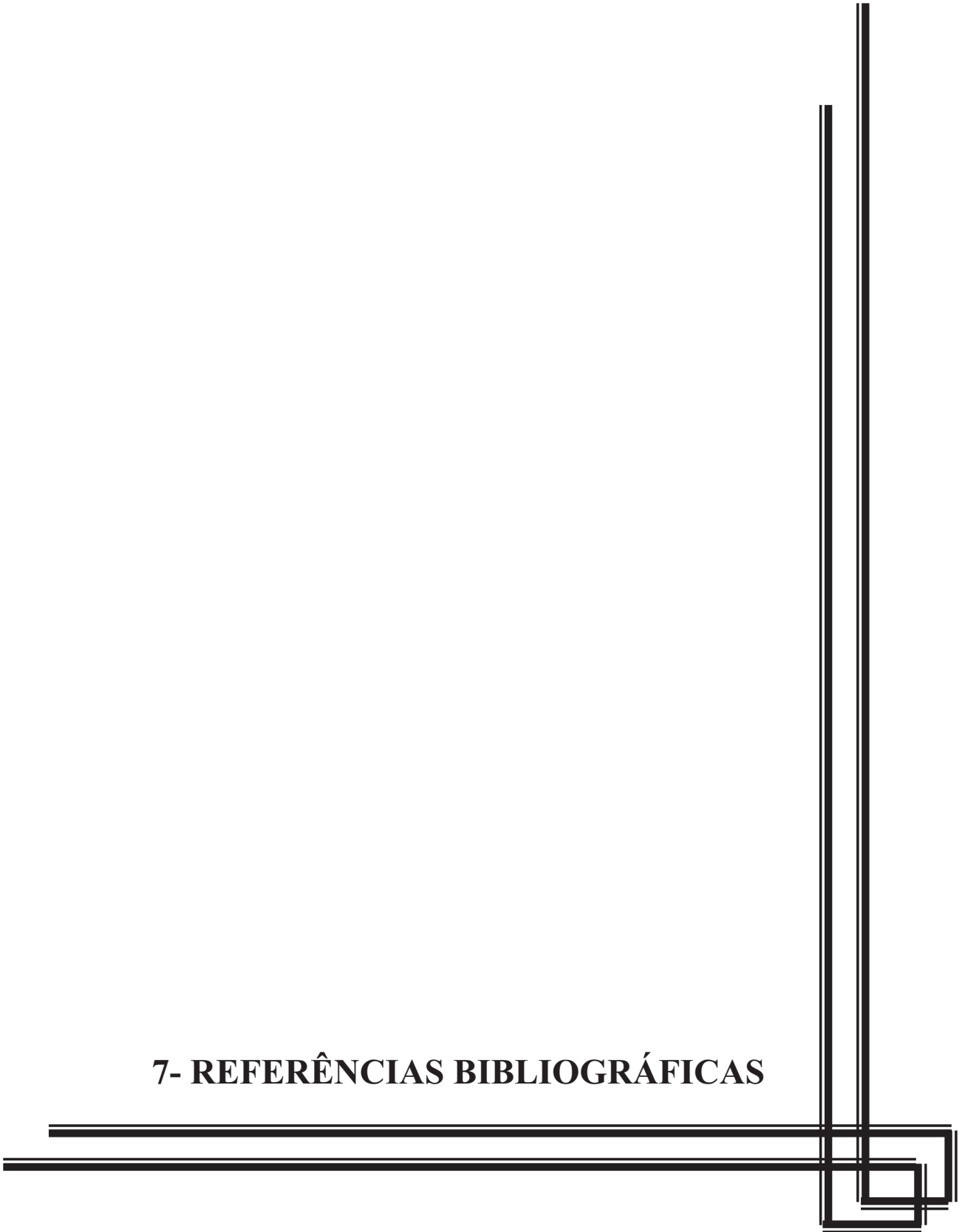
O estudo da bioatividade do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea*, mostrou-nos que este táxon, quando testado por via intraperitoneal não é tóxico e apresenta atividade antiinflamatória pronunciada.

O extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea*, apresentou inibição do crescimento de 64,20% frente ao sarcoma 180 e 80,54% para o carcinoma de Erlich, a substância pura obteve uma redução de 77,92% sobre o carcinoma de Erlich.

Ao concluirmos este trabalho verificamos que novas perspectivas surgem para a realização de mais investigações do potencial destas duas espécies de *Priva* que ocorrem em nosso Estado.



## **7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. R. Plantas Medicinais Brasileira: Conhecimentos Populares e Científicos. Hermus Editora, p. 70-71, 1993.

ALVES T.M.A.; SILVA A. F.; BRANDÃO M.; GRAND T.S.M.; SMÔNI AF F.A.; SMÂNIA JR. A.; ZANI C.L. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants, **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v. 95, p. 367-373, 2000.

Bahia. Governo do Estado. Seplantec. Subsecretaria de Ciência e Tecnologia. Inventário de plantas medicinais do Estado da Bahia. Salvador, p. 1201, 1979.

BARANOVA M.A. Historical development of the present classification of morphological types of stomates. **Bot Rev.** v. 53, p.53-79, 1987.

BENOUDIA, A.; HASSAR, M.; BENJILALI, B. Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles in vitro, testées contre germes pathogenes hospitaliers. **Fitoterapia,** v. 59, n 2, p. 1115-119, 1988.

BONTA, I. L.; BEM-EFRAIM, S. Involvement of inflammatory mediators in macrophage antitumor activity. **J. leukoc. Biol.** v. 54, p. 613-626, 1993.

BONZANI, N. E.; FILIPPA, E. M.; BARBOSA, G. E. Estudio anatómico comparativo de tallo en algunas especies de Verbenaceae. **Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México,** Serie Bot. v. 74, p. 31-45, 2003.

BOWN, D. **The Herb Society of América – Encyclopedia of Herbs and Their Uses** New York: Dorling Kindersley Publishing Inc, 1995.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste – Especialmente do Ceará.** 4a. ed. Ed Universitária da UFRN, 1960.

BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. **Rev. Brás. Farmacogn.** v.12: 66-67, 2002.

BRIDSON D.; FORMAN L. **The herbarium handbook.** 3 ed. Great Brain: Whistable Litho Printers, 1998.

BRUMMITT R. F.; POWELL C.E. Authors of plant names. **Botanic Gardens**. London: Kew Royal, 1992.

BRUNETON J. **Pharmacognosie – Phytochimie plantes médicinales**. 2a. ed. Paris: Technique et documentation – Lavoisier, 1993.

CAETANO N.; SARAIVA A.; PEREIRA R; CARVALHO D.; PIMENTEL M.C.B.; MAIA M.B.S. Determinação de Atividade Antimicrobiana de Extratos de Plantas de uso Popular como Antiinflamatório. **Rev. Brás. Farmacogn.** v. 12, Supl, p. 132-135, 2002.

CAVENNE, W K., WHITE, R. L. The genetic basic of cancer. **Scientific American**. p. 72-79, 1996.

CAVILL, G. W. K.; FORD, D. L.; LOCKESY, H. D. The chemistry of ants. I. Terpenoid constituents of some Australian Iridomyrmex species. **Austral. J. Chem.** v. 9, p. 288-293, 1956.

CAVILL, G. W. K.; FORD, D. L. The chemistry of ants. III. Structures and reactions of iridodial. **Austral. J. Chem.** v. 13, p. 296-310, 1960.

CECHINE, FILHO V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova** v. 21, p. 99-105, 1998.

CHIAPPETA, A. A.; MELLO, J. F.; MACIEL, G. M. Plantas Superiores com atividade biológica – Plantas de Pernambuco I, **Rev. Instituto de Antibióticos – UFPE**, v. 21, p. 43-50, 1982/3.

COSTA, S. M. O.; LIMA, T. L. G.; DESDÊNIA, O.; PESSOA, L.; ASSUNÇÃO. J. C. C.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 12, p. 66-67, 2002.

COUTINHO, H. D.M. ; BEZERRA, D. A. ; LOBO, K. ;BARBOSA, I. J. F. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos**. v. jul/03-jun/2004, p.78-85, 2004.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants** . New York :Columbia University Press. 1981

DA CUNHA, A. P. *et al.* **Farmacognosia e Fitoquímica**. Lisboa: Calouste Goubenkian. 2005.

DE AZEVEDO S. K. S., SILVA, I. M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializa-das em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 20, n. 1, p. 185-194, 2006.

DI ROSA, M. Biological properties of carrageenan. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 24, p. 89-102, 1972.

DUARTE, J. D. *et al.* Differential effects of orally administered nor-binaltorphimine (nor-BNI) on  $\kappa$ - opioid agonists in mouse writhing assay. **Psychopharmacology.** v. 115, p. 311-319,1988.

FERREIRA. *et al.* Estudo morfo-antômico entre os caules de *Cippia alba* e *Melissa officinalis*. **Rev. Brás. Farmacogn.** v. 12, p. 01-02, 2003.

FURR M, MAHLBERG PG 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J. Nat. Prod.** v. 44, p. 153-159.

GARCIA LEME, J. *et al.* Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in rat's paw by local injection of carrageenan and by heating. **Br. J. Pharmacol.** v. 48, p. 88-96, 1973.

GARNIER, G., BÉZANGER-BEAUQUESNE, L., DÉBRAUX G. **Ressources médicinales de la flore française**. II vol. Paris: Vigot frères éditeurs, p.1146-52, 1961.

GHISALBERTI, E. L. *Lantana camara* L. (Verbenaceae). **Fitoterapia.** v. 71, p. 467-486, 2000.

GILMAN, A. G. *et al.*. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 10 ed. México: McGraw-Hill, 2003.

GOTTLIEB, O. R. Lignóides de plantas amazônicas : investigações biológicas e químicas. **Acta Amazônica**. v. 18, Suplemento 1-2, p.333-344, 1988.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical methods - a guide to modern techniques of plant analysis**. 3.ed. London: Chapman & Hall, 1998.

HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. e MABRY, H. **The flavonóides**. London: Chapman Hall, 1974.

HAWAIIAN ECOSYSTEMS AT RI SK PROJECT (HEAR).

[http://www.hear.org/Pier/species/priva\\_lappulacea.htm](http://www.hear.org/Pier/species/priva_lappulacea.htm). Acessado em julho de 2006.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA) – Ministério da Saúde, 2006. A situação do câncer no Brasil. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br/situacao/>> Acesso em 04 jan.2007.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

JOLY, A. B. **BOTÂNICA – Introdução a Taxonomia Vegetal** , Companhia Editora Nacional, 13 ed., p. 422-424, 2002.

JUANG, F. C.; CHEN. Y. F.; LIN, F. M.; HUANG, K. F.; Constituents from the leaves of lantana camara (iv). **J Chin Med**. v. 16: (2-3), p.149-155, 2005.

KARBER, G.; BEHRENS, B. **Estatistical Methods in Biological Assays**. London: Ed. Griffin Ch. and C., 1964.

KOBUSKI, C. E. A Revision of the Genus *Priva*. **Ann Missouri Bot Gard**, v. 13, p. 1-24,26-34, 1926.

KRAUS, J. E., ARDUIN, M.; **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal Seropédica**, Edur. 1997.

KRAUTER, D.; **Mikrokosmos**. v. 85, p. 11-13, 1996.

KUNLE, O.; OKOGUN, J.; EGAMANA, E.; EMOJEVWE, E.; SHOK, M. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. **Phytomed.** v. 10, p.59-61, 2003.

LACOSTE, E. CHAUMONT, J. P. & MANDIN, D. **Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Application to the cutaneous microflora.** Ann. Pharm. Française, v. 54, p. 228-230, 1996.

LEMOS, T. L. J., MONTE, F. J. Q. Chemical Composition and antimicrobial activity of essential oils from brazilian plants. **Fitoterapia**, v. 63, p. 266-268, 1992.

LIMA, D. P.; VIZZOTTO, L.; BARBOSA, A. M. J.; MARIANO, V. G.; BEATRIZ, A., 2005. Um método eficiente para isolamento e purificação da podofilotoxina a partir do extrato de podofilina e algumas transformações químicas sob irradiação de microondas. **Revista Eletrônica de Farmácia** 3 (1), p. 15-21,2005. Disponível em: <[http://www.farmacia.ufg.br/revista/\\_pdf/vol3\\_1/artigos/ref\\_v3\\_1-2006\\_p15-21.pdf](http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol3_1/artigos/ref_v3_1-2006_p15-21.pdf)> Acesso em 04 jan.2007.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas.** 3.ed. Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum, p. 640, 2000.

MACKOVA Z., KOBLOVSKA R., LAPCIK, O. Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa – An update. **Phytochemistry**, v. 67, p. 849–855, 2006.

MASCOLO, N. *et al.*,. Biological screening of Italian medicinal plants anti-inflammatory activity. **Phytoh. Res.** v.1, p. 28-32, 1997.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais – guia de seleção e emprego de plantas usadas na fitoterapia no nordeste do Brasil** Fortaleza: Imprensa Universitária / Edições UFC, 2000.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons.** London: Oxford University Press, 1972.

METCALFE, C. R.;CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons** v. 1. 2<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, London, 1988.

METZ, H. Thin-layer chromatography for rapid assays of enzymic steroid transformations. **Naturwissenschaften**. v. 43, p. 82, 1956.

METZ, H. Thin-layer chromatography for rapid assays of enzymic steroid transformations. **Naturwissenschaften**. v. 48, p. 569-570, 1961.

MOLDENKE, H. N.. Materials towards a monograph of the genus Avicennia L. I and II. **Phytologia**, v.7, p.123–263, 1960

MORS, W. B., RIZINI, C. T., & PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brazil**. Michigan: Reference Publications, Inc. Algonac. 2000.

MUKHERJEE, A. K.; BASU, S.; SARKAR, N.; GHOSH, A. C. Advances in Cancer Therapy with Plant Based Natural Products. **Curr. Med. Chem.** 8, p. 1467-1486, 2001.

MULERT, U. **Phylogenie der Verbenaceae: Kladistische Untersuchungen mit morphologischen und chemischen Merkmalen**. (Dissertation) - Universität Freiburg, Fakultät für Chemie und Pharmazie, 2001.

NCCLS, **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão**, 8.Ed. 23, n. 1: 33, 2003.

NEU, R. A. New reagent for differentiating and determining flavones of paper chromatograms. **Naturwissenschaften**. v. 43, p. 82, 1956.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia** 2 ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 59-67, 2003.

OLIVEIRA, F. G.; AKISUE G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998.

OLIVEIRA JÚNIOR, FERNANDO JOSÉ MOREIRA DE; CESSE, EDUARDA ÂNGELA PESSOA. Morbi-mortalidade do câncer na cidade do Recife na década de 90. **Revista Brasileira de Cancerologia**; v. 51(3), p. 201-208, 2005.

OMS **Organización Mundial de la Salud** . Pautas para la evaluación de medicamentos herbáricos. Ginebra, 1991.

- PANIZZA, S. **Plantas que Curam (Cheiro de Mato)**. 3<sup>a</sup>. Ed. São Paulo: Ibrasa. 1998.
- PÉREZ, S.; MECKES. M.; PÉREZ, M.; SUSUNAGA, A.; ZAVALA, M. A. Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. **J. Ethnopharm.** V. 102, p.1–4, 2005.
- PICKEL, B, J. Piso e Marcgrave na Botânica Brasileira – Para o tricentenário de sua chegada ao Brasil. **Revista da Flora Medicinal**, v. 16 (5), p. 155-159, 1948.
- PRABAKAR, M. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. **Acta Bot Sin.** v. 46, p. 242-252, 2004.
- RAJ, P. P. **Pain Mechanisms. In: Pain medicine: A comprehensive review** . St. Louis, U.S.A.: Mosby-Year Book, p. 12-24, 1996.
- RENNÓ, L. **Pequeno dicionário etimológico das famílias botânicas** . Belo Horizonte: Imprensa da Universidade Federal de Minas Gerais. 1963.
- RIMPLER H & SAUERBIER H. Iridoid Glucosides as Taxonomic Markers in the Genera Lantana, Lippia, Aloysia and Phyla, **Biochemical Systematics and Ecology**. 14 : 307-310, 1986.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editorial Premier, p. 372, 1997.
- ROBERTS, E. A. H; CARTWRIGHT, R. A; OLDSCHOOL M. Phenolic substances of manufactured tea. Fractionation and paper chromatography of water-soluble **J. Sci. Food Agr.** v. 8, p. 72-80, 1957.
- ROBERTSON, E. A. H; CARTURIGHT, R. A; WOOD D.J. Flavonols of tea. **Journal of the Sciences of Food and Agriculture**, p. 637-646, 1956.
- RODRIGUES.E.A.C; MENDONÇA, J.AMARANTE, J.M.B.; ALVES FILHO, M.B.; GRINBAUM, R.S.; RICHTMANN, R. **Infecções Hospitalares: Prevenção e Controle**. São Paulo: Savier, v.3-27, p.639-647, 1997.



RUSSEL, J. E. **Contribuição a l'étude botanique et chimiotaxonomique du genre Verbascum en Languedoc-Cevennes.** (Tese de Doutorado) - Université de Montpellier I, França. 1982.

SALVEMINI, D. *et al.* Nitric Oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **Br. J. Pharmacol.** v. 1158, p. 829-898, 1996.

SANT'ANNA-SANTOS B.F; THADEO M.; MEIRA R.M.S.A, ASCENSÃO L. Anatomia e Histoquímica das Estruturas Secretoras do Caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Rev Árvore.** v. 30, p. 481-489, 2006.

SANTOS, A. H. S. COSTA, S. M. O. PESSOA, O. D. L., MORAESB, M. O. PESSOA C., FORTIERB S., SILVEIRA E. R., & LEMOSA, T. L. G. Cytotoxic Naphthoquinones from Roots of *Lippia microphylla*. **Z. Naturforsch.** v. 58, p. 517-520, 2003.

SARAIVA, MAURÍCIO F.; SILVA, PÂMELA S.; VICCINI, LYDERSON F.; ALMEIDA, MAURO, V. Ipolamiida, fulvoipolamiida e acteosideo isolados a partir de *stachytarpheta glabra* (verbenaceae). **Anais da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.** 2006. Disponível em: <<https://sec.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T1953-1.pdf>> Acesso 04 jan.2007.

SARKAR, S. K.; HOWARTH, R. E. Specificity of the vanillin test for flavonoids. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, p.317-320, 1976.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique.** Iowa State College Press. Iowa, 1951.

SCHWARTZBACH, A.E. & MCDADE, L. Phylogenetic relationships of the mangrove family Avicenniaceae based on chloroplast and nuclear ribosomal DNA sequences. **Systematic Botany**, v. 27, p. 84-98, 2002

SENA FILHO, J. G. Iridóides glicosilados das raízes de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (**Verbenaceae**): **obtenção, caracterização e bioatividade.** (Dissertação Mestrado) - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

SHARMA O. P., MAKKAR H. P.S, DAWRA R. K. A Review of the Noxious Plant. *Lantana camara*. **Taxicon**, v.26, p.975-987, 1988.

SHARMA, O. P; DAWRA, R. K. Thin-layer chromatographic separations of lantandenes, the pentacyclic triterpenoids from ( *Lantana camara*) plant. **J. Chromat**, v.587, p.351-354, 1991.

SILVA E.C.B. *Avaliação da Atividade Biológica de Caesalpinia echinata Lam. (Fabaceae-Caesalpinioideae). Usos e Riscos*. Dissertação de Mestrado –Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, p.137, 2006.

SILVA, M.H.L.; ANDRADE, E.H.A. ; ZOGHBI, M.G.B. ; LUZ, A.I.R. ; SILVA, J.D. & MAIA, J.G.S.. “The essential oils of *Lantana camara* L. occurring in North Brazil”, **Flavour Fragr. J.** 14 :.208-210, 1999

SIMÕES, C. M. O. et al. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. Editora da Universidade. 1998.

SIMÕES C.M.O, SCHENKEL E.P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessidade da industria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, p. 35-40, 2002.

SIQUEIRA, J.R. AND DANTAS, C.J.S **Mecanismos celulares e moleculares da Inflamação**: S.I.: MEDSI, 2000.

SOUZA, V. C., & LORENZI, H., **Botânica sistemática – Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Instituto Plantarum: Nova Odessa (SP), 2005.

STAFLEU, F. A. ; COWAN, R. S. **Taxonomic Literature**. Utrecht, Scheltema & Holkema, 1976-1988.

STASHENKO, E.E., JARAMILLO, B.E. & J. R. MARTÍNEZ. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. **Rev. Acad. Colomb. Cienc**, v.27, n.105, p.579-597, 2003.

STOCK, C. C.; SUGIURA, K. The Effect of Phosphoramides on the Growth of a Variety of Mouse and Rats Tumors. **Cancer Res.** v. 2, p. 38-50, 1965.

SUBRAMANIAN, S. S. et al. Chemical examination of the leaves of *Stachytarpheta indica*. **Indian J. Pharm.**, v.36, p.15-17, 1974.

SUGIURA, M. *et al.* Cryptic dysfunction of cellular immunity in asymptomatic human immunodeficiency virus (HIV) carriers and its actualization by an environmental immunosuppressive factor. *In vivo*, **Atheuns**, v. 8( 6), p.1019-1022, 1994.

THORNE, R. F. The classification and geography of the flowering plants. Dicotyledons of the class Angiospermae (subclasses Magnoliidae, Ranunculidae, Caryophyllidae, Dilleniidae, Asteridae and Lamidae). **Bot. Rev.**, v. 66, p. 525, 2000.

TOMAS-BARBERAN, F.A., Harborne, J.B. & SELF, R. Twelve 6-oxygenated flavone sulphates from *Lippia nodiflora* and *L. canescens*. **Phytochemistry** v.26, n° 8, p. 2281-2284, 1987.

TRIM, A R., & HILL, R. The preparation and properties of aucubin, asperuloside and some related glycosides. **Biochem. J.**, v. 50, p. 310-319, 1952.

TUCKER, A. O., MACIARELLO M. J., & ZANONI T. A.. Volatile oil of flowering branches of *Nashia inaguensis* Millsp. (Verbenaceae) of the Bahamas. **J. Essential Oil Res.**, v. 16, p. 120-121, 2004.

VAN COTTEN, W. R. J. A classification of stomatal types. **Bot J Linn Soc**, v. 63, p. 235-246, 1970.

VINEGAR, R. *et al.* Biphasic development of carrageenin edema in rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 166, p.96-103, 1969.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis – A thin layer chromatography atlas. Springer. 2<sup>a</sup>ed. Munich, 1996

WILLMANN D. **Chemische und morphologische Untersuchungen zur Gliederung des Verbenaceae-Lamiaceae-Komplexes unter besonderer Berücksichtigung der**

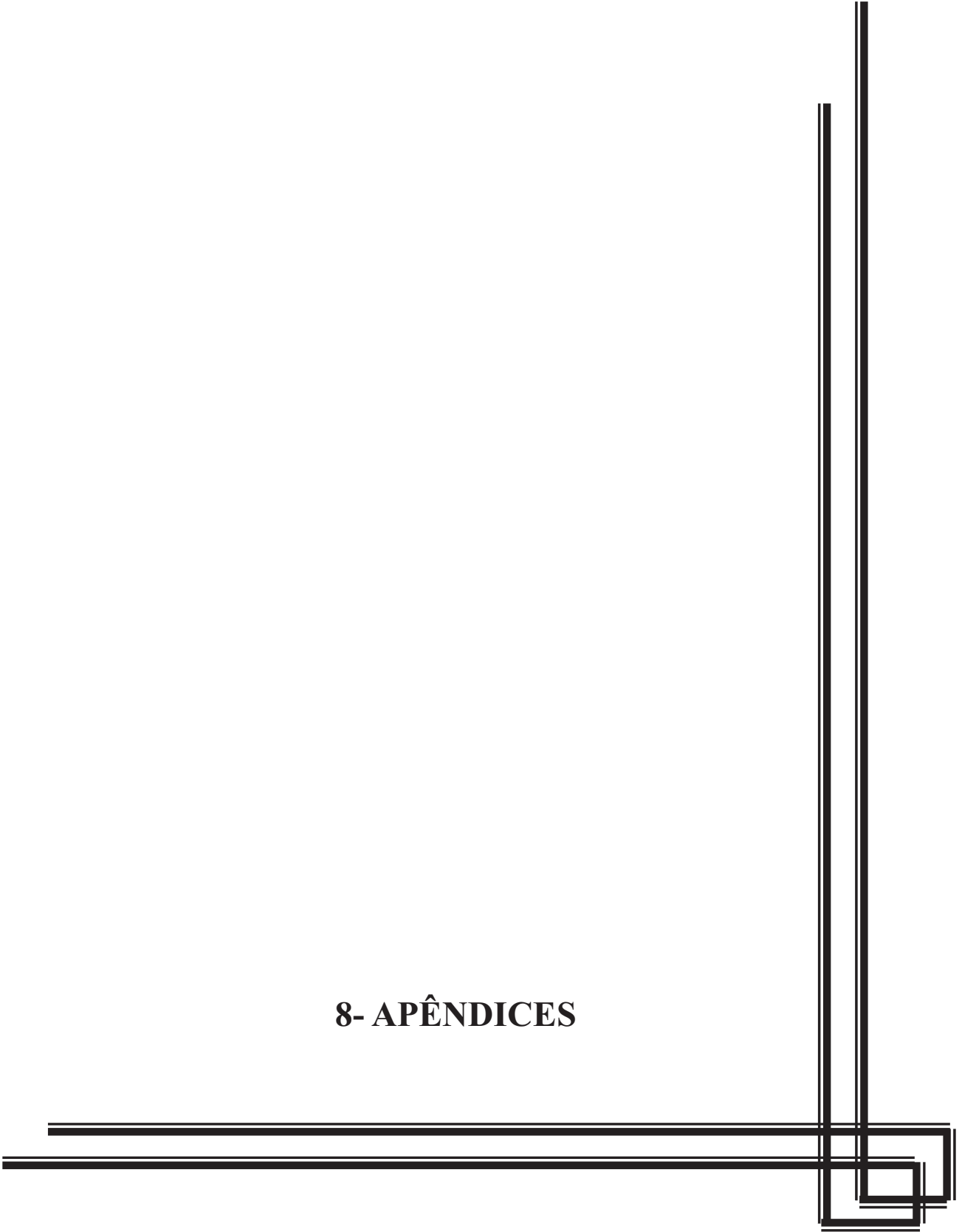
**Verbenaceae s. str. Fakultät für Biologie (Hrsg.).** (Dissertation). Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg. 1997.

WINTER, C.A. *et al.*. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as assay for anti-inflammatory drug. **Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 111, p. 544-547, 1962.

XAVIER, H. S. **Lavandula stoechas L. (Lamiaceae): Etude botanique, chimique et pharmacodynamique.** (Tese de Doutorado) - Universidade de Montpellier I. Montpellier, 1988.

ZHONG, C., WANG, D. Four new isoflavones from *Premna microphylla*. **Indian J. Heterocycl. Chem**, v. 12, p. 143–148, 2002.

## 8- APÊNDICES



## 8- APÊNDICES

		PÁG.
APENDICE I-	ARTIGO: Morfoanatomia, Histoquímica e Perfil Fitoquímico de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	71
APENDICE II-	ARTIGO: Estudos preliminares da propriedade antiinflamatória do extrato bruto metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	88
APENDICE III-	ARTIGO: Avaliação toxicológica do extrato bruto metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	98
APENDICE IV-	ARTIGO: Avaliação antitumoral da substância pura e do extrato bruto metanólico de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. frente ao Sarcoma 180 e Carcinoma de Erlich.....	101
APENDICE V-	ARTIGO: Atividade antimicrobiana do extrato bruto metanólico das partes aéreas de <i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. (Verbenaceae).....	111
APÊNDICE VI	Espectro de Ressonância 13C de JL1 – Ipolamida (DMSO-D6).....	127
APÊNDICE VII	RMN 13C – DEPT 135.....	128
APÊNDICE VIII	Espectro de Ressonância 1H- RMN de JL1 – Ipolamida (500 MHz, em DMSO- D6).....	129

## APÊNDICE I

(Artigo submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia)

### **Morfoanatomia, Histoquímica e Perfil Fitoquímico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae)**

Jovita Maria de Farias Braga<sup>1</sup>, Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel<sup>2</sup>, Clébio

Pereira Ferreira<sup>2</sup>, Karina Perrelli Randau<sup>1</sup>, Haroudo Sátiro Xavier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, 50740-521, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Fitomorfologia Funcional, Departamento de Botânica; Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 52171-900, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil.

**RESUMO:** “**Morfoanatomia, Histoquímica e Perfil Fitoquímico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae)**”. Este estudo descreve a anatomia e analisa a histoquímica dos órgãos vegetativos de *Priva lappulacea* (L.) Pers. Secções transversais e paradérmicas, à mão livre, de material fresco e fixado foram utilizadas para as análises anatômicas e histoquímicas, usando microscopia óptica. Os caracteres anatômicos são comuns àquela descritas para a família, podendo ser utilizadas como diagnóstico na sua identificação. Destacam-se, nas folhas, os tricomas, glandular e não-glandular, estômatos anomocíticos em ambas as faces da epiderme e mesófilo dorsiventral. As expansões no pecíolo são acrescentadas à diagnose da espécie. Estudo fitoquímico realizado com as partes aéreas mostrou a presença de triterpeno (ácido ursólico) e esteróide ( $\beta$ -sitosterol), iridóides (ipolamida e catalpol), açúcar redutor (glicose), flavonóide (luteolina) e fenilpropanóide (verbascosídeo). Nas raízes foi encontrada apenas glicose e dois iridóides estiveram presentes no caule e folhas. Alcalóides,

---

\* E-mail: [pimentel@db.ufrpe.br](mailto:pimentel@db.ufrpe.br), Tel. + 55-81-33206357. FAX. + 55-81-33206360.

saponinas, cumarinas, derivados cinâmicos, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas não foram constatados nas partes analisadas. A descrição anatômica e os testes histoquímicos são inéditos para *P. lappulacea*.

**Unitermos:** *Priva lappulacea*, Verbenaceae, morfoanatomia, perfil fitoquímico.

**ABSTRACT:** “**Morfoanatomy, Histochemistry and Phytochemical Screening of *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae)**”. This study describes the anatomy and analyze the histochemistry of the vegetative organs of *Priva lappulacea* (L.) Pers. Transversal and paradermical freehand sections of fresh and fixed material were used for the anatomical and histochemical analyses, using optical microscopy. The anatomical characters are common to that described for the family, being able to be used to diagnosis in it identification. The leaves are highlighted by the presence of glandular and non-glandular trichomes, anomocytic stomata on both faces of the epidermis and dorsiventral mesophyll. The expansions in the petiole are added to the diagnosis of this specie. The phytochemical study carried out with aerial organs showed the presence of triterpene (ursolic acid) and steroid ( $\beta$ -sitosterol), iridoids (ipolamide and catalpol), reducing sugar (glucose), flavonoid (luteolin) and fenilpropanoid (verbascosides). In roots only glucose was found and two iridoids are present in stem and leaves. Alkaloids, saponins, cumarines, cinamic acid derivates, proantocianidines condensed and leucoantocianidines were not checked in the analyzed parts. The anatomical description and the histochemical tests are unpublished for *P. lappulacea*.

**Keywords:** *Priva lappulacea*, Verbenaceae, morfoanatomy, phytochemical screening.

## INTRODUÇÃO

A família Verbenaceae está constituída de, aproximadamente, 100 gêneros e 2600 espécies (Cronquist, 1981) ocorrendo em regiões temperadas, tropicais e



subtropicais de ambos os hemisférios (Troncoso, 1974; Troncoso e Botta, 1993, citados por Bonzani, 2003). Seus representantes apresentam hábito variado, desde árvores de grande porte (*Tectoma grandis* L.) até ervas (*Verbena officinalis* L.) (Metcalf e Chalk, 1972).

O Gênero *Priva* possui cerca de 20 representantes, dois ocorrentes no Brasil. No nordeste do Brasil é conhecida popularmente como “carrapicho” e “pega pega”, devido às suas características pegajosas e é citada na literatura como vermífuga (Metcalf e Chalk, 1972).

Entre as dicotiledôneas que contêm princípios aromáticos, esta família se destaca por ter alguns de seus representantes utilizados na medicina popular por suas propriedades digestivas (Fester et al., 1961; Sorarú e Bandoni, 1978; Ratera e Ratera, 1980; Toursarkissian, 1980; Gupta, 1995; Alonso, 1998, citados por Bonzani, 2003). Segundo Metcalf e Chalk (1972), as folhas de espécies de Verbenaceae, incluindo *Priva echinata* Juss., são utilizadas no preparo de chás.

Investigações acerca da anatomia da família Verbenaceae têm enfatizado algumas espécies, sem qualquer citação para representantes do gênero *Priva*. Espécies pertencentes ao gênero *Lippia* foram mais extensamente investigadas, quanto à determinação de seus constituintes químicos (Costa et al., 2002) e sua comprovada ação antiinflamatória (Pérez et al., 2005) e antibiótica (Kunle et al., 2003). Poucos estudos químicos foram descritos em *P. lappulacea*, na literatura registra-se apenas a identificação dos iridóides ipolamida e catalpol (Mulert, 2001).

O objetivo deste estudo foi descrever a estrutura anatômica dos órgãos vegetativos (raiz, caule e folha) de *Priva lappulacea* (L.) Pers., visando identificar caracteres auxiliares no diagnóstico desta espécie e ampliar o conhecimento da anatomia dos representantes da família Verbenaceae que ocorrem no nordeste do Brasil.

Além disso, uma análise fitoquímica e testes histoquímicos foram realizados para a verificação da presença de metabólitos secundários e os locais de sua ocorrência na planta.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Amostras de raiz, partes aéreas (caule e folas) de *Priva lappulacea* (L.) Pers. foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em Recife, Pernambuco, Brasil, de diferentes indivíduos ocorrendo naturalmente no campo. O material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA (IPA – 70200). A identificação da espécie foi realizada através de comparações morfológicas com descrições de Kobuski (1926), o qual fez uma revisão do gênero *Priva*.

Material botânico, fresco e fixado em FAA 50 (Johansen, 1940) foi usado para a análise anatômica. Lâminas semipermanentes foram produzidas com secções transversais, à mão livre, da raiz, caule e porção mediana do pecíolo e lâmina foliar, na região mediana da nervura principal. Fragmentos epidérmicos, de ambas as faces foliares, foram obtidos após dissociação, por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 20%, por 48-72 horas. As amostras foram coradas com safranina (solução alcoólica) 1%, azul de astra (solução aquosa) 1% e azul de metileno (solução aquosa) 1%, com montagem em glicerina aquosa 50% (Krauter, 1996).

Secções de material fresco foram submetidas a testes histoquímicos para a identificação dos grupos metabólicos: alcalóides, amido, compostos fenólicos gerais, lignina e lipídeos nos órgãos vegetativos de *P. lappulacea*, seguindo as indicações

contidas nas referências indicadas na Tabela 1. As reações foram acompanhadas e fotografadas sob microscopia óptica de luz visível.

Imagens digitais das secções histológicas, dos diferentes órgãos vegetativos da espécie em estudo, foram produzidas sob microscopia óptica (Olympus) com câmera digital (Sony W5) acoplada. As escalas e numerações foram inseridas utilizando-se imagens de lâmina micrométrica, obtidas sob condições idênticas àquelas utilizadas para a confecção das imagens das secções histológicas e programa Photoshop, versão 7.0 (Adobe Systems).

As terminologias utilizadas neste estudo seguiram Metcalfe e Chalk (1972/1988) e a classificação dos estômatos seguiu Baranova (1987).

O perfil fitoquímico foi realizado através de extratos metanólicos das partes aéreas. Os extratos foram analisados por cromatografia em camada delgada (cromatoplasas de gel de sílica Merck-Alemanha), empregando-se diversas fases móveis e reveladores adequados, de acordo com a metodologia descrita na Tabela 2.

**Tabela 1.** Testes histoquímicos realizados nos órgãos vegetativos de *Priva lappulacea* (L.) Pers.

<b>Grupos de Metabólitos</b>	<b>Luz visível</b>	<b>Referência</b>
Alcalóides	Dragendorff	Furr & Mahlberg, 1981
	Reagente de Wagner	Wagner & Bladt, 1996
Amido	Lugol	Johansen, 1940
Compostos Fenólicos Gerais	Cloreto férrico	Johansen, 1940
Lignina	Floroglucinol acidificado	Johansen, 1940
Lipídeos	Sudan III	Sass, 1951
Taninos	Vanilina clorídrica	Sarkar & Howarth, 1976

**abela 2.** Sistemas cromatográficos e reveladores utilizados para o perfil fitoquímico de *Priva opulacea* (L.) Pers.

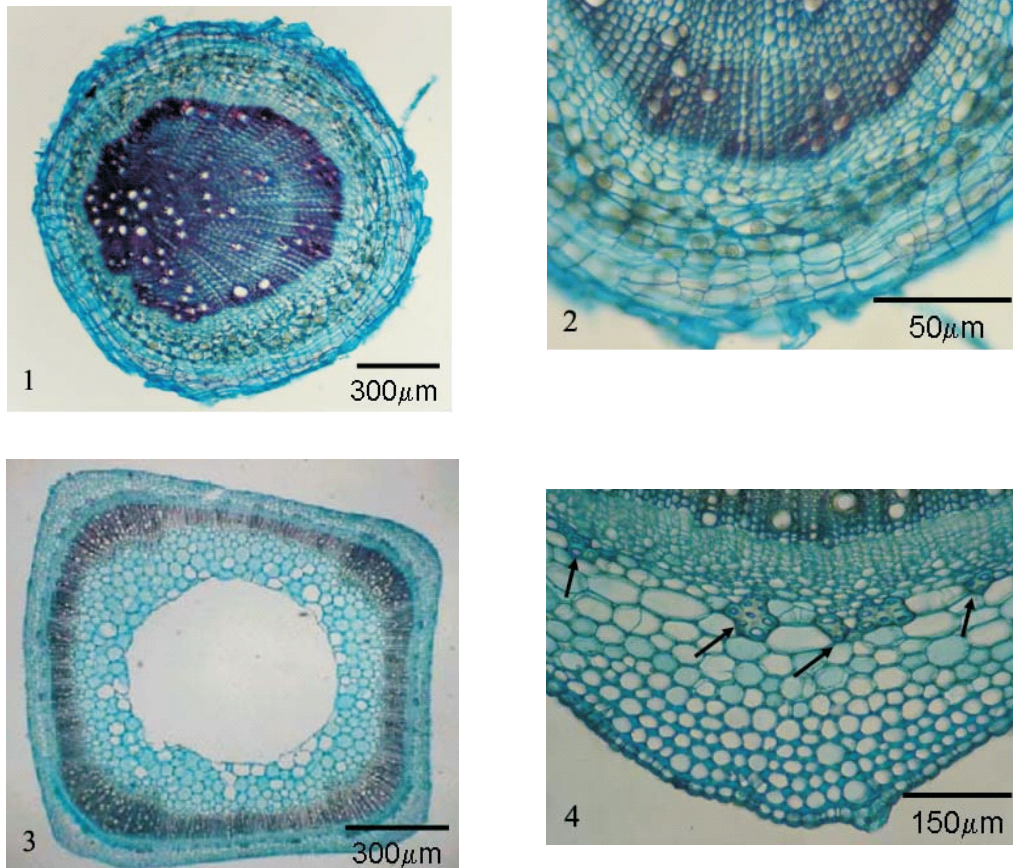
<b>Metabólitos</b>	<b>Sistemas de eluição</b>	<b>Reveladores</b>	<b>Referência</b>
Alcalóides	AcOEt- HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	Dragendorff	Wagner, 1996
Terpenóides e steróides	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:0,5:0,5:0,5v/v)	Lieberman/Burchard	Harborne, 1998
Flavonóides	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	Vanilina sulfúrica	Wagner, 1996
Alcaloninas	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	Vanilina sulfúrica	Wagner, 1996
Açúcares redutores	n-BuOH-Me <sub>2</sub> CO- Tampão fosfato pH= 5,0 (40:50:10v/v)	Trifeniltetrazólio	Metz, 1961
Alcalinas	Éter-tolueno-AcOH 10% (50:50:50v/v)	U. V. (365 nm)	Wagner, 1996
Terpenos cinâmicos	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	NEU	Wagner, 1996; Neu, 1956
Flavonóides	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	NEU	Wagner, 1996; Neu, 1956
Trilpropanoglicosídeos	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	NEU	Wagner, 1996
Antocianidinas condensadas e mucoantocianidinas	AcOEt-HCOOH-AcOH- H <sub>2</sub> O (100:11:11:27v/v)	Vanilina clorídrica	Roberts, 1957

## RESULTADOS

*Priva lappulacea*, uma espécie pertencente à família Verbenaceae, é uma erva daninha perene anual, quase cosmopolita, com caule do tipo haste decumbente ou procumbente, geralmente tetragonal; folhas opostas, cruzadas, com gemas axilares, lanceoladas, pecíolo delgado e piloso; lâmina foliar membranosa, oval e serrilhada, geralmente subtruncada ou subcordada (ou aguda quando jovem) na base, pilosa em ambas as faces (Wiggins e Porter, 1971, citado em Hawaiian Ecosystems at Risk project, 2006).

O contorno da raiz de *P. lappulacea* é circular (Figura 1) e, em estrutura primária, está revestida por epiderme uniestratificada, com células cobertas por cutícula delgada e exoderme com paredes fracamente lignificadas. O córtex, em estrutura secundária, é revestido por periderme, composta por súber, felogênio e feloderme, sem distinção entre córtex externo e interno (Figura 2). Idioblastos presentes no córtex radicular, em estrutura primária e secundária, consistem de células arredondadas, repletas de pequenas drusas de oxalato de cálcio (Figura 2). O córtex é limitado internamente por uma endoderme constituída por uma única camada de células.

O caule tem contorno quadrangular, uma medula ampla, constituída por células parenquimáticas com paredes delgadas, oca na região central (Figura 3). Está revestido por epiderme semelhante àquela da raiz, imediatamente seguida por várias camadas de colênquima angular nas regiões angulares (Figura 4). É observada a presença de estômatos anomocíticos projetados acima do nível das demais células da epiderme. No córtex são encontrados pequenos grupos isolados de fibras sobre a região do floema (Figura 4). O caule é eustélico, com sistema vascular fechado e colateral, único e contínuo, com distribuição paratraqueal.



**Figuras 1-4.** *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae): 1. raiz em secção transversal; 2. córtex radicular; 3. caule em secção transversal; 4. colênquima angular no córtex caulinar e grupos de fibras sobre o floema (setas).

A folha apresenta pecíolo de contorno circular, em vista transversal, com duas projeções laterais arredondadas, projetadas para a face adaxial da lâmina foliar (Figura 5). A epiderme que recobre a face abaxial do pecíolo, incluindo as projeções arredondadas laterais, apresenta inúmeros tricomas tectores e glandulares (Figura 5). Imediatamente abaixo da epiderme existem cerca de duas camadas de colênquima do tipo angular, contornando todo o pecíolo. Os tricomas glandulares são semelhantes àqueles encontrados no caule e estão encimados por uma ou duas células vesiculares; a base dos tricomas tectores está constituída por células situadas em um nível acima das células fundamentais da epiderme (Figura 6). Em vista transversal, o feixe vascular

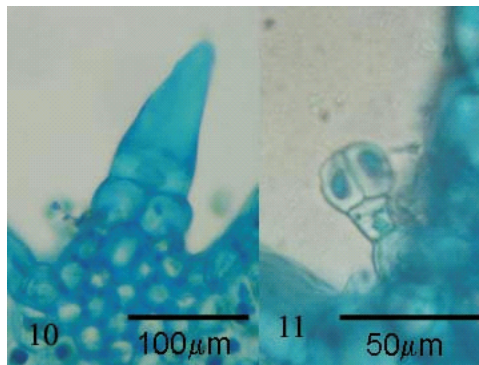
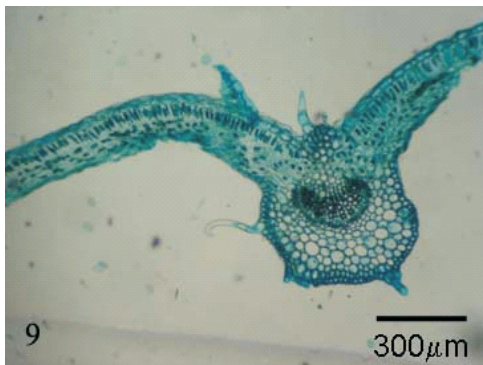
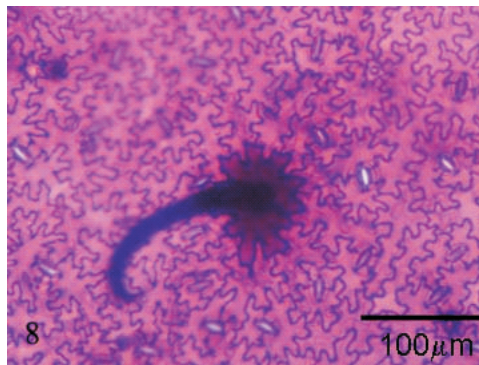
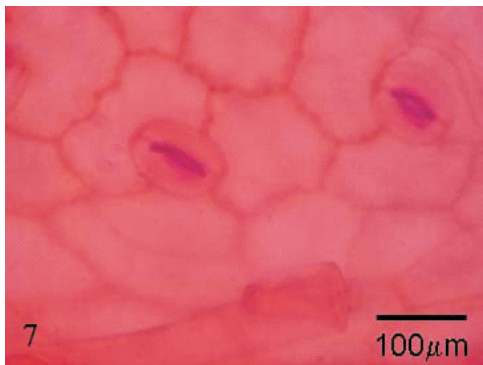
mediano tem forma de arco crescente do tipo aberto, constituído por dois grupos de feixes vasculares colaterais descontínuos (Figura 5). Na região da interrupção dos feixes existem pequenos grupos de células de condução. Em cada projeção arredondada é encontrado um feixe vascular subsidiário do tipo (Figura 6).

A lâmina foliar, em vista transversal, está revestida por uma epiderme unisseriada, coberta por cutícula delgada, com estômatos anomocíticos presentes em ambas as faces (Figuras 7 e 8), ligeiramente projetados acima do nível das demais células da epiderme, semelhante ao que ocorre no caule. Os estômatos se apresentaram em maior número e menores tamanhos na face abaxial, quando comparados àqueles observados na face adaxial (Figuras 7 e 8).

Na lâmina foliar, tricomas tectores e glandulares são encontrados, exclusivamente, sobre a região da nervura principal (Figura 9), do mesmo modo que tricomas glandulares são exclusivos e esparsos sobre o limbo foliar. Tricomas conoidais (Figura 10) são vistos na região da costela inferior da nervura principal. Os tricomas glandulares estão constituídos por duas células pedunculares curtas, encimadas por duas células vesiculares arredondadas (Figura 11).

A simetria do mesofilo é dorsiventral, constituído por uma camada de parênquima paliçádico e três camadas de parênquima esponjoso, com o paliçádico ocupando cerca de 50% da espessura (Figura 9).

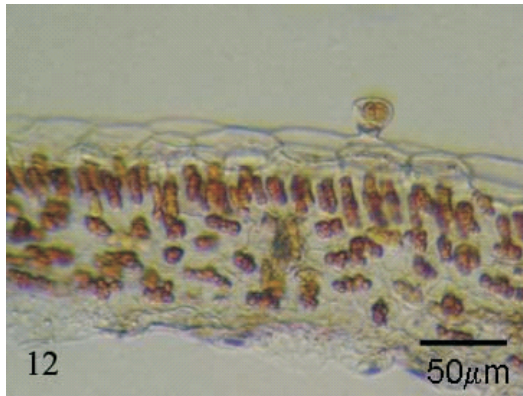
A nervura principal, na porção mediana da lâmina foliar, apresenta secção transversal biconvexa (Figura 9), com feixe vascular colateral em forma de arco crescente aberto, aparentemente sem fibras constituindo o feixe.



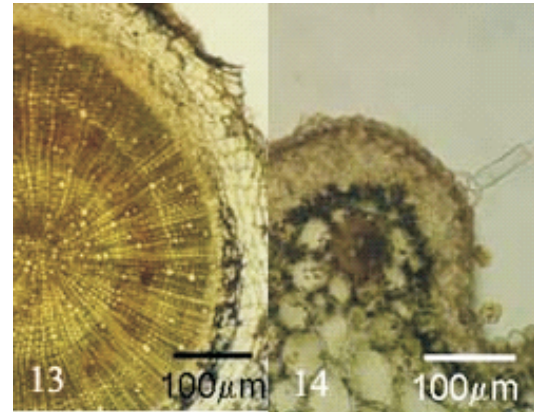
**Figuras 5-11.** *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae): 5. pecíolo em secção transversal; 6. detalhe da projeção arredondada do pecíolo; 7 e 8. vista frontal da epiderme foliar, faces adaxial e abaxial, respectivamente; 9. vista transversal da folha, mostrando a nervura principal e mesofilo dorsiventral; 10 e 11. tricomas foliares, conoidal e glandular, respectivamente.



Na caracterização histoquímica, tanto o teste com Dragendorff como o reagente de Wagner foram negativos. A coloração azul-negra indicou a presença de amido no clorênquima presente no córtex radicular (Figura 12), pecíolo (Figura 13) e mesófilo. A presença de compostos fenólicos gerais foi mais evidenciada no súber e parênquima cortical da raiz (Figura 14), no clorênquima caulinar e foliar, incluindo a região das expansões do pecíolo (Figura 15). A cor vermelha nas paredes das células de xilema indicou a presença de lignina em elementos de condução do xilema e fibras, em todos os órgãos estudados. Foi observada uma fraca lignificação em grupos de fibras sobre a região do floema no feixe vascular do caule (Figura 16), destacando-se a aparente ausência de fibras constituindo o feixe vascular do pecíolo (Figura 17). A aplicação do Sudan III evidenciou a presença de lipídeos, cutina e suberina, através da coloração amarelo-alaranjada na cutícula, especialmente no caule, no clorênquima, com destaque nas projeções do pecíolo, no súber e córtex radicular (Figura 18), e no parênquima cortical do caule. Quanto à presença de taninos, foi detectada uma coloração cinza na cutícula, nas paredes dos elementos de condução do xilema e nas camadas mais externas do súber radicular.

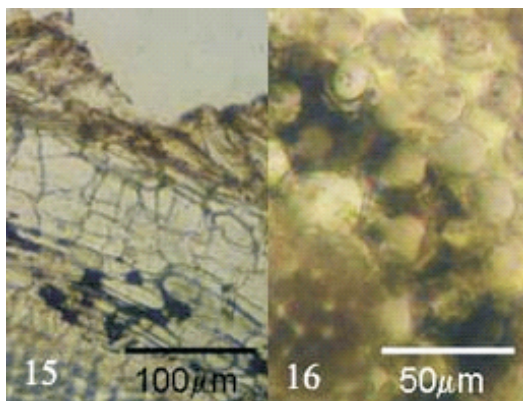


Dragendorff alcalóides

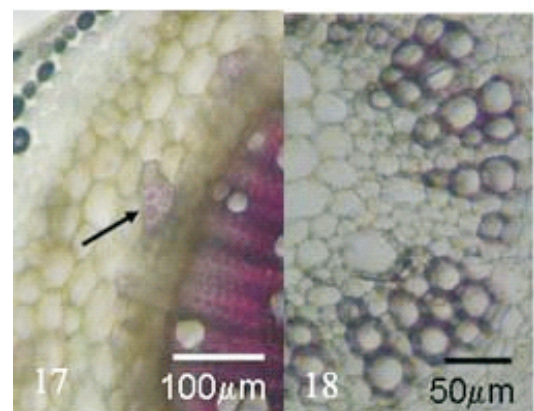


amido

**Figuras 12-14.** Reações histoquímicas em *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae): 12. alcalóides no clorênquima e células vesiculares do tricoma glandular na lâmina foliar; 13 e 14. amido no córtex radicular e projeção lateral do pecíolo, respectivamente;

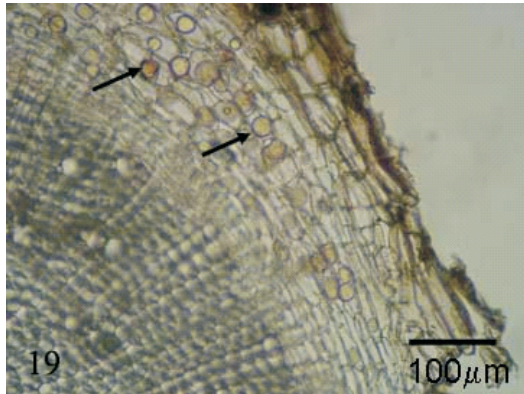


fenol

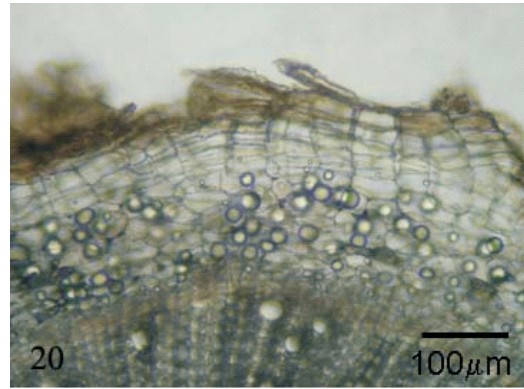


Lignina

**Figuras 15-18.** Reações histoquímicas em *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae): 15 e 16. compostos fenólicos na feloderme radicular e clorênquima do pecíolo, respectivamente; 17 e 18. lignina nas paredes dos elementos de xilema e fibras no caule e nos elementos de condução do xilema na nervura principal, respectivamente;



Sudan



Tanino

**Figuras 19-20.** Reações histoquímicas em *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae): 19. gotículas de compostos graxos de cadeia longa (cutina, suberina e outros lipídios) no parênquima cortical radicular (setas); 20. tanino presente no súber radicular.

O ensaio fitoquímico evidenciou a presença de triterpenos e esteróides, iridóides, açúcares, flavonóides e fenilpropanóides no caule e folhas. Permitiu, ainda, a identificação de  $\beta$ -sitosterol, ácido ursólico, ipolamida, catalpol, verbascosídeo e luteolina. Não foi detectada a presença de alcalóides, saponinas, cumarinas, derivados cinâmicos, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas e os iridóides assinalados foram as únicas substâncias detectadas nas raízes.

## DISCUSSÃO

Com base nas observações anatômicas realizadas em *P. lappulacea* foi verificado que muitas das estruturas são comuns àquela descritas para a família, de modo que estas características podem ser utilizadas como caracteres diagnósticos na identificação desta espécie. Dentre estes caracteres, destacam-se aqueles observados nas folhas, como os tipos de tricomas, glandular e não-glandular, e o mesofilo dorsiventral, segundo Metcalfe e Chalk (1972/1988). Além disso, todas as descrições acerca da morfologia foliar não se referem às expansões existentes no pecíolo, detalhe que pode ser acrescentado à diagnose da espécie.

Em *Lippia Alba*, Ferreira (2003) observou tricomas tectores, quase sempre unicelulares, e tricomas glandulares sésseis ou com pedicelo muito curto, encimando cabeças glandulosas, uni ou pluricelulares, neste último caso, geralmente bicelular, como encontrado na espécie em estudo.

Os estômatos são encontrados em ambas as faces foliares nas espécies de *Priva* (Metcalfe e Chalk, 1972). Todos os estômatos observados nesta espécie são anomocíticos (Figuras 7 e 8), concordando com a descrição deste tipo de estômato apresentada por Baranova (1987), Metcalfe e Chalk (1988) e Van Cotthem (1970). Esta classificação está baseada na topografia e disposição das células ao redor das células estomáticas, sem relação com a ontogenia do aparelho estomático. Metcalfe e Chalk (1988) afirmaram que na família Verbenaceae podem ser encontrados estômatos anomocíticos, paracíticos anisocíticos e diacíticos. Entretanto, em *P. lappulacea* foram observados apenas estômatos do tipo anomocítico. Segundo Metcalfe e Chalk (1988), a classificação do tipo de estômato tem grande importância taxonômica.

Foi realizada uma comparação entre os resultados da histoquímica e da fitoquímica. Constatou-se a presença de taninos histoquimicamente, mas não

fitoquimicamente. Isto pôs em evidência a possibilidade de um resultado falso-positivo para taninos nos ensaios histoquímicos, uma vez que a cromatografia em camada delgada é um método mais sensível para a detecção dos metabólitos. Assim, quando o reagente utilizado foi o cloreto férrico, o mesmo agiu sobre os taninos e diversos outros fenóis existentes nas células (Kraus e Arduin 1997). Por outro lado, quando o reagente utilizado foi a vanilina clorídrica observou-se a coloração das células. No perfil fitoquímico não foi evidenciado tanino, concluindo, assim, que os metabólitos corados com a vanilina clorídrica foram os iridóides, e não os taninos, uma vez que esse revelador caracteriza os iridóides. Este resultado contribuiu para a localização dos iridóides nas paredes dos elementos de condução do xilema e nas camadas mais externas do súber radicular.

Em relação a todos os outros testes histoquímicos, todos se mostraram fidedignos quando comparados ao perfil fitoquímico.

Quimicamente, ainda foi caracterizada, por co-cromatografia (usando-se padrões), a presença de luteolina (flavona) e verbascosídeo (glicosídeo de fenilpropanoide); todos são substâncias conhecidas e que estão sendo descritas pela primeira vez para o táxon em questão. O verbascosídeo e a luteolina são compostos largamente encontrados nos vegetais que apresentam atividade antibacteriana e antifúngica. A presença dos iridóides (aqui isolados e caracterizados por métodos físicos) é mais interessante por estar restrita a determinados grupos de vegetais e por estes apresentarem uma gama de atividades farmacológicas, especialmente antiinflamatória.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bahia. 1979. Governo do Estado. Seplantec. Subsecretaria de Ciência e Tecnologia. Inventário de plantas medicinais do Estado da Bahia. Salvador. p. 1201.
- Baranova MA 1987. Historical development of the present classification of morphological types of stomates. *Bot Rev* 53: 53-79.
- Bonzani NE, Filippa EM, Barboza GE 2003. Estudio anatómico comparativo de tallo en algunas especies de Verbenaceae. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Bot* 74: 31-45.
- Bridson D, Forman L 1998. *The herbarium handbook*. 3<sup>th</sup> ed. Great Brain: Whistable Litho Printers.
- Brummitt RF, Powell CE 1992. *Authors of plant names*. London: Kew Royal Botanic Gardens.
- Costa SMO, Lemos TLG, Deusdênia O, Pessoa L, Assunção JCC, Braz-Filho R 2002. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. *Rev Bras Farmacogn* 12: 66-67.
- Ferreira JLP, Velasco E, Araújo RB, Kuster RM, Amaral ACF 2003. Estudo morfo-anatômico entre os caules de *Lippia alba* e *Melissa officinalis*. *Rev Bras Farmacogn* 14: 01-02.
- Furr M, Mahlberg PG 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *J Nat Prod* 44: 153-159.
- Harbone JB 1998. *Phytochemical Methods*. 3<sup>a</sup>ed., London: Chapman & Hall.
- Hawaiian Ecosystems at Risk project (HEAR). <http://www.hear.org/Pier/species/privallappulacea.htm>. Acessado em julho de 2006.
- Johansen DA 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill.

- Metcalfé CR, Chalk L 1972. *Anatomy of the Dicotyledons*. London: Oxford University Press.
- Metcalfé CR, Chalk L 1988. *Anatomy of the Dicotyledons* Vol. 1. 2<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, London.
- Metz H 1961. Thin-layer chromatography for rapid assays of enzymic steroid transformations *Naturwissenschaften* 48: 569-570.
- Mulert U 2001. *Phylogenie der Verbenaceae: Kladistische Untersuchungen mit morphologischen und chemischen Merkmalen*. Freiburg im Breisgau, 433p. Tese de doutorado- Faculdade für Chemie und Pharmazie der Albert-Ludwigs-Universität-Alemanha.
- Neu R 1956. *A New reagent for differentiating and determining flavones of paper chromatograms*. *Naturwissenschaften* 43: 82.
- Oliveira FG, Akisue G, Akisue MK 1998. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu.
- Pérez S, Meckes M, Pérez M, Susunaga A, Zavala MA 2005. Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. *J Ethnopharm* 102: 1-4.
- Prabakar M 2004. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Bot Sin* 46: 242-252.
- Rimpler H & Sauerbier H. (1986) Iridoid Glucosides as Taxonomic Markers in the Genera *Lantana*, *Lippia*, *Aloysia* and *Phyla*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 14, 307-310.
- Roberts EAH, Cartwright RA, Oldschool M 1957. Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. *J Sci Food Agr* 8: 72-80.

Sant'Anna-Santos BF, Thadeo M, Meira RMSA, Ascensão L 2006. Anatomia e Histoquímica das Estruturas Secretoras do Caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Rev Árvore* 30: 481-489.

Sarkar SK, Howarth RE 1976. Specificity of the vanillin test for flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 24: 317-320.

Sass JE 1951. *Botanical microtechnique*. Iowa State College Press. Iowa.

Van Cotthem WRJ 1970. A classification of stomatal types. *Bot J Linn Soc* 63: 235-246.

Wagner H, Bladt S 1996. *Plant drug analysis – A thin layer chromatography atlas*. Springer. 2<sup>a</sup>ed. Munich.



## APÊNDICE II

### **Estudos preliminares da propriedade antiinflamatória do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae)**

Jovita Maria de F. Braga<sup>1\*</sup>, Aldo C. Passilongo da Silva<sup>1</sup>, Elisangela C. B. Silva<sup>1</sup>, Ivone

A. de Souza<sup>2</sup>; Haroudo S. Xavier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE,  
Recife-PE, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Antibióticos -Universidade Federal de Pernambuco - UFPE,  
Recife-PE, Brasil.

---

#### **Resumo**

A avaliação da atividade antiinflamatória do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea* (L.) Pers, foi realizado em ratos Wistar (*Rattus Novergicus*) machos adultos, por via intraperitoneal. O método utilizado foi o edema de pata induzido por carragenina. O edema apresentou inibição significativa ( $p < 0,05$ ) na fase final da inflamação para as duas doses utilizadas. Os efeitos benéficos de várias substâncias que agem sobre o processo e mecanismo da inflamação são indiscutivelmente incontestáveis, embora haja variedades de acordo com o tipo de inflamação, com a utilização do produto, o grau deste processo e a eficácia da substância ou fármaco utilizado.

*Palavras-chave:* *Priva lappulacea* (L.) Pers.; Verbenaceae; Atividade anti-inflamatória; ratos.

\*Contato com o autor: Largo de Dois Irmãos, 1117

Dois Irmãos, CEP:52171-010, Recife-PE, Brasil

Tel:55-81- 32671168 e-mail: jovita.braga@lafepe.pe.gov.br

**Preliminary studies of the anti-inflammatory properties of the  
methanolic crude extract of the aerial parts of the *Priva lappulacea* (L.)  
Pers. (Verbenaceae)**

**Abstract**

The evaluation of the antiinflammatory activity of the methanolic crude extract of the aerial parts of the *Priva lappulacea* (L.) Pers, was carried through in adult male Wistar rats, for saw intraperitoneal. The used method was carrageenan-induced paw edema. The edema presented significant inhibition ( $p < 0,05$ ) in the final phase of the inflammation for the two tested doses. The beneficial effects of various substances that act on the process and mechanism of inflammation are undoubtedly indisputable, although there are varieties according to the type of inflammation, with the use of the product, the extent of this process and effectiveness of substance or drug use.

*Key words:* *Priva lappulacea* (L.) Pers; Verbenaceae; Anti-inflammatory evaluation; rats.

## 1 .Introdução

*Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae) é uma erva daninha encontrada em países de clima tropical, inclusive o Brasil. Poucos são os estudos relevantes sobre as propriedades farmacológicas das *Privas*. Já foram descritas propriedades antiinflamatórias de *Verbenaceae*, porém nenhum relato existe sobre a propriedade antiinflamatória desta planta.

O gênero *Priva* conta atualmente com cerca de 30 espécies com distribuição pan-tropical, inseridas principalmente em regiões do Novo Mundo, do sul dos Estados Unidos ao Norte da Argentina e Chile. Algumas espécies ocorrem também na África e Ásia. A espécie *Priva lappulacea* (Verbenaceae) é uma planta com características de daninha; aclimatada em muitos países tropicais e tem ampla distribuição em nossa região. Em Pernambuco, floresce e frutifica durante todo o ano, sendo mais evidente após as primeiras chuvas do período invernososo de abril a julho.

O extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea* apresenta como constituintes: iridóides glicosídicos (Ipolamida e Catapol), fenilpropanoglicosídeo (Verbascosídeo – Braga, 2007) e flavonóide (Luteolina- Braga, 2007). Este trabalho teve como objetivo realizar ensaios preliminares da atividade antiinflamatória de *Priva lappulacea* (L.) Pers.

## 2. Metodologia

### 2.1. Material botânico

As partes aéreas da *Priva lappulacea* foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. A exsicata da espécie vegetal foi identificada pela Dr<sup>a</sup> Rita de Cássia. O material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA (IPA – nº 70200).

### 2.2. Preparação do Extrato

As partes aéreas de *Priva lappulacea* foram dessecadas por 72 horas em estufa a 45°C, em seguida foram trituradas e pesadas. Após o processo de maceração em metanol, o material foi submetido à filtração e levado ao rotaevaporador (BUCHII – RE 121) até a obtenção do resíduo do extrato bruto metanólico (EBM) das partes aéreas de *P. lappulacea*, o qual foi utilizado para a realização do teste antiflogístico.

### 2.3. Animais

Foram utilizados ratos (n=5/grupo) albinos Wistar machos adultos (*Rattus norvegicus*) com 180-250 g de pesos corpóreo e com 60 dias de idade. Os animais foram provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, acondicionados em gaiolas de polipropileno, com temperatura de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas

cada), receberam água *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE, processo n ° 23076.000431/2007-72.

Os animais foram privados de alimentação por um período de 18 horas antes do experimento, com água *ad libitum*.

## 2.4. Estudos preliminares de atividade antiinflamatória

### 2.4.1. Estudo antiinflamatório

Utilizou-se o modelo de inflamação aguda, conhecido como edema de pata induzido por carragenina (Winter et al, 1962) por ser um método rápido e estável (Mascolo et al, 1997). Inicialmente, realizou-se a mensuração da pata traseira direita dos animais; para posterior indução do edema através de uma injeção subplantar de 0,1 ml de carragenina (SIGMA PRODUCT) a 0,1 %.

Trinta minutos após foi realizada uma nova mensuração das patas edemaciadas utilizando plestimômetro adaptado e administrou-se por via intraperitoneal solução salina nos grupos controles, e nos tratados solução diluída do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* nas doses de 150 e 300 mg/kg (v.i.p.) de peso corpóreo, estipuladas a partir da avaliação da toxicidade aguda do vegetal.

No grupo padrão foi utilizada indometacina (MERCK/SHARP) nas concentrações de 10 mg/kg (v.i.p.) de peso corpóreo, por ter propriedades antiinflamatória e analgésico-antipiréticas proeminentes, semelhantes às dos salicilatos (Gilman et al, 2003). Efetuou-se a mensuração a cada 60 minutos durante 6 horas. O percentual de inibição foi calculado através da fórmula:

$$\% \text{ de inibição do edema} = \frac{(V_c - V_t)}{V_c} \times 100$$

Onde:

$V_c$  = média do aumento do volume das patas dos animais do grupo controle;

$V_t$  = média do aumento do volume das patas dos animais do grupo tratados.

## 2.5 Estudos estatísticos

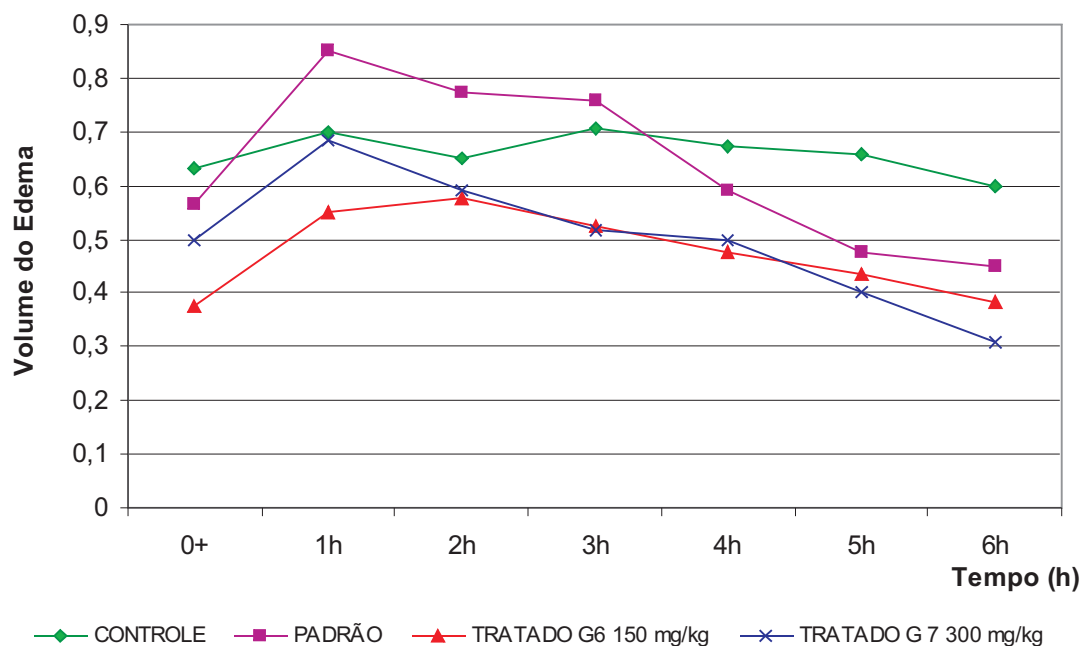
Os dados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) e testados com análise de variância (ANOVA) e teste “t” de Student para avaliar as diferenças entre os grupos tratados e controles com nível de significância de  $p < 0,5$  nos testes antiinflamatórios .

## 2. Resultados

### 3.1 Estudo antiinflamatório

Como esperado, a injeção de carragenina induziu edema na pata dos ratos dos grupos Controle, Padrão, Tratado G6 (150 mg/kg) e Tratado G7 (300 mg/kg), atingindo seu pico entre a primeira e segunda hora.

Os resultados estão representados no gráfico abaixo e expressam o desenvolvimento do edema de pata (mL), para os grupos tratados com EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* em relação aos grupos padrão e controle, durante as seis horas de experimento.



**Gráfico 1** – Comparação do desenvolvimento do edema de pata por injeção subplantar de carragenina, em ratos machos tratados por via intraperitoneal, com o extrato metanólico bruto das partes aéreas de *Priva lappulacea* nas dose de 150mg/kg (?), 300 mg/kg (-x-), indometacina 10 mg/kg (?), e solução salina 0,9% (?). Os valores representam a média do volume da pata (mL)  $\pm$  e.p.m. Resultados significativos para  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (Teste t de Student).

Como pode ser observado no Gráfico 1, o EBM das partes aéreas de *P. lappulacea* na dose de 150 mg/kg, apresentou ação antiedematogênica iniciada a partir da terceira hora (25,84% de redução), superando a ação inflamatória frente a indometacina, a partir da quinta hora (27,81%). Os resultados apresentaram um percentual de inibição do edema na ordem de 34,19% e 36,66% respectivamente, para 5ª e 6ª hora contra 27,81% e 25% de inibição do fármaco padrão, resultados significantes quando comparado ao grupo controle. Quando administrada a dose de 300 mg/kg a ação antiflogística foi percebida a partir da quarta hora (25,95%). O percentual máximo de inibição foi observado entre a quinta e a sexta hora, 39,24% e 46,62% respectivamente, também superando os valores obtidos no grupo tratado com o fármaco

padrão. Os resultados apresentados são estatisticamente significativos para  $P < 0,05$  em comparação com o grupo controle.

## 2. Discussão

Vários estímulos exógenos e endógenos são capazes de gerar agressão celular e podem provocar uma reação complexa no tecido conjuntivo vascularizado, denominado inflamação. A inflamação aguda insere-se na primeira linha de defesa do organismo contra o agente agressor, que tem como objetivo localizar a área agredida, eliminar o referido agente e remover os tecidos degenerados, preparando a área para o processo reparatório (Siqueira et al, 2000).

O edema por carragenina foi escolhido como modelo para o estudo por ser bem conhecido, aliado ao fato de desencadear um estado inflamatório decorrente da liberação de vários mediadores (Di Rosa, 1972; Garcia Leme et al, 1973). Trata-se de um modelo bifásico, que na primeira fase (0-1h) libera serotonina, histamina e bradicinina. A segunda fase (1-6h) está relacionada com o aumento da produção e liberação de mediadores como prostaglandinas, produtos da ativação da COX-2 e de NO, na resposta inflamatória (Vinegar et al., 1969; Salvemini et al., 1996).

O efeito inibitório do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea*, por via intraperitoneal, na formação do edema, está provavelmente envolvido com a inibição da síntese ou liberação de produtos da fase final da resposta inflamatória induzida por carragenina. Possivelmente, os efeitos tardios apresentados por *P. lappulacea*, sejam devidos à inibição das prostaglandinas responsáveis pela dilatação dos leitos vasculares e, através da diminuição do nível destes mediadores da inflamação é que ocorre a regressão do processo flogístico, resultando na redução do edema (Silva, 2006).



Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* apresenta efeito antiinflamatório considerável quando administrado por via intraperitoneal.

### Referências Bibliográficas

Almeida, E. R.1993. *Plantas Medicinai s Brasileiras: Conhecimentos Populares e Científicos*. Hermus Editora, p. 70-71.

Di Rosa, M. 1972 Biological properties of carrageenan. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 24, 89-102.

Garcia Leme, J. et al, 1973. Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in rat's paw by local injection of carrageenan and by heating. *Br. J. Pharmacol.* 48, 88-96.

Gilman, A. G. et al., 2003. *As bases farmacológicas da terapêutica*, 10 ed. México: McGraw-Hill.

Mascolo, N. et al, 1997. Biological screening of Italian medicinal plants anti-inflammatory activity. *Phytoth. Res.* 1, 28-32.

Raj, P.P., 1996. *Pain Mechanisms. In: Pain medicine: A comprehensive review*. St. Louis, U.S.A.: Mosby-Year Book, p. 12-24.

Salvemini, D. et al, 1996. Nitric Oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 1158, 829-898.

Silva E.C.B. 2006. *Avaliação da Atividade Biológica de Caesalpinia echinata Lam. (Fabaceae-Caesalpinioideae). Usos e Riscos*. Recife, 137 p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.

Siqueira, J.R. and Dantas, C.J.S., 2000. *Mecanismos celulares e moleculares da Inflamação*: S.I.: MEDSI.

Vinegar, R. et al, 1969. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 166, 96-103.

Winter, C.A. et al, 1962. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as assay for anti-inflammatory drug. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 111, 544-547.

## APÊNDICE III

### AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO DAS PARTES AÉREAS DE *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae)

Jovita M. de F. Braga <sup>a\*</sup>; Aldo C.P. da Silva <sup>b</sup>; Olívia de F. Bandeira <sup>a</sup>; Luana Emanuelle A. de Oliveira <sup>a</sup>; Ivone A. de Souza <sup>b</sup>; Haroudo S. Xavier <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE/PE.

<sup>b</sup> Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE/PE.

---

#### Abstract

The acute toxicity evaluation of the crude methanolic extract of *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae) for its intraperitoneal, was investigated in male mice Swiss (*Mus Musculus*). The animals had been divided in groups (n=6/group), and the toxicity were verified through the administration of doses with crescent concentrations and the comment manner signals of toxicity and reactions, as praised for the methodology of Karber and Behrens (1964). Our results had demonstrated for its intraperitoneal: agitation, vibrissys's, stereotypy and circle's movement, reactions of escape, fine and coarse's tremors. Effect had not been observed depressors on the Central Nervous System. However, some excellent effects had been notified, between them cite: abdominal, spasms, diarrhea, abdominal constriction, pallor and diuresis. The study of acute toxicity it pointed that the crude methanolic extract is non-toxicity until the dose of 3.000 mg/kg of corporeal weight, a time that did not present death in none of the doses tested

Key words: *Priva lappulacea*; Verbenaceae; Acute toxicity; mouse.

## **Introdução**

*Priva lappulacea* (Verbenaceae) é uma erva daninha perene anual, quase cosmopolita na América tropical. Apenas esta espécie de *Priva* é encontrada nos Estados Unidos. É popularmente designada com o seguinte termo: catstoungue (língua de gato). Anteriormente recebeu os seguintes sinônimos científicos: *Verbena lappulacea* L.- 1753; *Priva echinata* Juss.-1806; *Priva lamiifolia* Mart & Gal.- 1844 e *Priva lappulacea* (L.) Pers.-1921.

Investigações acerca da anatomia e estudos biológicos da família Verbenaceae têm enfatizado algumas espécies, sem qualquer citação para representantes do gênero *Priva*. No entanto, espécies pertencentes ao gênero *Lippia* foram mais extensamente pesquisadas, quanto ao controle de qualidade (Ferreira et al., 2003), a determinação de seus constituintes químicos (Costa et al., 2002) e sua comprovada ação antiinflamatória (Pérez et al., 2005) e antibiótica (Kunle et al., 2003).

Entre as dicotiledôneas que contêm princípios aromáticos, esta família destaca-se por ter alguns de seus representantes utilizados na medicina popular por suas propriedades digestivas (Fester et al., 1961; Sorarú e Bandoni, 1978; Ratera e Ratera, 1980; Toursarkissian, 1980; Gupta, 1995; Alonso, 1998, citados por Bonzani, 2003). Segundo Metcalfe e Chalk (1972), as folhas de espécies de Verbenaceae, incluindo *Priva lappulacea* (L.) Pers., são utilizadas no preparo de chás.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* em camundongos machos por via intraperitoneal observando as reações comportamentais e os efeitos específicos, uma vez que não há dados científicos disponíveis sobre a toxicidade aguda para esta espécie.

## **Material e métodos**

## **Material botânico**

Amostras das partes aéreas de *Priva lappulacea* (L.) Pers. foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Cidade do Recife, Pernambuco, Brasil, de diferentes indivíduos ocorrendo naturalmente no campo. O material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA (IPA – nº 70200).

## **Preparo do extrato**

As partes aéreas de *Priva lappulacea* foram dessecadas por 72 horas em estufa a 45°C, em seguida foram trituradas e pesadas. Após o processo de maceração em metanol, o material foi submetido à filtração e levado ao rotaevaporador (BUCHII – RE 121) até a obtenção do resíduo do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *P. lappulacea*, o qual foi utilizado para a realização dos testes toxicológicos.

## **Animais**

Foram utilizados camundongos albinos Swiss machos (*Mus musculus*), adultos, com 60 dias de idade, com 25 e 35 g de peso corpóreo, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em temperatura de  $22 \pm 2$  °C e condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas cada), receberam água *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE, processo nº 23076.000431/2007-72.

## **Avaliação da toxicidade aguda**

Os animais foram divididos em grupos (n=6), os quais foram privados de ração por 12 horas antes do início dos ensaios. Para a realização da investigação da toxicidade aguda, foi utilizada a metodologia preconizada por Karber e Behrens (1964). Procedeu-se o ensaio com a administração de doses em concentrações crescentes seguindo uma progressão geométrica de razão 2 variando de 500 mg/kg a 3.000 mg/kg de peso corpóreo. Os animais ficaram sob observação durante 48 horas. A administração do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* foi realizada por via intraperitoneal e os parâmetros observados foram: sinais tóxicos de caráter geral, efeitos sobre a deambulação, reações comportamentais, alterações da frequência respiratória e número de óbitos. O grupo controle recebeu o soro fisiológico 0,9% utilizado na dissolução do EBM de *Priva lappulacea*. Todos os animais tiveram os efeitos apresentados, observados e registrados minuciosamente para cada concentração administrada do EBM de *P. lappulacea*. Para cada dose administrada foram observados o número de óbitos a fim de se calcular a possível DL<sub>50</sub>.

## **Resultados**

Na Tabela 1 estão expressos os efeitos e reações comportamentais observados durante a realização dos ensaios toxicológicos, relacionados às doses administradas do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea*.

Durante o período de observação dos animais após a administração do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* por via intraperitoneal, foram verificadas reações comportamentais estimulantes, tais como: agitação, movimentos de vibrissas, estereotipados e circulares, reações de fuga, tremores finos e grosseiros. Não foram

observadas reações depressoras relevantes durante o experimento, entretanto outros efeitos importantes não associados ao Sistema Nervoso Central foram notificados como: diarreia, contorções abdominais, espasmos, palidez e diurese.

Em todas as concentrações testadas até a de 3.000 mg/kg de peso corpóreo, não foram constatados óbitos durante todo o período de observação.

## **Discussão**

A toxicidade aguda é definida como os efeitos adversos que ocorrem dentro de um período curto após a administração de uma dose única ou múltipla dentro de um período de 24 horas. A dose única é utilizada para determinar a potência da substância (Oga, 2003).

Os parâmetros de estudos toxicológicos agudos partem do princípio que os efeitos das substâncias químicas produzidas em animais de laboratório, adequadamente qualificados, podem ser extrapolados para os seres humanos. A exposição destes animais a certas substâncias químicas, às vezes com concentrações relativamente altas, é um método válido e necessário para descobrir efeitos e danos possíveis que estas substâncias poderão acarretar em seres humanos (Gilman et al, 2003).

As reações de excitabilidade, movimentos estereotipados, movimentos circulares e de vibrissas, entre outros observados durante os ensaios por via intraperitoneal sugerem a presença de fitocompostos estimulantes do Sistema Nervoso Central ou simplesmente substâncias que provocam reações pronunciadas por esta via.

Sugere-se que o extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea* mostrou-se atóxico, pois não levou os animais à óbito e nem foram observados efeitos exarcebados que comprometessem suas reações vitais (Oga, 2003).

Concluimos que esta etapa inicial de investigação com *Priva lappulacea* (L.) Pers. já oferece resultados significativos, para darmos continuidade a avaliação do seu potencial farmacológico.

## **Resumo**

A avaliação toxicológica aguda do extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. (Verbenaceae) por via intraperitoneal, foi investigada em camundongos machos Swiss (*Mus Musculus*). Os animais foram divididos em grupos (n=6/grupo), a toxicidade foi verificada através da administração de doses com concentrações crescentes e a observação de sinais de toxicidade e reações comportamentais, conforme preconizado pela metodologia de Karber e Behrens (1964). Nossos resultados demonstraram por via intraperitoneal: agitação, movimentos de vibrissas, movimentos estereotipados e circulares, reações de fuga, tremores finos e grosseiros. Não foram observados efeitos depressores sobre o Sistema Nervoso Central. Porém, alguns efeitos relevantes foram notificados, entre eles citamos: diarreia, contorções abdominais, espasmos, palidez e diurese.

O estudo de toxicidade aguda apontou que o extrato bruto metanólico é atóxico até a dose de 3.000 mg/kg de peso corpóreo, uma vez que não apresentou óbito em nenhuma das doses testadas.

**Unitermos:** *Priva lappulacea*.; Verbenaceae; Avaliação Toxicológica Aguda; Camundongo.

## Referências bibliográficas

- Bonzani, N.E.; Filippa, E.M.; Barboza, G.E. 2003. Estudio anatómico comparativo de tallo en algunas especies de Verbenaceae. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Bot.* 74: 31-45.
- Costa, S.M.O.; Lemos, T.L.G.; Deusdênia, O.; Pessoa, L; Assunção, J.C.C.; Braz-Filho, R. 2002. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. *Rev Bras Farmacogn* 12: 66-67.
- Ferreira, et al. 2003. Estudo morfo-antômico entre os caules de *Lippia alba* e *Melissa officinalis*. *Rev. Brás. Farmacogn* 12:01-02.
- Gilman, A. G. et al. 2003. *As bases farmacológicas da terapêutica*, 10 ed. México: McGraw-Hill, p. 50-61.
- Karber, G.; Behrens, B. 1964. *Estatistical Methods in Biological Assays*. London: Ed. Griffin Ch. and C..
- Kunle, O.; Okogun, J.; Egamana, E.; Emojevwe, E.; Shok, M. 2003. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomed* 10: 59-61.
- Metcalf, C.R.; Chalk., L 1988. *Anatomy of the Dicotyledons Vol. 1*. 2<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, London.
- Pérez, S.; Meckes, M.; Pérez, M.; Susunaga, A.; Zavala, M.A. 2005. Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. *J Ethnopharm* 102: 1-4.
- Oga, S. 2003. *Fundamentos de Toxicologia*. 2 ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 59-67.

### **\*Autor para correspondência:**

Jovita Maria de Farias Braga

Rua Largo de Dois Irmãos, 1117. Dois Irmãos-

Recife- PE- CEP: 50810-020

E-mail: [jovita.braga@lafepe.pe.com.br](mailto:jovita.braga@lafepe.pe.com.br)



**Tabela 1.** Principais reações comportamentais relacionada às doses administradas da avaliação da toxicidade aguda do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea*, por via intraperitoneal.

Ação/Parâmetros	Doses (mg.kg <sup>-1</sup> )				
	500	1000	2000	2500	3000
<i>Estimulantes</i>					
? Frequência respiratória	++	+	++	-	-
? Frequência cardíaca	-	-	++	-	-
Agitação	++	+++	+	-	+
Piloereção	+++	+++	++	+++	++
Exoftalmia	+	-	++	++	+
Movimentos estereotipados	+++	++	+++	+++	+++
Movimentos circulares	+++	+++	+++	+++	+++
Movimentos de vibrissas	++	++	++	+++	+++
Convulsão clônica	-	-	-	-	-
Convulsão	-	-	-	-	-
Tremores finos	++	++	++	++	+
Tremores grosseiros	-	+	++	+++	+++
Ereção de cauda	+++	++	+	++	+
Postura de ataque	+	+	-	+	-
Postura em garra	++	++	++	+	+
Saltos	+	+	-	+	+++
Irritabilidade	-	-	-	-	-
Excitabilidade	-	-	++	-	-
Levantamento de trem posterior	-	-	-	+	++
Arrastamento de trem posterior	-	-	-	-	-
<i>Depressores</i>					
Abaixamento de trem posterior	+	-	+	+	-
Dispnéia	-	+	+	++	++
Sonolência	-	-	+	-	-
?Frequência respiratória	-	-	-	+	-
Prostração	-	-	-	-	+
Alteração de marcha	+	+	-	+	-
<i>Outros</i>					
Excreção fecal	++	++	+	+	++
Contorções abdominais	++	++	+++	+++	++
Reação de fuga	+++	++	++	++	+
Espasmos	+	++	++	+	++
Elevação de trem anterior	-	-	-	-	-
Diarréia	-	-	-	-	-
Refluxo	+	+	++	+	++
Palidez	+	+	+++	+++	++
Distensão abdominal	-	++	+	-	++
Agressividade	-	-	-	-	+
Diurese	+	+	++	++	+
Irritação da conjuntiva	-	-	-	-	-
Espasticidade	-	-	-	-	+
Cianose	-	-	-	-	+
Lacrimejamento	+	-	-	+	-
Edema de focinho	++	+	+	+	++
Petéquias	-	-	-	-	-
Sibilos	+	+	+	-	-

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

## APÊNDICE IV

### AVALIAÇÃO ANTITUMORAL DA SUBSTÂNCIA PURA E DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO DE *Priva lappulacea* (L.) Pers. FRENTE AO SARCOMA 180 E CARCINOMA DE ERLICH

Jovita M. F. Braga<sup>1</sup>; Aldo C. P. Silva.<sup>1</sup>; Elisangela C.B. Silva<sup>1</sup>; Lúcia F. F. Silva<sup>1</sup>; Ivone A. Souza<sup>2\*</sup>; Haroudo S. Xavier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação de Ciências Farmacêuticas - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife-PE, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Antibióticos -Universidade Federal de Pernambuco– UFPE, Recife-PE, Brasil.

---

#### Resumo

A avaliação do potencial antitumoral da substância pura (ipolamida) e do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea* (L.) Pers., frente ao Sarcoma 180 e ao Carcinoma de Ehrlich, ambos linhagens de tumores de forma sólida. No ensaio foram utilizados camundongos machos, adultos, albinos Swiss (*Mus musculus*). A metodologia utilizada foi a preconizada por Stock(195 5), na qual a administração do material testado foi de oito dias consecutivos após a implantação do tumor. Os resultados demonstraram que o referido extrato bruto metanólico das partes aéreas de *Priva lappulacea* foi capaz de inibir o crescimento de tumores de Carcinoma de Ehrlich, na proporção significativa de 80,54 %, enquanto a análise dos tumores frente ao Sarcoma 180 apresentou inibição significativa de 64,2%. A substância pura extraída obteve inibição significativa de 77,92% frente ao Carcinoma de Ehrlich. A avaliação macroscópica dos órgãos demonstrou que a administração aguda da substância pura e do extrato bruto metanólico da *Priva lappulacea* (L.) Pers. provoca ascite, esplenomegalia e hepatomegalia, quando comparados com os animais dos grupos controle.

**Unitermos:** *Priva lappulacea*, Verbenaceae, Sarcoma 180, Carcinoma de Ehrlich, análises macroscópicas, camundongos.

## **Abstract**

The evaluation of the antitumoral potential of the pure substance (Ipolamide) and of the methanolic crude extract of the aerial parts of *Priva lappulacea* (L.) Pers., front to 180 Sarcoma and Carcinoma of Ehrlich, both ancestries of tumors of solid form. In the assay male, adult, albinic mice Swiss (*Mus musculus*) had been used . The used methodology was the praised one for Stock, in which the administration of the tested material was of eight days consecutive after the implantation of the tumor. The results had demonstrated that the cited methanolic crude extract of the aerial parts of *Priva lappulacea* was capable to inhibit the growth of tumors of Carcinoma of Ehrlich in the significant ratio of 80,54 %, while the analysis of the tumors front to Sarcoma 180 presented significant inhibition of 64,2%. The pure substance only extracted got significant inhibition front to the Carcinoma of Ehrlich of 77,92%. The macroscopic evaluation of the agencies demonstrated that the acute administration of the pure substance and the methanolic crude extract of the aerial parts of *Priva lappulacea* (L.) Pers. provokes ascite, spleen and hepatomegalia, when compared with the animals of the groups it has controlled.

Key Words: *Priva lappulacea* (L.) Pers., Verbenaceae, Sarcoma 180, Carcinoma of Ehrlich, macroscopic analysis, mice.

## Introdução

Inúmeras espécies vegetais já foram citadas por sua significativa propriedade anticancerígena. O taxol, proeminente antineoplásico, tem sido utilizado no tratamento de vários tipos de câncer, inclusive o de mama e de ovário. A podofilotoxina, principal componente bioativo da podofilina, originou, através de algumas modificações sintéticas, o etoposídeo e o teniposídeo poderosos agentes antitumorais (Lima et al, 2005). Outras importantes moléculas extraídas de vegetais incluem: Vincristina, Vinblastina, Colchicina, Ellipticina e Lapachol (Mukherjee et al, 2001).

A espécie *Priva lappulacea* (Verbenaceae) é uma planta com características de daninha, aclimatada em muitos países tropicais e tem ampla distribuição em nossa região. Aqui, floresce e frutifica durante todo o ano, sendo mais evidente após as primeiras chuvas do período invernal de abril a julho.

O extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea* apresenta como constituintes: iridóides glicosídicos (Ipolamida e Catapol), fenilpropanoglicosídeo (Verbascosídeo – Braga, 2007) e flavonóide (Luteolina- Braga, 2007); também apresentou atividades biológicas, como agente antibacteriano e antiinflamatório. Diante dos promissores resultados obtidos anteriormente, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade antitumoral da substância pura (Ipolamida) e do extrato bruto metanólico de *P. lappulacea* sobre os tumores Carcinoma de Ehrlich e Sarcoma 180.

## **Metodologia**

### **Material botânico**

As partes aéreas da *Priva lappulacea* foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil. Esta espécie vegetal foi identificada pela Dr<sup>a</sup> Rita de Cássia, e o material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA (IPA – nº 70200).

A substância pura extraída (ipolamida) e o extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea* foram pesados e diluídos nas concentrações desejadas para realização dos testes antitumorais.

### **Animais**

Foram utilizados camundongos albinos Swiss machos (*Mus musculus*), adultos, com 25 e 35 g de pesos corpóreo. Os animais provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em temperatura de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas cada), receberam água *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPE, processo n ° 23076.000431/2007-72.

## **Avaliação da Atividade Antitumoral**

Os animais foram submetidos à implantação de tumores sólidos Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich segundo a técnica descrita por Stock et al. (1955). O tratamento teve início 48 horas após o implante. Administrou-se por via intraperitoneal solução salina nos grupos controles, e nos tratados solução diluída da substância pura e do extrato bruto na dose de 300 mg/kg de peso corpóreo. Aos padrões foi administrado, por via intraperitoneal ciclofosfamida (2,5 mg/kg) e metotrexato (10 mg/kg), respectivamente para os ensaios do Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich. As doses foram administradas por um período de oito dias, no nono dia, os animais foram pesados, sacrificados e os tumores extirpados. A inibição do crescimento tumoral foi calculada em comparação ao grupo controle após pesagem dos tumores, utilizando a seguinte fórmula:

$$TWI\% = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Onde:

TWI% = percentual de inibição tumoral

C = média dos pesos dos tumores dos animais do grupo controle

T = média dos pesos dos tumores dos animais do grupo tratado

## **Análise morfológica macroscópica**

Após a extirpação dos tumores, procedeu-se a necropsia (n=4/grupo), para avaliação da morfologia externa dos seguintes órgãos: pulmões, baço, rins, fígado, e testículos foram cuidadosamente removidos e fixados em formaldeído a 10% e solução tampão neutra. Após 24 horas de fixação dessas peças anatômicas foram obtidas amostras para processamento histopatológico, com emprego de técnicas de inclusão em parafina e coloração com hematoxilina-eosina.

## **Estudos estatísticos**

Os dados foram testados com análise de variância (ANOVA) e teste “t” de Student para avaliar as diferenças entre os grupos tratados e controles.

## **Resultados**

Nos ensaios com camundongos machos frente ao tumor Sarcoma 180, o padrão mostrou uma inibição de 40,71% , enquanto o grupo tratado com a substância pura, na dose 300 mg/kg de peso corpóreo não apresentou redução significativa dos pesos médios dos tumores com inibição tumoral de 42,68%. O grupo tratado com o extrato bruto metanólico das partes aéreas de *P. lappulacea* na dose de 300 mg/kg de peso corpóreo, apresentou inibição significativa dos pesos médios dos tumores, com uma inibição tumoral de 64,2% (Figura 1).

Os animais tratados com ciclofosfamida (2,5 mg/kg, v.i.p.) apresentaram discreta diarreia, perda de pelos e ascite.

Nos ensaios com camundongos machos frente ao tumor Carcinoma de Ehrlich, o grupo padrão, o qual recebeu metotrexato (10mg/kg v.i.p.) apresentou redução significativa dos pesos médios dos tumores com 68,85% de inibição tumoral, e o grupo tratado com a substância pura ipolamida (300 mg/kg v.i.p.) mostrou redução significativa dos pesos médios dos tumores com 77,92% de inibição tumoral, enquanto o grupo do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* (300 mg/kg v.i.p.) apresentou redução significativa nos pesos médios dos tumores com 80,54 % de inibição tumoral (Figura 2).

Os animais tratados com metotrexato (10 mg/kg v.i.p.) apresentaram emagrecimento, perda de pelos, piloereção, prostração e cianose.

Nos grupos tratados com a substância pura e o EBM de *P. lappulacea* os animais apresentaram freqüentes agitações, diurese intensa, ascite, esplenomegalia e contorções abdominais leves.

#### **4. Discussão**

O câncer (ou neoplasia, ou tumor maligno) é uma doença caracterizada pelo crescimento alterado de células que pode levar a morte pelo processo invasivo em órgãos normais por células tumorais, por extensão direta ou por disseminação à distância através do sangue, linfa ou superfície serosa. O comportamento anormal das células tumorais está geralmente associado às mutações genéticas, expressões de características oncológicas, ou secreção anormal de hormônios ou enzimas (Cavenne et al., 1996).

Os resultados encontrados evidenciaram que o EBM das partes aéreas de *P. lappulacea* provocou significativa inibição tumoral nos grupos tratados frente ao



Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich provavelmente pela presença de vários fitoconstituintes. No entanto, o percentual de inibição da substância pura ipolamida foi significativo apenas frente ao Carcinoma de Ehrlich, juntamente com o EBM das partes aéreas de *P. lappulacea* demonstraram maior grau de atividade frente a este tumor. É importante observar que ambos grupos tratados frente aos tumores demonstram maior atividade do que os grupos padrões respectivos.

As drogas antineoplásicas geralmente apresentam efeitos tóxicos consideráveis como mielossupressão, infiltrados inflamatórios locais e alopecia (Gilman et al, 2003), o que confere com demonstrado frente aos grupos tratados com metotrexato e ciclofosfamida.

## **Conclusão**

O EBM das partes aéreas de *P. lappulacea* apresentou inibição do crescimento tumoral do Sarcoma 180 e Carcinoma de Ehrlich, enquanto a substância pura apresentou inibição do crescimento tumoral apenas frente ao Carcinoma de Ehrlich. Esta pesquisa abre nova perspectiva para uma série de investigações, e realização de ensaios farmacológicos com atividade anti-tumoral em outros tipos de neoplasias malignas empregando outras substâncias bioativas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, E. R., 1993. *Plantas Medicinais Brasileira: Conhecimentos Populares e Científicos*. 1º ed. Hermus Editora, p. 70-71.

Bonta, I. L.; Bem-Efraim, S., 1993. Involvement of inflammatory mediators in macrophage antitumor activity. *J. leukoc. Biol.* 54: 613-626.

Cavenne, W K., White, R. L. , 1996. The genetic basic of cancer. *Scientific American*. p. 72-79.

Gilman, A. G. et al. 2003 *As bases farmacológicas da terapêutica*, 10 ed.. México: McGraw-Hill.

Instituto Nacional do Câncer (INCA) – Ministério da Saúde, 2006. A situação do câncer no Brasil. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br/situacao/>> Acesso em 04 jan.2007.

Lima, D. P.; Vizzotto, L.; Barbosa, A. M. J.; Mariano, V. G.; Beatriz, A., 2005. Um método eficiente para isolamento e purificação da podofilotoxina a partir do extrato de podofilina e algumas transformações químicas sob irradiação de microondas. *Revista Eletrônica de Farmácia*; 3 (1), pp. 15-21. Disponível em: <[http://www.farmacia.ufg.br/revista/\\_pdf/vol3\\_1/artigos/ref\\_v3\\_1-2006\\_p15-21.pdf](http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol3_1/artigos/ref_v3_1-2006_p15-21.pdf)> Acesso em 04 jan.2007.

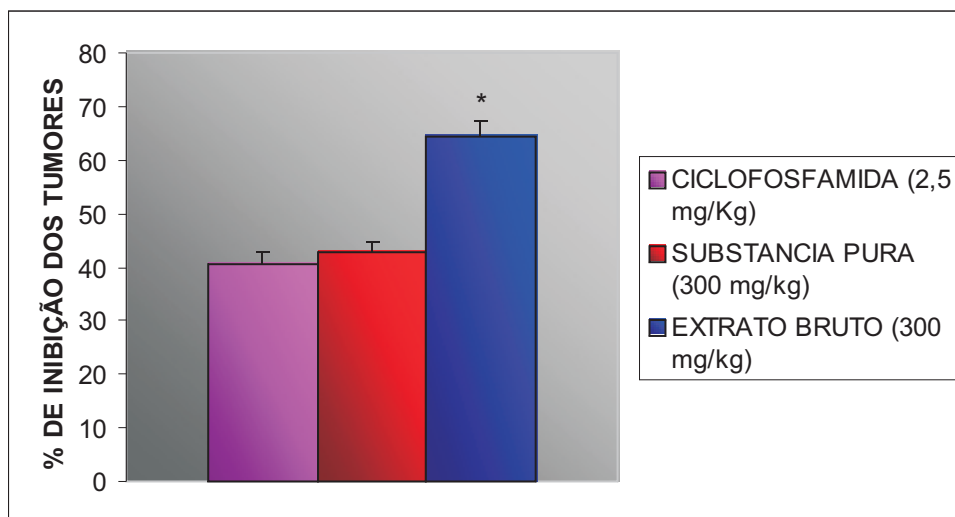
Mukherjee, A.K.; Basu, S.; Sarkar, N.; Ghosh, A.C., 2001. Advances in Cancer Therapy with Plant Based Natural Products. *Curr. Med. Chem.*; 8, pp. 1467-1486.

Oliveira Júnior, Fernando José Moreira de; Cesse, Eduarda Ângela Pessoa, 2005. Morbi-mortalidade do câncer na cidade do Recife na década de 90. *Revista Brasileira de Cancerologia*; 51(3), pp. 201-208.

Saraiva, Maurício F.; Silva, Pâmela S.; Viccini, Lyderson F.; Almeida, Mauro V., 2006. Ipolamiida, fulvoipolamiida e acteosideo isolados a partir de *stachytarpheta glabra* (verbenaceae). *Anais da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Disponível em: < <https://sec.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T1953-1.pdf>> Acesso 04 jan.2007.

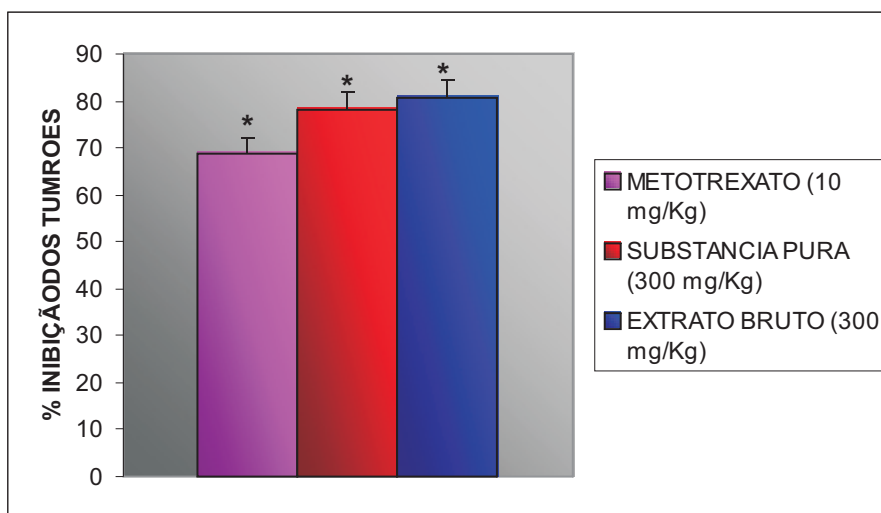
Sugiura, M. et al., 1994 Cryptic dysfunction of cellular immunity in asymptomatic human immunodeficiency virus (HIV) carriers and its actualization by an environmental immunosuppressive factor. *In vivo*, Athens, 8( 6):1019-1022.

Stock, C. C.; Sugiura, K., 1955 . The Effect of Phosphoramides on the Growth of a Variety of Mouse and Rats Tumors. *Cancer Res.* 2: 38-50 .



**Figura 1:** Comparação dos percentuais de inibição do efeito da Substância pura ipolamida (300 mg/kg) e do EBM das partes aéreas de *Priva lappulacea* (300 mg/kg) por via intraperitoneal sobre os tumores do Sarcoma 180 em camundongos machos adultos. O grupo ciclofosfamida (2,5 mg/kg i.p.) representa o grupo padrão. Os valores representam os percentuais  $\pm$  e.p.m.

\* $P < 0,05$ , comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n= 4/grupo).



**Figura 2:** Comparação dos percentuais de inibição do efeito da Substância pura ipolamida (300 mg/kg) e do EBM de *Priva lappulacea* (300 mg/kg) por via intraperitoneal sobre os tumores do Carcinoma de Ehrlich em camundongos machos adultos. O grupo metotrexato (10 mg/kg i.p.) representa o grupo padrão. Os valores representam os percentuais  $\pm$  e.p.m.

\* $P < 0,05$ , comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 4/grupo).

## APÊNDICE V

### ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO DAS PARTES AÉREAS DE *PRIVA LAPPULACEA* (L.) PERS.(VERBENACEAE)

---

### ACTIVITY ANTIMICROBIAL OF METANOLIC CRUDE EXTRACT OF *PRIVA LAPPULACEA* (L.) PERS.

Jovita Maria de Farias Braga<sup>a</sup>, Marcos Saraiva<sup>a</sup>, Lúcia de Fátima Francelino da Silva,  
Lúcia Roberta de Souza Filizola<sup>a</sup>, Haroudo Satiro Xavier<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco –  
UFPE. Recife-PE, Brasil.

---

#### *Resumo*

O estudo de produtos naturais oriundos de vegetais de uso medicinal com atividade antimicrobiana vem ganhando grandes perspectivas para uma possível aplicação prática no tratamento das infecções fúngicas e bacterianas. Neste trabalho, foram realizadas avaliações da atividade antimicrobiana do extrato bruto metanólico contra espécimes bacterianas de origem clínica e de coleção. Os ensaios foram realizados, através do método de difusão em meio sólido, incubados a uma temperatura de 35 ± 2°C por 24-48 horas para espécimes bacterianas. De acordo com os testes o extrato bruto metanólico mostrou-se ativo contra quatro espécies bacterianas: *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538, AM-103); *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538P, AM-106); *Klebsiella pneumoniae*(ATCC 10031, AM-50); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14502, AM-206).

**Unitermos:** *Priva lappulacea* (L.) Pers. microrganismos, medicinal.

## Abstract

The study of natural products from vegetables of medicinal use with antimicrobial activity has gained great perspectives for a possible practical application in the treatment of fungal and bacterial infections. In this work, evaluations of the antimicrobial activity of the metanolic crude extract of *Priva lappulacea* were accomplished against bacteria specimens of clinical origin and from collection. The assays were accomplished through the method of diffusion in solid medium, the bacteria were incubated in a temperature of 35 ± 2°C during 24-48 hours. Satisfactory antimicrobial activities were evidenced for the extract tested: *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538, AM-103); *Staphylococcus aureus*(ATCC 6538P, AM-106); *Klebsiella pneumoniae*(ATCC 10031, AM-50); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14502, AM-206).

**Uniterm:** *Priva lappulacea* (L.) Pers., microbe, medical.

\* Contato com o autor: Rua Madalena, 200 Pau Amarelo- CEP 53435-700, Paulista-PE, Brasil.

Tel:(81) 31831168

Email: jovita.braga@lafepe.pe.com.br

## Introdução

A história das doenças e das suas causas de morte é tão antiga quanto à própria espécie humana, talvez mais desconhecida. O impacto das doenças infecciosas na evolução da espécie humana é de difícil avaliação, tanto pela sua complexidade em si, como pela escassez de dados e pontos obscuros (Rodrigues et al., 1997).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (1991), a alta densidade demográfica somada a baixas condições de higiene, encontradas nos países em desenvolvimento, é responsável por uma grande incidência de doenças infecciosas, causadas por bactérias e fungos, sendo uma das principais causas da morbidade e da mortalidade nestas regiões.

O gênero *Priva* faz parte da família Verbenaceae a qual é constituída de, aproximadamente, 100 gêneros e 2000 espécies, ocorrendo em regiões temperadas, tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (Troncoso, 1974; Troncoso e Botta, 1993, citados por Bonzani, 2003).

*Priva lappulacea* é uma planta tropical, podendo ser encontrada na América do Sul, inclusive no Brasil

Vários constituintes químicos foram encontrados na *Priva lappulacea* (L.) Pers., como. triterpeno (ácido ursólico) e esteróide ( $\beta$ -sitosterol), iridóides (ipolamida e catalpol), açúcar redutor (glicose), flavonóide (luteolina) e fenilpropanóide (verbascosídeo).

Desta forma, torna-se racional o estudo e a pesquisa das plantas medicinais, como é o caso da *Priva lappulacea* (L.) Pers.

## **Matérias e Método**

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Pernambuco (UFPE).

### **Obtenção do Material Botânico**

As partes aéreas da *Priva lappulacea* foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Cidade do Recife, Brasil. A exsicata da

espécie vegetal foi identificada pela Dr<sup>a</sup> Rita de Cássia . O material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA (IPA – nº 70200).

O extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea* foi pesado e diluído nas concentrações desejadas para realização dos ensaios microbiológicos.

### **Ensaio Microbiológicos**

Para a realização dos ensaios microbiológicos, foram selecionados espécimes de origem clínica, registradas no Laboratório de Análises Microbiológicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE, bem como cepas padrões: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538, AM-103); *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P, AM-106); *Salmonella spp* serotipo Montevideo(ATCC 8387, AM-149); *Klebsiella pneumoniae*(ATCC 10031, AM-50); *Escherichia coli*(ATCC 9723, AM-31); *Enterococcus faecalis*(ATCC 33186, AM-128); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14502, AM-206).

**ATCC** – American Type Culture Collection

**AM** – Código da coleção do Laboratório de Análises Microbiológicas – Depto. de Ciências Farmacêuticas – UFPE

### **Materiais e Métodos**

#### **Preparação dos extratos**

As partes aéreas de *Priva lappulacea* foram dessecadas por 72 horas em estufa a 45°C, em seguida foram trituradas e pesadas. Após o processo de maceração em metanol, o material foi submetido à filtração e levado ao rotaevaporador (BUCHII – RE121) até a obtenção do resíduo do extrato bruto metanólico das partes aéreas de *P. lappulacea*. Em seguida o extrato foi pesado, calculado o respectivo rendimento e foi utilizado para a realização do ensaio de avaliação da atividade microbiológica.

## **Ensaio Microbiológicos**

### **Bactérias**

Para a realização dos ensaios microbiológicos, foram selecionados espécimes de origem clínica e cepas padrões, ambas registradas no Laboratório de Análises Microbiológicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE.

Foram estudadas sete cepas:

*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538, AM-103)

*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P, AM-106)

*Salmonella spp* serotipo Montevideo (ATCC 8387, AM-149)

*Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031, AM-50)

*Escherichia coli* (ATCC 9723, AM-31)

*Enterococcus faecalis* (ATCC 33186, AM-128)

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14502, AM-206).

ATCC – American Type Culture Collection

AM – Código da coleção do Laboratório de Análises Microbiológicas – Depto. de Ciências Farmacêuticas – UFPE

### **Preparação dos inóculos**

Os inóculos foram preparados a partir das culturas de 24h em ágar Muller-Hinton (MH), e suspendidas em soro fisiológico estéril, comparando as turvações com o tubo 0,5 da escala MacFarland ( $10^8$  UFC/mL) (NCCLS, 2003).

### **Teste de Atividade Antimicrobiana**

Os estudos foram baseados em dois métodos de ensaios, o primeiro avaliou o halo formado pela técnica de poços/ difusão em ágar e na determinação do CIM usou-se a técnica de diluição em ágar (multiinoculador de Stears/ difusão em ágar).



## **Preparação das soluções e diluições dos extratos**

O extrato bruto oriundo de extração metanólica foi ressuspenso em Água: DMSO (1:1 v/v) (SAKAGAMI, 2005). O antibiótico padrão foi a Tetraciclina (TT) a 300 g/mL para a técnica de poços / difusão em ágar e nas concentrações de 640 g/mL a 0,31 g/mL por placa (fator de diluição = 2), para a técnica de determinação do CMI / Multiinoculador de Stears.

As diluições do extrato metanólico para determinação do halo de inibição e Concentração Mínima Inibitória (CMI) foram, respectivamente: 100 mg/mL e 50 mg/mL e  $2 \cdot 10^3$  g/mL a 312,5 g/mL, seguindo o mesmo fator de diluição da tetraciclina.

Foram feitos controles negativos (branco) nas concentrações dos adjuvantes citados acima, sendo: DMSO 50% e tween 4%, para a técnica de poços / difusão em ágar e DMSO 5% e Tween 0,4% para técnica de determinação do CMI.

## **Determinação do Halo de Inibição**

O semeio das bactérias foi realizado com swab de algodão estéril em placas de Petri contendo 20 mL de ágar Muller-Hinton. Em seguida foi realizada a perfuração (perfurador de 7 mm de diâmetro), e aplicado os extratos com pipeta automática (100 L por poço), nas concentrações de 100 mg/mL e 50 mg/mL (10 mg e 5 mg por poço). O antibiótico padrão foi a TT na concentração de 300 g/mL (30 g por poço). Os resultados foram avaliados conforme o diâmetro dos halos, seguindo o seguinte parâmetro: halos < 9 mm, inativo; 9-12 mm, parcialmente ativo; 13-18 mm, ativo; > 18 mm, muito ativo (Alves, 2000).

## **Determinação da Concentração Inibitória Mínima.**

Foi realizada, incorporando ao meio de cultura (fluido) as diluições acima citadas na proporção de (9:1 v/v), obtendo diluições de 2000 g/mL a 31,25 g/mL.

Com uma pipeta automática de 100 l, foi distribuído asépticamente os 7 inóculos nos poços da placa do aparelho Multiinoculador de Stears (capacidade de até

32 cepas), em seguida inoculado na superfície do meio, incubando-se a 36 °C 1 por 24h.

Foram feitos controles em duplicata no início e no final do processo, em meio ágar Muller-Hinton (Padrão de crescimento) e controle dos adjuvantes utilizados nas concentrações 0,4% para o Tween a e 5% DMSO em ágar Muller-Hinton.

### **Método de difusão em meio sólido**

Utilizado na determinação do “screening” da atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Priva lappulacea* contra bactérias de origem clínica. Em placas esterilizadas, foi depositado 1 mL da suspensão de cada microrganismo, preparada em solução fisiológica a 0,85%, padronizada pelo tubo 0,5 Mac Farland e ajustada para 90% T (530nm), correspondendo aproximadamente a  $10^6$  UFC/mL (ODDS, 1989; CASAL, 1979). Em seguida, foi adicionado 21 mL do meio sólido fundido a 50 °C, procedendo da seguinte forma: após solidificação, foram realizadas cavidades de 6 x 8 mm de diâmetro, onde foram depositadas alíquotas de 50µL de cada extrato solubilizado em concentrações diferentes. Foi utilizado controle com antimicrobiano padrão para bactérias: Tetraciclina 30 g.

Os meios foram incubados a 24-48 horas a 35 2 °C.

### **Resultados**

Os resultados dos testes de atividade antibacteriana do extrato da planta *Priva lappulacea* (L.) Pers., estão ilustrados através da Tabela 1.

1- Atividade antibacteriana do extrato bruto metanólico (EBM) de *Priva lappulacea* (L.) Pers., em diferentes concentrações contra bactérias de origem clínica.

Organismos	<i>Staphylococcus aureus</i> AM 103	<i>Staphylococcus aureus</i> AM 106	<i>Escherichia coli</i> AM 31	<i>Klebsiella pneumoniae</i> AM 50	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AM 206	<i>Enterococcus faecalis</i> AM 128	<i>Salmonella</i> sp. AM 149
Concentrações do EBM							
1 mg/mL	++	+	-	+++	+	-	-
2 mg/mL	++	+	-	+++	+	-	-
Controle do organismo	+	+	+	+	+	+	+

Para o controle do microrganismo foi utilizada uma droga antibacteriana de largo espectro conforme metodologia descrita

< 9 mm, inativo (-); 9-12 mm, parcialmente ativo (+); 13-18 mm, ativo (++); > 18 mm, muito (++) (Alves, 2000).

Na Tabela 1, observam-se os resultados dos testes *in vitro* do extrato bruto de *Priva lappulacea* em diferentes concentrações contra bactérias Gram-Positivas e Gram-Negativas de origem clínica e diversa. O EBM mostrou-se ativo contra quatro espécies bacterianas utilizadas nos ensaios microbiológicos.

## Discussão

O surgimento das infecções, em destaque as hospitalares, estimula uma crescente necessidade em combatê-las, principalmente devido ao surgimento de cepas resistentes ou multiresistentes as drogas antifúngicas e antibacterianas. O que se aplica em especial a amostras de fungos aparentemente inofensivos, que há alguns anos atrás como é o caso do gênero *Candida* spp. não se destacava tão predominantemente em infecções no ambiente hospitalar (LACAZ et al., 2002).

Nesse contexto o interesse em plantas medicinais com propriedades medicamentosas tem evoluído com amplas perspectivas, pela possibilidade que se tem em isolar substâncias conhecidas ou inéditas a partir das mais variadas espécies de

plantas. Portanto, a partir destes relatos de literatura o nosso trabalho foi fundamentado.

Em nosso estudo, foi obtida ação contra bactérias de origem clínica e diversa.

Algumas outras espécies da família Verbenaceae têm sido descritas por apresentarem atividades medicinais, e no Brasil o seu uso é comprovado cientificamente, e já se conhece há bastante tempo suas atividades e seu emprego na medicina fitoterápica.

É crescente o estudo do potencial biológico dos produtos oriundos de espécies vegetais, quer sejam extratos, partições ou óleos entre outros. E sempre no sentido de determinar a atividade destas substâncias contra microrganismos de característica patogênica como as espécies participantes neste estudo, principalmente com ênfase naquelas de origem hospitalar.

O uso constante de medicamentos de origem vegetal e a conseqüente recuperação da saúde, a não satisfação com a eficácia e o alto custo dos medicamentos, associado à admiração pelos produtos naturais, conduzem milhões de pessoas no mundo inteiro ao uso dos medicamentos de origem natural para a terapêutica das mais diversas patologias (ROBBERS et al., 1997).

## **Conclusão**

As pesquisas com plantas medicinais têm sido desenvolvidas em uma escala indiscutível, considerando-se aspectos botânicos e farmacológicos, suportados pela crença e usos populares. Em especial, aquelas plantas com características antimicrobianas utilizadas ao combate de fungos e bactérias. Nosso estudo teve comprovada a eficácia do extrato bruto metanólico de *Priva lappulacea* (L.) Pers. contra microrganismos de âmbito hospitalar e diverso, uma vez que, é muito ativo para *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031, AM-50) e ativo *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538, AM-103). Apresentou-se com resultados parcialmente ativo frente as cepas de: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P, AM-106) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14502, AM-206). Novas pesquisas e metodologia serão empregadas em uma continuidade para a averiguação de *Priva lappulacea* (L.) Pers como fungicida.

## **Referências Bibliográficas**

Almeida, E. R. Plantas Medicinais Brasileira: **Conhecimentos Populares e Científicos**. Hermus Editora, p. 70-71, 1993.

Alves TMA, Silva AF, Brandão M, Grand TSM, Smôniaf FA, Smânia Jr A, Zani CL 2000, Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants, **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 95: 367-373.

Braga R 1960. **Plantas do Nordeste – Especialmente do Ceará**. Ed Universitária da UFRN 4ª Edição.

Benoudia, A.; Hassar, M.; Benjilali, B. **Les propriétés antiséptiques des huiles essentielles in vitro, testées contre germes pathogenes hôpitaliers**. Fitoterapia, v.59 , n 2, p.1115-119, 1988.

Caetano N, Saraiva A, Pereira R, Carvalho D, Pimentel MCB, Maia MBS 2002, Determinação de Atividade Antimicrobiana de Extratos de Plantas de uso Popular como Antiinflamatório. **Rev. Brás. Farmacogn.** 12, Supl: 132-135.

Cechine Filho V, Yunes, RA 1998, Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova** 21: 99-105

Chiappeta AA, Mello JF, Maciel GM 1982/3, Plantas Superiores com atividade biológica – Plantas de Pernambuco I, **Rev. Instituto de Antibióticos – UFPE**, 21: 43-50.

Coutinho HDM, Bezerra DA, Lobo K, Barbosa IJF 2004. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos** jul/03-jun/2004: 78-85.

Harbone JB 1998, **Phytochemical methods – a guide to modern techniques of plant analysis**, London: Chapman & Hall, 3.ed.

Joly AB 2002, **BOTÂNICA – Introdução a Taxonomia Vegetal**, Companhia Editora Nacional, 13ª ed.: 422-424.

Markhan KR 1982, **Techniques of flavonoid identification**, London: Academic Press.

Metz H 1956, Thin-layer chromatography for rapid assays of enzymic steroid transformations **Naturwissenschaften**, n. 43: 82.

NCCLS 2003, **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão**, 8.Ed. 23, n. 1: 33.

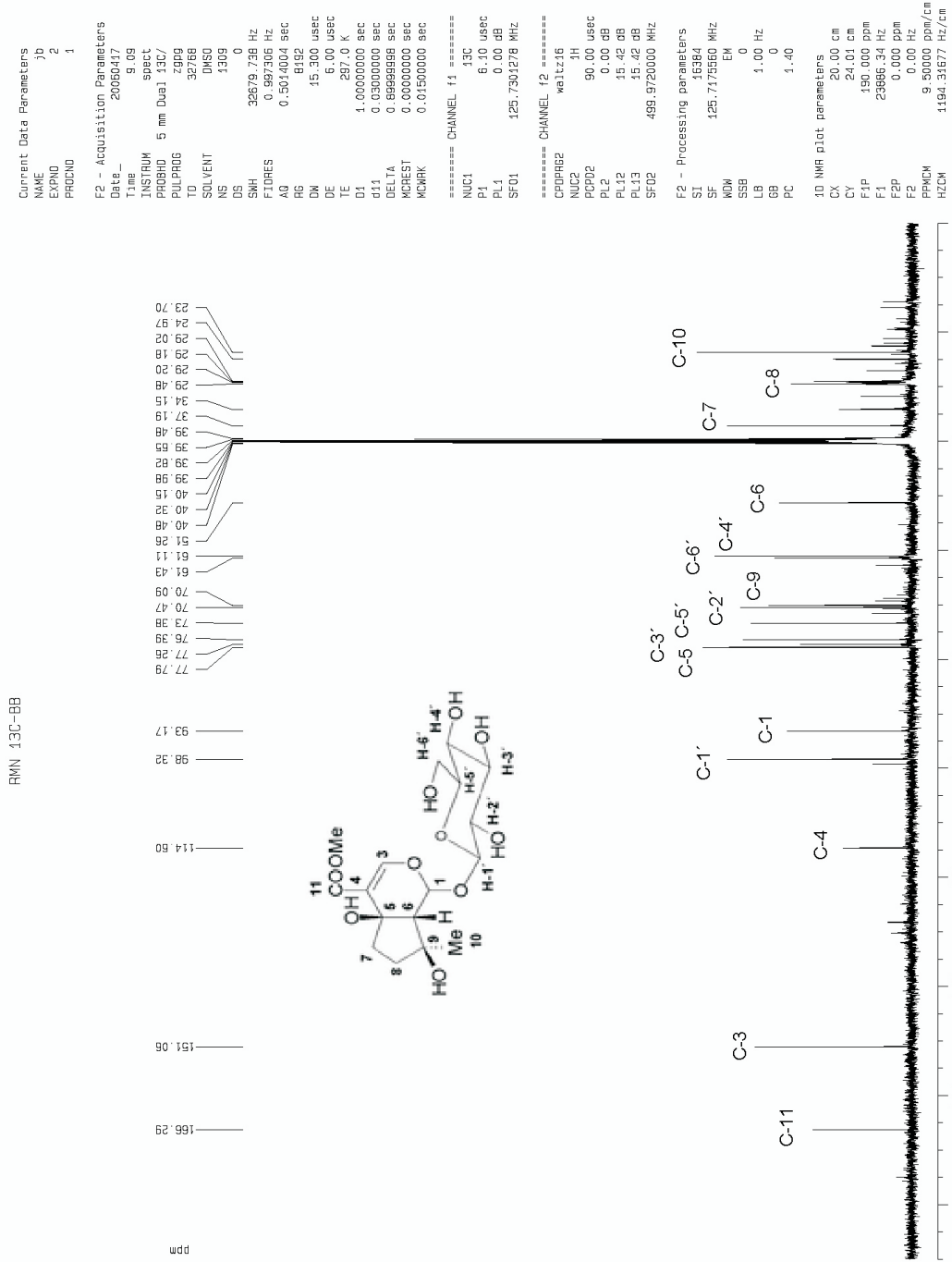
OMS – **Organización Mundial de la Salud**. Pautas para la evaluación de medicamentos herbários. Ginebra, 1991.

Robbers, J. E.; Speedie, M.K.; Tyler, V.E., 1997 **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editorial Premier, p. 372.

Rodrigues, E.A.C; Mendonça, J.Amarante, J.M.B.; Alves Filho, M.B.; Grinbaum, R.S.; Richtmann, R. , 1997. **Infecções Hospitalares: Prevenção e Controle**. São Paulo: Savier, v.3-27; p.639-647.

Simões CMO, Schenkel EP 2002. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessidade da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 12: 35-40.

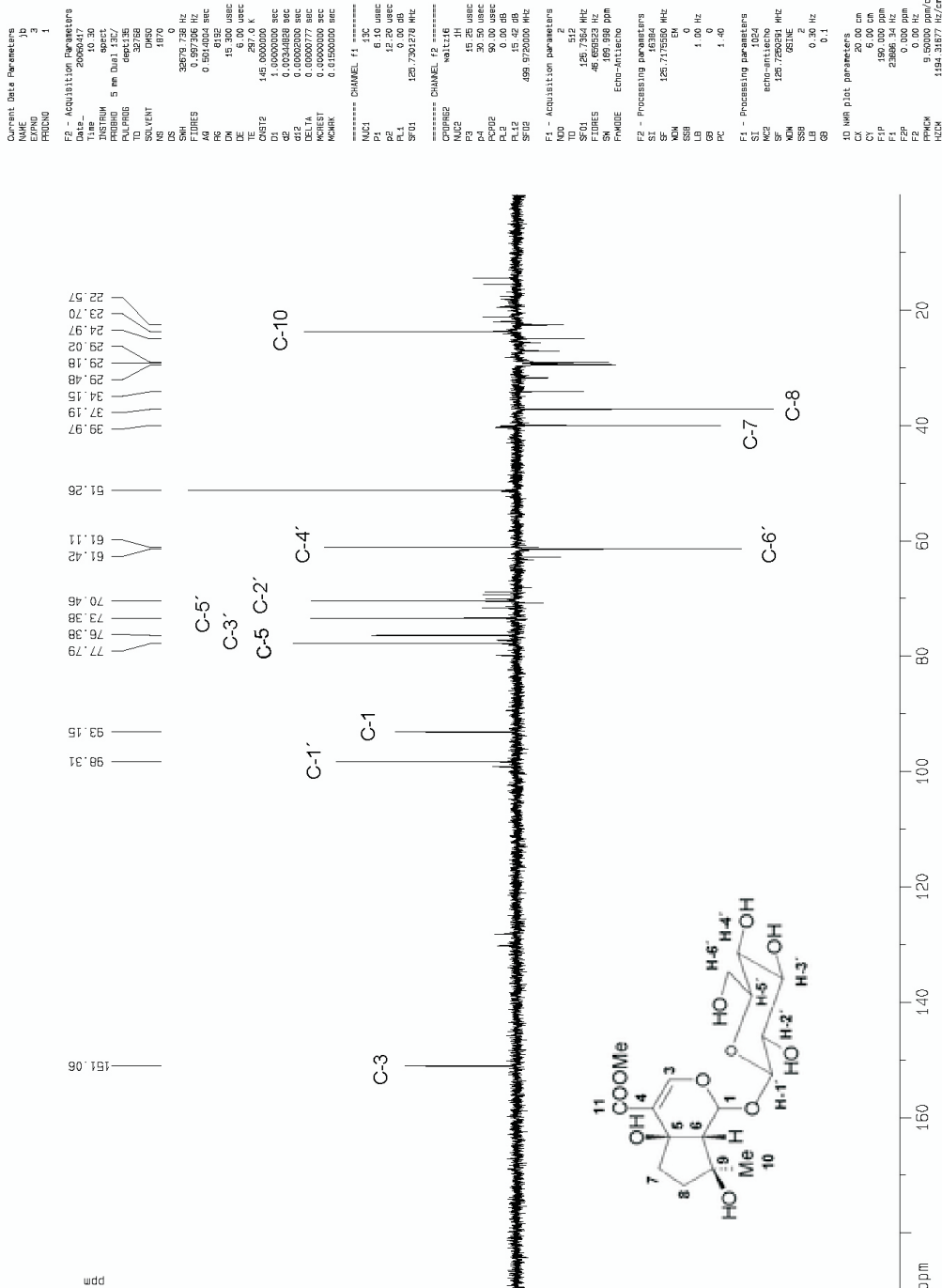
# APÊNDICE VI



Espectro De Ressonância 13C de JL1 - Ipolamida (DMSO-D6)

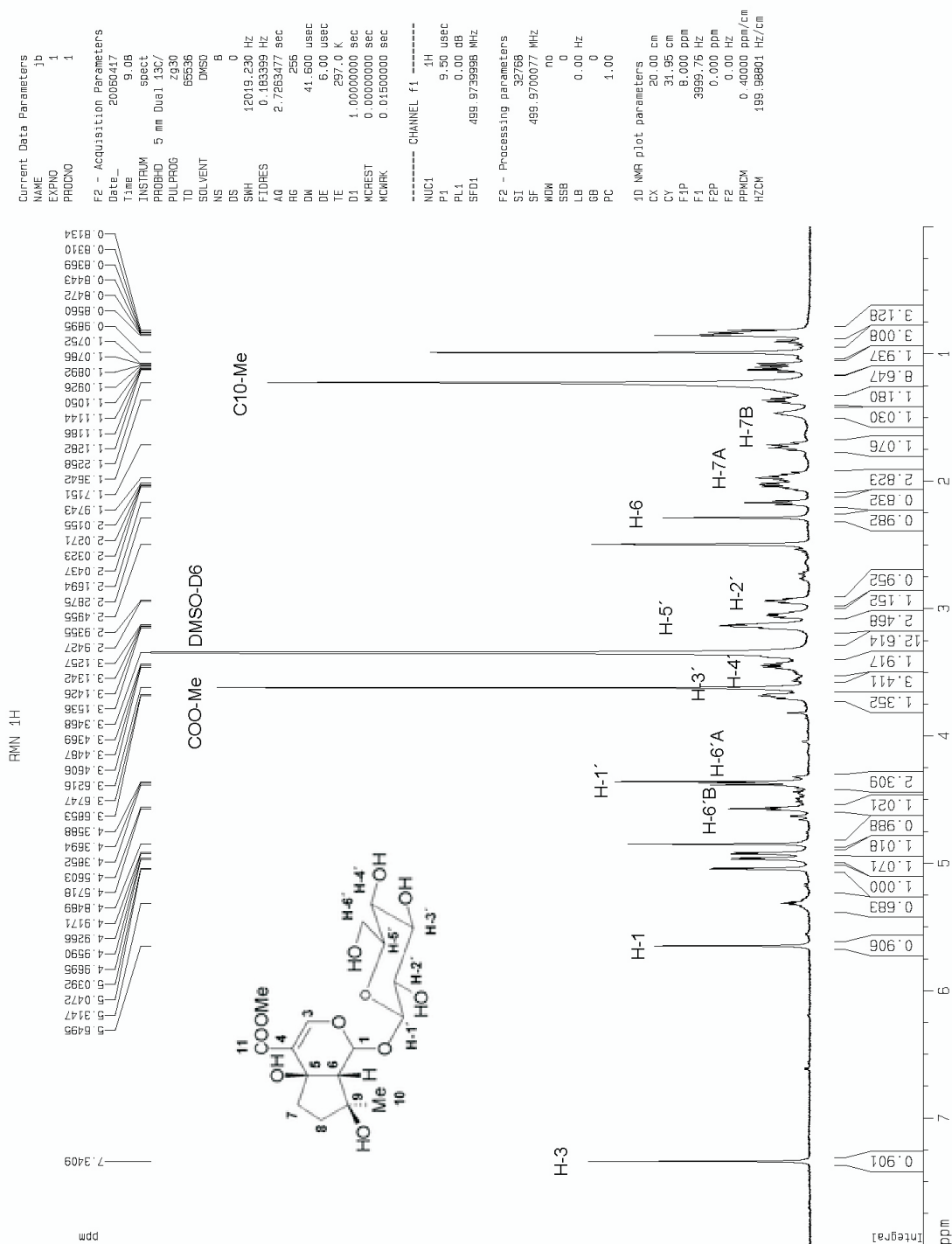
# APÊNDICE VII

RMN 13C-DEPT135





# APÊNDICE VIII



Espectro De Ressonância 1H-RMN De JL1 - Ipilamida (500 MHz, Em DMSO-D6)

## 9- ANEXOS

## 9- ANEXOS

PÁG.

ANEXO I-	Normas para publicação de manuscritos na revista brasileira de farmacognosia	131
ANEXO II-	Normas de publicação na revista brasileira de toxicologia	137

## ANEXO I

### NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE MANUSCRITOS NA REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA

A Revista Brasileira de Farmacognosia (Brazilian Journal of Pharmacognosy) é um periódico destinado à publicação de trabalhos científicos originais, artigos de revisão e divulgação no campo da Farmacognosia (“O estudo dos produtos naturais biologicamente ativos”).

#### 1. NORMAS GERAIS

**1.1** Todos os manuscritos submetidos devem ser inéditos. A publicação simultânea de manuscritos descrevendo o mesmo trabalho em diferentes periódicos não é aceitável. Os direitos de publicação passam a ser da Revista Brasileira Farmacognosia, inclusive traduções; publicações subsequentes são aceitas desde que citada a fonte.

**1.2** A Revista Brasileira Farmacognosia recebe para publicação trabalhos científicos originais, revisões e divulgações escritos em Português, Espanhol ou Inglês. O conteúdo dos trabalhos é de total responsabilidade do(s) autor(es), e não re?ete necessariamente a opinião do Editor Chefe ou dos membros do Conselho Editorial.

**1.3** A Revista Brasileira de Farmacognosia submeterá todos os manuscritos recebidos à análise de consultores *ad hoc*, cujos nomes permanecerão em sigilo e que terão a autoridade para decidir sobre a pertinência de sua aceitação, podendo inclusive, reapresentá-los ao(s) autor(es) com sugestões para que sejam feitas alterações necessárias e/ou para que os mesmos sejam adequados às normas editoriais da revista.

**1.4** Toda idéia e conclusão apresentadas nos trabalhos publicados são de total responsabilidade do(s) autor(es), e não re?ete necessariamente a opinião do Editor Chefe ou dos membros do Conselho Editorial.

**1.5** Todos os artigos envolvendo estudos com humanos ou animais deverão ter Pareceres dos Comitês de Ética de Pesquisa em Seres Humanos ou em Animais das instituições a que pertencem os autores, autorizando tais estudos.

**1.6** Todo material vegetal utilizado na pesquisa descrita no trabalho deve ter a indicação do seu local de coleta (inclusive coordenadas obtidas por GPS, se possível),

o país de origem, o responsável pela identificação da espécie e a localização da exsicata. Os autores devem estar preparados para fornecer evidência documental de que a aprovação para a coleta foi concedida pela autoridade apropriada no país de origem.

#### 2. NORMAS PARA A ELABORAÇÃO DAS CONTRIBUIÇÕES

**2.1** Os autores devem manter uma cópia (eletrônica e impressa) do manuscrito submetido, para o caso de possível perda ou danos causados ao original enviado à

revista.

**2.2** As Figuras (fotografias, gráficos, desenhos, etc.) deverão ser apresentadas em folhas separadas e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. As respectivas legendas deverão ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas abaixo das figuras. Suas respectivas posições no texto deverão ser indicadas, preferentemente, logo após sua citação no corpo do trabalho. No caso de fotografias ou desenhos feitos a mão livre, estes deverão ser colocados em envelopes à parte, em perfeito estado e devidamente identificados no verso, a lápis.

As Tabelas e os Quadros deverão ser apresentados em folhas separadas e numerados consecutivamente em algarismos arábicos. As tabelas (dados numéricos) não podem ser fechadas por linhas laterais. As respectivas legendas deverão ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas na parte superior dos mesmos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto, onde as tabelas e os quadros serão intercalados, preferentemente, logo após sua citação no corpo do trabalho.

### **3.FORMATAÇÃO DO TEXTO E CONTEÚDO DO TRABALHO**

**3.1** Os originais deverão ser redigidos e digitados em folhas de papel tamanho A4 ou carta, espaço duplo, fonte tipo Times New Roman, tamanho 12, com texto justificado, margem de 2cm em cada um dos quatro lados, e perfazendo o total de, no máximo, 15 e, no mínimo, 5 páginas, incluindo figuras, tabelas e quadros.

**3.2 Título e subtítulo:** Deverão estar de acordo com

O conteúdo do trabalho, levando em conta o âmbito e objetivos da Revista. Estes deverão estar escritos em caixa baixa, negritados, fonte tipo Times New Roman, tamanho 14. Para os trabalhos redigidos nas línguas Portuguesa e Espanhola, providenciar também versão do título para a língua Inglesa, o qual acompanhará o Abstract.

**3.3 Autores:** Os nomes dos autores devem vir abaixo do título, centralizados. O nome e os sobrenomes devem aparecer na ordem correta, sendo obrigatório que o primeiro (nome) e o último (sobrenome) apareçam por extenso (ex. Carlos N.U. Silva ou Carlos N. Ubiratan Silva). No caso de vários autores, seus nomes deverão ser separados por vírgulas.

**3.4 Filiação dos autores:** Após o nome de cada autor deverá constar um número Arábico, sobrescrito, que indica sua instituição de procedência e, deverá aparecer logo abaixo da nominata dos autores, também centralizado e com endereços completos, inclusive o CEP da cidade. Deve-se assinalar o nome do autor principal com um asterisco sobrescrito, para o qual toda correspondência deverá ser enviada. O endereço eletrônico, telefone e fax do autor principal aparecerão na primeira página do trabalho como uma nota de rodapé.

**3.5 Resumo em português:** Deverá apresentar concisamente o trabalho destacando as

informações de maior importância, expondo metodologia, resultados e conclusões. Permitirá avaliar o interesse pelo artigo, prescindindo de sua leitura na íntegra. Dever-se-á dar destaque ao Resumo como tópico do trabalho (máximo de 200 palavras).

**3.6 Unitermos:** Deverão identificar/representar o conteúdo do artigo. Observar o limite máximo de 6 (seis). São importantes para levantamentos em banco de dados, com o objetivo de localizar e valorizar o artigo em questão. Deverão vir separados por vírgula.

**3.7 Abstract:** Os trabalhos redigidos nas línguas Portuguesa e Espanhola devem vir acompanhados também da versão do resumo para a língua Inglesa. Evitar traduções literais. Quando não houver domínio deste idioma, consultar pessoas qualificadas. O Abstract deve ser encabeçado por versão do título na língua inglesa.

**3.8 Keywords:** Unitermos em inglês. Também em número máximo de 6 (seis) e separados por vírgula.

**3.9 Introdução:** Deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos na mesma área. Extensas revisões da literatura deverão ser substituídas por referências a publicações mais recentes, onde estas revisões tenham sido apresentadas e estejam disponíveis.

**3.10 Material e Métodos:** A descrição dos materiais e dos métodos usados deverá ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e a reprodução do trabalho. Processos e técnicas já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referenciados por citação.

**3.11 Resultados:** Deverão ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e, sempre que possível, ser acompanhados de tabelas e figuras adequadas. Os dados, quando pertinentes deverão ser submetidos a uma análise estatística.

**3.12 Discussão:** Deverá ser restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se inferências não baseadas nos mesmos. Opcionalmente, Resultados e Discussão poderão ser apresentados num único item.

**3.13 Agradecimentos:** Este item é opcional e deverá vir antes das Referências Bibliográficas.

## 4. REFERÊNCIAS

A formatação das referências deve ser padronizada em conformidade com as exigências da revista, como é mostrado abaixo:

### 4.1 Referência dentro do texto:

-No início da citação: autor em caixa baixa, seguido do ano entre parênteses. Ex. Pereira (1999).

-No ?nal da citação: autor em caixa baixa e ano – ambos entre parênteses. Ex. (Silva, 1999) ou (Silva; Souza, 1998) ou (Silva; Souza; Dias, 2000) ou (Silva et al., 1999) ou (Silva et al., 1995a,b).

- Citação textual: colocar, também, a página . Ex. (Silva, 1999, p.24)

**4.2 As Referências Bibliográficas** serão ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, em caixa baixa e em ordem crescente de data de publicação. Deve-se levar em consideração as seguintes ocorrências:

**4.2.1 Revista:** Será utilizado a abreviatura do periódico, em itálico, definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/sent.html>). Caso a abreviatura autorizada de um determinado periódico não puder ser localizado e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

-Vargas TOH 1996. Fatores climáticos responsáveis pela morte de borboletas na região sul do Brasil. *Rev Bras Assoc Entomol 11*: 100-105.

No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstracts, como segue:

- Qu W, Li J, Wang M 1991. Chemical studies on *Helicteres isora* L. *Zhongguo Yaokexue Xuebao 22*: 203-206, apud *Chemical Abstracts 116*: 124855r.

Numa citação de citação, colocar o nome das fontes em itálico.

-Wax ET 1977. Antimicrobial activity of Brazilian medicinal plants. *J Braz Biol Res 41*: 77-82, apud *Nat Prod Abs 23*: 588-593, 1978.

#### **4.2.2 Livro:**

- Costa AF 1996. *Farmacognosia*. Lisboa: Calouste Gulbenkian.

#### **4.2.3 Capítulo de livro:**

- Farias CRM, Ourinho EP 1999. Restauração dentária. In: Goldaman, G.T. (org.) *A nova odontologia*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.95-112.

#### **4.2.4 Tese e Dissertação:**

-Lima N 1991. *Influência da ação dos raios solares na germinação do nabo selvagem*. Campinas, 755p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Campinas.

- Romero MAV 1997. *Estudo químico de Brunfelsia hopeana Benth e do mecanismo de ação da escopoletina*. João Pessoa, 119p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Produtos naturais, Universidade Federal da Paraíba.

#### **4.2.5 Congressos:**

-Thomas G, Selak M, Henson PM 1996. Estudo da fração aquosa do extrato etanólico das folhas de *Cissampelos sympodialis* em neutrófilos humanos. *XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*. Florianópolis, Brasil.

**4.2.6 Patentes:** Devem ser identificadas conforme modelo abaixo e na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado.

- *Ichikawa M, Ogura M, Lijima T 1986. Antiallergic flavone glycoside from Kalanchoe pinnatum. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 61,118,396, apud Chemical Abstracts 105: 178423q.*

#### **4.2.7 Páginas Internet:**

- <http://www.mobot.org>, acessada em maio de 2003.

### **5. ENCAMINHAMENTO DOS ARTIGOS**

Os trabalhos deverão ser enviados, inicialmente, em três cópias impressas, utilizando-se o programa Word for Windows. Quando da aceitação do trabalho, após as devidas correções, deverão ser enviados um disquete ou CD contendo o arquivo do trabalho e uma cópia impressa. Toda correspondência deverá ser enviada ao Editor-Chefe da Revista, conforme endereço abaixo:

#### **Revista Brasileira de Farmacognosia**

Prof. José Maria Barbosa Filho – Editor Chefe Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Universidade Federal da Paraíba. Caixa Postal 5072 58051-970, João Pessoa - PB – Brasil

Na carta de encaminhamento é solicitado a indicação de cinco prováveis referees, de outras instituições, com seus endereços postais e eletrônicos. A qualidade do trabalho será atestada por, no mínimo, dois consultores, indicados pela Editoria.

### **6. CUSTOS**

A Revista custeará integralmente os trabalhos de até 15 páginas, incluindo tabelas e figuras. Acima deste número de páginas, as despesas correrão por conta do(s) autor(es). Não serão aceitas fotografias coloridas, a não ser que o(s) autor(es) custeiem sua publicação, independente do número de páginas do trabalho.

[www.farmacognosia.ufpr.br/RBF.htm](http://www.farmacognosia.ufpr.br/RBF.htm)

[www.sbfgnosia.org.br](http://www.sbfgnosia.org.br)



## ANEXO II

### NORMAS DE PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE TOXICOLOGIA

#### **Política Editorial**

A Revista Brasileira de Toxicologia / Brazilian Journal of Toxicology é um periódico especializado, arbitrado e distribuído amplamente no Brasil e em outros países, com periodicidade semestral. Publica pesquisas originais e inéditas, de caráter básico ou aplicado, que contribuam para o conhecimento e desenvolvimento da Toxicologia e Ciências afins. É editada pela Sociedade Brasileira de Toxicologia, aberta à comunidade científica nacional e internacional, e aceita contribuições na forma de artigos originais, comunicações breves e artigos de revisão.

A Revista Brasileira de Toxicologia / Brazilian Journal of Toxicology adota o “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication”, proposto pelo International Committee of Medical Journal Editors, conhecido como “Estilo Vancouver” (<http://www.icmje.org>). O corpo editorial é responsável pela política editorial e a responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito é exclusiva dos autores, sendo vedada a submissão simultânea, integral ou parcial, a qualquer outro periódico.

#### **Crítérios para a seleção de trabalhos**

Cada manuscrito deve ser acompanhado de carta de apresentação assinada pelo autor correspondente. Os editores recebem o manuscrito, verificam seu enquadramento ao escopo da Revista Brasileira de Toxicologia / Brazilian Journal of Toxicology e o encaminham a dois relatores para avaliação. Os relatores são solicitados a opinar pela aceitação, reformulação ou rejeição. As cópias dos pareceres são encaminhadas aos autores, garantindo-se a reciprocidade do anonimato. Os manuscritos não aceitos ficam à disposição do(s) autor(es) por um ano.

Os manuscritos publicados passam a ser de propriedade da Revista e para tanto, todos os trabalhos submetidos devem ser acompanhados de documento de cessão de direitos autorais, assinado por todos os autores (modelo disponível em:

<http://www.sbtox.org.com.br>).

#### **Instruções para o preparo do manuscrito**

##### **Artigos Originais:**

Os manuscritos podem ser apresentados em português, espanhol ou em inglês. Devem ser apresentadas três cópias impressas e uma em disquete 3,5" ou CD, arquivo MS Word 6.0 ou superior. A digitação deve ser em uma só face, em papel formato A4 branco, fonte Arial 12, com espaço duplo, todas as margens com 2,5 cm e numerando todas as páginas sequencialmente. O número de páginas deve se limitar a 20 e o

manuscrito deve conter página de identificação, resumo, palavras chave, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos, referências bibliográficas, figuras, legendas das figuras e tabelas.

- **Página de identificação:**

a) Título do artigo: deve ser conciso e completo, evitando palavras supérfluas, seguido de versão em inglês quando o idioma do texto for português ou espanhol;

b) Autores: nome e sobrenome de cada autor

c) Afiliação: Identificação da instituição a que cada autor está afiliado

d) Autor correspondente: indicar o autor responsável pela correspondência com a Revista, incluindo telefone, fax e E-mail. Sendo aceito o trabalho, endereço será publicado como forma de contato para os leitores.

- **Resumos:**

O resumo deve conter informações sucintas e claras referentes ao objetivo, métodos, resultados e conclusões, porém sem a divisão em tópicos. Devem ser apresentados no idioma do texto e em inglês (Abstract), com no máximo 200 palavras; artigos em inglês devem também apresentar resumo em português ou espanhol.

- **Unitermos (keywords):**

Devem representar o conteúdo do artigo, com o máximo de 6 termos indexadores, em inglês e português ou espanhol, após o respectivo resumo.

- **Introdução**

Deve apresentar o propósito do estudo e uma breve revisão de bibliografia pertinente e atualizada, de modo a destacar os avanços alcançados no tema. Deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho, que justifique sua elaboração e importância.

- **Material e Métodos**

A descrição dos métodos deverá ser breve, porém suficientemente clara e objetiva para possibilitar a perfeita compreensão e reprodução do trabalho, disposta em forma de texto corrido (evitar a forma de itens). Descrever elementos estudados (pacientes, animais, inclusive controles) e critérios de inclusão e exclusão. Descrever precisamente processos, equipamentos e insumos, incluindo, entre parênteses, o nome do fabricante e a origem de materiais e equipamentos. Descrever suficientemente métodos estatísticos e indicar o uso de “softwares”. Processos e técnicas já publicados devem ser apenas referenciados.

- **Resultados**

Devem ser apresentados em seqüência lógica, com o mínimo possível de discussão ou interpretação. Não devem ser repetidas no texto as informações que estejam contidas em tabelas ou figuras.

- **Discussão**

Deverá ser restrita ao significado dos resultados obtidos, explorando-os e relacionando-os a dados já registrados na literatura, incluindo somente citações indispensáveis.

- **Conclusões**

Devem ser fundamentadas nos achados do trabalho apresentado e podem ser incluídas no item “Discussão”.

- **Agradecimentos**

Devem ser restritos ao necessário. O registro de suporte financeiro deve ser incluído neste item.

- **Ética**

Os autores devem atentar para as exigências e normas ditadas por órgãos oficiais relativas à Ética em pesquisa com seres humanos e com animais de experimentação. Os trabalhos que envolvam experimentos ou metodologias que necessitem de avaliação por Comitê de Ética em Pesquisa devem ser acompanhados de cópia do parecer favorável.

### **Comunicações Breves**

O texto deve ser breve e direto, correspondendo ao máximo de uma página impressa. A tramitação para publicação é idêntica a de um artigo original, porém a redação não necessita divisão, bastando a apresentação de ao menos três palavras-chave.

### **Artigo de Revisão**

Deve corresponder a revisão crítica de assunto relevante, com base em literatura atual e em resultados do autor. Deve apresentar resumo na língua em que for redigido e em inglês, e não deve exceder 30 páginas no total, correspondendo a cerca de 10 páginas impressas. Os métodos de localização, seleção, extração e síntese das informações deve ser informado, inclusive no resumo.

### **Tabelas e figuras (gráficos, fórmulas, fotografias, esquemas, etc...)**

Tabelas e figuras devem ser numeradas com algarismos arábicos, na ordem em que aparecem no texto, e devem complementa-lo e não duplica-lo.

As figuras devem ser apresentadas em preto e branco ou em escala de tons cinza, suficientemente claras para permitir reprodução em clichês reduzidos, com o título colocado na parte inferior. Os desenhos devem ser em tinta nanquim preta sobre papel vegetal, não excedendo o tamanho equivalente da página, e as fotografias devem ser em papel brilhante.

As Tabelas devem ter o título no alto, breve e descritivo, digitadas em espaço duplo e, se necessário notas de rodapé, devem ser identificadas por letras sobrescritas. Recomenda-se, também, não repetir os mesmos dados em figuras.

Tanto as tabelas como as figuras, devem ser apresentadas em folhas separadas e as palavras Tabela e Figura devem aparecer por extenso, com apenas a primeira letra maiúscula, seguidas do respectivo número.

Tabelas ou figuras extraídas de outras publicações devem ser acompanhadas de permissão por escrito para a reprodução das mesmas, cuja obtenção é de responsabilidade dos autores.

### **Abreviaturas**

Deve ser utilizada a forma padronizada. Quando não padronizadas devem ser precedidas do nome completo na primeira citação, e não devem ser utilizadas abreviaturas no título e no resumo.

### **Referências Bibliográficas**

As referências devem restringir-se ao essencial para o conteúdo do artigo e ser numeradas na ordem em que aparecem no texto. Ao listar as referências, para as publicações com até seis autores citam-se todos e, naquelas com mais de seis, cita-se o primeiro autor seguido da expressão et alii (ou abreviada et al.). Os títulos de revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado pela MEDLINE (lista disponível em <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>). Resumos e não devem ser usados como referência e as comunicações pessoais devem ser evitadas, a menos que se trate de informação essencial e indisponível em fonte pública; neste caso citar no texto a pessoa e a data da comunicação, entre parêntesis. No texto as referências devem ser citadas por numeração arábica entre parêntesis, à direita de qualquer pontuação. Nas referências múltiplas em seqüência podem ser citadas o primeiro e último número (exemplo: 4-8). A citação deve ser apenas pelo número entre parêntesis ou pelo nome do autor seguido do número entre parêntesis, conforme exemplos:

- um autor: “Smith (3) observou.....”
- dois autores: “Smith e Tompsom (3) observaram...”
- mais de dois autores: “Smith et.al. (3) observaram...”

## **Exemplos para a lista de referências:**

### **Artigos de periódicos**

Chein C, Marriott JL, Ashby K, Ozanne-Smith J. Unintentional ingestion of over the counter medications in children less than 5 years old. *J Paediatr Child Health* 2003; 39:264-9. Pauluhn J. Issues of dosimetry in inhalation toxicity. *Toxicol Lett* 2003; 141: 229 - 238.

### **Instituição como autor**

ACGIH. (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Documentation of threshold limit values and biological exposure indices. 7th ed. Cincinnati: ACGIH, 2001. Pt. A-Z.

### **Livros**

Goodman LS. The pharmacological basis of therapeutics. 2nd. ed. New York: Macmillan; 1955. 1831p.

### **Capítulo de livro**

Bates DV. Standard-setting as an integrative exercise: alchemy, juggling, or science? In: Mohr U. (editor) *Inhalation toxicology*. New York: Springer Verlag, 1988. 1-10.

### **Tese e Dissertação**

Cerqueira PM. Estereoseletividade no metabolismo do metoprolol em pacientes hipertensos portadores ou não de insuficiência renal crônica. [Tese] São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP; 2003.

### **Documentos legais**

Brasil. Projeto de Lei n. 4.841, de 30 de novembro de 1994. Determina a utilização de Embalagem Especial de Proteção à Criança – EEPC – em medicamentos e produtos químicos de uso doméstico que apresentem potencial de risco à saúde. Brasília: Congresso Nacional; 1994.

### **Software**

Epi Info [computer program] Version 6. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 1994.

### **Website**

São Paulo. Secretaria da Saúde. Resolução SS 16, de 18 de janeiro de 1999. Disponível em [http://www.saude.sp.gov.br/html/fr\\_legi.htm](http://www.saude.sp.gov.br/html/fr_legi.htm). Acessado em 18/fev/2005.

### **Envio do manuscrito**

Enviar o manuscrito para:

Revista Brasileira de Toxicologia – Corpo Editorial da Sociedade Brasileira de Toxicologia

Rua Prof. Lineu Prestes, 580 Bloco 13-B

CEP 05508-900 - São Paulo - SP – Brasil

telefone: (55) (11) 3031-1857

e-mail: [revista@sbtox.org.br](mailto:revista@sbtox.org.br)