

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**CONSTITUINTES VOLÁTEIS E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE *Senecio crassiflorus* (Poir.)
DC. var. *crassiflorus***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Anelise Levay Murari

**Santa Maria, RS, Brasil
2007**

**CONSTITUINTES VOLÁTEIS E ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var.
*crassiflorus***

por

Anelise Levay Murari

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle e Avaliação de Insumos e Produtos Farmacêuticos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Berta Maria Heinzmann

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**CONSTITUINTES VOLÁTEIS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
Senecio crassiflorus (Poir.) DC. var. *crassiflorus***

elaborada por
Anelise Levay Murari

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Dr^a. Berta Maria Heinzmann,
(Presidente/Orientadora)

Dr^a. Gilsane Lino von Poser(UFRGS)

Dr. Rafael Noal Moresco (UFSM)

Santa Maria, 24 de agosto de 2007.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ilison e Lilian, meus primeiros professores que com amor, dedicação e esforço cultivaram em mim a sensibilidade e o respeito pela vida.

À prof. Dra. Berta Heinzmann, pela orientação e demonstração de que com o persistência, estudo e dedicação é possível evoluir e contribuir para o desenvolvimento e melhoria da qualidade de vida.

AGRADECIMENTOS

- À Deus pela vida e a oportunidade de realizar a minha pesquisa;
- À querida família, pelo apoio, motivação e suporte dado durante toda a minha existência, sem o qual este trabalho jamais poderia ser realizado. Agradeço a compreensão nas horas da minha ausência;
- À Prof^a. Dr^a. Berta Maria Heinzmann, minha admiração pela sua contribuição na realização deste trabalho e na minha formação científica;
- À Prof^a. Dr^a. Rosmari Hörner, Laboratório de Análises Microbiológicas da UFSM pela amizade, constante estímulo à pesquisa desde a graduação, exemplo e ajuda na realização dos testes de atividade antibacteriana juntamente com seus alunos Tiago Michelot e Fabiane Rigatti.
- Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Mallmann, do Laboratório de Análises Micotoxicológicas da UFSM, pela realização das cromatografias gasosas e dos espectros de massas;
- Ao Prof. Dr. Sydney Hartz Alves e a mestranda Patrícia Pozzatti, do Laboratório de Pesquisas Micológicas da UFSM, pela ajuda na realização dos testes de atividade antifúngica;
- Ao Prof. Dr. Nelson Ivo Matzenbacher, pelo auxílio na coleta e identificação do material vegetal;
- Ao Hospital Universitário de Santa Maria pela redução da jornada de trabalho e o apoio financeiro para a participação de eventos para a divulgação deste trabalho;
- À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro;
- Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em especial a coordenadora prof. Dra Clarice Rolim pela disponibilidade e atenção;

- À Prof. Dra. Gema G. Dal Piva, do Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM, pela amizade, estímulo e apoio deste a graduação pela iniciação científica;
- Aos bolsistas de iniciação científica: Fernanda H. Carvalho, Clarissa G. Heldwein, Eduardo O. Zambarda e Glória N. da Silva pela disposição de aprender e colaborar;
- Aos colegas de laboratório, Chana M. da Silva, Leandro N. Francescato, Ricardo B. Zanon, Francisco Maikon C. Barros, Ticiane Boschetti, Mariane dos Santos, Lenise L. Silva, Viviane Garcia que, pela amizade e convívio diário, de uma forma ou outra participaram e contribuíram com este trabalho;
- Aos funcionários e colegas dos Laboratórios do Departamento de Farmácia Industrial, Laboratório de Análises Toxicológicas, Laboratório de Análises Microbiológicas pela cooperação, empréstimo de “materiais” e equipamentos;
- Aos meus colegas de pós-graduação: Everton, Lara, Mariane, Vanessa, Gustavo, Cláudia, Cláudio, Juliana, Sílvia, Michel, João, Tânia pelo estímulo e as longas conversas.
- Aos colegas de Banco de Sangue: Zanoni, Valério, Marcelo, Márcio, Gustavo, Daniela, Aline, Mônica, Diogo e Rafael pela compreensão nas trocas de plantões;
- Ao meu avô Cirilo Murari (*in memoriam*) por despertar em mim ainda criança o interesse e respeito pelas plantas medicinais;
- Ao grande amigo Alexandre Zanini pelo carinho, amor, companheirismo, paciência, as constantes palavras de estímulo, descontração e por nunca deixar faltar música;
- À minha tia e madrinha Eliane Pupim por sempre a me incentivar a estudar mais;

Finalizando, eu gostaria de agradecer a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para esta realização profissional e pessoal.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

CONSTITUINTES VOLÁTEIS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*

AUTOR: ANELISE LEVAY MURARI

ORIENTADORA: BERTA MARIA HEINZMANN

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de agosto de 2007

Várias espécies de *Senecio* (Asteraceae) são utilizadas na medicina popular no combate as infecções. Este gênero é rico em metabólitos secundários como alcalóides, flavonóides e terpenóides com atividade antimicrobiana reconhecida. *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, popularmente conhecida como margarida-das-dunas, é uma espécie nativa do litoral sul do Brasil, para a qual foi descrita a presença de alcalóides pirrolizidínicos. Neste estudo é relatada a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos CH₂Cl₂ e EtOH e dos óleos essenciais de diferentes órgãos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*. Os extratos foram obtidos pela maceração seqüencial das partes vegetais frescas em CH₂Cl₂ e EtOH. O extrato CH₂Cl₂ das partes aéreas foi fracionado por CC sobre gel de sílica até o isolamento do germacreno D, identificado por CG-EM, RMN ¹³C e ¹H. Este composto não apresenta atividade antimicrobiana e é considerado um precursor de vários outros derivados de esqueleto sesquiterpênico. Para a obtenção dos óleos essenciais foram realizadas duas coletas no município de Capão da Canoa, uma no final da primavera e outra no início do outono. O vegetal fresco foi dividido em folhas, caules aéreos, caules subterrâneos, e partes aéreas (caules aéreos + folhas). A extração dos óleos essenciais foi realizada pela técnica de hidrodestilação. Os óleos essenciais foram analisados por CG-EM e seus constituintes foram identificados por comparação de seus índices de retenção e dos modelos de fragmentação com dados da literatura. A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos e óleos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* foi realizada através do método de microdiluição em caldo, baseado no documento M7-A6/CLSI/NCCLS para bactérias. Para a avaliação da atividade antifúngica dos óleos essenciais das folhas e caules aéreos, o método foi baseado no documento M27-A2/ CLSI/NCCLS para fungos leveduriformes. A constituição do óleo essencial de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* variou conforme a parte do vegetal do qual este foi obtido. A variação qualitativa e quantitativa foi pequena entre os óleos obtidos dos caules aéreos e rizomatosos, sendo mais significativa quando comparada com o óleo obtido das folhas. O óleo das folhas foi o que apresentou maior inibição frente as cepas Gram-positivas testadas. Não foi evidenciada atividade de nenhum óleo frente as cepas Gram-negativas nas concentrações testadas, o que permite aferir-lhes atividade bacteriana de estreito espectro. O extrato CH₂Cl₂ dos caules aéreos foi o que apresentou melhor atividade bacteriostática e bactericida, com destaque para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CIM de 64 µg/mL e CBM de 512 µg/mL). Os óleos coletados no início do outono apresentaram melhores espectros de ação. Apenas o óleo essencial das folhas apresentou atividade antifúngica.

Palavras-chave: *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*; germacreno D; óleos essenciais, atividade antimicrobiana

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Program Post-Graduate in Pharmaceutical Science
Universidade Federal de Santa Maria

VOLATILE CONSTITUENTS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*

Author: Anelise Levay Murari
Advisor: Berta Maria Heinzmann
Presentation date: Santa Maria, August 24th 2007

Several *Senecio* species (Asteraceae) have been used in folk medicine for the treatment of infections. This genus is rich in a wide variety of secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, and terpenoids with recognized antimicrobial activity. *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, commonly known as "margarida-das-dunas", is native from the South coast of Brazil and is known for containing pyrrolizidines alkaloids. This work describes the evaluation of the antimicrobial activity of the CH₂Cl₂ and EtOH extracts and essential oils of *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*. Extracts were obtained by sequential maceration in CH₂Cl₂ and EtOH. The CH₂Cl₂ extract was firstly fractioned by CC over silica gel for the isolation of the sesquiterpene germacrene D, which was identified by GC-MS, ¹H and ¹³C NMR. This compound no presents antimicrobial activity and it is considered a precursor of several other sesquiterpene derivatives. To essential oils analysis, two collections were carried out in the city of Capão da Canoa, one at the end of spring and the other one at the beginning of autumn. The essential oil of leaves, aerial and underground stems of *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* was extracted by hydrodistillation and their analyses were performed by GC-MS. Their constituents were identified by the comparison of their retention indexes and their fragmentation patterns with literature data. The evaluation of the antimicrobial activity of the extracts and essential oils of *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* was accomplished through the broth microdilution method based on M7-A6/CLSI/NCCLS document for anaerobic bacteria and M27-A2/NCCLS document for yeasts. Qualitative and quantitative differences have been found between the analyzed parts. The essential oil of the leaves was the most active against Gram-positive bacteria. None of the essential oils shown activity against Gram-negative bacteria, that allows to assign them bacterial activity of narrow specter. The CH₂Cl₂ extract of aerial steams showed good inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (MIC of 64 µg/mL and MBC of 512 µg/mL). The antibacterial activity from the oils collected at the beginning of autumn presented better action spectra. Only essential oil of the leaves showed activity antifungal.

Key works: *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*; germacrene D; essential oils, atividade antimicrobiana, antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Dunas frontais no município de Capão da Canoa/RS, final da primavera/2006.....	50
FIGURA 2 - Distribuição de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> (★) e <i>S. crassiflorus</i> var. <i>maritimus</i> (●) (Adaptado de MATZENBACHER, 1998)	51
FIGURA 3 - <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>crassiflorus</i> - aspecto geral da planta. (Fonte: Matzenbacher, 1998).....	53
FIGURA 4 - <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>crassiflorus</i> : A – ramo florífero; B – folhas culinar; C – detalhe do aquênio em corte longitudinal mediano; D e E – flores liguladas do raio; F- flor tubulosa do disco. (Fonte: Matzenbacher, 1998).....	54
FIGURA 5 - <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>crassiflorus</i> - aspecto geral da planta	55
FIGURA 6 - <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>maritimus</i> - aspecto geral da planta (FONTE: MATZENBACHER, 1998)	56
FIGURA 7 - Isodaucanos obtidos das partes aéreas de <i>Senecio crassiflorus</i> (FONTE: JARES; POMÍLIO,1989)	57
FIGURA 8 - <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> – aspecto geral da planta no local de coleta: Capão da Canoa/RS, abril de 2006	61
FIGURA 9 - <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> – aspecto geral da planta no local de coleta: Capão da Canoa/RS, dezembro de 2006	62
FIGURA 10 - <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> – detalhe ampliado da Figura 9, presença de inflorescências secas	62
FIGURA 11 – Vista geral de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> , nas dunas frontais de Capão de Canoa/RS, local da coleta realizada em dezembro/2006	63
FIGURA 12 - Esquema do isolamento de AM1 do extrato diclorometânico de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletado em abril de 2004	68
FIGURA 13 – Espectros de massas por impacto eletrônico do germacreno D (A) (NIST 1998) e de AM1(B)	76
FIGURA 14 - Proposta de fragmentação para a substância AM1 (Fonte: FRANCESCATO, 2007).....	78

FIGURA 15 - Espectro de RMN ¹³ C de AM1 (100 Mz, CDCl ₃)	80
FIGURA 16 - Espectro de RMN- ¹ H da substância AM1 (400 MHz, CDCl ₃). Ampliação da região entre 4,6 e 6,0 ppm	81
FIGURA 17 - Espectro de RMN- ¹ H da substância AM1 (400 MHz, CDCl ₃)	82
FIGURA 18 - Cromatograma resultante da análise por CG-EM do óleo essencial das folhas (OF1) de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2006	84
FIGURA 19 - Cromatograma resultante da análise por CG-EM do óleo essencial das folhas (OF2) de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em dezembro de 2006	87
FIGURA 20 - Espectros de massas por impacto eletrônico do acetato de undec-2-enila (A) NIST 1998 e (B) do composto com índice de Kovats igual a 1197	88
FIGURA 21 - Espectros de massas por impacto eletrônico do acetato de non- 3-enila (A) NIST 1998 e (B) do composto com índice de Kovats igual a 1200...	89
FIGURA 22 - Percentual de classes de metabólitos encontrados nos óleos essenciais das folhas de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> nos diferentes meses de coleta	93
FIGURA 23 - Constituição dos óleos essenciais dos caules aéreos de <i>S.</i> <i>crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> em diferentes meses de coleta	93
FIGURA 24 - Distribuição dos constituintes dos óleos essenciais dos caules rizomatosos de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> em diferentes meses de coleta	94
FIGURA 25 - Classe de metabólitos presentes no óleo essencial das partes aéreas (folhas + caules aéreos) de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> , coletada em dezembro de 2006.....	94
FIGURA 26 - Avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> frente ao <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. Óleo essencial do caule OC1(A); óleo essencial dos caules rizomatosos OC2 (B); controle positivo (CP) e controle negativo (CN).....	96
FIGURA 27 — Enantiômeros do germacreno D (Adaptado de STELIOPOULOS et al., 2002)	102

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Principais espécies de <i>Senecio</i> utilizadas na medicina popular e indicações de usos	26
TABELA 2 - Exemplos de estruturas de alcalóides pirrolizidínicos encontrados em espécies de <i>Senecio</i>	28
TABELA 3 - Fitoesteróides mais encontrados em plantas superiores e também descritos para o gênero <i>Senecio</i>	29
TABELA 4 - Exemplos de flavonóides descritos para o gênero <i>Senecio</i>	30
TABELA 5 - Exemplos de xantonas descritas para o gênero <i>Senecio</i>	31
TABELA 6 - Exemplos de monoterpênóides descritos para o gênero <i>Senecio</i>	35
TABELA 7 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do eudesmano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	37
TABELA 8 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do eremofilano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	38
TABELA 9 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do bisabolano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	40
TABELA 10 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do germacrano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	41
TABELA 11 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do humulano e do cariofilano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	43
TABELA 12 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do farnesano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	44
TABELA 13 - Exemplos de sesquiterpenóides derivados do guaiano descritos para o gênero <i>Senecio</i>	44
TABELA 14 - Exemplos de sesquiterpenóides com grupamento peróxido descritos para o gênero <i>Senecio</i>	46
TABELA 15 - Exemplos de diterpenóides descritos para o gênero <i>Senecio</i>	47
TABELA 16 - Exemplos de triterpenóides descritos para o gênero <i>Senecio</i>	48
TABELA 17 - Rendimento das frações obtidas da coluna 1	65
TABELA 18 - Rendimento das frações obtidas na coluna 2	66

TABELA 19 - Órgão do vegetal, massa, e códigos dos óleos essenciais de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2006	69
TABELA 20 - Órgão do vegetal, sua massa e códigos atribuídos aos óleos essenciais de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em dezembro de 2006	69
TABELA 21 - Microrganismos utilizados para a avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i>	73
TABELA 22 - Caracteres organolépticos, densidade e rendimento dos óleos essenciais de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletado em abril de 2006	75
TABELA 23 - Características físicas e rendimento dos óleos essenciais de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletado em dezembro de 2006	75
TABELA 24 - Valores de deslocamentos químicos (δ) observados no espectro de RMN ^{13}C para a substância AM1, em comparação com dados da literatura para o germacreno D, todos em CDCl_3	79
TABELA 25 - Valores de deslocamentos químicos (δ) observados no espectro de RMN ^1H para a substância AM1, em comparação com dados da literatura para o germacreno D, todos em CDCl_3	83
TABELA 26 - Constituintes dos óleos essenciais dos diferentes órgãos de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2006	85
TABELA 27 - Constituintes dos óleos essenciais dos diferentes órgãos de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em dezembro de 2006	90
TABELA 28 - Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) e CBM ($\mu\text{g/mL}$) encontrados para os óleos essenciais das folhas (OF1), dos caules aéreos (OC1) e caules rizomatosos (OR1) de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril/2006	95
TABELA 29 - Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) e CBM ($\mu\text{g/mL}$) encontrados para os óleos essenciais das folhas (OF2), dos caules aéreos (OC2), caules rizomatosos (OR2) e partes aéreas (OPA) de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em dezembro/2006	96
TABELA 30 - Valores de CIM e CBM encontrados para o extrato diclorometânico das partes aéreas de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril/2004	97
TABELA 31 - Avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) e CBM ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2006	98

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AgNO₃ – nitrato de prata

APs – alcalóides pirrolizidínicos

ATCC – (do inglês) “American Type Culture Collection”

BHI – (do inglês) “Brain Heart Infusion”

CBM – concentração bactericida mínima

CC – cromatografia em coluna

CCD – cromatografia em camada delgada

CDCl₃ – clorofórmio deuterado

CFM – concentração fungicida mínima

CG – cromatografia gasosa

CG-EM – cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

CH₂Cl₂ – diclorometano

CIM – concentração inibitória mínima

CIM 50% – concentração inibitória mínima capaz de inibir o crescimento de 50% dos microrganismos

d – dublete

DC. – De Candolle

dd – duplo dublete

ddd – duplo dublete de dubletes

ed. – edição

EM – espectrometria de massas

EM-IE - espectro de massas por impacto eletrônico

EtOH – etanol

eV – elétron Volts

F₂₅₄ – indicador fluorescente com comprimento de onda de excitação de 254nm

g – grama(s)

GI – grau de insaturação

H₂O₂ – peróxido de hidrogênio

IK – Índice de Retenção de Kovat's

J – constante de acoplamento

m – multiplete
min. – minutos
m/m – massa / massa
MHz – mega Hertz
 m/z – relação massa / carga elétrica
 M^+ – íon molecular
NCCLS – (do inglês) “National Committee for Clinical Laboratory Standards”,
atualmente denominado CLSI (“Clinical and Laboratory Standards Institute”)
NIST – (do inglês) “National Institute of Standards and Technology”
OMS – Organização Mundial de Saúde
ppm – parte(s) por milhão
 R_f – fator de retenção, do inglês: “retention factor”
RMN ^1H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ^{13}C – ressonância magnética nuclear de carbono-13
RPMI – (do inglês) “Roswell Park Memorial Institute”
s – singlete
sl – singlete largo
sep – septeto
 SiO_2 – gel de sílica
SNC – sistema nervoso central
sol. – solução
subsp. – subespécie
TIC – íons totais - do inglês: “total ion current”
TMS – tetrametilsilano
TR – tempo de retenção
UFC – unidades formadoras de colônia
UFMS – Universidade Federal de Santa Maria
u.m.a. – unidades de massa atômica
var. – variedade
 δ – deslocamento químico
 $^\circ\text{C}$ – graus Celsius

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 - ESPÉCIES DE *SENECIO* NA MEDICINA POPULAR DA AMÉRICA LATINA E TOXICIDADE RELACIONADA A SUA UTILIZAÇÃO 134

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 <i>Senecio</i> sp.	24
2.1.1 Usos populares e toxicidade	25
2.2 Constituintes químicos descritos para o gênero <i>Senecio</i>	27
2.2.1 Alcalóides pirrolizidínicos	27
2.2.2 Esteróides	28
2.2.3 Flavonóides	29
2.2.4 Xantonas	31
2.2.5 Terpenóides	32
2.2.5.1 Óleos Essenciais	32
2.2.5.2 Monoterpenóides	34
2.2.5.3 Sesquiterpenóides	35
2.2.5.3.1 Biossíntese de sesquiterpenóides	36
2.2.5.3.2 Derivados do eudesmano	36
2.2.5.3.3 Derivados do eremofilano	38
2.2.5.3.4 Derivados do bisabolano	40
2.2.5.3.5 Derivados do germacrano	41
2.2.5.3.6 Derivados do humulano e do cariofilano	42
2.2.5.3.7 Derivados do farnesano	43
2.2.5.3.8 Derivados do guaiano	44
2.2.5.4 Sesquiterpenóides com o grupamento peróxido	45
2.2.5.5 Diterpenóides	46
2.2.5.6 Triterpenóides	48
2.3 <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC.	49
2.3.1 <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>crassiflorus</i>	52
2.3.1.1 Descrição botânica	52
2.3.1.2 Dados fenológicos e observações ecológicas	55
2.3.2 <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>maritimus</i> (Malme) Cabrera	55
2.3.2.1 Descrição botânica	55

2.3.2.2 Dados fenológicos e observações ecológicas	56
2.3.3 Toxicidade e uso popular de <i>S. crassiflorus</i> (Poir.) DC.	57
2.3.4 Constituintes químicos descritos para <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.)DC	57
2.3.4.1 <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>crassiflorus</i>	58
2.3.4.2 <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>maritimus</i>	58
3 MATERIAL E MÉTODOS	59
3.1 Procedimentos gerais	59
3.2 Material vegetal	61
3.3 Preparação do extrato	63
3.3.1 Preparação do extrato diclorometânico para o fracionamento	63
3.3.2 Preparação dos extratos diclorometânico e etanólico para os testes de atividade antibacteriana	64
3.4 Fracionamento preliminar do extrato diclorometânico	64
3.4.1 Coluna 1	65
3.5 Isolamento do sesquiterpeno AM1	66
3.5.1 Coluna 2	66
3.6 Obtenção do óleo essencial	68
3.7 Análise qualitativa e quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais	69
3.8 Determinação da massa específica volúmica (densidade) dos óleos essenciais	70
3.9 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, extratos diclorometânico e etanólico	71
3.9.1 Atividade antibacteriana <i>in vitro</i>	71
3.9.2 Determinação da atividade antifúngica e algicida <i>in vitro</i>	72
4 RESULTADOS	74
4.1 Rendimento dos extratos diclorometânico, etanólico, da substância isolada e dos óleos essenciais de <i>Senecio crassiflorus</i> (Poir.) DC. var. <i>crassiflorus</i>	74
4.1.1 Rendimento dos extratos e da substância isolada, coletada em abril de 2004	74

4.1.2 Rendimento dos extratos, obtidos a partir do material vegetal coletado em abril de 2006	74
4.1.3 Rendimento, caracteres organolépticos e densidade dos óleos essenciais <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2006	74
4.1.4 Rendimento dos óleos essenciais de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em dezembro de 2006	75
4.2 Análise estrutural da substância isolada	76
4.2.1 Elucidação estrutural de AM1	76
4.2.1.1. Análise da fragmentação de AM1 por EM-IE	77
4.2.1.2 Análise do espectro de RMN ¹³ C de AM1	78
4.2.1.3 Análise do espectro de RMN ¹ H de AM1	81
4.3 Análise qualitativa e quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais	84
4.3.1 Óleos essenciais obtidos da coleta de abril de 2006.....	84
4.3.1.1 Análise por CG-EM do óleo essencial OF1	84
4.3.1.2 Análise por CG-EM do óleo essencial OC1	86
4.3.1.3 Análise por CG-EM do óleo essencial OR1	86
4.3.2 Óleos essenciais obtidos da coleta de dezembro de 2006	86
4.3.2.1 Análise por CG-EM do óleo essencial OF2	86
4.3.2.2 Análise por CG-EM do óleo essencial OC2	87
4.3.2.3 Análise por CG-EM do óleo essencial das partes aéreas	92
4.3.2.4 Análise por CG-EM do óleo essencial das caules rizomatosos	92
4.3.3 Comparação da composição dos óleos essenciais nos diferentes meses de coleta	92
4.4. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	95
4.4.1 Determinação de atividade antibacteriana <i>in vitro</i>	95
4.4.2 Avaliação da atividade antifúngica e algicida <i>in vitro</i>	97
4.5 Determinação da atividade antibacteriana da substância isolada e extratos diclorometânicos e etanólicos obtidos de <i>Senecio crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i>	97
4.5.1 Extrato diclorometânico de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2004	97

4.5.2 Extrato diclorometânico e etanólico de <i>S. crassiflorus</i> var. <i>crassiflorus</i> coletada em abril de 2006	98
5 DISCUSSÃO	99
6 CONCLUSÕES	109
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
8 ANEXOS	134

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (1998) estima que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependem das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (GONÇALVES et al., 2005). Em vista disso os produtos naturais, em especial os derivados de plantas superiores, continuam apresentando um importante papel no tratamento e na prevenção de doenças, o que ocorre ao longo do desenvolvimento da civilização humana (RATES, 2001; YOUNG-WON et al., 2006).

Neste contexto, os constituintes vegetais surgem como uma alternativa promissora no desenvolvimento de novos fármacos. Uma vez que apresentam uma atividade metabólica secundária, os vegetais superiores são capazes de produzir substâncias antibióticas utilizadas como mecanismo de defesa contra a predação por microrganismos, insetos e herbívoros (GOTTLIEB, 1982).

Recentemente, tem crescido o interesse em terapias alternativas e pelo uso terapêutico de produtos naturais, especialmente daqueles derivados de plantas, também chamados de fitoterápicos (RATES, 2001). Segundo Harvey (2000) o estudo dos produtos naturais tem sido uma das estratégias mais bem sucedidas para a descoberta de novos fármacos. Entre 2000 e 2005, 23 novos fármacos derivados de fontes naturais foram lançados no mercado (YOUNG-WON et al., 2006). Os fitoterápicos movimentam 60 bilhões de dólares por ano no mundo e, no Brasil este valor chega a 1 bilhão de reais (RAVAGNANI, 2004).

Em diversos casos, os fitoterápicos possuem algumas vantagens sobre o uso de fármacos puros, que atualmente podem justificar seu uso, entre eles: efeitos sinérgicos e associação de mecanismos de ação dos vários compostos presentes nos fitoterápicos, menores riscos de efeitos colaterais e menores custos de pesquisa (YUNES et al., 2001). No Brasil, o fitoterápico é considerado medicamento e para seu registro é necessária a apresentação de estudos que garantam sua eficácia e segurança (BRASIL, 2006).

Em 2003, dos 206 fitoterápicos registrados no país, segundo a Associação Brasileira da Indústria Fitoterápica (Abifito), 89% eram produzidos com plantas européias (RAVAGNANI, 2004), evidenciando a importância dos estudos

fitoquímicos e farmacológicos com plantas nativas do Brasil. Também existe a necessidade do estudo das plantas medicinais exóticas introduzidas no nosso país, uma vez que os fatores ambientais influenciam a produção e variabilidade dos metabólitos secundários (LIMA et al., 2003).

Por outro lado, a obtenção de substâncias puras ativas envolve várias etapas, tais como: a seleção da planta, a preparação dos extratos, a purificação e identificação dos constituintes químicos e as posteriores modificações estruturais baseadas nas correlações entre estrutura química e atividade biológica e, finalmente, a operação de formulações para a produção de medicamentos (CECHINEL FILHO; YUNES, 2001).

O maior desafio da pesquisa com produtos naturais como fonte de fármacos é mostrar competitividade com a química sintética e combinatória, sendo que a desvantagem dos produtos naturais é o tempo necessário para isolar e caracterizar compostos ativos de misturas complexas (YUE-ZHONG, 1998). Entretanto, a maioria dos compostos obtidos a partir de plantas não podem ser produzidos de forma sintética por ser economicamente inviável (RATES, 2001).

Adicionalmente, a diversidade molecular existente nas plantas, associada à síntese combinatória e à manipulação de rotas biossintéticas, pode levar à descoberta e ao desenvolvimento de muitos fármacos novos (NEWMAN et al., 2003).

Embora a busca de substâncias ativas de origem vegetal seja morosa, o avanço das técnicas de separação e análise tem facilitado esta tarefa. Atualmente, o uso de técnicas espectrais, como espectrometria de massas (EM), ultravioleta (UV), de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C), aliadas ao uso de técnicas sofisticadas de RMN (NOE, COSY, HETCOR, INADEQUATE), têm permitido propor com segurança a estrutura molecular de substâncias naturais complexas. Além disso, o uso da cristalografia por difração de raios-X em monocristal possibilita avaliar a estereoquímica real destas substâncias (CECHINEL FILHO; YUNES, 2001).

Os principais objetivos do uso de plantas como fonte de agentes terapêuticos são: isolar compostos bioativos para o uso como fármaco; obter compostos bioativos de estrutura conhecida ou inédita que sirvam de modelo para a semi-síntese, a fim de se produzir moléculas com maior atividade e/ou menor toxicidade que possam ser patenteadas; a sua utilização como ferramenta em pesquisas bioquímicas e

farmacológicas; e a utilização da planta inteira ou parte dela como medicamento (FABRICANT; FARNSWORTH, 2001).

Aproximadamente 20.000 espécies de plantas são utilizadas na medicina tradicional, porém a maioria não foi avaliada do ponto de vista químico ou farmacológico, sendo que algumas se encontram em extinção (CALIXTO, 2000; PINTO et al., 2002). Estima-se que somente 5 a 15% das plantas superiores foram sistematicamente investigadas quanto à presença de constituintes biologicamente ativos (BALANDRIN et al., 1993), e que, apenas 1% das espécies tropicais foram estudadas quanto ao seu potencial farmacêutico (GURIB-FAKIM, 2006). O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas (DIAS, 1996 apud GUERRA, NODARI, 2003) de um total estimado entre 250.000 e 550.000, quase 1/5 de toda a biodiversidade do planeta (CAÑIGUERAL et al., 2003). Considerando-se a diversidade e o número de espécies vegetais ainda não estudadas da flora brasileira, estima-se que ocorra uma grande quantidade de moléculas potencialmente bioativas de estrutura e propriedades farmacológicas ainda desconhecidas.

Por outro lado, o alarmante aumento na incidência e re-emergência de doenças infecciosas, e o desenvolvimento de resistência aos antibióticos em atual uso clínico, exige uma contínua e indispensável busca por novos compostos antimicrobianos, com diferentes estruturas químicas e mecanismos de ação (ROJAS et al., 2003). Neste contexto, os produtos de origem vegetal surgem como uma alternativa promissora, uma vez que cerca de 70% dos novos antibióticos aprovados entre 1981 e 2002 pelo FDA (Food and Drug Administration) eram de origem natural.

Portanto, é relevante o estudo *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* na busca de novos compostos de atividade antimicrobiana. Esta planta é nativa do litoral sul brasileiro e foi pouco estudada farmacologicamente, além de pertencer a um gênero que possui relatos do uso na medicina popular no combate às infecções (BOLZAN et al., 2007).

Apesar de o gênero *Senecio* possuir mais de 2000 espécies e distribuição em toda a superfície terrestre (CABRERA, KLEIN, 1975), são poucos os estudos que procuram verificar a composição e a atividade biológica dos óleos essenciais das plantas deste gênero.

Embora o gênero *Senecio* possua um grande número espécies reconhecidamente tóxicas, devido à presença de alcalóides pirrolizidínicos

(CALIXTO, 2000; SILVA; BOLZAN; HEINZMANN et al., 2006; BOLZAN et al., 2007) é rico em derivados terpênicos, constituintes de variado espectro de ações farmacológicas, tais como antimicrobiana, antimalárica, antimicótica, anti-helmíntica (HEINZMANN, 1996), hipoglicemiante (INMAN et al., 1999), antioxidante, citotóxica (BARRERO et al., 1997), ictiotóxica (UCHIO et al., 1985) e antiinflamatória (GEISSBERGER et al., 1991). Vários derivados terpênicos estão presentes em extratos obtidos com solventes e nos óleos essenciais destas espécies. Este fato justifica o estudo de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, com a finalidade de encontrarem-se novos compostos de estrutura terpenóide com potenciais atividades farmacológicas.

Este trabalho teve como objetivos principais:

- Isolamento e elucidação estrutural do principal constituinte terpenóide presente no extrato diclorometânico das partes aéreas frescas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*;
- Extração dos óleos essenciais das folhas, caules aéreos e subterrâneos e das partes aéreas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletadas no início do outono e final da primavera, pelo método de hidrodestilação, e análise de sua composição por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e extratos obtidos dos diferentes órgãos vegetais da espécie em estudo.

Esta dissertação está organizada na forma de itens fixos. O item Revisão da literatura apresenta um estudo amplo acerca do gênero *Senecio*, seus principais constituintes químicos, atividades biológicas e usos populares. Em seguida, é apresentada, a espécie estudada *Senecio crassiflorus* DC., e as suas variedades encontradas no sul do Brasil, com maior ênfase à variedade *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, com a descrição de suas características botânicas, seus constituintes químicos já relatados e uma breve revisão sobre óleos essenciais.

No item Materiais e métodos, são apresentados os processos utilizados na obtenção dos extratos de *S. crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, no isolamento e elucidação estrutural de um composto do extrato diclorometânico. Também são descritos os métodos de análise dos componentes dos óleos essenciais de *S.*

crassiflorus (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, bem como a avaliação da atividade antimicrobiana destes óleos e dos extratos.

No item Resultados, é descrita a caracterização estrutural do composto isolado de *S. crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, e a identificação dos componentes dos óleos essenciais estudados. Além disso, este item traz o resultado da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e dos extratos de *S. crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*.

Na Discussão dos resultados, é apresentada a interpretação dos mesmos, sua relação com dados da literatura, bem como a importância e significado que esses resultados possuem. A dissertação é finalizada pelas Conclusões do trabalho e Referências bibliográficas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Senecio* sp.

A família Asteraceae é reconhecidamente a maior família do reino vegetal (BARROSO, 1986). A tribo *Senecioneae* é uma das maiores da família e inclui 120 gêneros, dentre eles o gênero *Senecio* (BREMER, 1994).

Para as plantas do gênero *Senecio*, é possível identificar várias classes de constituintes, com estruturas químicas e atividades biológicas diversas. A grande variabilidade nas características morfoanatômicas, observada entre as espécies de *Senecio*, está relacionada à presença de diferentes classes de metabólitos secundários. Devido a este fato, alguns pesquisadores sugeriram o agrupamento das diferentes espécies deste gênero de acordo com os seus constituintes (BOHLMANN et al., 1980; DUPRÉ et al., 1991), redimensionando a classificação taxonômica existente. A grande quantidade de distintas classes de constituintes vegetais encontra como explicação mais plausível o fato deste ser um gênero muito vasto, com mais de 2000 diferentes espécies distribuídas pela superfície terrestre (BOHLMANN et al., 1981a), sendo que cerca de 33 espécies são nativas da região sul do Brasil e 25 foram identificadas no Rio Grande do Sul (CABREIRA; KLEIN, 1975; MATZENBACHER, 1998).

O gênero *Senecio* é de grande importância econômica para o sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, uma vez que numerosas espécies são responsáveis por perdas consideráveis na pecuária, por causarem intoxicações em bovinos e ovinos (HABERMEHL et al., 1988; ILHA et al., 2001).

Aos alcalóides pirrolizidínicos (NOORWALA et al., 2000) é atribuída à toxicidade destas Asteráceas, o que restringe os usos populares. Estes compostos, além do efeito tóxico agudo (CULVENOR et al., 1976), apresentam propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas (RAMOS; MARQUES, 1978; RÖDER, 1995). Estes alcalóides se tornam tóxicos quando são metabolizados no fígado a uma forma pirrólica altamente reativa, conhecida como de-hidroalcalóide, que ataca

as células hepáticas causando necrose (VILLARROEL et al., 1997; BOLZAN et al., 2007).

Além dos efeitos tóxicos dos alcalóides pirrolizidínicos, os sesquiterpenóides dos tipos eremofilano e furanoeremofilano, presentes em espécies do gênero (DUPRÉ et al., 1991), apresentam uma alta toxicidade *in vivo* (JARES; POMÍLIO, 1989). Além dos metabólitos secundários citados, é freqüente a ocorrência de óleos essenciais nas espécies de *Senecio* (PÉREZ; AGNESE; CABRERA, 1999). Estes são constituídos basicamente de mono e sesquiterpenóides, além de triterpenóides, e possuem potencial ação antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária e antiviral (COWAN, 1999).

Em espécies de *Senecio* também são encontrados os sesquiterpenóides do tipo eudesmanolídeo (MENGI et al., 1991), lactonas monoterpênicas (BOHLMANN et al., 1981b) e sesquiterpênicas (GUIDUGLI et al., 1985), além de triterpenóides (ABDO et al., 1992; RÜCKER et al., 1999) e flavonóides (MANSOUR; SALEH, 1981; DUPRÉ et al., 1991).

A maioria das espécies de *Senecio* emerge durante todo o ano, apresentando as fenofases vegetativas praticamente constantes durante todo o ciclo da planta. A fenologia é determinada pelas condições ambientais, as quais são de grande importância para o estabelecimento e dispersão da planta: a umidade e a luz determinam a emergência e a brotação, enquanto que a temperatura determina a floração da planta. Fatores ambientais desfavoráveis como déficit hídrico, manejo do solo, variações na temperatura ambiental e danos causados por insetos, associados ou não, podem alterar o ciclo das plantas e serem determinantes para a sua permanência no ambiente. No Brasil, normalmente crescem no outono/inverno e florescem na primavera/verão (KARAM et al., 2002).

2.1.1 Usos populares e toxicidade

Um grande número de espécies de *Senecio* é utilizado na medicina popular, embora o gênero seja caracterizado pela presença de metabólitos secundários tóxicos, como os alcalóides pirrolizidínicos e os furanoeremofilanos. Uma revisão sobre as espécies de *Senecio* de uso na medicina popular da América Latina encontra-se discriminada no Anexo 1 (BOLZAN et al., 2007). O mesmo também traz

os relatos de toxicidade em humanos e o mecanismo de ação tóxica dos alcalóides pirrolizidínicos.

Por ser um gênero cosmopolita, existem relatos de uso de espécies de *Senecio* em outros países não pertencentes à América Latina; exemplos podem ser encontrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais espécies de *Senecio* utilizadas na medicina popular e indicações de usos

PAÍS	ESPÉCIE	UTILIZAÇÃO PRECONIZADA NA MEDICINA POPULAR	REFERÊNCIA
ÁFRICA DO SUL	<i>S. serratuloides</i> DC. var. <i>serratuloides</i>	No tratamento de infecções, queimaduras, ulcerações, lesões purulentas, como “purificador do sangue”.	KELMANSON et al., 2000
CHINA	<i>Senecio integrifolius</i> (L.) Clairv.; <i>S. oryzetorum</i> Diels	Como agentes anti-cancerígenos	GRAHAM et al., 2000
	<i>S. scandens</i> Buch.-Ham ex D. Don	No tratamento de “dores de barriga”, sarampo, úlceras e hemorróidas.	CHUN-LIN, RONG, 2004
ESPANHA	<i>Senecio</i> sp.	Como emenagogas, antiinflamatórias e vasodilatadoras.	BAUTISTA PERIS et al., 2001 apud TORRES et al., 2000

HIMALAIA	<i>S. jacquemontianus</i> Benth.	No tratamento de doenças de pele e como tônico dos nervos	ZARAPKAR et al., 1994
ILHAS RÉUNION	<i>Senecio ambavilla</i> Pers.	No tratamento de ulcerações, abscessos e eczemas	FORTIN et al., 2002
ITÁLIA	<i>Senecio vulgaris</i> L	No tratamento de inflamações de pele.	PIERONI et al., 2004
RUANDA	<i>Senecio maranguensis</i> O. Hoffm	No tratamento de tosses, otites e ulcerações	COS et al., 2002
TURQUIA	<i>Senecio vulgaris</i> L.	No tratamento de eczemas.	UZUN et al., 2004

2.2 Constituintes químicos descritos para o gênero *Senecio*

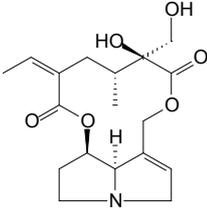
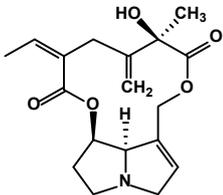
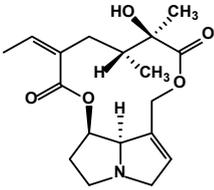
2.2.1 Alcalóides pirrolizidínicos

Os alcalóides pirrolizidínicos (APs) estão presentes em aproximadamente 3% de todas as Angiospermas, mas apenas em algumas famílias e gêneros vegetais, entre eles *Senecio* (PRAKASH et al., 1999; CHOJKIER, 2003). Apesar de serem considerados metabólitos secundários característicos deste gênero, os APs não estão presentes em todas as suas espécies (SMITH, CULVENOR, 1981).

Além dos APs formarem uma importante classe de metabólitos do gênero, sendo responsáveis pela toxicidade apresentada por estas plantas (BOLZAN et al., 2007), eles também podem ser utilizados como marcadores quimiosistemáticos para a tribo *Senecioneae* (TRIGO et al., 2003).

Em estudo de revisão, SILVA et al. (2006) relatam várias espécies de *Senecio* contendo APs. Entre os APs de ocorrência mais comum em espécies de *Senecio* encontram-se senecionina, senecifilina e retrorsina (Tabela 2).

Tabela 2 – Exemplos de estruturas de alcalóides pirrolizidínicos encontrados em espécies de *Senecio*

ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
retrorsina		<i>S. brasiliensis</i> (Sprengel) Less.	inflorescências	TRIGO et al., 2003
seneciofilina		<i>S. crassiflorus</i> (Poir.) DC. <i>S. brasiliensis</i> var. <i>brasiliensis</i> (Sprengel)	partes aéreas inflorescências	TETTAMANZI et al., 1994 TOMA et al., 2004
senecionina		<i>S. crassiflorus</i> (Poir.) DC <i>S. brasiliensis</i> var. <i>brasiliensis</i> (Sprengel)	partes aéreas inflorescências	TETTAMANZI et al., 1994 TOMA et al., 2004

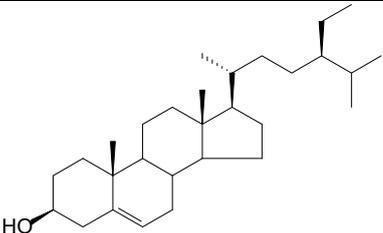
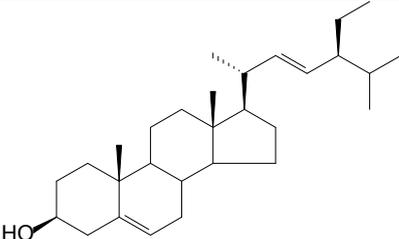
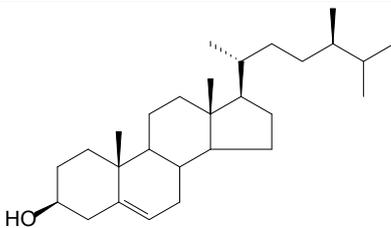
2.2.2 Esteróides

Os esteróides têm sua origem biossintética em unidades de isopreno, que se condensam formando os triterpenos; estes em seguida, reduzem-se a esteróides (WAGNER, 1993).

Nas plantas, os esteróides possuem um importante papel como constituintes de membranas celulares, hormônios de crescimento e como repelentes de insetos. Adicionalmente, apresentam importantes atividades farmacológicas, sendo alguns deles utilizados como agentes terapêuticos, por ex. a digoxina (ZEELLEN, 1995 apud

SHIMADA et al., 2001). O β -sitosterol, isolado de espécies de *Senecio* (Tabela 3), apresentou atividade antifúngica e antibacteriana em ensaios *in vitro* (KIPRONO et al., 2000).

Tabela 3 – Fitoesteróides mais encontrados em plantas superiores e também descritos para o gênero *Senecio*

ESTERÓIDES	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
β -sitosterol		<i>S. dryophyllus</i> Meyen et Walp. <i>S. lyratus</i> DC.	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991
stigmasterol		<i>S. bonariensis</i> Hook et Arn.	raízes	JARES et al., 1990; TETTAMANZI et al., 1992
campesterol		<i>S. bonariensis</i> Hook et Arn.	raízes	JARES et al., 1990; TETTAMANZI et al., 1992

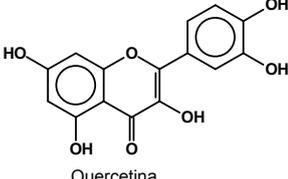
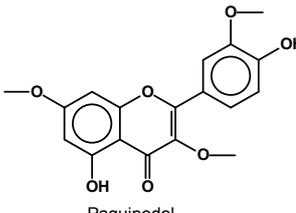
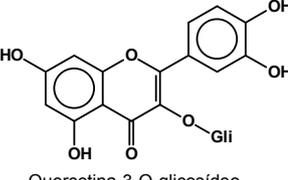
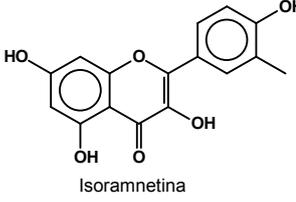
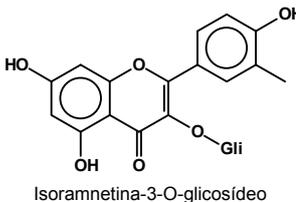
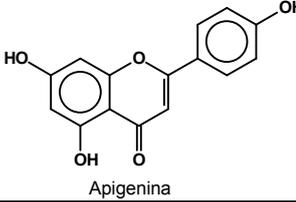
2.2.3 Flavonóides

Apesar dos poucos relatos da ocorrência de flavonóides no gênero *Senecio* (Tabela 4), devido à sua grande variedade de espécies, é esperada uma variabilidade estrutural significativa em relação a esta classe de metabólitos secundários (MANSOUR, SALEH, 1981).

Os flavonóides constituem uma importante classe de constituintes vegetais, com mais de 6.400 estruturas diferentes descritas até o momento, podendo

apresentar concentrações e estruturas diferenciadas dependendo do órgão vegetal em que se encontram. Sua presença nos vegetais parece estar relacionada com funções de defesa (proteção contra raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias), atração de polinizadores, antioxidantes, controle sobre hormônios vegetais, agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (HARBORNE, WILLIAMS, 2000).

Tabela 4 – Exemplos de flavonóides descritos para o gênero *Senecio*

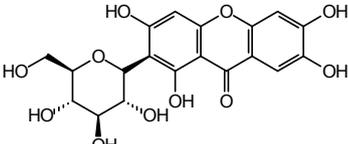
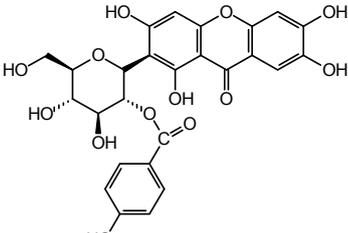
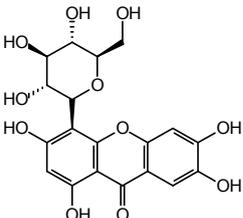
FLAVONÓIDES	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
flavonol (agliconas)	 <p>Quercetina</p>	<i>Senecio viscosissimus</i> Colla	partes aéreas com inflorescências	URZÚA et al., 2000
	 <p>Paquipodol</p>			
flavonol (o-heterosídeo)	 <p>Quercetina-3-O-glicosídeo</p>	<i>S. gallicus</i> Chaix <i>S. vulgaris</i> L.	partes aéreas	MANSOUR, SALEH, 1981
flavonol (aglicona)	 <p>Isoramnetina</p>			
(3-O-heterosídeo)	 <p>Isoramnetina-3-O-glicosídeo</p>			
flavona (aglicona)	 <p>Apigenina</p>			

As atividades farmacológicas apresentadas pelos flavonóides também são muito variadas: atividade antiviral, antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, hormonal, entre outras (ZUANAZZI, MONTANHA, 2003).

2.2.4 Xantonas

As xantonas são substâncias que apresentam ampla distribuição no reino vegetal, uma vez que são formadas por uma rota biossintética próxima à rota de formação dos flavonóides, ocorrendo principalmente nas plantas das famílias Guttiferae e Gentianaceae. Também ocorrem em espécies do gênero *Senecio* (Tabela 5).

Tabela 5 – Exemplos de xantonas descritas para o gênero *Senecio*

XANTONAS-ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
 <p style="text-align: center;">mangiferina</p>			
 <p style="text-align: center;">muraxantona</p>	<i>Senecio mikanioides</i> Otto (ex Walpers)	folhas	CATALANO et al., 1996
 <p style="text-align: center;">isomangiferina</p>			

Estas substâncias são de grande interesse farmacêutico, pois apresentam importantes atividades farmacológicas, como por exemplo, atividade inibitória da enzima monoaminoxidase (MAO), atividades antidepressiva, antineoplásica e antimicrobiana, entre outras (PERES et al., 2000; KUSTER, ROCHA, 2003). Para as xantonas mangiferina e isomangiferina foi relatada a atividade antiviral (ZHENG, LU, 1990) e para a primeira, também uma potente atividade antioxidante (LEIRO et al., 2003).

2.2.5 Terpenóides

Os terpenóides distribuem-se amplamente na natureza e são encontrados em abundância nas plantas superiores, sendo relatados mais de 20.000 estruturas (ROBBERS et al., 1997). Constituem uma classe de substâncias formadas a partir da condensação de moléculas de isopreno (C_5H_{10}) e são classificados de acordo com o número destas unidades presentes, sendo por isso também chamados de isoprenóides.

Os terpenos e derivados de baixo peso molecular aparecem nas plantas como principais constituintes dos óleos essenciais. São responsáveis pelo odor agradável e característico de muitos vegetais, e suas funções incluem defesa do organismo contra predadores e patógenos, interações alelopáticas, antioxidantes, bio-regulatórias (hormônios e fitoalexinas), atração de polinizadores e como moléculas de sinalização, estando implicados em quase todas as interações possíveis entre diferentes plantas, entre plantas e animais e entre plantas e microrganismos (ROBBERS et al., 1997; SIMÕES, SPITZER, 2003). Adicionalmente, muitos destes constituintes são pesquisados em relação à sua atividade antimicrobiana, sendo grande o número de estudos acerca das atividades inibitórias produzidas por óleos essenciais e por constituintes de estrutura terpênica sobre o crescimento de microrganismos (DEUSCHLE, 2003).

2.2.5.1 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais, de maneira geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas à temperatura

ambiente (SIMÕES, SPITZER, 2003), podendo conter normalmente até 100 compostos, sendo que um, dois ou algumas vezes três destes predominam em termos de porcentagem (TISSERAND, 1996). Os terpenos e seus derivados aparecem nas plantas como constituintes principais dos óleos essenciais. Os terpenóides mais freqüentes nos óleos essenciais são os monoterpenóides (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenóides (SIMÕES, SPITZER, 2003). Também podem estar presentes diterpenóides, juntamente uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos (lineares, ramificados, saturados e insaturados), ácidos, álcoois, aldeídos, ésteres acíclicos, lactonas, ainda excepcionalmente compostos com nitrogênio e enxofre, cumarinas e homólogos, bem como fenilpropanóides (DORMAN; DEANS, 2000).

Segundo Farias (1999) a localização geográfica, época da coleta, forma de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de armazenamento podem influenciar o rendimento e o perfil químico dos óleos essenciais.

Além de serem responsáveis pelo odor agradável e característico de muitos vegetais, os óleos essenciais apresentam funções biológicas diversas, entre elas, inibição do crescimento de outras espécies (alelopatia), proteção contra predadores e atração de polinizadores (INOUE, 2003; SIMÕES, SPITZER, 2003).

Os óleos essenciais, por apresentarem atividades biológicas variadas e por suas características físicas e organolépticas, são empregados industrialmente em gêneros alimentícios, medicamentos, cosméticos, perfumes e produtos de limpeza, sendo também empregados na aromaterapia, devido às suas propriedades farmacológicas (PAULI, 2001).

Para os óleos essenciais são relatadas as atividades repelente, inseticida (MENDONÇA et al., 2005; LIU et al., 2006), antimicrobiana (PONCE et al., 2003), antioxidante (HUI et al., 2006), antiviral (KHAN et al., 2005), antileishmaniose (UEDA-NAKAMURA et al., 2006), anticancerígena (SYLVESTRE et al., 2006), entre outras.

Vários estudos demonstram as atividades inibitórias apresentadas por óleos essenciais e por constituintes de estrutura terpênica sobre o crescimento de microrganismos (COWAN, 1999; DORMAN; DEANS, 2000; BURT, 2004).

Apesar do gênero *Senecio* possuir mais de 2000 espécies (CABRERA, KLEIN, 1975), são poucos os estudos que procuram verificar a composição e a atividade biológica dos óleos essenciais das plantas deste gênero.

No óleo essencial das folhas de *S. graveolens* Wedd. foram encontrados principalmente hidrocarbonetos, álcoois, cetonas e um aldeído, sendo o α -terpineno e o *p*-cimeno os compostos majoritários (PÉREZ et al., 1999).

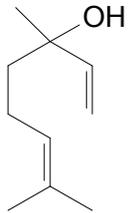
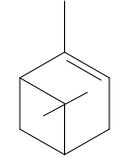
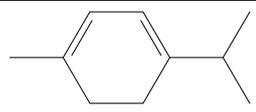
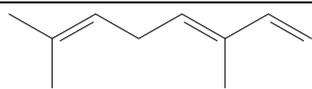
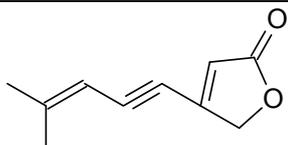
O estudo de El-Shazly et al. (2002) com óleos essenciais das flores, folhas, caules e raízes com *S. aegyptius* var. *discoideus* Boiss demonstrou que o óleo essencial das raízes apresentou apenas traços de monoterpenóides, presentes em grande quantidade nos óleos dos demais órgãos vegetais analisados. Em todos os óleos essenciais o constituinte majoritário foi o 1,10-epoxifuranoeremofilano, que demonstrou possuir atividade contra a cepa Gram-positiva de *Bacillus subtilis*.

Em *S. tephrosioides* Turcz, os principais constituintes identificados no óleo essencial foram o sabineno como majoritário, além de 4-terpineol, α -cadinol e τ -muurolol; e vários outros compostos que não foram identificados (FERNÁNDEZ-ZÚÑIGA et al., 1996). Já no óleo essencial das partes aéreas floridas de *S. farfarifolius* Boiss. et Kotschy, os principais compostos encontrados foram: α -pineno (48,3 %), 1,8-cineol (10,3 %), germacreno D (3,4 %), limoneno (2,8 %) e α -terpineol (2,2 %) (BASER; DEMIRCI, 2004). No óleo essencial das flores de *Senecio grisebachii* Backer os constituintes identificados foram: indol, β -mirceno, ocimeno, copaeno, ylangeno, cariofileno e humuleno. Este óleo essencial demonstrou potencial atividade hepatotóxica em ratos quanto administrado por via oral (ROMERO et al., 2002).

2.2.5.2 Monoterpenóides

Os monoterpenóides são os compostos de maior volatilidade presentes nas plantas, devido ao seu baixo peso molecular, sendo uma das classes responsáveis pelos aromas das plantas. Na maioria das espécies de *Senecio* não estão presentes em grandes quantidades (Tabela 6).

Tabela 6 – Exemplos de monoterpênóides descritos para o gênero *Senecio*

MONOTERPENÓIDES	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
linalol		<i>S. articulatus</i> Sch. Bip.	inflorescências	KITE, SMITH, 1997
α -pineno		<i>S. farfarifolius</i> Boiss. et Kotschy	partes aéreas sem inflorescências	BASER; DEMIRCI, 2004
α -terpineno		<i>S. viscosissimus</i> Colla	toda planta sem inflorescências	ÚRZUA, ANDRADE, 2001
ocimeno		<i>S. trichopterygius</i> Muscher	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1980
cleviolido		<i>S. clevelandii</i> Greene	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1981a

Os monoterpênóides são compostos de interesse farmacêutico por apresentarem atividade anestésica local e antimicrobiana, sendo utilizados como antipruriginosos, expectorantes, carminativos, anti-sépticos e analgésicos tópicos (ROBBERS et al., 1997); também são empregados no tratamento de infecções respiratórias (JUERGENS et al., 2003). Para este grupo de substâncias é relatada ainda atividade acaricida (SÁNCHEZ-RAMOS, CASTAÑERA, 2001), antiinflamatória (JUERGENS et al., 2003), antileishmaniose (ROCHA et al., 2005) e antiviral (ARMAKA et al., 1999; KHAN et al., 2005).

2.2.5.3 Sesquiterpenóides

Os sesquiterpenóides representam um grande grupo de produtos naturais, sendo encontrados em plantas, alguns organismos marinhos, fungos e bactérias.

Estes constituintes possuem implicações nas interações planta-planta, planta-inseto e planta-patógeno (THOLL, 2006). Adicionalmente, são componentes importantes de muitos óleos essenciais, os quais são largamente utilizados pela indústria como flavorizantes e aromatizantes (PROSSER et al., 2002).

O número de sesquiterpenóides isolados e identificados em espécies do gênero *Senecio* é muito elevado. A seguir são relatados as principais classes de sesquiterpenóides presentes no gênero, entre eles os derivados do tipo eudesmano, eremofilano, guaiano, cadinano, germacrano, bisabolano, humulano e cariofilano. Cada um desses esqueletos apresenta características químicas particulares e atividades de interesse farmacêutico.

2.2.5.3.1 Biossíntese de sesquiterpenóides

Atualmente, são descritos mais de 300 esqueletos sesquiterpênicos diferentes, os quais são formados a partir de substratos simples: o difosfato de farnesila (FPP) ou o difosfato de nerolidila (NPP). Estes sofrem uma série de reações enzimáticas, de responsabilidade das sesquiterpeno-sintases, onde ocorrem ciclizações, eliminações e subseqüentes rearranjos nas moléculas, originando vários intermediários importantes, que serão os responsáveis pela formação dos diferentes esqueletos sesquiterpenóides (LESBURG et al., 1998; PROSSER et al., 2002).

2.2.5.3.2 Derivados do eudesmano

Em espécies de *Senecio* são encontrados diferentes sesquiterpenóides derivados do eudesmano (MENGI et al., 1991) (Tabela 7). Propriedades antioxidantes (BORK et al., 1997) e citotóxicas são atribuídas aos eudesmanolídeos (BARRERO et al., 1997).

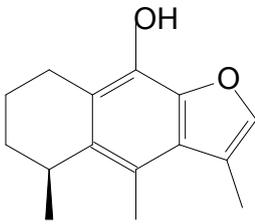
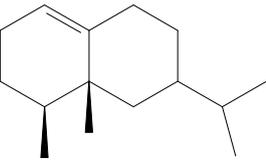
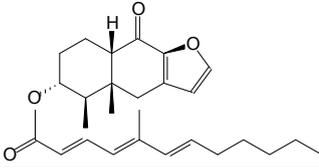
Tabela 7 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do eudesmano descritos para o gênero *Senecio*

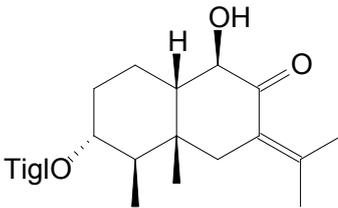
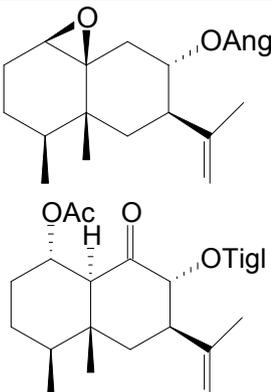
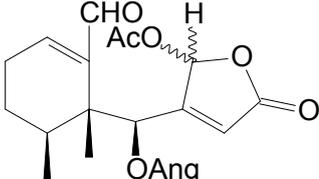
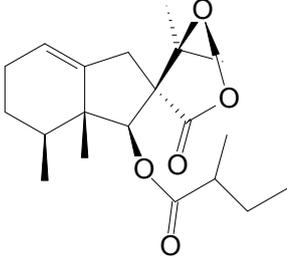
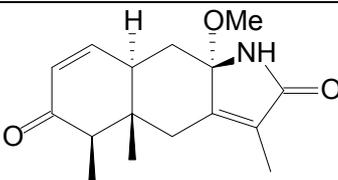
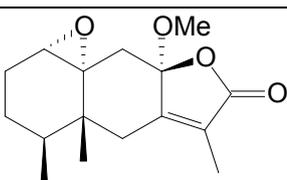
EUEDESMANO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
derivado di-hidroxi-eudesmano		<i>S. microglossus</i> DC.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1983
derivado angeloil-eudesmano		<i>S. microglossus</i> DC.	partes aéreas	BOHLMANN, et al., 1983
derivados polihidroxiados do eudesmano		<i>S. adenophyllus</i> Meyen et Walp	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991
eudesmanolídeo		<i>S. jacquemontianus</i> Benth.	raízes	ZARAPKAR et al., 1994
α-eudesmol		<i>S. graveolens</i> Wedd.	folhas	PÉREZ et al., 1999
β-eudesmol				

2.2.5.3.3 Derivados do eremofilano

Para o gênero *Senecio* já foram descritos vários compostos derivados do núcleo eremofilano (DUPRÉ et al., 1991) (Tabela 8). Os eremofilanos são encontrados em espécies suculentas, que não sintetizam os furanoeremofilanos (BOHLMANN et al., 1986), forma em que a maioria destes derivados encontra-se nas espécies de *Senecio*. Os eremofilanos e furanoeremofilanos possuem alta toxicidade *in vivo* (JARES; POMÍLIO, 1989). Para alguns furanoeremofilanos foi descrita atividade hipoglicemiante (INMAN et al., 1999), entre eles encontra-se o cacalol (AGUILAR et al., 2000). A toxicidade *in vivo* apresentada pelos sesquiterpenóides do tipo eremofilano pode ser atribuída à inibição da transcrição e translação, atuando ao nível de DNA, impedido à síntese protéica em eucariontes (MOULE et al., 1977). Para esta classe de constituintes é descrita ainda uma atividade inibidora da integrase do vírus HIV-1, enzima responsável pela penetração deste vírus no núcleo da célula hospedeira e sua integração ao genoma (SINGH et al., 2000).

Tabela 8 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do eremofilano descritos para o gênero *Senecio*

EREMOFILANOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
furanoeremofilano (cacalol)		<i>S. inaequidens</i> DC. <i>S. balsapampae</i> Cuatr.	raízes	BOHLMANN et al., 1980
eremofilano (eupateno)		<i>S. smithii</i> DC.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1981b
furanoeremofilano		<i>S. glandulosopilosus</i> Volkens et Muscheler	raízes	BOHLMANN, GUPTA, 1982

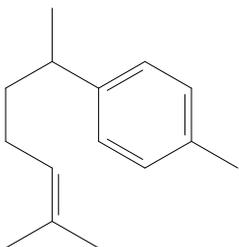
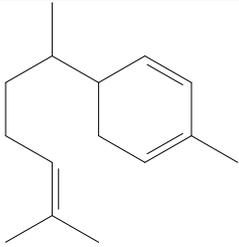
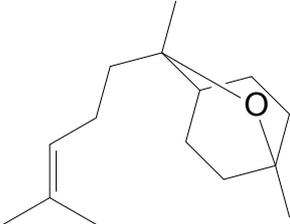
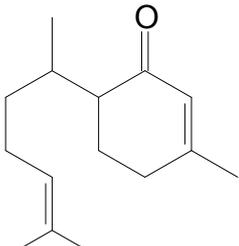
eremofilenonas		<i>S. ochoanus</i> Cuatr.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1983
eremofilenos		<i>S. portalesianus</i> Remy.	partes aéreas	JAKUPOVIC et al., 1991
seco- eremofilanolídeo		<i>S. macedonicus</i> Griseb.	folhas	TREDAFILO- VA et al., 1995
senauricolídeo		<i>S. auricula</i> Bourg. var. <i>major</i> WK.	raízes	TORRES et al., 1998
lactama eremofilenona		<i>S. flavus</i>	partes aéreas	TORRES et al., 1999
eremofilanolídeo		<i>S. flavus</i>	partes aéreas e rizomas	TORRES et al., 1999

2.2.5.3.4 Derivados do bisabolano

A presença de derivados do bisabolano não é muito freqüente em espécies de *Senecio*, sendo relatados poucos compostos desse esqueleto básico no gênero.

Reina et al. (2002) isolaram uma bisabolona (Tabela 9) a qual apresentou atividade inibidora do apetite para vários insetos.

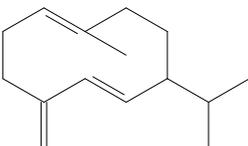
Tabela 9 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do bisabolano descritos para o gênero *Senecio*

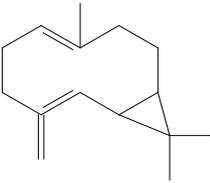
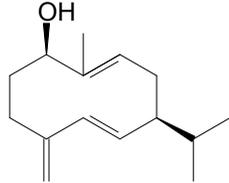
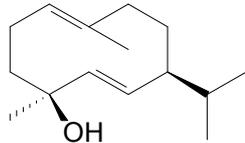
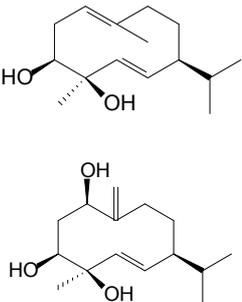
BISABOLANOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
α-curcumeno		<i>S. aschenbormanus</i> Schauer	partes aéreas	MERICLI et al., 1989
		<i>S. balsapampae</i> Cuatr.	raízes	BOHLMANN et al., 1980
β-zingibereno		<i>S. seloi</i> (Spreng) DC.	partes aéreas	HEINZMANN, 1996
óxido de bisaboleno		<i>S. subrubriflorus</i> O. Hoffm.	partes aéreas	BOHLMANN; ZDERO, 1982b
bisabolona		<i>S. macroglossus</i> DC.	raízes	BOHLMANN et al., 1985
		<i>S. palmensis</i> Chr. Sm.	partes aéreas	REINA et al., 2002

2.2.5.3.5 Derivados do germacrano

Dentre os derivados do germacrano, o germacreno D (Tabela 10), que é encontrado na natureza na forma de seus dois isômeros, S e R (STELIOPOULOS et al., 2002), é um constituinte bastante freqüente em espécies de *Senecio* (DEUSCHLE, 2003). Sua ampla ocorrência no gênero pode ser explicada pelo fato deste ser considerado um precursor da biossíntese de muitos outros compostos de estrutura sesquiterpenóide (BÜLLOW, KÖNIG, 2000), com importantes atividades biológicas (PROSSER et al., 2004).

Tabela 10 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do germacrano descritos para o gênero *Senecio*

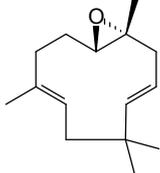
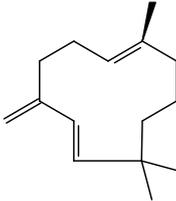
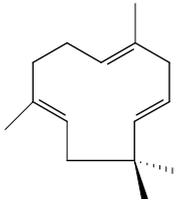
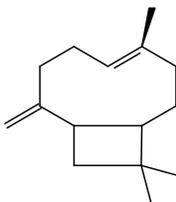
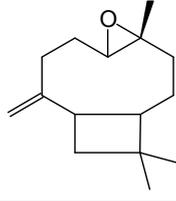
GERMACRANOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
germacreno D		S. <i>trichopterygius</i> Muscher	raízes	BOHLMANN et al., 1980
		S. <i>subrubriflorus</i> O. Hoffm.		BOHLMANN; ZDERO, 1982b
		S. <i>microglossus</i> DC.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1983
		S. <i>brasiliensis</i> (Spreng.) Less.		BOHLMANN et al., 1985
		S. <i>venosus</i> Harv.		DEUSCHLE, 2003
		S. <i>desiderabilis</i> Velozo		SILVA, 2006
		S. <i>bonariensis</i> Hook. Et Arn.		FRANCESCATO, 2007
S. <i>heterotrichius</i> DC.				

biciclogermacreno		<i>S. crassissimus</i> Humb. <i>S. subrubriflorus</i> O. Hoffm.	partes aéreas raízes	BOHLMANN; ZIESCHE, 1981 BOHLMANN; ZDERO, 1982a
hidroxigermacratrieno		<i>S. philippicus</i> Regel et Koern.	partes aéreas	JAKUPOVIC et. al., 1991
carbinol		<i>S. smithii</i> DC.	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991
derivados oxigenados do germacrano		<i>S. smithii</i> DC.	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991

2.2.5.3.6 Derivados do humulano e do cariofilano

Relatados em espécies de *Senecio* (Tabela 11), estes compostos têm despertado interesse por serem utilizados como aromatizantes e conservantes na indústria cosmética (SKÖLD et al., 2005) e de gêneros alimentícios (FDA) e também pelas atividades antimalárica (THEBTARANONTH et al., 1995), antifúngica (YANG et al., 2000), anestésica local (GHELARDINI et al., 2001), inibidora da agregação plaquetária (LIN et al., 2003). O primeiro fitoterápico brasileiro (Acheflan®), obtido de *Cordia verbenacea* DC. tem como um dos seus constituintes o α -humuleno, encontrado também em várias espécies de *Senecio* (Tabela 11), sendo atribuída a ele uma atividade antiinflamatória. O α -humuleno também possui atividade antitumoral, conforme descrito no estudo de Legault et al. (2003).

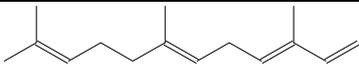
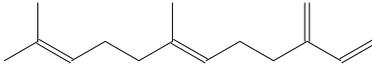
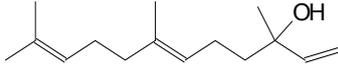
Tabela 11 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do humulano e do cariofilano descritos para o gênero *Senecio*

HUMULANOS/ CARIOFILANOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
óxido de humuladieno		<i>S. palmensis</i> Chr. Sm.	partes aéreas	REINA et al., 2002
isohumuleno		<i>S. inaequidens</i> DC.	raízes	BOHLMANN et al., 1980
α- humuleno		<i>S. murii</i> L. Bol. <i>S. asperulus</i> DC. <i>S. ambiguus</i> (Biv) DC. subsp. <i>ambiguus</i>	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1985 ZDERO et al., 1989 TUNDIS et al., 2005
		<i>S. grisebachii</i> Baker	folhas	ZEINSTEGER et al., 2005
cariofileno		<i>S. subrubriflorus</i> O. Hoffm. <i>S. reicheanus</i> Cabr. <i>S. bonariensis</i> Hook. Et Arn	partes aéreas	BOHLMANN; ZDERO, 1982b DUPRÉ et al., 1991 SILVA, 2006
óxido de cariofileno		<i>S. crassissimus</i> Humb. <i>S. palmensis</i> Chr. Sm. <i>S. bonariensis</i> Hook. Et Arn.	partes aéreas	BOHLMANN; ZIESCHE, 1981 REINA et al., 2002 SILVA, 2006

2.2.5.3.7 Derivados do farnesano

São poucos os compostos derivados do farnesano, sesquiterpenos de estrutura acíclica, obtidos do gênero *Senecio* (Tabela 12).

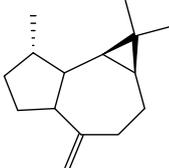
Tabela 12 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do farnesano descritos para o gênero *Senecio*

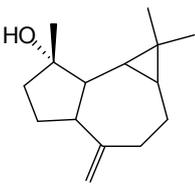
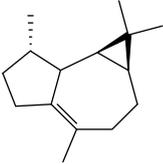
FARNESANOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
α -farneseno		<i>Senecio subrubriflorus</i> O. Hoffm. <i>S. conrathii</i> N. E. Br.	partes aéreas	BOHLMANN; ZDERO, 1982b BOHLMANN et al., 1983
β -farneseno		<i>S. aschenbormanus</i> Schauer <i>S. sundbergii</i> Turner	partes aéreas	MERICLI et al., 1989
nerolidol		<i>Senecio subrubriflorus</i> O. Hoffm. <i>S. ambiguus</i> subsp. <i>ambiguus</i>	partes aéreas	BOHLMANN; ZDERO 1982b; TUNDIS et al., 2005

2.2.5.3.8 Derivados do guaiano

Os derivados do guaiano encontrados em espécies de *Senecio* encontram-se descritos na Tabela 13.

Tabela 13 – Exemplos de sesquiterpenóides derivados do guaiano descritos para o gênero *Senecio*

GUAIANOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
aromadendreno		<i>S. crassissimus</i> Humb.	partes aéreas	BOHLMANN; ZIESCHE, 1981

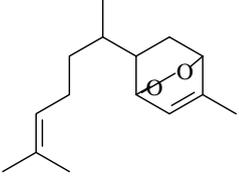
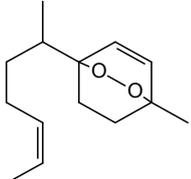
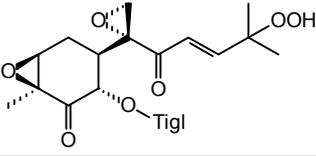
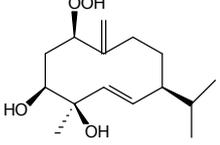
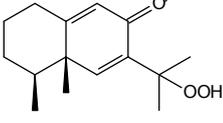
espatulenol		<i>S. ochoanus</i> Cuatr.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1983
		<i>S.</i> <i>canescens</i> Humb.	folhas	ABDO et al., 1992
viridifloreno		<i>S.</i> <i>dryophyllus</i> Meyen et Walp	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991

2.2.5.4 Sesquiterpenóides com o grupamento peróxido

Os peróxidos são metabólitos secundários com alto grau de oxigenação, que pertencem a diferentes classes de constituintes vegetais. Seus precursores geralmente são olefinas, constituintes ocasionais de óleos essenciais de várias espécies. Estes são formados através da adição de oxigênio singlete à dupla ligação e sofre a influência direta da radiação UV (KIEFER, 1993). Os peróxidos encontrados em espécies de *Senecio* geralmente são de estrutura sesquiterpenóide.

Estes compostos, por possuírem uma estrutura altamente reativa apresentam as atividades: citotóxica, citostática, antimicrobiana, indutiva de tremor, alergênica, hepatoprotetora, antitumoral, anti-helmíntica e ictiotóxica, além de atividade sobre o SNC (CASTEEL, 1992; BENNET-JENKINS; BRYANT, 1996; HEINZMANN, 1996; TOLSTIKOV et al., 1996; RÜCKER, 1997). Estudos têm demonstrado que estes compostos exibem significativa atividade *in vitro* e *in vivo* contra *Plasmodium falciparum* (RÜCKER et al., 1991 apud RÜCKER et al., 1996a). Exemplo da ação antimalárica *in vitro* é o bisaboleno-1,4-endoperóxido, derivado do bisabolano obtido de espécies *Senecio* (Tabela 14). Um exemplo de substância antimalárica com ação *in vivo* é o endoperóxido artemisinina, uma lactona sesquiterpênica obtida da partes aéreas de *Artemisia annua* (Asteraceae). Este composto é utilizado com êxito no tratamento da malária, inclusive contra cepas resistentes de *Plasmodium falciparum*, sendo que o grupamento peróxido é indispensável para sua atividade (DHINGRA et al., 1999).

Tabela 14 – Exemplos de sesquiterpenóides com grupamento peróxido descritos para o gênero *Senecio*

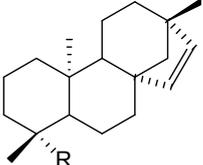
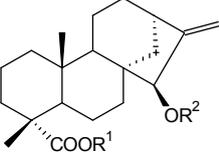
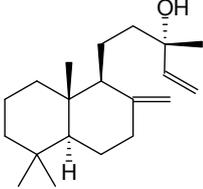
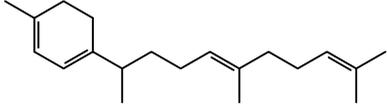
PERÓXIDOS	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
endoperóxido derivado do bisabolano		<i>S. aschenbormanus</i> Schauer <i>S. selloi</i> (Spreng) DC. <i>S. trichopterygius</i> Muscher <i>S. desfonainei</i> Druce	partes aéreas raízes	MERICLI et al., 1989 RÜCKER et al., 1996a BOHLMANN et al., 1980 METWALLY; DAWIDAR, 1986
endoperóxido derivado do nor-bisabolano		<i>S. ochoanus</i> Cuatr. <i>S. canescens</i> Humb.	partes aéreas folhas	BOHLMANN et al., 1983 ABDO et al., 1992
hidroperóxido derivado do bisabolano		<i>S. dryophyllus</i> Meyen et Walp.	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991
hidroperóxido derivado do germacrano		<i>S. adenophyllus</i> Meyen et Walp.	partes aéreas	DUPRÉ et al., 1991
hidroperóxido derivado do eremofilano		<i>S. canescens</i> Humb. <i>S. coronatus</i> (Thunb.) Harv. <i>S. reicheanus</i> Cabr.	folhas partes aéreas	ABDO et al., 1992 BOHLMANN; ZDERO, 1982b DUPRÉ et al., 1991

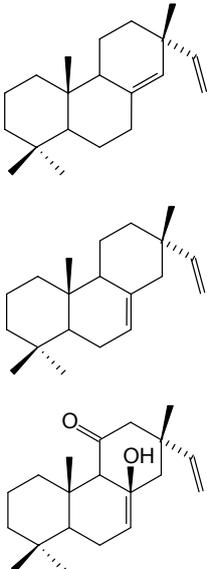
2.2.5.5 Diterpenóides

Diterpenóides e seus derivados glicosilados têm sido relatados em espécies da família das Asteráceas, mas não são freqüentes no gênero *Senecio* (Tabela 15) (CHENG et al., 2005). São compostos não voláteis que, nas plantas, fazem parte da

constituição de resinas vegetais e atuam como hormônios, protetores contra infecções e insetos (ROBBERS et al., 1997). Para essa classe de compostos é relatada atividade antiviral (KHAN et al., 2005), antileishmaniose (ROCHA et al., 2005) e antimicrobiana (DREWES et al., 2006).

Tabela 15 - Exemplos de diterpenóides descritos para o gênero *Senecio*

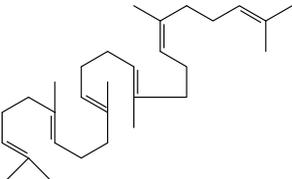
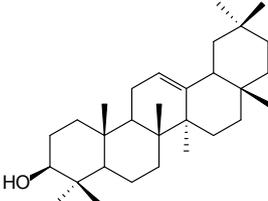
DITERPENÓIDES	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
derivados do beiereno	 <p>R = CO₂H R = CH₂OH</p>	<i>S. asperrulus</i> DC.	partes aéreas	ZDERO et al., 1989
rufusosídeos A e B	 <p>rufosídeo A R¹ H rufosídeo B β-D-glicopiranosil</p> <p>R² α-L-arabinopirano; α-L-arabinopirano</p>	<i>S. rufus</i> Hand- Mazz	partes aéreas	DONG-LIANG et al., 1993
manol		<i>S. macrocephalus</i> DC. <i>S. erubescens</i> Ait. var. <i>credifolius</i> DC.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1985
diterpenóide monocíclico		<i>S. trichopterygius</i> Muscher	raízes	BOHLMANN et al., 1980

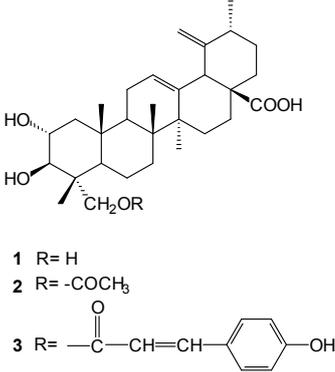
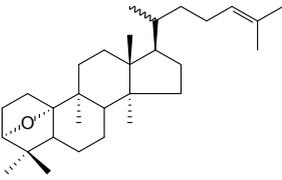
diterpenos do tipo sandaro-copimareno		<i>S. asperrulus</i> DC.	raízes	BOHLMANN; ZDERO, 1982b
---------------------------------------	---	-----------------------------	--------	------------------------------

2.2.5.6 Triterpenóides

Os triterpenóides são compostos pouco voláteis e já foram isolados de diferentes espécies de *Senecio* (Tabela 16).

Tabela 16 - Exemplos de triterpenóides descritos para o gênero *Senecio*

TRITERPENÓIDES	ESTRUTURA	ESPÉCIE	PARTE VEGETAL	REFERÊNCIA
esqualeno		<i>S. pohlii</i> Sch. Bip. ex Baker <i>S. othonnaeflorus</i> DC.	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1985 ZDERO et al., 1989
β-amirina		<i>S. ochoanus</i> Cuatr	partes aéreas	TUNDIS et al., 2005;

triterpenóides pentacíclicos poli- hidroxilados	 <p>1 R= H 2 R= -COCH₃ 3 R= $\text{—C(=O)—CH=CH—C}_6\text{H}_4\text{—OH}$</p>	<i>S. pseudotites</i> Griseb.	partes aéreas	TOMMASI et al., 1998
triterpenóides tetracíclicos com esqueleto 9-epi- cucurbitano		<i>S. selloi</i> (Spreng.) DC.	partes aéreas	RÜCKER et al., 1999

2.3 *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC.

Senecio crassiflorus (Poir.) De Candolle é uma espécie nativa das praias e dunas costeiras do litoral Atlântico, do sul do Brasil até a Argentina (ALBERTO; FONTOURA, 1999; STUTZ; PRIETO, 2003; DELFINO; MASCIADRI, 2005; CORDEIRO, 2005; CALLIARI et al., 2005; SILVA et al., 2006). Entretanto, McKenzie (1981) relata a presença desta espécie na Nova Zelândia. Segundo estudos de Webb (1987) a espécie foi encontrada nas margens do rio Hutt deste mesmo país.

A espécie se desenvolve nas dunas frontais, definidas como cordões paralelos à linha da costa e formadas logo após o pós-praia quando sedimentos, preferencialmente de granulometria fina, são transportados pelo vento e depositados quando encontram algum tipo de barreira, geralmente representada pela vegetação psamófila que age como pioneira, formadora e fixadora de dunas (CORDAZZO; COSTA, 1989; CALLIARI et al., 2005; CORDEIRO, 2005). Esta área apresenta contínuo movimento de substrato, flutuações na temperatura do solo superficial, pouca retenção de água, escassez de nutrientes, maresias, areias móveis, alta incidência luminosa e salinidade que criam um ambiente muito extremo. Devido a estes aspectos, as espécies vegetais apresentam características morfológicas e fisiológicas próprias, que permitem sua sobrevivência neste ambiente (DELFINO;

MASCIADRI, 2005). As espécies que se desenvolvem nas dunas frontais possuem caules que acompanham as modificações de superfície (estoloníferos) ou que penetram na areia (rizomatosos), funcionando como barreiras à movimentação de areia com crescimento horizontal e vertical, evitando assim o soterramento com o crescimento da duna. Também são comuns os mecanismos de regeneração vegetal através de fragmentos rizomatosos (*Panicum racemosum*), bem como a presença de pêlos, folhas carnosas com cutículas grossas como *S. crassiflorus* (DELFINO; MASCIADRI, 2005).

Ao longo do litoral norte do Rio Grande do Sul as espécies *Panicum racemosum* e *S. crassiflorus* são dominantes. *P. racemosum* é uma gramínea perene, que apresenta maior vigor de florescimento e crescimento na primavera uma vez que nesta época os ventos ficam mais intensos, produzindo maior acumulação de areia e, portanto, maior entrada de nutrientes. Assim inibe o desenvolvimento de outras espécies, entre elas *S. crassiflorus*, no setor frontal da duna, a qual não se adapta a grande aporte de areia e encontra condições de desenvolvimento na crista da duna, onde o aporte é mais reduzido (CALLIARI et al., 2005) (Figura 1).



Figura 1 – Dunas frontais no município de Capão da Canoa/RS, final da primavera/2006

A interação de *S. crassiflorus*, que se desenvolve no litoral catarinense, com insetos foi estudada por SILVA et al. (2006). No total 13 espécies de nove famílias demonstraram ser polinizadoras deste vegetal. O maior número de visitas ocorreu no período das 10 às 12 horas, tendo um declínio ao longo do dia, fato que o autor atribui à queda de temperatura e aumento dos ventos. Os grupos formados pelas abelhas e borboletas representaram, respectivamente, 55 % e 26 % das visitas, sendo a *Apis mellifera* e *Danaus gilippus* os visitantes mais freqüentes. Quanto ao comportamento destes insetos, constatou-se que *S. crassiflorus*, por possuir flor amarela, corola tubular, antese diurna, e ainda, apresentar-se mecanicamente forte, possui a melitofilia como a sua mais evidente síndrome de polinização. Devido ao seu curto período de floração, *S. crassiflorus* é considerado um recurso efêmero para os visitantes florais. Como consequência, ao disponibilizar diferentes tipos de recurso (néctar e pólen), atrai elevado número de visitantes florais, participando de um grande número de interações ecológicas.

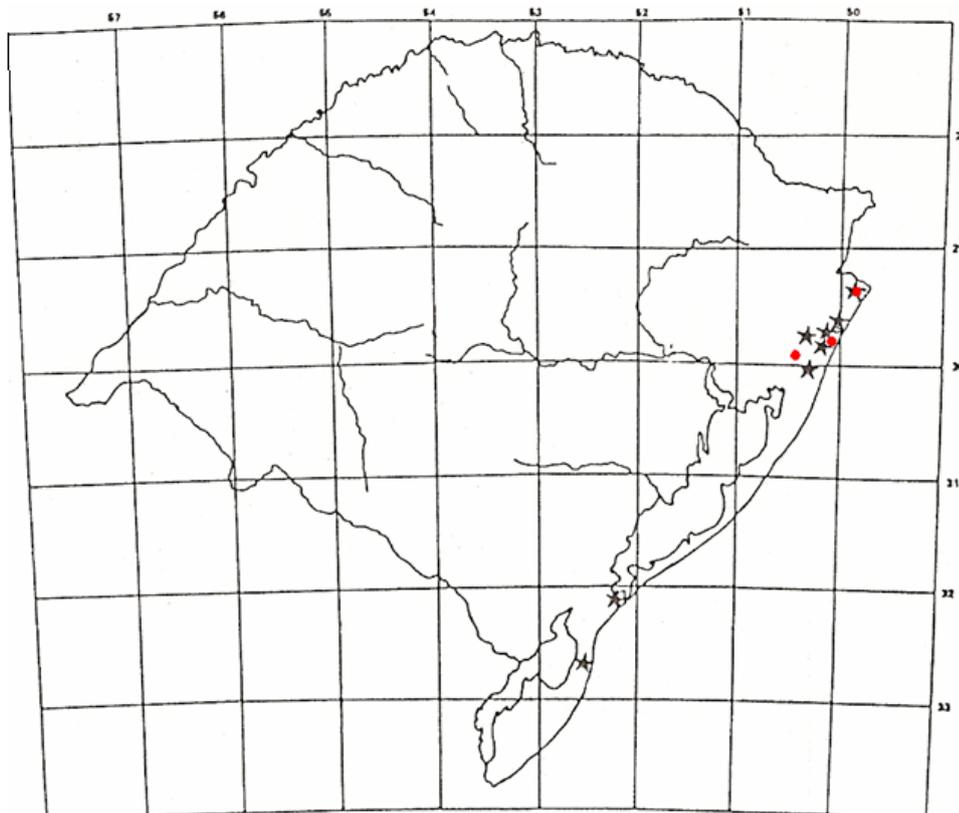


Figura 2 - Distribuição de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* (★) e *S. crassiflorus* var. *maritimus* (●) (Adaptado de MATZENBACHER, 1998)

No estudo de Matzenbacher (1998) foi evidenciado que no estado do Rio Grande do Sul, *S. crassiflorus* apresenta duas variedades: *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* e *Senecio crassiflorus* var. *maritimus* (Malme) Cabrera. A distribuição destas espécies pode ser observada na Figura 2. A seguir o detalhamento botânico, os dados fenológicos e as observações ecológicas descritas para estas variedades.

2.3.1 *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*

2.3.1.1 Descrição botânica

Senecio crassiflorus (Poir.) DC. var. *crassiflorus* (Figuras 3, 4 e 5) é popularmente conhecida como macela-graúda (CABRERA; KLEIN, 1975; ALBERTO; FONTOURA, 1999), “boleo” (CABRERA, 1974); margarida-das-dunas e marcela graúda (CORDAZZO; SEELIGER, 1988) (Figura 1 e 2). Segundo Matzenbacher (1998):

É uma erva perene, ramificada pela base, com caules rizomatosos, plagiotrópicos, de até 3,0 m de comprimento; ramos terminais ascendentes a eretos, com 20 - 30 cm de altura, densamente albo-tomentosos. Folhas suculentas, oblanceoladas, espatuladas, obtusas a subagudas no ápice, longamente atenuadas na base em pseudo-pecíolo, inteiras ou apenas trilobadas no ápice, **densamente albo-tomentosas em ambas as faces**, de 4 - 10 cm de comprimento por 1,2 - 3,0 cm de largura.

Capítulos radiados, solitários ou agrupados em 2 - 5, formando corimbos laxos no extremo dos ramos, mediana a longamente pedunculados, involúcro cilíndrico, caliculado, de 17 - 20 mm de altura por 15 - 18 mm de diâmetro; cálculo com 4 filárias linear-lanceoladas, 10 mm de comprimento. Brácteas involucrais, 19 - 20, unidas umas às outras através de pêlos entrelaçados, linear-lanceoladas, agudas e peniciladas no ápice, densamente albo-tomentosas no dorso. Flores dimorfas: as do raio, 20 - 21, em 2 - 3 séries, pistiladas, liguladas, amarelo-claro, tubo da corola com 10 mm de comprimento e lígula com 18 - 25 mm de comprimento por 7 - 9 mm de largura, com 4 - 6 nervuras, sendo que somente 4 nervuras vão até o ápice, que é tridentado; flores do disco amarelas, monoclinas, muito

numerosas, tubulosas, amarelas, pentalobadas no ápice, de 12 mm de comprimento. Aquênios densamente seríceo-pubescentes, sulcados, com 7 - 8 sulcos, 5,0 – 5,5 mm de comprimento. Papo branco com fios muito finos e sedosos, 11 – 12 mm de comprimento.

A espécie apresenta acentuado polimorfismo foliar que se manifesta, às vezes, na própria planta individualmente considerada (Matzenbacher, 1998).

Segundo Matzenbacher (1998) *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* apresenta as seguintes sinonímias:

- *Cineraria vestita* Spreng.
- *Senecio andryaloides* DC.
- *Senecio culcitium* Remy
- *Senecio crassiflorus* var. *tricuspis* Baker
- *Senecio crassiflorus* var. *andryaloides* (DC.) Arech



Figura 3 - *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* - aspecto geral da planta (FONTE: MATZENBACHER, 1998)

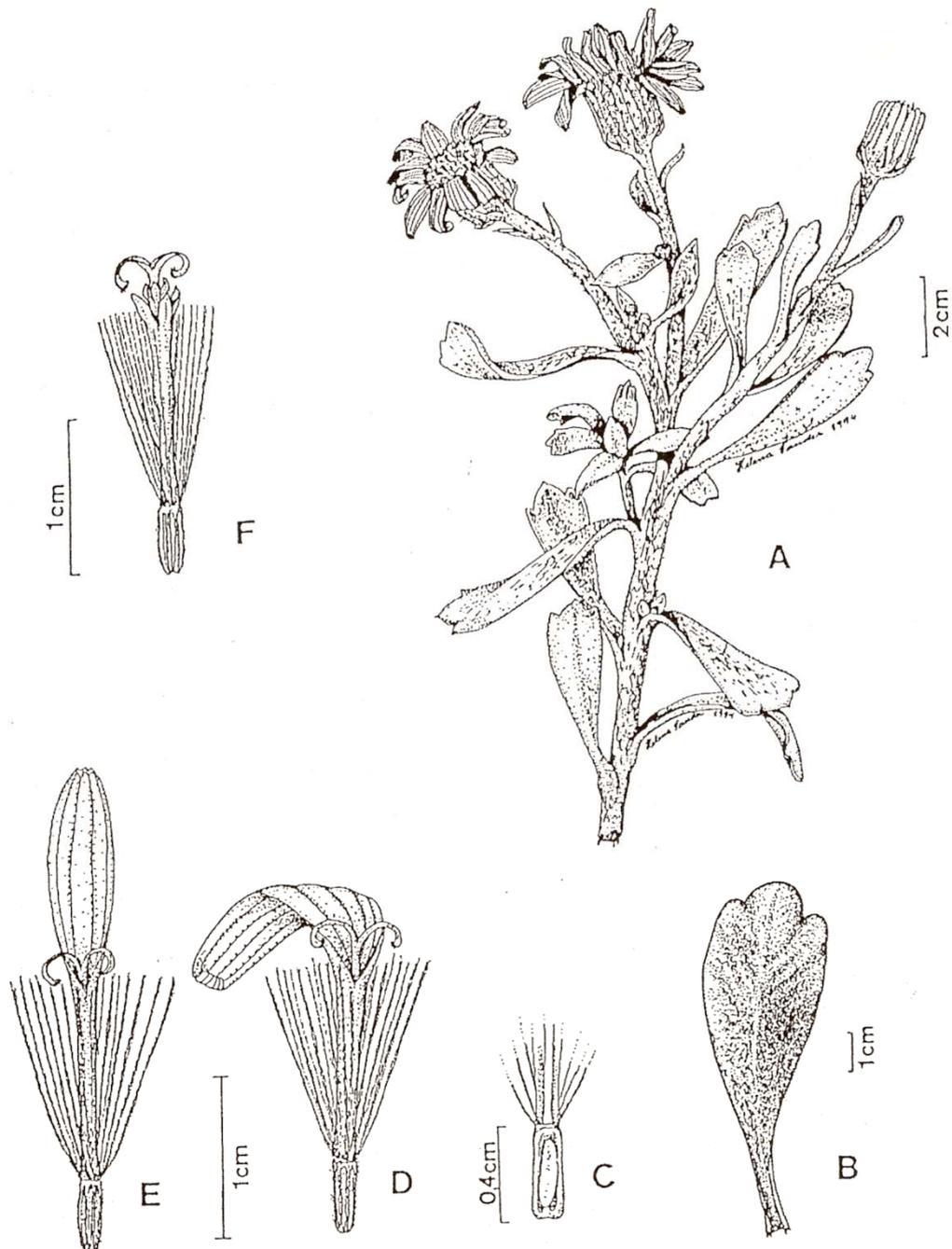


Figura 4 - *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*: A – ramo florífero; B – folhas caulinar; C – detalhe do aquênio em corte longitudinal mediano; D e E – flores liguladas do raio; F- flor tubulosa do disco. (FONTE: MATZENBACHER, 1998)



Figura 5 - *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* - aspecto geral da planta

2.3.1.2 Dados fenológicos e observações ecológicas

A floração e frutificação de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* ocorre principalmente de setembro a novembro, com menor frequência nos meses de julho e agosto, e de janeiro a março. É uma erva psamófila que se desenvolve no litoral arenoso do sul do Brasil até o Uruguai e Argentina. Também ocorre em dunas fluviais no nordeste da Argentina, sendo responsável pela fixação das dunas (CABREIRA; KLEIN, 1975).

2.3.2 *Senecio crassiflorus* var. *maritimus* (Malme) Cabrera

2.3.2.1 Descrição botânica

Matzenbacher (1998) descreveu as características botânicas de *Senecio crassiflorus* var. *maritimus* (Figura 6):

Ervas reptantes, ascendentes no escapo floral, glabras alaxamente albo-tomentosas. Folhas espatuladas, crassas, tridentadas no ápice,

com dentes agudos, às vezes alguns dentes na margem; **glabras no epifilo e laxamente albo-tomentosas no hipofilo**, 6,0 – 7,0cm de comprimento por 1,0 cm de largura.

Capítulos corimbosos, 3-4, em breves pedúnculos; involúcro cilíndrico, caliculado, de 15,0-16,0mm de altura por 13,0mm de diâmetro, laxamente albo-tomentoso, calículo com 6 filárias linear-lanceoladas, 4,0mm de comprimento. Brácteas involucrais com curto ápice avermelhado. Flores do raio liguladas, 21, em 2-3 séries, amarelo-claro, lígula com 16,0- 18,0mm de comprimento por 4,0-5,0mm de largura.

Senecio crassiflorus var. *maritimus*, conforme Matzenbacher (1998), apresenta as seguintes sinonímias:

- *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *tricuspis* Baker
- *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *tricuspis* Baker for. *maritima* Malme



Figura 6 - *Senecio crassiflorus* var. *maritimus* - aspecto geral da planta.

(FONTE: MATZENBACHER, 1998)

2.3.2.2 Dados fenológicos e observações ecológicas

S. crassiflorus var. *maritimus* desenvolve-se juntamente com a variedade *crassiflorus* nas dunas litorâneas do sul do Brasil e no Uruguai até o rio da Prata. Floresce e frutifica de setembro a novembro (MATZENBACHER, 1998).

2.3.3 Toxidade e uso popular de *S. crassiflorus* (Poir.) DC.

S. crassiflorus é considerada uma planta potencialmente tóxica (JARES, 1989 apud TETTAMANZI et al., 1994) devido à presença dos alcalóides pirrolizidínicos (CALIXTO, 2000). Entretanto, não foram encontrados dados na literatura que evidenciem o uso da espécie como planta medicinal ou relatos de toxicidade em animais e humanos.

Um relatório do Instituto Nacional de Agropecuária do Uruguai (2004) sugere um possível uso de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* e *S. crassiflorus* var. *maritimus* como plantas aromáticas.

2.3.4 Constituintes químicos descritos para *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC

A partir de um extrato etéreo das partes aéreas de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. foram isolados três sesquiterpenóides do tipo isodaucano: 10 - oxo - isodauc - 3 - en - 15 - al, afanamol I, afanamol II (JARES; POMÍLIO, 1989) (Figura 7). Os dois últimos já tiveram um método de síntese desenvolvido (HARMATA; CARTER, 1997). Em outros estudos com extratos vegetais contendo sesquiterpenóides do tipo isodaucano, foi detectada uma atividade antimalárica *in vitro* (TCHUENDEM et al., 1999).

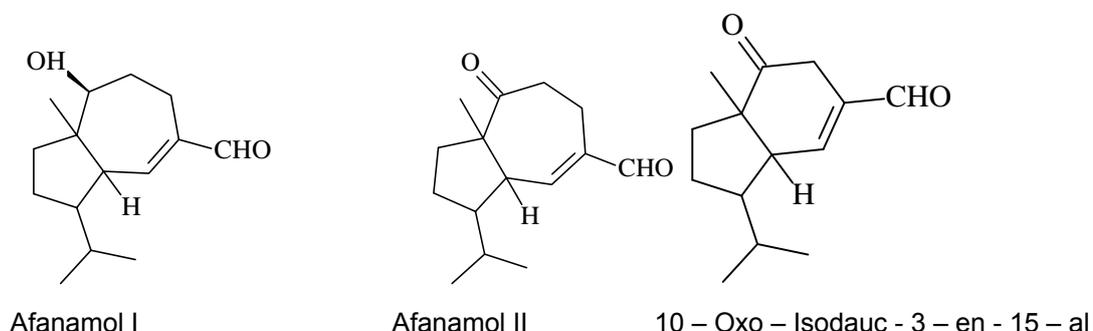


Figura 7 - Isodaucanos obtidos das partes aéreas de *Senecio crassiflorus* (JARES; POMÍLIO,1989)

No estudo de Tettamanzi et al., 1994, foram isolados das partes aéreas secas de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC.: campesterol, stigmasterol, sitosterol, di-hidroxitosterol, Δ^7 -sitosterol, di-hidrocampesterol, di-hidrostitgmasterol, colesterol, Δ^7 -colesterol, stigmast-4-en-3-ona, stigmast-4,6-dien-3-ona, stigmast-3,5-dien-7-ona, stigmast-3,5-dieno, stigmast-1,3,5-trieno, sitosterona, 5,6-di-hidroxitosterol, senecionina, seneciofillina, N-óxido de senecionina, N-óxido de seneciofillina, colina, crisina, tricina, luteolina, quercetina-3-O- α -L-arabinopiranosideo e acetato de α -amirina.

2.3.4.1 *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*

A presença de alcalóides pirrolizidínicos já foi pesquisada em inflorescências de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*, sendo identificados os do tipo senecionina: E-integerrimina, Z-senecionina, rosmarinina; também foi detectada a sarracina, pertencente a um tipo de triangularina (TRIGO et al., 2003).

2.3.4.2 *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *maritimus*

Das inflorescências de *S. crassiflorus* var. *maritimus* já foram isolados os alcalóides pirrolizidínicos senecionina, seneciofilina, senecivernina e senquirquina (TRIGO et al., 2003)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedimentos gerais

Os solventes e reagentes utilizados foram procedentes das marcas Belga, Quimex, Vetec, Nuclear ou Merck, de grau p.a. Os solventes e a água utilizados nos experimentos e na preparação de reagentes e diluentes foram recentemente destilados, exceto o éter etílico.

Para as cromatografias analíticas em camada delgada (CCD) foram utilizadas cromatofolhas com gel de sílica GF₂₅₆ Merck, de espessura de 0,2 mm, com suporte de alumínio 20 X 20 cm. As análises por CCD foram realizadas em cuba saturada, com migração ascendente. Como fases móveis foram utilizados vários eluentes, entre eles o diclorometano (CH₂Cl₂), hexano: acetona e hexano: éter etílico em diferentes proporções. Em alguns casos o gel de sílica foi impregnado com solução de nitrato de prata 10%, conforme descrito por Stahl (1969).

A detecção das substâncias sobre CCD se deu pela visualização sob luz ultravioleta (UV) em comprimentos de ondas de 254 e 365 nm, seguida de aspersão da placa com o reagente cromogênico anisaldeído-ácido sulfúrico e aquecimento a 100° C.

Para as cromatografias em coluna (CC) foi utilizado gel de sílica 60 Merck com tamanhos de partículas 63-200 µm. Eventualmente o gel de sílica também foi impregnado com solução de nitrato de prata 10% (STHAL, 1969).

Para a elucidação estrutural da substância isolada, foram utilizadas as seguintes técnicas espectrais: espectrometria de massas por impacto eletrônico (EM-IE); espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C (RMN ¹H e RMN ¹³C).

A extração dos constituintes voláteis foi realizada pelo método de hidrodestilação, utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000). A análise dos componentes dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) através da

comparação da fragmentação dos constituintes com um banco de dados e por comparação dos índices de retenção de Kovats com a mistura padrão (Sigma).

Os espectros de massas foram obtidos no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) e os de RMN, no Departamento de Química, ambos da UFSM.

Além de todos os materiais de vidrarias presentes em um laboratório de fitoquímica, os seguintes equipamentos foram utilizados no desenvolvimento do trabalho:

- Balança analítica OHAUS Voyager;
- Balança semi-analítica MARTE AS5500C;
- Banho de ultrassom THORNTON Unique UCS 750;
- Bomba de vácuo (compressor) PRIMAR modelo 141;
- Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM): cromatógrafo gasoso AGILENT 6890, equipado com um detector seletivo de massas série 5973 e um injetor automático; parâmetros da CG: split inlet 1:100; gás carreador: hélio (1mL/min); coluna capilar de sílica fundida HP5MS (Hewlett Packard, 5 % fenilmetilsiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm diâmetro, espessura do filme: 0,25 µm); programa de análise: 40°C (Ti) por 4 min, 40-260 °C, 4°C/min; temperatura do injetor: 220°C; energia de ionização: 70 eV; banco de dados: NIST, 1998. Para diluição das amostras utilizou-se hexano grau pesticida. A porcentagem das áreas dos picos foi determinada com base nos íons totais (TIC).
- Espectrômetro de RMN Brucker DPX-400 (RMN ¹H → 400 MHz e RMN ¹³C → 100 MHz). A amostra foi solubilizada em clorofórmio deuterado (CDCl₃). Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em “ppm”, em relação ao TMS.
- Estufa BIOMATIC modelo 301;
- Evaporador rotatório BÜCHI R – 114, acoplado a um banho de água BÜCHI Waterbaht B- 480 e a uma trompa d'água;
- Lâmpada de UV CHROMATO UVE;
- Lâmpada de UV BOITTON;
- Aparelho tipo Clevenger modificado;
- Manta de aquecimento Marca FISATOM.
- Destilador de água FABBE modelo 106.

3.2 Material vegetal

A espécie foi localizada e identificada pelo Prof. Dr. Nelson Ivo Matzenbacher, do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UFRGS. As partes aéreas de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*, utilizadas para o preparo do extrato diclorometânico visando o isolamento do metabólito secundário foram coletadas em abril de 2004, no município de Capão da Canoa – RS. Material testemunha encontra-se depositado no herbário do Departamento de Biologia da UFSM sob o registro nº SMDB 9520.



Figura 8 – *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* – aspecto geral da planta no local de coleta: Capão da Canoa/RS, abril de 2006

As partes aéreas e caules rizomatosos de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* (Figura 8) usados para a obtenção dos óleos essenciais e dos extratos diclorometânico e etanólico foram coletados em abril de 2006, nas dunas da praia do município de Capão da Canoa – RS. Material testemunha encontra-se depositado no

herbário do Departamento de Biologia da UFSM sob o registro nº SMDB 10132. Em dezembro de 2006, nova coleta foi realizada no mesmo local (Figuras 9, 10 e 11) com a finalidade de obtenção de óleo essencial e avaliação da atividade antibacteriana. O material testemunha encontra-se no mesmo herbário sob o registro nº SMDB 10406. As coletas foram efetuadas entre 11 e 12 horas.



Figura 9 - *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* – aspecto geral da planta no local de coleta: Capão da Canoa/RS, dezembro de 2006



Figura 10 - *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* – detalhe ampliado da Fig. 9 , presença de inflorescências secas



Figura 11 – Vista geral de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*, nas dunas frontais de Capão de Canoa/RS, local da coleta realizada em dezembro de 2006

3.3 Preparação do extrato

3.3.1 Preparação do extrato diclorometânico para o fracionamento

A extração do material vegetal fresco foi realizada pelo processo de maceração, utilizando-se diclorometano como solvente. As partes aéreas (1100 g), sem a presença de inflorescências, foram grosseiramente divididas com o auxílio de podões, pesadas, colocadas em frasco âmbar e recobertas com o solvente, sendo

submetidas a agitação diária (1ª maceração). Após a um período mínimo de 8 dias, o líquido extrativo foi filtrado por algodão e o material vegetal foi então recoberto com nova quantidade do mesmo solvente (2ª maceração). Transcorrido um período mínimo de 8 dias, este segundo líquido extrativo foi filtrado e os dois extratos resultantes, da primeira e segunda macerações, foram reunidos. O extrato diclorometânico foi evaporado em evaporador rotatório, a uma temperatura inferior a 25°C, obtendo-se desta forma, o extrato diclorometânico das partes aéreas, que teve seu peso seco determinado para cálculo do rendimento.

3.3.2 Preparação dos extratos diclorometânico e etanólico para os testes de atividade antibacteriana

O material vegetal fresco, coletado em abril de 2006, foi separado em folhas (59 g) e caules (12 g) a fim de obter-se os extratos diclorometânicos e etanólicos das folhas e caules aéreos, separadamente. A seguir, procedeu-se a preparação dos extratos diclorometânicos por maceração, conforme descrito no item 3.3.1. Após a segunda maceração com diclorometano, o material vegetal foi recoberto por etanol (3ª maceração) e submetido a uma agitação diária. Depois de um período mínimo de 8 dias, o líquido extrativo foi filtrado por algodão e o material vegetal foi recoberto pelo mesmo solvente (4ª maceração). Passados no mínimo 8 dias, filtrou-se o líquido extrativo da última maceração. Os extratos etanólicos foram reunidos e concentrados em evaporador rotatório a uma temperatura não superior a 40°C, a fim de obter-se o extrato seco para o cálculo do rendimento.

3.4 Fracionamento preliminar do extrato diclorometânico

O fracionamento preliminar do extrato obtido a partir da coleta realizada em abril de 2004 foi iniciado através de cromatografia em coluna do tipo flash. Nesta técnica, o gel de sílica foi suspenso no eluente (diclorometano) e a suspensão foi transferida para uma coluna de vidro. Após a transferência e compactação do

adsorvente, a amostra foi ressuspensa em pequena quantidade de eluente e aplicada sobre a coluna de gel de sílica.

Os constituintes do extrato foram eluídos através da coluna com o auxílio de uma bomba de vácuo acoplada à extremidade superior desta. As frações recolhidas possuíam volume variável, na dependência da sua coloração, não excedendo o volume de 900 mL.

Os resultados da separação foram monitorados por CCD, utilizando-se anisaldeído-ácido sulfúrico como revelador, sendo que as frações foram reunidas conforme a semelhança de seus constituintes.

3.4.1 Coluna 1

Coluna: 100 g de gel de sílica 60 para cromatografia em coluna.

Amostra: 3,1 g do extrato diclorometânico bruto de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*.

Eluente: CH₂Cl₂ (frações 1- 9) e mistura de CH₂Cl₂: EtOH, na proporção 9:1 (frações 10 - 16) e etanol (frações 17 – 18).

Foram coletadas 18 frações de volume variável (Tabela 17).

Tabela 17 - Rendimento da frações obtidas da coluna 1

Frações	Código	Rendimento (mg)
Frações 1 - 2	1 col. 1	701,3
Frações 3 - 5	2 col. 1	684,6
Frações 6 -7	3 col. 1	172,8
Frações 8 - 10	4 col. 1	46,6
Fração 11	5 col. 1	36,3
Fração 12	6 col. 1	1003
Fração 13	7 col. 1	184,2
Fração 14	8 col. 1	135,2
Frações 15 - 17	9 col. 1	103,6
Frações 18 - 19	10 col. 1	27,7
TOTAL		3095,3

As frações obtidas da coluna 1 foram analisadas por CCD, utilizando-se o CH_2Cl_2 e hexano: acetona na proporção (9:1) como eluentes. Após a revelação das placas com anisaldeído-ácido sulfúrico, observou-se manchas características de terpenóides em 1 e 2 col. 1. Na seqüência, optou-se por trabalhar inicialmente com 1 col. 1, devido à mesma apresentar uma maior concentração de terpenóides.

3. 5 Isolamento do sesquiterpeno AM1

O isolamento do constituinte AM1 de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* encontra-se esquematizado na Figura 12 e foi realizado através da cromatografia em coluna, seguindo-se a mesma técnica descrita no item 3.4, porém sem a utilização de pressão.

3.5.1 Coluna 2

Coluna: 60 g de gel de sílica 60 para cromatografia em coluna, impregnado com AgNO_3 (sol. 10%).

Amostra: 701,3 mg de 1 col.1.

Eluente: hexano: acetona (98:2)

Fluxo: 30 gotas/ minuto

Foram coletas 75 frações de 30 mL (Tabela 18).

Tabela 18 - Rendimento das frações obtidas na coluna 2

Frações	Rendimento (mg)
Frações 1-5	396,6
Frações 6 - 7	103,3
Fração 10	13,6

Fração 11	15,3
Fração 12	10,9
Fração 13	9,7
Frações 14 - 18	8,5
Frações 19 - 21	20
Frações 22 - 23	0,8
Frações 24 - 26	10,3
Frações 27 - 29	40,5
Frações 30 - 31	2,3
Frações 32 - 36	2,7
Frações 37 - 41	3,6
Frações 42 - 46	3,4
Frações 47 - 57	4,6
Frações 58 - 64	0,6
Frações 65 - 72	7,8
Frações 73 - 75	5,6
TOTAL	670,1

Pelo perfil cromatográfico em CCD, as frações 27-29 demonstraram tratar-se de uma substância isolada, que recebeu a denominação de AM1. A mesma foi submetida à análise por CG-EM, RMN ^{13}C e RMN ^1H .

Composto AM1: óleo amarelo-claro. $R_f = 0,28$ (gel de sílica F_{254} impregnado com AgNO_3 10%; hexano:acetona 98:2, 3 migrações; visualização após nebulização com anisaldeído- H_2SO_4). EM-IE 70 eV, m/z (%) 204 $[\text{M}]^+$ (12), 161(100), 147(7), 133(23), 119(41), 105(68), 91(70), 79(45), 55(22), 41(51), calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ 204 (Figura 13, p. 76). Para RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) e RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) ver as Tabelas 24 e 25; Figuras 15,16,17.

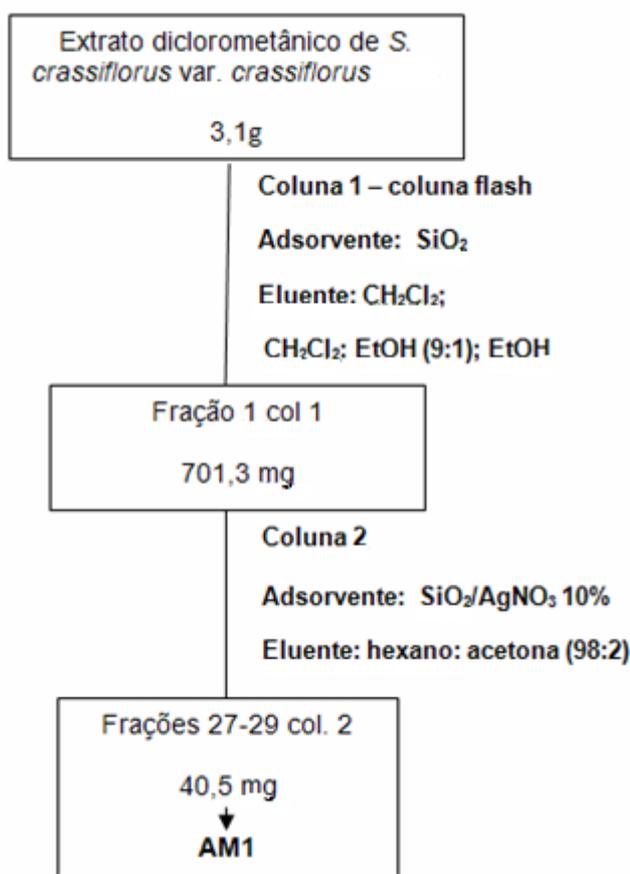


Figura 12 - Esquema do isolamento de AM1 a partir do extrato diclorometânico de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2004

3.6 Obtenção dos óleos essenciais

A extração dos óleos essenciais das folhas, caules aéreos, partes aéreas (folhas e caules, sem a presença de inflorescências) e caules rizomatosos de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus* foi realizada separadamente. Para isto, os órgãos vegetais foram grosseiramente divididos com auxílio de podões, pesados e colocados em um balão. O óleo foi extraído pelo método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado, conforme a técnica descrita na Farmacopéia Brasileira 4^a ed. O material vegetal foi destilado por 3 horas. Os óleos essenciais obtidos tiveram os seus volumes determinados para cálculo do rendimento em relação ao material vegetal fresco (%v/m). Devido ao baixo volume obtido, o óleo não pode ser dessecado com sulfato de sódio anidro,

sendo armazenado em um frasco de vidro vedado e conservado a -18°C até o momento das análises.

Na Tabela 19 estão discriminadas as partes de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletadas em abril de 2006, a massa do material vegetal utilizada para a obtenção dos óleos essenciais e os códigos atribuídos ao óleos extraídos. Na Tabela 20 estão os dados referentes à coleta de dezembro de 2006.

Tabela 19 - Órgão do vegetal, massa, e códigos dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

Parte do vegetal	Massa do vegetal fresco (Kg)	Código
Folhas	3,46	OF1
Caules aéreos	1,37	OC1
Caules rizomatosos	0,49	OR1

Tabela 20 - Órgão do vegetal, sua massa e códigos atribuídos aos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em dezembro de 2006

Parte do vegetal	Massa do vegetal fresco (Kg)	Código
Folhas	3,00	OF2
Caules aéreos	1,30	OC2
Caules rizomatosos	0,95	OR2
Partes aéreas	0,64	OPA

3.7 Análise qualitativa e quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais

Os óleos essenciais obtidos por hidrodestilação foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

As amostras para CG foram preparadas utilizando-se alíquotas dos óleos essenciais dissolvidos em hexano grau pesticida.

Os componentes dos óleos essenciais foram identificados com base no índice de retenção de Kovats (IK), determinados através da utilização de uma curva de calibração de uma série homóloga de *n*-alcanos (C₈-C₃₂) (Sigma) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras e nos modelos de fragmentação dos espectros de massas, sendo ambos comparados com dados da literatura e com o banco de dados do aparelho, no caso dos espectros de massas (NIST,1998).

A equação utilizada para o cálculo do Índice de Kovat's (YILIANG et al., 1993) é mostrada abaixo:

$$I = 100 \left[\frac{t_{Ri} - t_{Rz}}{t_{R(z+1)} - t_{Rz}} + z \right]$$

onde: *I* = índice de retenção de Kovat's

*t*_{Ri} = tempo de retenção do pico da amostra

*t*_{Rz} = tempo de retenção do pico do *n*-alcano que elui imediatamente antes do pico da amostra

*t*_{R(z+1)} = tempo de retenção do pico do *n*-alcano que elui imediatamente depois do pico da amostra

z = número de carbonos do pico do *n*-alcano que elui imediatamente antes do pico da amostra

A concentração dos constituintes foi calculada através da área integral de seus respectivos picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra, obtida pela análise utilizando o cromatógrafo gasoso.

3.8 Determinação da massa específica volúmica (densidade) dos óleos essenciais

Para determinar a massa específica dos óleos essenciais um volume conhecido foi medido com pipeta automática. A seguir, sua massa foi verificada em uma balança analítica. Os resultados obtidos foram aplicados na fórmula:

$$D = m/v$$

Onde D é a densidade (Kg.m^{-3}); m é a massa (Kg) do óleo; e v (m^3) é o volume do óleo.

3.9 Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e dos extratos diclorometânico e etanólico

3.9.1 Atividade antibacteriana *in vitro*

Os testes para a avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais e dos extratos etanólico e diclorometânico foram realizados no Laboratório de Bacteriologia/ CCS/ UFSM, com a colaboração da Prof. Dra. Rosmari Hörner. Para tanto utilizou-se o método de microdiluição em Caldo Mueller-Hinton, baseado na técnica M7-A6 (NCCLS/CLSI, 1997). Foram determinadas a Concentração Inibitória Mínima (CIM), que é menor concentração do composto testado capaz de inibir completamente o crescimento do microrganismo (bacteriostático), e a Concentração Bactericida Mínima (CBM), conceituada como sendo a menor concentração em que o composto é capaz de agir como bactericida. A CBM foi realizada após a leitura do CIM nos poços onde não foi observado crescimento bacteriano. Foi feito o repique para placas com ágar Mueller-Hinton que, após 48 horas de incubação, foram lidas. As amostras dos óleos essenciais e extratos foram dissolvidas em etanol p.a com o auxílio de banho de ultrassom. As concentrações finais dos compostos no meio de cultura foram: 8200; 4100; 2050; 1025; 512,5; 256,25; 128,12; 64,06; 32,03 e 16,01 $\mu\text{g/mL}$. Os testes foram efetuados em triplicata. Como revelador foi utilizado cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio, onde o desenvolvimento da coloração vermelha indica a ocorrência de crescimento bacteriano (GABRIELSON et al., 2002).

As bactérias testadas frente aos óleos e aos extratos foram cepas American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia*

coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Bacillus cereus* ATCC 14579. Também foram testadas frente ao óleo essencial das folhas (OF1) as cepas hospitalares multiresistentes isoladas do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM): *Staphylococcus aureus* β -hemolítico, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobacter cloacae* e *Bacillus cereus*. Apenas esta última cepa hospitalar foi testada contra todas as amostras de óleo essencial e extratos. O isolamento da cepa de *Bacillus cereus* foi realizado a partir de uma cultura de sangue de paciente internada no HUSM, de 25 anos de idade, do sexo feminino, com diagnóstico de endocardite bacteriana.

3. 9. 2 Determinação da atividade antifúngica e algicida *in vitro*

Os óleos essenciais das folhas e caules aéreos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*, coletadas em abril de 2006, tiveram sua atividade antifúngica e algicida avaliada no Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da UFSM, com a colaboração do Prof. Dr. Sydney Hartz Alves. Utilizou-se o método de microdiluição em caldo conforme preconizado no documento M27-A2 do NCCLS (2002), atualmente denominado CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) para fungos leveduriformes. A metodologia foi adaptada, substituindo-se os antifúngicos descritos no documento M27-A2, pelos óleos essenciais. Os óleos essenciais foram solubilizados em metanol e, na seqüência, realizou-se uma diluição em caldo RPMI 1640, a fim de se eliminar qualquer possibilidade de interferência do metanol na atividade antifúngica. Assim foi determinada a CIM (Concentração Inibitória Mínima) visualmente, considerando CIM_P (corresponde a menor concentração capaz de inibir 50% do crescimento fúngico, quando comparado com o controle positivo) e CIM_T, (corresponde a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento fúngico) com base no crescimento do controle positivo. Depois de realizada leitura do CIM, efetuou-se a CFM (Concentração Fungicida Mínima); para tanto foram observados os poços onde não houve crescimento visível e foi realizado o repique de alíquotas destes poços para placas de Petri contendo ágar Sabouraud; estas foram incubadas por 48 horas, à temperatura de 35° \pm 2° C e, após, realizou-se a leitura. A menor concentração onde não foi observado crescimento no ágar foi

considerada a CFM. O controle positivo era composto por 200 µL de inóculo sem o óleo/extrato a ser testado, já o negativo era constituído apenas por caldo RPMI. As concentrações testadas foram 4250; 2125; 1062,5; 2125; 1062,5; 531,25; 265,6; 132,8 e 66,4 µL/mL. Os testes foram realizados em duplicata. Os microrganismos testados encontram-se na tabela 21.

Os óleos essenciais obtidos da coleta realizada em dezembro de 2006 não foram avaliados quanto a atividade antifúngica e algicida *in vitro*.

Tabela 21 - Microrganismos utilizados para a avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*

Microorganismo	OF1	OC1
<i>Candida albicans</i> ATCC 44773	X	X
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 28952	X	
<i>Candida glabrata</i> ATCC 10231	X	X
<i>Candida dubliniensis</i> CBS 7987	X	X
Isolados clínicos		
<i>Candida krusei</i>	X	X
<i>Candida tropicalis</i>	X	X
<i>Candida lusitaneae</i>	X	X
<i>Prototheca zopfii</i>	X	X

OF1: óleo essencial das folhas; OC1: óleo essencial dos caules

4 RESULTADOS

4.1 Rendimento dos extratos diclorometânico, etanólico, da substância isolada e dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*

4.1.1 Rendimento dos extratos e da substância isolada, obtidos a partir do material vegetal coletado em abril de 2004

A partir de 1,1 Kg de material vegetal fresco, foram obtidos 3,1 g de extrato diclorometânico, o que corresponde a um rendimento de 0,28%, enquanto que o extrato etanólico forneceu 14,9 g (1,36%).

Partindo de 701,3 mg de 1 col.1. do extrato CH₂Cl₂, obteve-se 40,5 mg da substância AM1, o que corresponde a um rendimento 5,77% em relação ao extrato bruto. Em relação ao material vegetal, o rendimento de AM1 foi de 0,0037%

4.1.2 Rendimento dos extratos, obtidos a partir do material vegetal coletado em abril de 2006

Partindo-se de 59 g de folhas frescas foram obtidos 168 mg de extrato diclorometânico, correspondendo a um rendimento de 0,28%. A maceração com etanol resultou em 820 mg de extrato, correspondendo a um rendimento de 1,39%.

A partir de 12 g de caules frescos obteve-se 81 mg de extrato diclorometânico (rendimento = 0,68%). O extrato etanólico resultou em 558,3 g, sendo de 4,68% o rendimento correspondente.

4.1.3 Rendimento, caracteres organolépticos e densidade dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

Os dados sobre o óleo essencial obtido por hidrodestilação encontram-se na Tabela 22. O rendimento do óleo essencial dos caules rizomatosos não foi calculado devido ao baixo volume obtido.

Tabela 22 - Caracteres organolépticos, densidade e rendimento dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

Parte do vegetal	OF1	OC1	OR1
Massa extraída (Kg)	3,46	1,37	0,49
Cor	amarela esverdeada clara	amarela clara	levemente amarelada
Odor	característico	característico	característico
Densidade (g/mL)	0,910	0,903	0,860
Rendimento (%)	0,0226	0,0324	NC

OF1: óleo essencial das folhas; **OC1:** óleo essencial dos caules; **OR1:** óleo essencial dos caules rizomatosos; **NC:** não calculado

4.1.4 Rendimento dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em dezembro de 2006

Os resultados obtidos com a extração por hidrodestilação dos óleos essenciais das diferentes partes do vegetal encontram-se discriminados na Tabela 23.

Tabela 23 - Características físicas e rendimento dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em dezembro de 2006

Parte do vegetal	OF2	OC2	OR2	OPA
Massa extraída (Kg)	3,00	1,3	0,95	0,64
Cor	amarela clara esverdeada	amarela clara	levemente amarelada	amarela clara
Odor	característico	característico	característico	característico
Densidade (g/mL)	0,897	0,857	0,833	0,843
Rendimento (%)	0,0177	0,0267	0,0545	0,0231

OF2: óleo essencial das folhas; **OC2:** óleo essencial dos caules; **OR2:** óleo essencial dos caules rizomatosos; **OPA:** óleo essencial das partes aéreas

4.2 Análise estrutural da substância isolada

4.2.1 Elucidação estrutural de AM1

A substância AM1 foi isolada conforme descrito no item 3.5. O composto foi analisado por CG-EM, RMN ^1H , RMN ^{13}C (Figuras 13, 15, 16, 17) e seus dados espectroscópicos foram comparados com aqueles obtidos por outros autores (DEUSCHLE, 2003; SILVA, 2006; FRANCESCATO, 2007; HEINZMANN, B. M.; Prof. de farmacognosia, Universidade Federal de Santa Maria, endereço eletrônico: <berta.heinzmann@gmail.com>, dados não publicados; Tabelas 24 e 25) e com o banco de dados NIST (1998), no caso do espectro de massas.

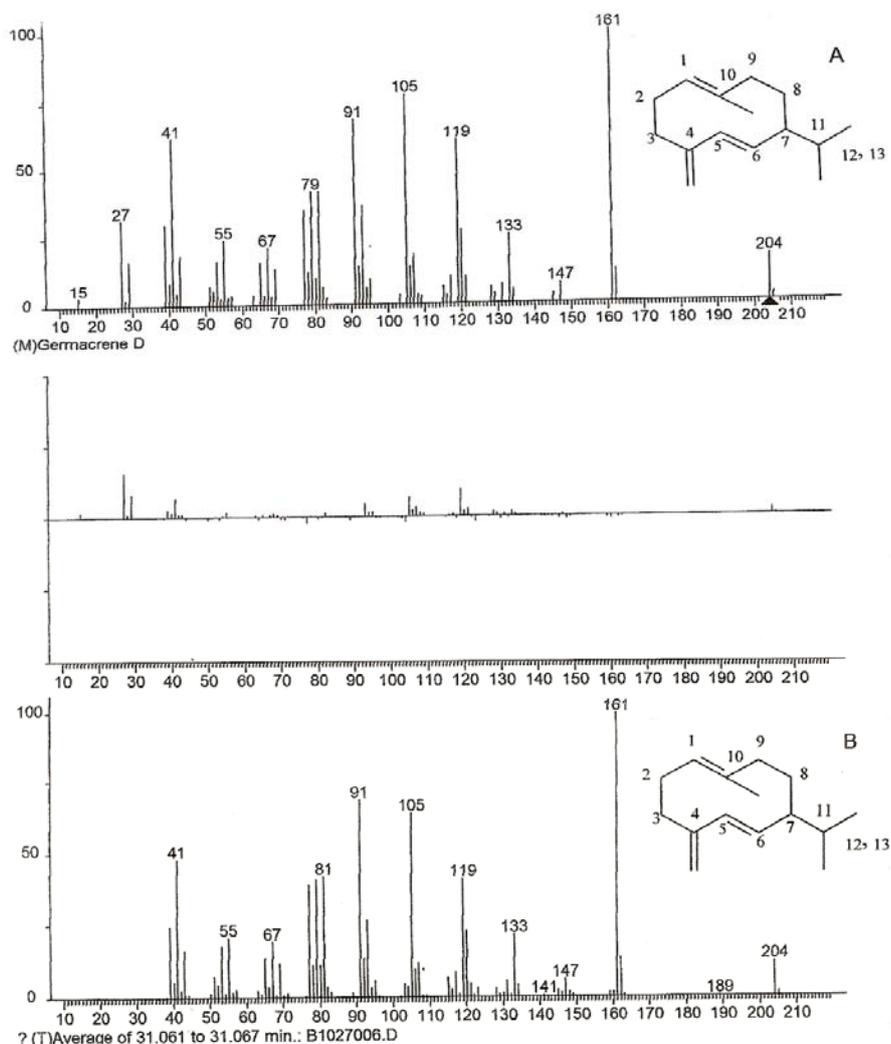


Figura 13 – Espectros de massas por impacto eletrônico do germacreno D (A) (NIST 1998) e de AM1(B)

Na análise por CG foi possível observar um único sinal com tempo de retenção de 31,053 minutos. No espectro de massas do composto AM1 (Figura 13), o sinal de maior massa encontra-se em m/z 204 u.m.a e corresponde ao íon molecular. Com base no modelo de fragmentação apresentado pela substância, foi sugerido pelo banco de dados do equipamento, uma série de substâncias com fragmentações semelhantes às da amostra. Dentre as substâncias sugeridas, o germacreno-D foi o composto que apresentou um modelo de fragmentação mais semelhante ao de AM1.

Os deslocamentos químicos no espectro de RMN ^1H indicam a ausência de oxigênio na molécula e a presença de três duplas ligações (Figuras 16 e 17; Tabela 25).

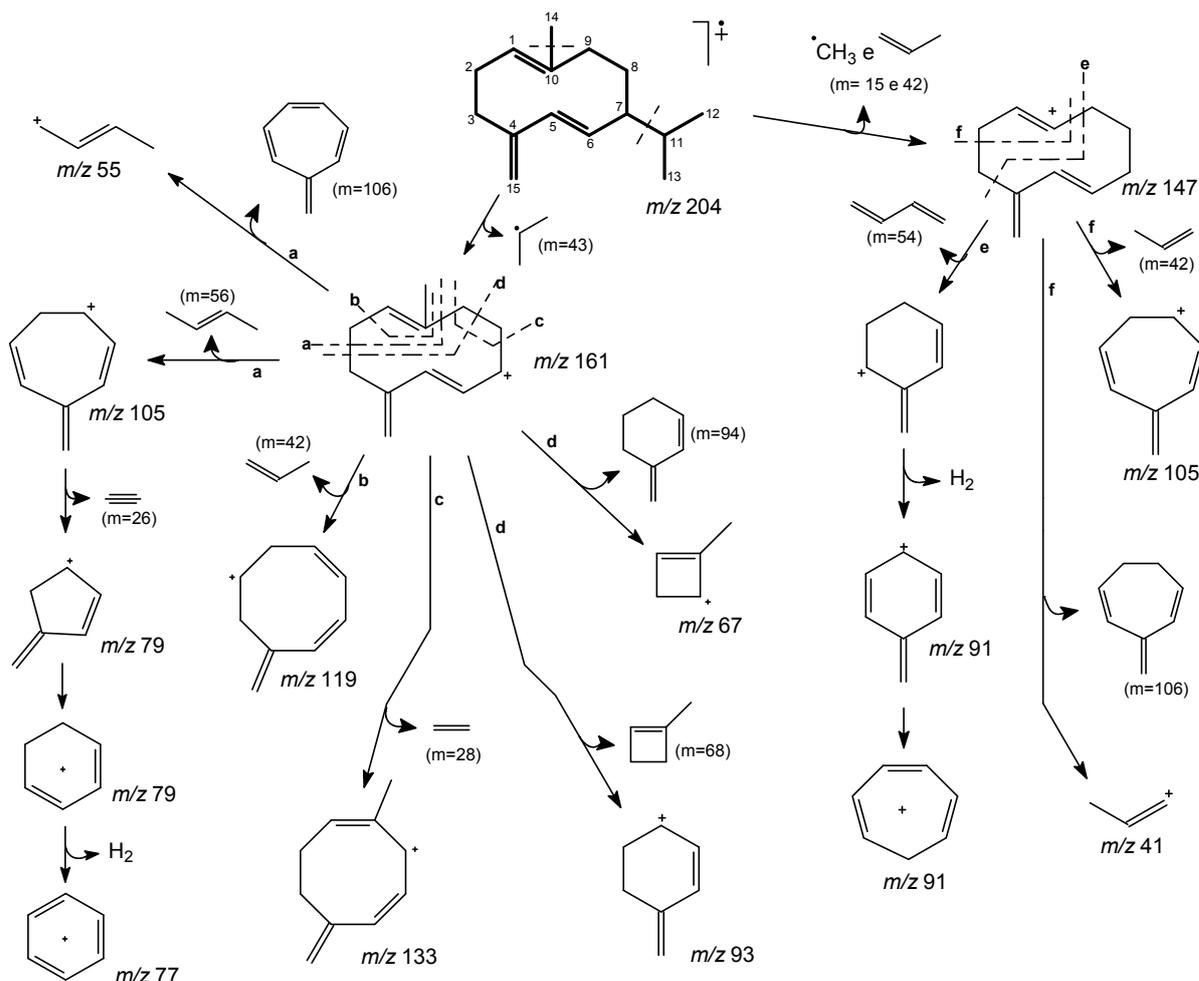
O espectro de RMN ^{13}C demonstra, através de sinais de maior intensidade, a presença de 15 carbonos na molécula, confirmando tratar-se de um sesquiterpeno. Os deslocamentos químicos no espectro de RMN ^{13}C evidenciam a ausência de oxigênio na molécula e a presença de três duplas ligações (Figura 15; Tabela 24).

4.2.1.1. Análise da fragmentação de AM1 por EM-IE

O composto AM1 apresentou uma massa molecular de 204 u.m.a (Figura 13). A Figura 14 apresenta a proposta de fragmentação para o composto AM1 (FRANCESCATO, 2007).

A partir do íon molecular $[\text{M}^+]$ 204 u.m.a, ocorre a eliminação de um radical isopropila (43 u.m.a), originando um fragmento de m/z 161 u.m.a que corresponde ao pico base.

Através do espectro de massas de AM1 é possível concluir que esta molécula possui fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$, e que o grau de insaturações (GI) é igual a 4, o que corresponde à presença de uma estrutura anelar e de três insaturações.



metínicos. O deslocamento químico em $\delta = 129,7$ ppm foi atribuído ao carbono 1; portanto é possível confirmar a presença de três duplas ligações à molécula. Os demais sinais, localizados em campo mais baixo, em $\delta = 148,9$ ppm e $\delta = 133,92$ ppm, correspondem aos carbonos 4 e 10, dois carbonos quartenários. O deslocamento químico em $\delta = 109,0$ ppm sugere a presença de um grupamento exometileno, correspondente ao carbono 15.

Os sinais em campo alto $\delta = 15,9$, $19,3$ e $20,7$ ppm, sugerem a presença de metilas. Através da comparação com dados da literatura referentes ao germacreno-D, estes sinais puderam ser atribuídos aos carbonos 14, 12 e 13. Os dois últimos, pela sua simetria espacial e química, apresentam os valores de deslocamento químico muito semelhantes.

Os deslocamentos químicos $\delta = 26,5$, $29,2$, $34,5$ e $40,7$ ppm estão na região correspondente aos grupamentos metilenos e correspondem aos carbonos 8, 2, 3, 9. Os valores dos deslocamentos químicos para AM1 e para o germacreno-D encontram-se na tabela 24.

Tabela 24: Valores de deslocamentos químicos (δ) observados no espectro de RMN ^{13}C para a substância AM1, em comparação com dados da literatura para o germacreno D, todos em CDCl_3

Carbono	AM1	Germacreno-D		
	MURARI et al., 2006	DEUSCHLE, 2003	FRANCESCATO, 2007	HEINZMANN, dados não publicados
	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)	δ (ppm)
1	129,7	130,0	129,6	129,5
2	29,2	29,2	29,2	29,5
3	34,5	34,5	34,5	34,7
4	148,9	148,8	148,8	149,8
5	135,5	135,3	135,5	135,5
6	133,5	133,4	133,5	133,5
7	52,9	53,0	52,9	53,1
8	26,5	26,5	26,5	26,7
9	40,7	40,7	40,7	40,9
10	133,92	133,7	134,0	134,0
11	32,7	32,7	32,7	33,0
12,	19,3	20,7	20,8	20,9
13	20,7	19,3	19,3	19,5
14	15,9	15,8	15,9	16,1
15	109,0	109,0	109,0	109,0

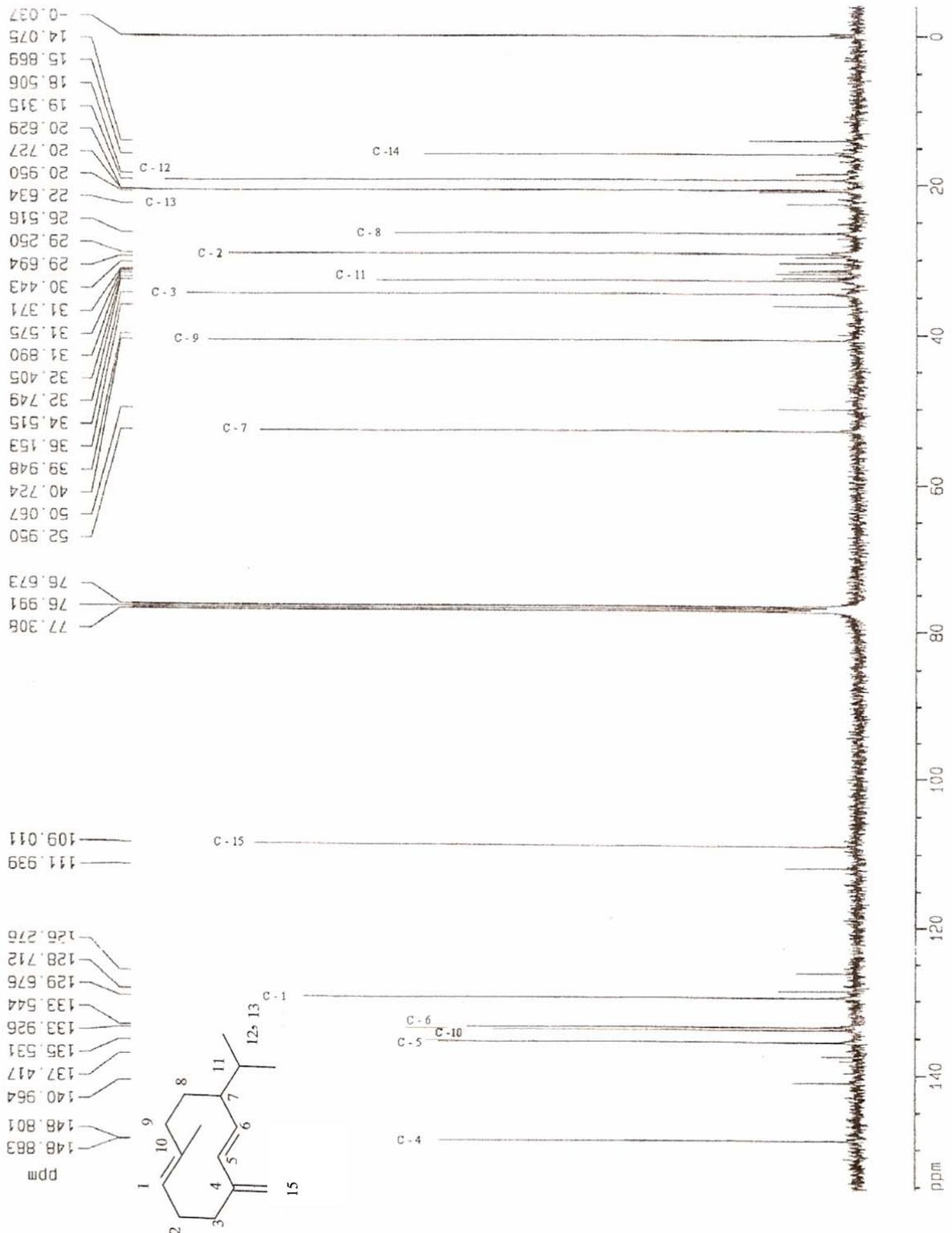


Figura 15 – Espectro de RMN ^{13}C de AM1 (100 Mz, CDCl_3)

4.2.1.3 Análise do espectro de RMN ^1H de AM1

Os sinais em $\delta = 5,80$ (d, J 15,8 Hz) e 5,24 ppm (dd, J 9,9 e 15,8 Hz) correspondem aos hidrogênios olefínicos 5 e 6. A constante de acoplamento de aproximadamente 15,8 Hz, indica a configuração relativa *trans* entre H - 5 e H -6. O sinal em $\delta = 5,15$ ppm (dd, J 4,2 e 11 Hz) foi atribuído ao H - 1, uma vez que este deslocamento químico é indicativo de hidrogênio olefínico e a multiplicidade, bem como as constantes de acoplamento, indicam a vizinhança com um grupamento metileno. Os deslocamentos químicos em $\delta = 4,81$ e $\delta = 4,76$ ppm, também localizados em campo mais baixo, podem ser atribuídos aos hidrogênios do grupamento exometileno (Figura 16).

O espectro de RMN ^1H de AM1 apresenta três sinais de alta intensidade em campo mais alto do espectro. Os dois dubletos ($\delta = 0,89$ e $\delta = 0,83$ ppm) foram atribuídos as metilas 12 e 13. O outro sinal, um singlete, em $\delta = 1,52$ ppm, corresponde à metila 14. Os deslocamentos químicos entre $\delta = 1,47$ e $\delta = 2,40$ ppm correspondem aos demais prótons, e são característicos de hidrogênios localizados em regiões alifáticas e saturadas de moléculas orgânicas. O espectro de RMN ^1H (Figuras 16 e 17) confirma a estrutura de AM1 como sendo a do germacreno D. Os valores de deslocamentos químicos, comparados com os dados literatura, podem ser encontrados na tabela 25.

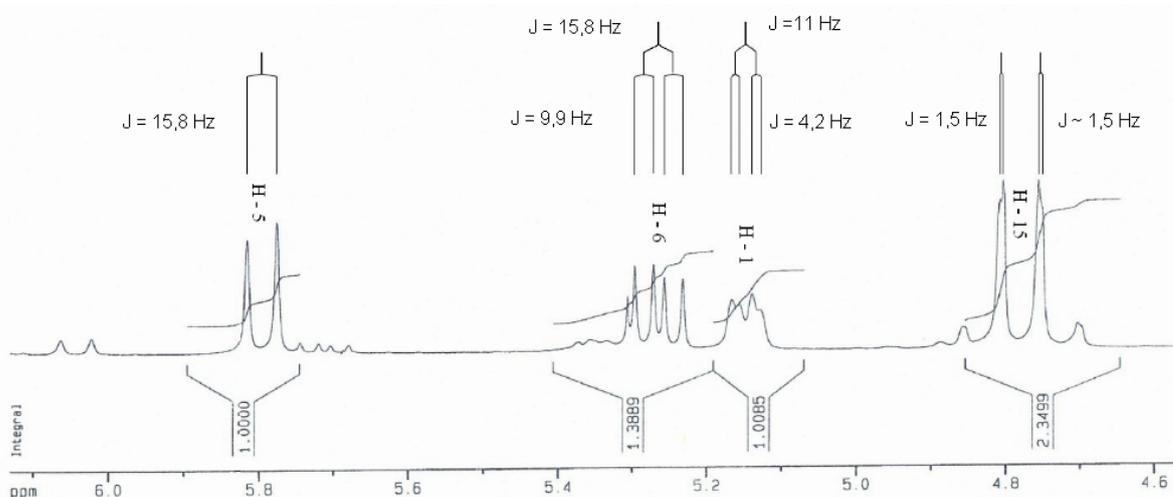


Figura 16 - Espectro de RMN - ^1H da substância AM1 (400 MHz, CDCl_3). Ampliação da região entre 4,6 e 6,0 ppm

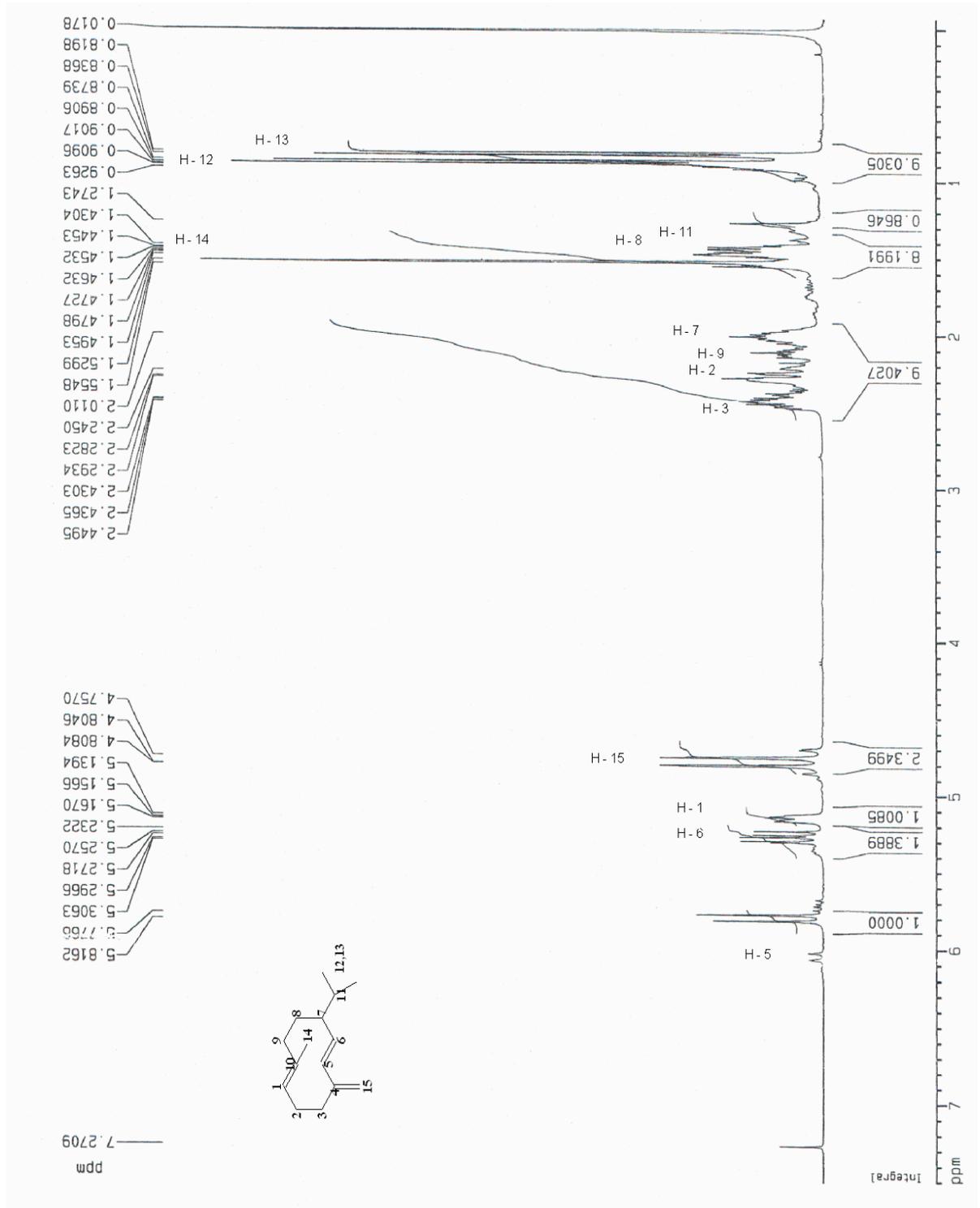


Figura 17 - Espectro de RMN ^1H da substância AM1 (400 MHz, CDCl_3)

Tabela 25 - Valores de deslocamentos químicos (δ) observados no espectro de RMN ^1H para a substância AM1, em comparação com dados da literatura para o germacreno D, todos em CDCl_3

Hidrogênio	AM1			Germacreno-D								
	Murari, et al., 2006			Francescato, 2006			Deuschle, 2003			Silva, 2006		
	δ (ppm)	Multip.	J (Hz)	δ (ppm)	Multip.	J (Hz)	δ (ppm)	Multip.	J (Hz)	δ (ppm)	Multip.	J (Hz)
H-1	5,15	dd	4,2; 11	5,14	dd	4,7; 11,2	5,16	dd	4,5; 11,2	5,13	dd	4,3; 10,1
H-2a	2,28	m		2,35	m		2,34	m		2,29	m	
H-2b	1,96	m		1,95	m		1,98	m		1,98	m	
H-3a	2,40	m		2,43	m		2,43	m		2,40	m	
H-3b	2,05	m		2,05	m		2,04	m		2,05	m	
H-5	5,80	d	15,8	5,79	d	15,8	5,80	d	15,8	5,78	d	15,7
H-6	5,24	dd	9,9;15,8	5,26	dd	9,9; 15,8	5,27	dd	9,9; 15,8	5,25	dd	10; 15,9
H-7	2,01	m		2,00	m		2,01	m		2,01	m	
H-8	1,47	m		1,45	m		1,48	m		1,48	m	
H-9	2,11	m		2,27	m		2,11	m		2,22	m	
H-11	1,44	m		1,44	m		1,43	m		1,43	m	
H-12	0,89**	d	6,7	0,88**	d		0,90**	d	6,72	0,86**	d	6,6
H-13	0,83**	d	6,8	0,82**	d		0,84**	d	6,8	0,81**	d	6,6
H-14	1,52	s		1,51	s		1,54	s		1,59	s	
H-15a	4,81	s	~1,5	4,80	s	2,4	4,82	s	2,24	4,81	s	2,4
H-15b	4,76	s	1,5	4,74	s	2,4	4,76	s	1,64	4,72	s	1,7

**Atribuições que podem ser invertidas, considerando-se cada coluna.

4.3 Análise qualitativa e quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais

4.3.1 Óleos essenciais obtidos da coleta de abril de 2006

4.3.1.1 Análise por CG-EM do óleo essencial OF1

O estudo por CG (Figura 18) evidenciou que o óleo das folhas é constituído de 15 componentes dos quais 13 foram identificados, sendo que estes correspondem a 98,89 % da constituição da mistura (Tabela 26).

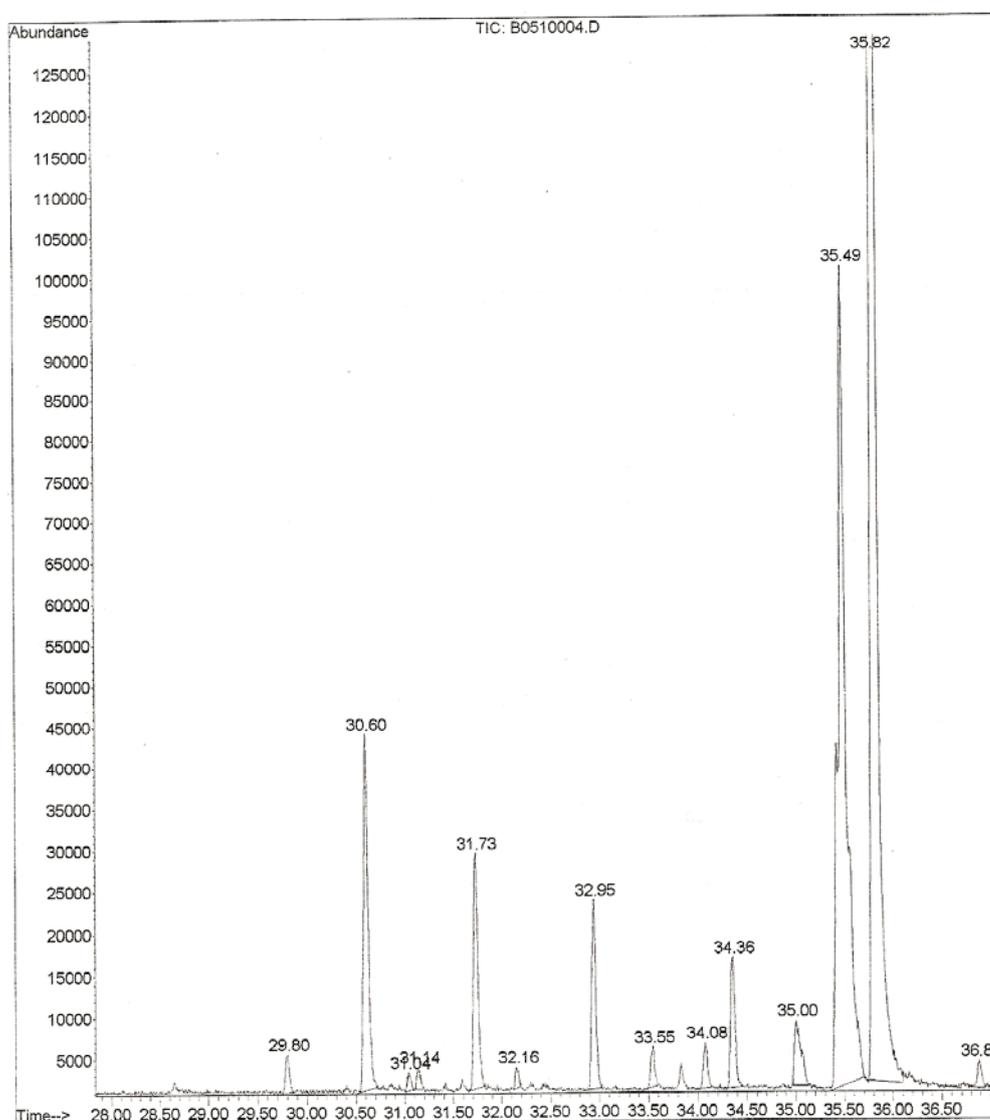


Figura 18 - Cromatograma resultante da análise por CG-EM do óleo essencial das folhas (OF1) de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

Tabela 26 - Constituintes dos óleos essenciais dos diferentes órgãos de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

	IK _{Calc} ^A	IK _{lit.} ^B	IK _{lit.} ^C	Referência ^D	Compostos ^E	% (área relativa) ^P		
						OF1	OC1	OR1
1	1330	1338	1340	YU et al., 2007	δ-elemeno	-	-	0,257
2	1385	1388	1384	GHANNADI et al., 2003.	β-burbuneno	-	-	0,939
3	1414	1419	1419	FRANCESCATO, 2007	β-cariofileno	-	-	0,803
4	1451	1455	1454	MORONKOLA et al., 2007	α-humuleno	0,546	2,168	2,863
5	1470	1478	1474	YU et al., 2007	γ-gurjuneno	-	-	0,826
6	1471	-	1467	BARANAUSKIENE et al., 2003	Alloaromadendreno	-	0,223	-
7	1476	1485	1481	MORONKOLA, et al., 2007	Germacreno D	6,077	59,108	47,93
8	1485	1490	1485	GHASEMI et al., 2003	β-selineno	-	2,356	1,900
9	1491	1500	1494	GHASEMI et al., 2003	Biciclogermacreno	0,238	0,899	1,162
10	1494	1500	1500	SIANI et al., 1999	α-muuroleno	0,344	-	-
11	1503	1509	1501	GHANNADI et al., 2003	Germacreno A	-	0,655	0,701
12	1514	1512	-	-	δ-amorfeno	3,828	1,409	3,588
13	1528	1523	1525	MORONKOLA, et al., 2007	δ-cadineno	0,339	3,424	4,131
14	1533	1535	1526	SIANI et al., 1999	Cadina-1,4-dieno	-	0,453	1,159
15	1537	-	-	-	Não identificado	-	1,217	1,675
16	1554	1561	1557	YU et al., 2007	Germacreno B	2,968	22,194	23,789
17	1575	1576	1578	FRANCESCATO, 2007	Germacreno-D-4-ol	0,580	0,421	-
18	1584	1583	1583	FRANCESCATO, 2007	Óxido de cariofileno	0,271	-	-
19	1593	-	-	-	Não identificado	0,661	-	-
20	1602	1593	1590	ANGELOPOULOU et al., 2001	Viridiflorol	2,149	-	-
21	1625	1629	1629-	FRANCESCATO, 2007	1-epi-cubenol	0,585	-	-
22	1643	1642	1648	SIANI et al., 1999	τ-muurolol	25,111	1,937	2,028
23	1655	1654	1663	BARANAUSKIENE et al., 2003	α-cadinol	55,854	3,536	5,659
24	1692	-	-	-	Não identificado	0,449	-	0,588

IK_{Calc}^A – Índice de Kovats calculado para a coluna HP-5MS; IK_{lit.}^B – Índice de Kovats da literatura para coluna DB-5 (ADAMS, 2001); IK_{lit.}^C – Índice de Kovats da literatura para coluna HP-5MS; ^D – Referência bibliográfica para IK_{lit.}^C; ^E – Compostos listados em ordem de eluição; ^P – Porcentagem relativa com base nos íons totais (TIC); * - Composto sugerido pelo banco de dados (NIST 98)

4.3.1.2 Análise por CG-EM do óleo essencial OC1

A análise por CG do óleo essencial obtido dos caules aéreos coletados em abril de 2006 revelou tratar-se de uma mistura de 14 compostos, todos identificados (Tabela 26).

4.3.1.3 Análise por CG-EM do óleo essencial OR1

Após a análise por CG constatou-se que o óleo essencial é constituído de 17 componentes (Tabela 26), sendo que 98,253 % da constituição foi identificada, sendo apenas 2 componentes não identificados.

4.3.2 Óleos essenciais obtidos da coleta de dezembro de 2006

4.3.2.1 Análise por CG-EM do óleo essencial OF2

A CG evidenciou que o óleo essencial das folhas da espécie em estudo era constituído de 19 componentes (Tabela 27, Figura 19). Destes um constituinte, o α -gurjeneno (0,269 %) foi identificado apenas com dados da literatura para a coluna DB-5 (ADAMS, 2001). Para os dois compostos com tempo de retenção de 20,764 e 20,871 e com índices de Kovats calculados para a coluna HP-5MS de 1197 e 1200, respectivamente, não foram encontrados dados referentes aos índices de retenção na literatura que permitissem a sua identificação. O banco de dados do aparelho sugeriu para estes compostos as estruturas acetato de undec-2-enila (Figura 20) e acetato de non-3-enila (Figura 21), respectivamente. O espectro de massas do constituinte do óleo essencial *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*, em comparação com o acetato de undec-2-enila encontra-se na Figura 20. Já o espectro de massas para o acetato de non-3-enila, em comparação com um dos constituintes do óleo em estudo encontra-se na Figura 21. Estes componentes perfazem 56,97 % da constituição total do óleo essencial das folhas.

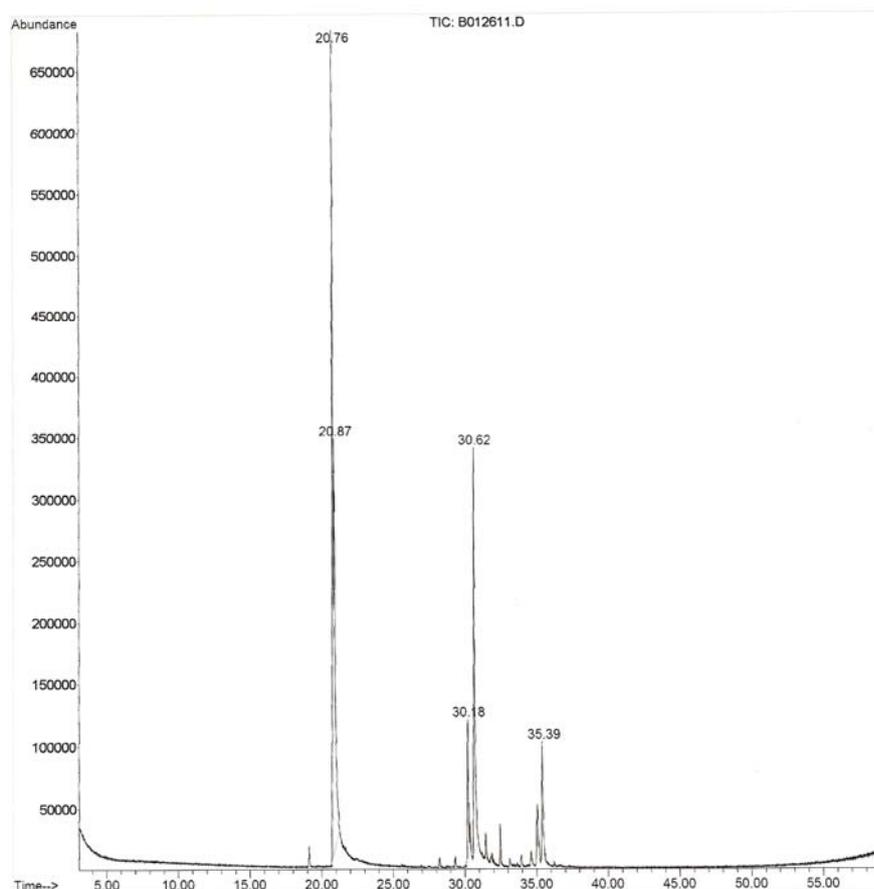
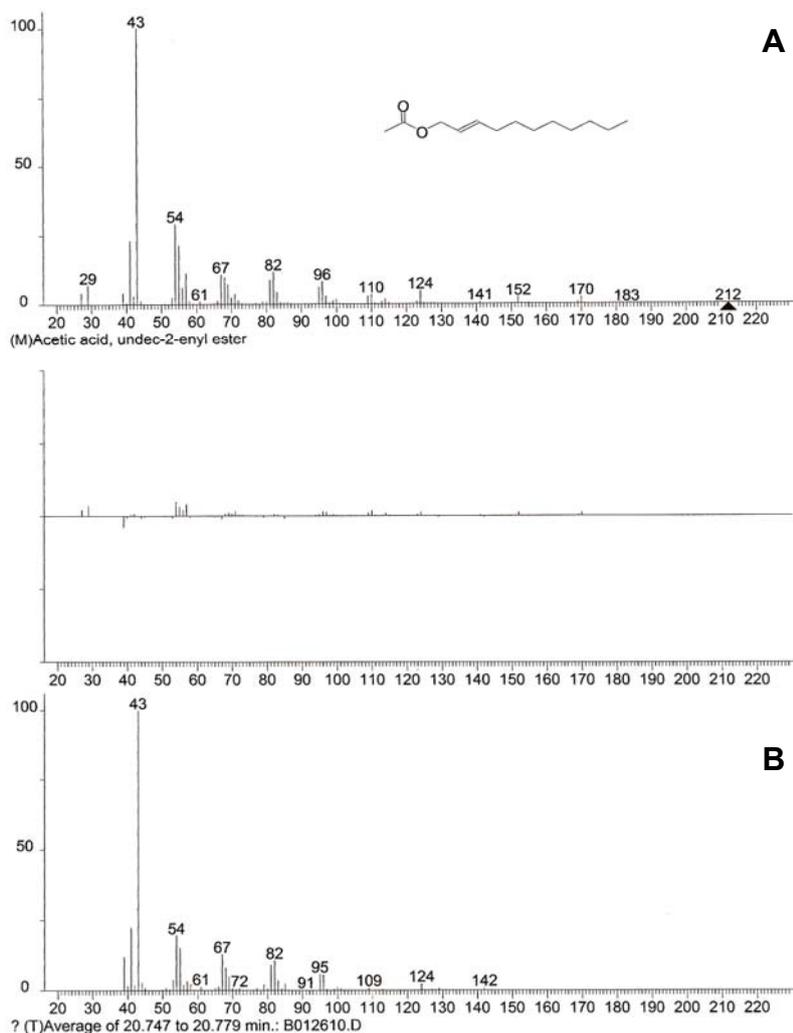


Figura 19 - Cromatograma resultante da análise por CG-EM do óleo essencial das folhas (OF2) de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em dezembro de 2006

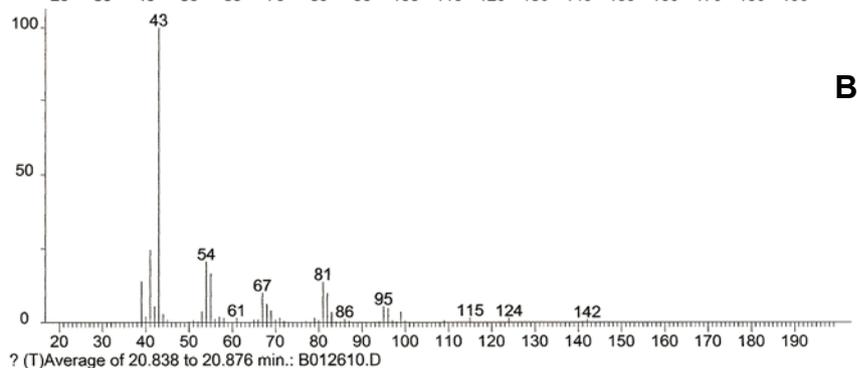
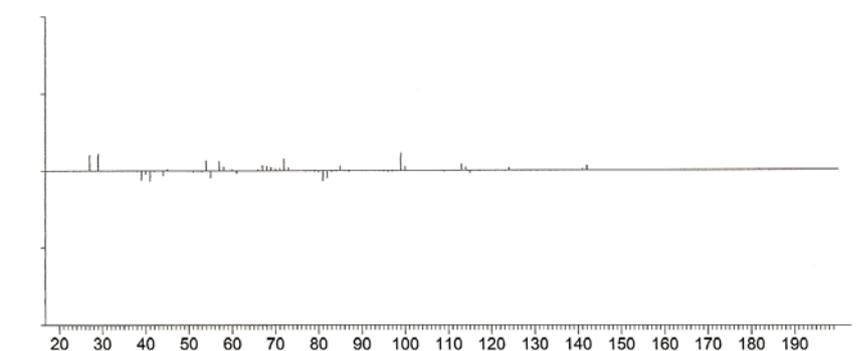
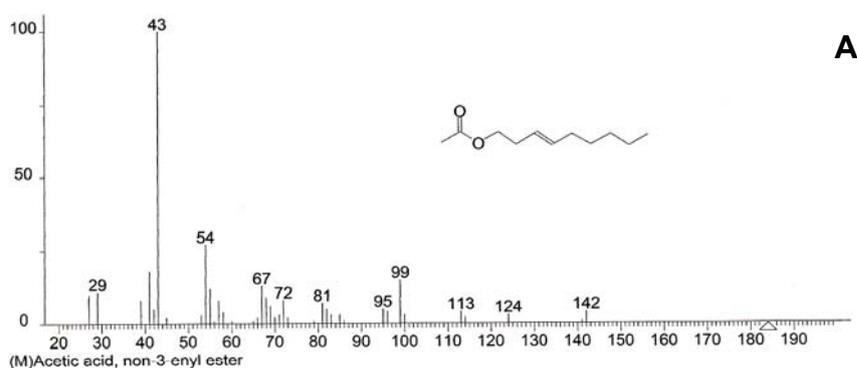
4.3.2.2 Análise por CG-EM do óleo essencial OC2

Nesta análise observou-se a presença de 25 constituintes. Em torno de 42,3 % do óleo essencial é constituído dos compostos com índice de Kovats calculado de 1197 e 1200 para a coluna HP5-MS, já descritos no item anterior (4.3.2.1). O composto com índice de Kovats calculado de 1420 (0,523 %) foi identificado apenas com dados contidos em ADAMS (2001). Os componentes identificados encontram-se descritos na Tabela 27.



1	788	792R	11.8P	(M)	Acetic acid, undec-2-enyl ester	21	734	769R	1.58P	(M)	5-Hexene-1-ol, acetate
2	771	804R	6.42P	(R)	1-Dodecyne	22	732	825R	1.46P	(R)	5-Dodecenol
3	770	807R	6.17P	(M)	Acetic acid, non-3-enyl ester	23	731	750R	1.40P	(R)	1-Tridecyne
4	769	789R	5.93P	(M)	9-Dodecen-1-ol, acetate, (E)-	24	730	774R	2.69P	(R)	1-Nonyne
5	763	784R	4.66P	(M)	11-Tetradecen-1-ol, acetate, (Z)-	25	730	744R	6.42P	(R)	1-Dodecyne
6	752	777R	6.42P	(R)	1-Dodecyne	26	729	739R	2.69P	(R)	1-Nonyne
7	749	756R	2.91P	(R)	2-Nonen-1-ol, (E)-	27	728	772R	1.24P	(R)	1,11-Dodecadiene
8	747	769R	2.69P	(R)	1-Nonyne	28	727	758R	2.69P	(M)	1-Nonyne
9	744	758R	2.91P	(R)	2-Nonen-1-ol, (E)-	29	727	770R	1.19P	(M)	1,10-Undecadiene
10	743	757R	2.27P	(M)	2-Nonen-1-ol	30	726	764R	1.14P	(M)	1-Tetradecyne
11	742	757R	2.18P	(M)	(6Z)-Nonen-1-ol	31	726	757R	1.14P	(M)	1,9-Nonanediol
12	741	753R	2.10P	(M)	3-Nonen-1-ol, (Z)-	32	725	760R	1.10P	(M)	Z-1,6-Undecadiene
13	740	777R	2.69P	(R)	1-Nonyne	33	724	739R	1.40P	(R)	1-Tridecyne
14	739	759R	1.93P	(M)	Z-1,9-Hexadecadiene	34	724	765R	1.06P	(M)	E-5-Decenyl acetate
15	737	752R	1.78P	(M)	6-Nonen-1-ol, (E)-	35	724	753R	1.06P	(M)	E-8-Dodecenyl acetate
16	737	773R	1.78P	(M)	Cyclohexaneethanol, acetate	36	722	739R	0.97P	(R)	trans-2-Undecen-1-ol
17	736	756R	6.42P	(R)	1-Dodecyne	37	722	763R	0.97P	(R)	1-Undecyne
18	736	789R	1.71P	(M)	1,2-Nonadiene	38	722	741R	0.97P	(M)	1,4-Undecadiene, (E)-
19	734	753R	1.58P	(M)	10-Undecen-1-ol	39	722	761R	6.42P	(M)	1-Dodecyne
20	734	748R	1.58P	(M)	2-Nonen-1-ol, (Z)-	40	721	751R	0.93P	(M)	7-Methyl-Z-8,10-dodecadienal

Figura 20 - Espectros de massas por impacto eletrônico do acetato de undec-2-enila (A) NIST 1998 e (B) do composto com índice de Kovats igual a 1197



1	820	858R	30.0P	(M)	Acetic acid, non-3-enyl ester	21	730	743R	2.42P	(R)	2-Nonen-1-ol, (E)-
2	767	768R	5.93P	(M)	Acetic acid, undec-2-enyl ester	22	729	759R	2.74P	(R)	1-Nonyne
3	757	802R	4.18P	(R)	1-Dodecylne	23	729	744R	1.30P	(M)	(6Z)-Nonen-1-ol
4	752	790R	3.37P	(M)	Cyclohexaneethanol, acetate	24	727	768R	1.80P	(R)	1-Undecylne
5	751	809R	3.24P	(M)	1,2-Nonadiene	25	727	748R	1.20P	(M)	(Z)-4-Decen-1-ol
6	749	784R	4.18P	(R)	1-Dodecylne	26	726	778R	1.80P	(R)	1-Undecylne
7	747	798R	2.74P	(R)	1-Nonyne	27	726	764R	1.16P	(M)	Z-1,6-Undecadiene
8	744	747R	2.42P	(R)	2-Nonen-1-ol, (E)-	28	726	747R	1.16P	(M)	2-Decen-1-ol
9	741	759R	2.14P	(M)	2-Nonen-1-ol	29	725	756R	1.11P	(M)	9-Decyn-1-ol
10	738	795R	2.74P	(R)	1-Nonyne	30	724	766R	1.07P	(M)	1-Tetradecylne
11	738	786R	4.18P	(M)	1-Dodecylne	31	723	741R	1.03P	(R)	9-Decen-1-ol
12	737	781R	1.80P	(R)	1-Undecylne	32	722	743R	0.99P	(R)	2-Decen-1-ol, (E)-
13	737	767R	1.80P	(M)	9-Dodecen-1-ol, acetate, (E)-	33	722	750R	1.03P	(M)	9-Decen-1-ol
14	736	756R	4.18P	(R)	1-Dodecylne	34	722	757R	0.99P	(M)	E-8-Dodecenylyl acetate
15	736	763R	1.73P	(M)	11-Tetradecen-1-ol, acetate, (Z)	35	721	756R	2.74P	(M)	1-Nonyne
16	734	749R	1.60P	(M)	3-Nonen-1-ol, (Z)-	36	721	755R	0.95P	(M)	Z-1,9-Hexadecadiene
17	734	750R	1.60P	(M)	6-Nonen-1-ol, (E)-	37	721	768R	0.95P	(M)	1-Tridecylne
18	733	746R	1.54P	(M)	2-Nonen-1-ol, (Z)-	38	719	726R	4.18P	(R)	1-Dodecylne
19	733	774R	1.54P	(M)	E-5-Decenylyl acetate	39	718	738R	0.84P	(M)	10-Undecen-1-ol
20	730	765R	1.36P	(M)	4-Methylcyclohexanol acetate	40	717	730R	0.95P	(R)	1-Tridecylne

Figura 21 - Espectros de massas por impacto eletrônico do acetato de non-3-enila (A) NIST 1998 e (B) do composto com índice de Kovats igual a 1200

Tabela 27 - Constituintes dos óleos essenciais dos diferentes órgãos de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em dezembro de 2006

	IK _{Calç} ^A	IK _{lit.} ^B	IK _{lit.} ^C	Referência ^D	Compostos ^E	% (área relativa) ^P			
						OF2	OC2	OPA	OR2
1	957	954	953	MORONKOLA, et al., 2007	Canfeno	-	-	-	0,241
2	992	978	980	MORONKOLA, et al., 2007	β-pineno	-	-	-	0,346
3	1155	1'169	1165	MORONKOLA, et al., 2007	Borneol	0,559	0,534	0,444	0,731
4	1197	-	-	-	Acetato de undec-2-enila*	27,944	23,998	22,674	12,009
5	1200	-	-	-	Acetato de non-3-enila*	29,026	18,280	14,456	10,480
6	1214	-	-	-	Não identificado	-	-	0,332	-
7	1338	1338	1340	YU et al., 2007	δ-elemeno	-	-	-	0,162
8	1343	1348	-	-	7-epi-silfiperfol-5-eno	-	-	-	0,024
9	1380	-	-	-	Não identificado	-	0,102	0,076	0,167
10	1386	1388	1384	GHANNADI et al., 2003.	β-burbuneno	-	-	0,034	-
11	1394	-	-	-	Não identificado	-	0,076	0,121	0,170
12	1420	1410	-	-	α-gurjeneno	0,269	0,523	0,445	0,756
13	1438	1437	1433	YU et al., 2007	γ-elemeno	-	0,079	-	0,118
14	1449	1447	-	-	Epi-α-santaleno	-	-	-	0,179
15	1456	1455	1454	MORONKOLA, et al., 2007	Humuleno	0,251	0,381	0,337	0,525
16	1463	1457	1460	YU et al., 2007	β-farneseno	-	0,159	-	0,278
17	1479	1477	1474	YU et al., 2007	γ-gurjuneno	-	0,071	-	0,218
18	1482	1494	-	-	Trans-muurola-4(15),5-dieno	-	-	1,560	-
19	1484	1485	1481	MORONKOLA, et al., 2007	Germacreno D	5,049	8,295	4,905	12,532
20	1486	1481	1482	YU et al., 2007	α-curcumeno	-	-	1,829	2,020
21	1489	1483	1489	SIANI et al., 1999	γ-curcumeno	0,652	2,602	1,267	3,180
22	1499	1494	1498	YU et al., 2007	Zingibereno	22,104	40,397	43,624	47,605
23	1509	1507	1508	YU et al., 2007	α-bisaboleno	-	-	0,281	0,104
24	1513	1506	1510	YU et al., 2007	α-farneseno	-	-	-	0,142

Tabela 27 - Continuação: Constituintes dos óleos essenciais dos diferentes órgãos de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* coletado em dezembro de 2006

25	1523	-	-	-	Não identificado	-	0,054	-	-
26	1524	-	-	-	Não identificado	-	-	-	0,087
27	1526	1515	1514	GROMBONE- GUARATINI et al., 2005	γ -bisaboleno	-	-	-	0,144
28	1527	1523	1525	MORONKOLA, et al., 2007	δ -cadineno	0,888	0,103	0,298	-
29	1528	1523	1526	YU et al., 2007	β -sesquifelandreno	-	0,072	0,311	0,088
30	1531	-	-	-	Não identificado	-	0,060	-	0,339
31	1539	1535	1526	SIANI et al., 1999	Cadina-1,4 dieno	0,151	0,376	0,217	0,684
32	1541	1539	1538	ANGELOPOULOU et al., 2001	α -cadineno	0,301	0,699	0,505	1,082
33	1545	1547	1538	SIANI et al., 1999	Selina-3-7(11)-dieno	-	0,191	0,173	0,367
34	1561	1561	1557	YU et al., 2007	Germacreno B	1,381	2,289	2,178	3,658
35	1584	1576	1578	FRANCESCATO, 2007	Germacreno-D-4-ol	0,235	-	0,143	-
36	1601	1593	1590	ANGELOPOULOU et al., 2001	Viridiflorol	0,150	-	0,056	-
37	1612	1608	1606	ANGELOPOULOU et al., 2001	Epóxido de humuleno II	0,382	-	0,146	-
38	1635	1640	1635	SIANI et al., 1999	Epi- α -cadinol	0,616	-	0,396	-
39	1652	1646	1640	SIANI et al., 1999	α -muurolol	4,021	0,241	1,045	0,565
40	1656	1642	1648	SIANI et al., 1999	τ -muurolol	-	0,119	0,284	0,340
41	1665	1654	1663	BARANAUSKIENE et al., 2003	α -cadinol	5,9	0,205	1,763	0,420
42	1696	1700	1688	SIANI et al., 1999	Eudesm-7(11) en-4-ol	0,118	0,097	0,100	0,237

IK_{Calc}^A – Índice de Kovats calculado para a coluna HP-5MS; IK_{lit}^B – Índice de Kovats da literatura para coluna DB-5 (ADAMS, 2001); IK_{lit}^C – Índice de Kovats da literatura para coluna HP-5MS; ^D – Referência bibliográfica para IK_{lit}; ^E – Compostos listados em ordem de eluição; ^P – Porcentagem relativa com base nos íons totais (TIC); depende da característica do composto não sendo uma característica verdadeira; * - Composto sugerido pelo banco de dados (NIST 98), descrito no item 4.3.2.1

4.3.2.3 Análise por CG-EM do óleo essencial das partes aéreas

Através desta análise foi possível concluir que o óleo essencial das partes aéreas (folhas e caules aéreos) é composto de 29 constituintes (Tabela 27). Destes, 24 foram identificados, correspondendo a cerca de 82,75 % do total.

4.3.2.4 Análise por CG-EM do óleo essencial dos caules rizomatosos

No cromatograma resultante da análise por CG pode ser evidenciada a presença de 33 componentes no óleo essencial dos caules rizomatosos. Os constituintes com índice de Kovats calculado para a coluna HP5-MS de 1197 e 1200, descritos no item 4.3.2.1 constituem aproximadamente 22,5 % deste óleo essencial. Da constituição total do óleo essencial, em torno de 75% pode ser identificada, através do índice de Kovats calculado (Tabela 27).

4.3.3 Comparação da composição dos óleos essenciais nos diferentes meses de coleta

Os resultados da composição dos óleos essenciais com relação aos meses de coleta (abril e dezembro de 2006) e parte do vegetal podem ser visualizados nas figuras 22, 23, 24.

Na figura 25 encontra-se as classes de metabólitos presentes no óleo essencial das partes aéreas (folhas e caules aéreos) da coleta de dezembro de 2006, uma vez que na coleta de abril de 2006 não foi realizada extração das partes aéreas.

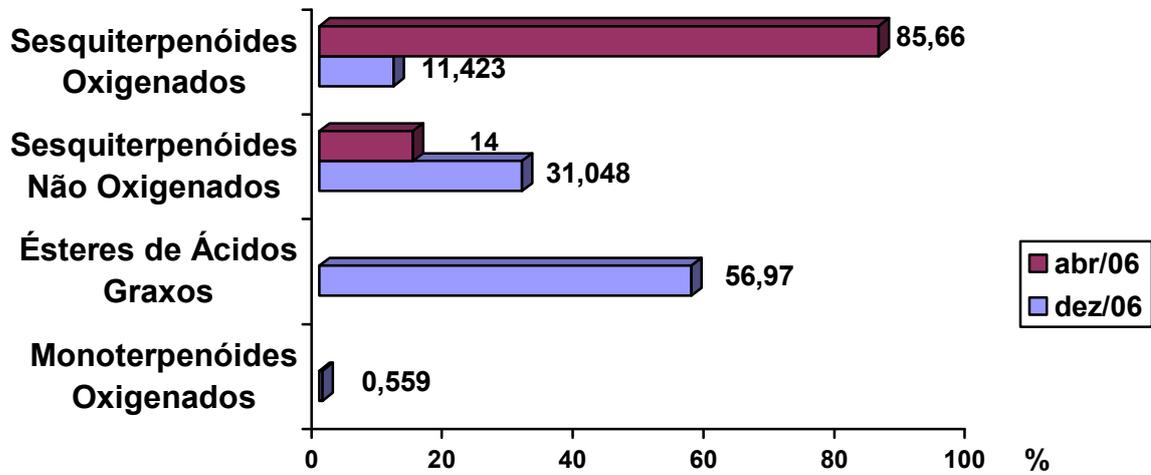


Figura 22 - Percentual de classes de metabólitos encontrados nos óleos essenciais das folhas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* nos diferentes meses de coleta

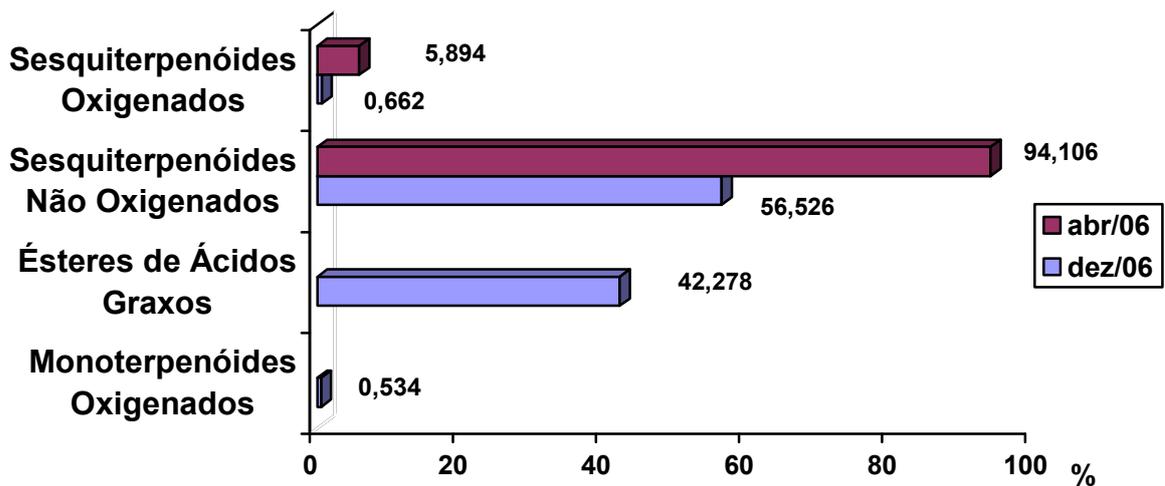


Figura 23 - Constituição dos óleos essenciais dos caules aéreos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* em diferentes meses de coleta

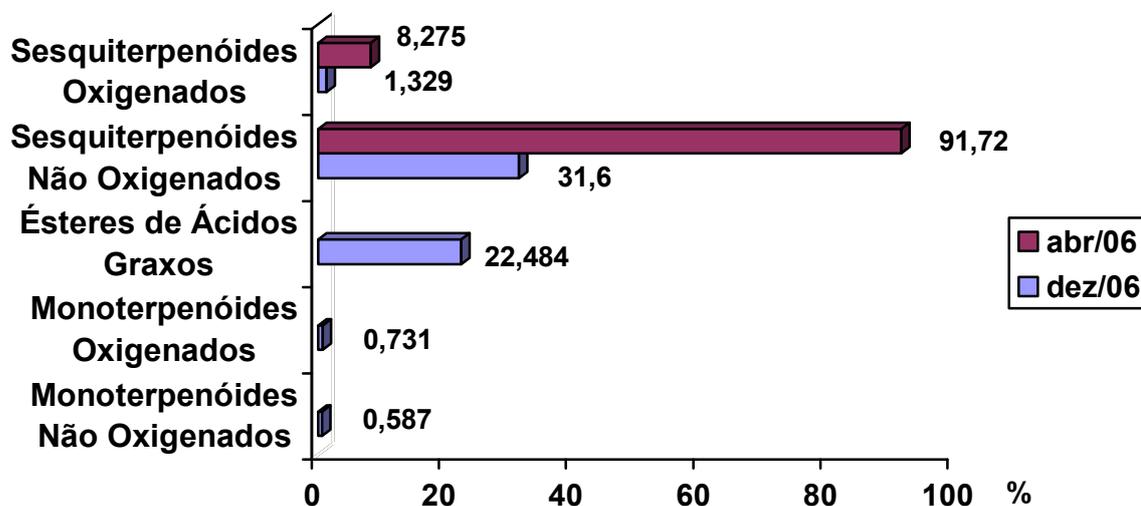


Figura 24 - Distribuição dos constituintes dos óleos essenciais dos caules rizomatosos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* em diferentes meses de coleta

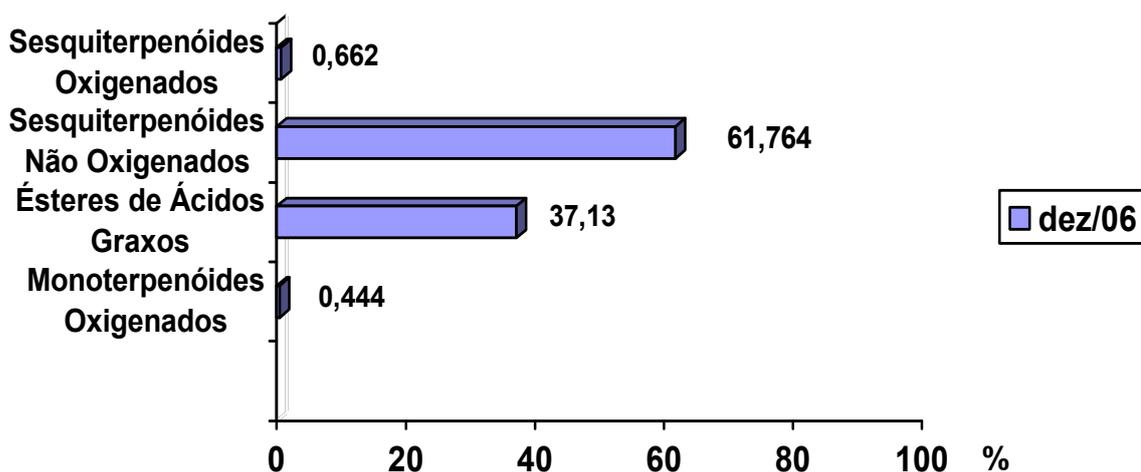


Figura 25 - Classe de metabólitos presentes no óleo essencial das partes aéreas (folhas + caules aéreos) de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*, coletada em dezembro de 2006

4.4. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

4.4.1 Determinação de atividade antibacteriana *in vitro*

Os resultados da avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais são apresentados nas tabelas 28 e 29. A leitura dos resultados foi feita utilizando-se o revelador cloreto de 2,3,5- trifeniltetrazólio, onde o desenvolvimento da coloração vermelha indica a ocorrência de crescimento bacteriano (Figura 26).

Tabela 28 - Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) e CBM ($\mu\text{g/mL}$) encontrados para os óleos essenciais das folhas (OF1), dos caules aéreos (OC1) e caules rizomatosos (OR1) de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril/2006

Cepa ATCC	OF1		OC1		OR1	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	4.100	8.200	8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	> 8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200	> 8.200
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	1.025	1.025	2.050	4.100	8.200	8.200
Cepa hospitalar						
<i>Bacillus cereus</i>	2.050	> 8.200	4.100	> 8.200	8.200	8.200
<i>Staphylococcus aureus</i> β -hemolítico	8.200	8.200	NT*	NT*	NT*	NT*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.050	> 8.200	NT*	NT*	NT*	NT*
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	> 8.200	> 8.200	NT*	NT*	NT*	NT*
<i>Enterobacter cloacae</i>	> 8.200	> 8.200	NT*	NT*	NT*	NT*

OF1: óleo essencial das folhas; **OC1:** óleo essencial dos caules; **OR1:** óleo essencial dos caules rizomatosos; **NT*:** Não testado, devido à pequena quantidade obtida nas extrações.

Tabela 29 - Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) e CBM ($\mu\text{g/mL}$) encontrados para os óleos essenciais das folhas (OF2), dos caules aéreos (OC2), caules rizomatosos (OR2) e partes aéreas (OPA) de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em dezembro/2006

Cepa ATCC	OF2		OC2		OR2		OPA	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	8.200	>8.200
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	1.025	1.025	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	NT*	NT*
Cepa hospitalar								
<i>Bacillus cereus</i>	4.100	8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	8.200	>8.200
<i>S. aureus</i> β -hemolítico	8.200	8.200	8.200	>8.200	NT*	NT*	NT*	NT*

OF2: óleo essencial das folhas; **OC2:** óleo essencial dos caules; **OR2:** óleo essencial dos caules rizomatosos; **OPA:** óleo essencial das partes aéreas; **NT*:** Não testado

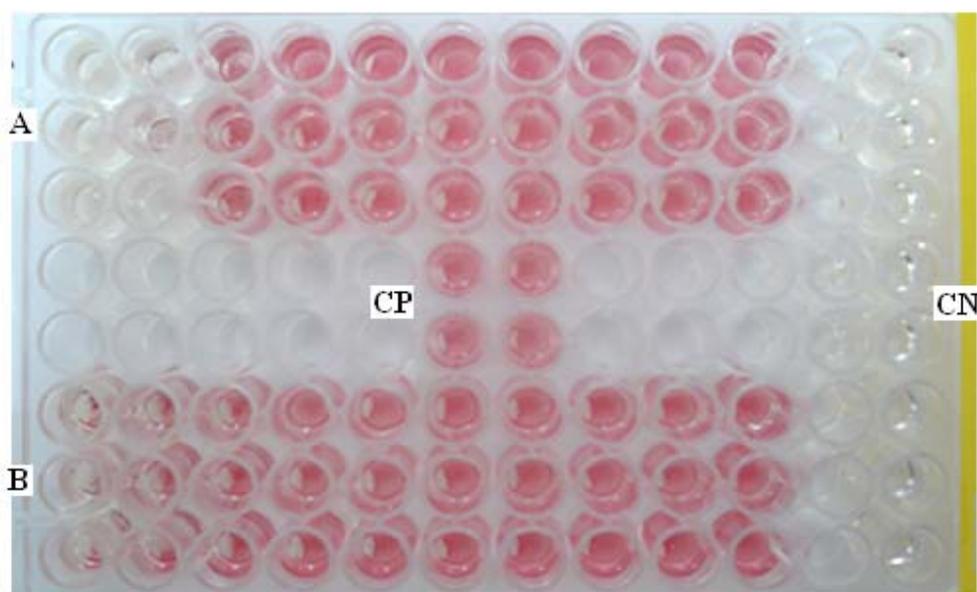


Figura 26 - Avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* frente ao *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Óleo essencial do caule OC1(A); óleo essencial dos caules rizomatosos OR1 (B); controle positivo (CP) e controle negativo (CN).

4.4.2 Avaliação da atividade antifúngica e algicida *in vitro*

Após a análise da atividade antifúngica e algicida evidenciou-se que apenas a cepa de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 28952 apresentou-se suscetível ao óleo essencial das folhas coletas em abril de 2006 (OF1), sendo os valores de CIM e CFM de 2125 µg/mL. As demais cepas não foram inibidas pelo óleo essencial das folhas e dos caules aéreos (OC1) da coleta de abril de 2006, nas concentrações testadas.

4.5 Determinação da atividade antibacteriana dos extratos diclorometânicos e etanólicos obtidos de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*

4.5.1 Extrato diclorometânico de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2004

Os resultados da atividade antibacteriana do extrato diclorometânico das partes aéreas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* encontram-se na tabela 30.

Tabela 30: Valores de CIM e CBM encontrados para o extrato diclorometânico das partes aéreas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril/2004.

Cepa ATCC	Extrato diclorometânico das partes aéreas	
	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	512,5	1.025
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	4.100	>4.100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>4.100	>4.100
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	512,5	512,5
Cepa hospitalar		
<i>Bacillus cereus</i>	1.025	>8.200
<i>S. aureus</i> β-hemolítico	2.050	>8.200

(Concentração máxima testada para cepas ATCC: 4.100 µg/mL, para cepas hospitalares: 8.200 µg/mL)

4.5.2 Extratos diclorometânicos e etanólico de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

Os valores de CIM e CBM para os extratos da espécie coletada em abril de 2006 encontram-se discriminados na Tabela 31. O extrato etanólico dos caules aéreos não foi testado, uma vez que não foi possível a sua solubilização no solvente utilizado para os testes da atividade antibacteriana.

Tabela 31: Avaliação da CIM ($\mu\text{g/mL}$) e CBM ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* coletada em abril de 2006

Órgão	FOLHA				CAULE	
	Diclorometânico*		Etanólico		Diclorometânico*	
Cepa ATCC	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	512,5	2.050	2.050	>8.200	64,06	512,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>4.100	>4.100	>8.200	>8.200	4.100	>4.100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>4.100	>4.100	>8.200	>8.200	>4.100	>4.100
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	2.050	>4.100	4.100	4.100	128,1	128,1
Cepa hospitalar						
<i>Bacillus cereus</i>	512,5	8.200	8.200	>8.200	>8.200	>8.200
<i>S. aureus</i> β -hemolítico	2.050	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200	>8.200

*Concentrações testadas até 4.100 $\mu\text{g/mL}$; cepas hospitalares: concentração máxima testada: 8200 $\mu\text{g/mL}$

6 DISCUSSÃO

As propriedades terapêuticas das plantas utilizadas no tratamento de infecções são atribuídas às diversas classes de metabólitos secundários. Entre eles podemos destacar os terpenóides, grupo com interessantes atividades farmacológicas e biológicas já descritas. Os terpenóides de baixo peso molecular, incluindo os monoterpenóides, sesquiterpenóides e norisoterpenóides, são encontrados entre compostos voláteis emitidos por flores, frutos e folhas. Diferentes genes regulam a produção destes compostos em diferentes tecidos vegetais, bem como em fases distintas de desenvolvimento destes órgãos (LÜCHER et al., 2004).

Existe um grande número de estruturas sesquiterpenoídicas conhecidas com diferente estereoquímica e diversas funções no vegetal. Devido a esta larga variedade de funções bioquímicas, podem exercer distintas atividades tais como: antimicrobiana, antifúngica, herbicida, e atividades hormonais. O fato de exercerem importante papel nas interações inter-espécie, explica suas atividades biológicas marcantes, sendo que muitos destes compostos têm sido usados como medicamentos, pesticidas, fragrâncias e flavorizantes. Entretanto, é freqüente a dificuldade de isolar sesquiterpenos altamente puros em grandes quantidades, uma vez que as plantas geralmente os produzem em concentrações extremamente pequenas e em misturas complexas, com várias estruturas isômeras. Para a produção de terpenóides em massa e altamente purificados tem sido descritos métodos biotecnológicos, com alterações nas sesquiterpeno-sintases e na rota do mevalonato (YOSHIKUNI et al., 2006).

Para *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* não existem relatos de sua utilização na medicina popular, sendo citada por alguns como planta tóxica, sem justificativa. Entretanto, um relatório do Instituto Nacional de Agropecuária do Uruguai (2004) sugere um possível uso da espécie como planta aromática. Também vale lembrar que plantas consideradas tóxicas, após o isolamento e estudo de seus metabólitos secundários, foram habilitadas como plantas de potencial medicinal. Como exemplos podem ser citadas espécies de *Chondodendron*, das quais foi obtida a d-tubocurarina, um bloqueador neuromuscular (VIEGAS Jr et al., 2006).

Como a composição química das plantas é extremamente complexa, muito freqüentemente ocorre a extração concomitante de várias classes de substâncias, farmacologicamente ativas ou não, desejadas ou não (FALKENBERG et al., 2003). Com o interesse de obter terpenóides de baixa polaridade de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* pelo processo de maceração, selecionou-se como solvente o diclorometano, adequado para a extração de substâncias lipofílicas, óleos fixos e voláteis, ceras, agliconas, sapogeninas e alcalóides na forma de base livre (SONAGLIO et al., 2003). O extrato diclorometânico obtido das partes aéreas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* acusou, através da análise por CCD, a presença de terpenóides, entre outras substâncias, pigmentos e uma grande quantidade de ceras vegetais, que dificultaram seu fracionamento por cromatografia em coluna, obstruindo a migração dos demais constituintes.

A utilização de cromatografia em coluna sobre gel de sílica impregnado com solução aquosa de nitrato de prata a 10% (AgNO_3), foi eficiente no isolamento do germacreno D, a partir de uma fração contendo vários outros terpenóides. A estrutura do germacreno D apresenta três insaturações (doadores de elétrons π) que complexam com os íons prata (aceptores de elétrons π) alterando o tempo de retenção dos terpenóides, fazendo com que os compostos com maior número de insaturações fiquem retidos na fase estacionária, sendo que as posições destas ligações na molécula também influenciam na velocidade de eluição (BROCHINI et al., 1999; WILLIAMS, MANDER, 2001).

O germacreno D é um constituinte sesquiterpênico muito freqüente nos vegetais, principalmente em óleos essenciais, sendo produzido também por fungos, bactérias e invertebrados marinhos (PICAUD et al., 2006). Este sesquiterpeno já foi isolado de várias espécies de *Senecio*, principalmente das partes aéreas, mas é o primeiro relato de isolamento em *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*. As espécies do gênero em que já foi relatada a presença do germacreno D foram: *Senecio vitalis* N. E. Br. (BOHLMANN, ZIESCHE, 1980), *S. trichopterygius* Muscher (BOHLMANN et al., 1980), *S. jacobaea* L. (DOOREN et al., 1981), *S. macrotis* Baker (BOHLMANN et al., 1981c), *S. implexus* Bally (BOHLMANN et al., 1981d), *S. glanduloso-pilosus* Volkens et Muschler (BOHLMANN, GUPTA, 1982), *S. lydenburgensis* Hutch. et Burt Davy (BOHLMANN, BAPUJI, 1982), *S. pleistocephalus* S. Moore e *S. coronatus* (Thunb.) Harv. (BOHLMANN, ZDERO, 1982a), *S. microglossus* DC. (BOHLMANN et al., 1983), *S. brasiliensis* (Spreng.) Less., *S. venosus* Harv.

(BOHLMANN et al., 1985), *S. desfontainei* Druce (METWALLY, DAWIDAR, 1986), *S. discolor* (Sw.) DC., *S. richii* A. Gray, *S. variabilis* Sch. Bip. (BOHLMANN et al., 1986), *S. philippicus* Regel et Koern., *S. subumbellatus* Phil. (JAKUPOVIC et al., 1991), *S. desiderabilis* Vellozo (DEUSCHLE, 2003), *S. subrubriflorus* O. Hoffm. (BOHLMANN, ZDERO, 1982b), *S. platensis* Arech (BOLZAN et al., 2005), *S. bonariensis* Hook. et Arn. (SILVA, 2006) e *S. heterotrichius* (FRANCESCATO, 2007). Sua ampla distribuição no gênero pode ser atribuída ao fato deste composto ser um intermediário comum na biossíntese de outros hidrocarbonetos sesquiterpênicos, que por sua vez, originam derivados de estruturas mais complexas (YOSHIHARA et al., 1969; STEELE et al., 1998; BÜLLOW, KÖNIG, 2000).

No entanto, o germacreno D não é adequado como marcador quimiotaxonômico, uma vez é de ampla distribuição na natureza e é instável (KRAKER et al., 1998; DE FEO; 2003). Dados de literatura indicam que altas temperaturas, como as utilizadas na extração dos óleos por hidrodestilação, podem levar a sua degradação ou induzir um rearranjo molecular, originando outros compostos de natureza sesquiterpenoídica, considerados artefatos (RADULOVIC' et al., 2007).

O germacreno D apresenta uma estrutura cíclica com 10 átomos de carbono e 3 duplas ligações, sendo duas pertencentes ao anel e uma dupla ligação exometilênica. O germacreno D é um composto quiral presente em muitas famílias de plantas, entre elas Asteraceae (MOZURAITIS et al., 2002), existindo na forma de dois enantiômeros, (+) e (-) (Figura 27). Na maioria das plantas superiores, está presente o enantiômero (-), enquanto que o enantiômero (+) é encontrado em organismos inferiores; entretanto, em algumas espécies ambos os enantiômeros são descritos (BÜLOW, KÖNIG, 2000; PROSSER et al., 2002; STELIOPOULOS et al., 2002). Este composto é biossintetizado a partir do precursor difosfato de farnesila, através da catálise por sesquiterpeno-sintases (ciclases). Cada enantiômero é biossintetizado por uma rota metabólica diferente, que requer diferentes enzimas enantioespecíficas (SCHMIDT et al., 1999; HUNTINGTON, KINNEL, 2006). Segundo Bülow e König (2000), a composição enantiomérica também pode variar de acordo com a parte da planta avaliada e o local de coleta.

Para o germacreno D obtido de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus*, estudos com coluna quiral (MOZURAITIS et al., 2002), CG-FID (LÜCHER et al., 2004) ou com

polarímetro, os quais permitem a determinação e/ou quantificação dos enantiômeros, não foram realizados.

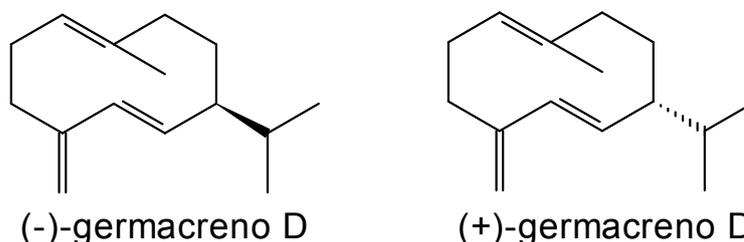


Figura 27 - Enantiômeros do germacreno D (Adaptado de STELIOPOULOS et al., 2002)

A quiralidade das moléculas orgânicas é um ponto crucial para as atividades biológicas, uma vez que metade de todos os produtos orgânicos ativos possui um centro quiral (OHLOFF, 1994 apud STRANDEN et al., 2002). Isto pode ser evidenciado para o germacreno D e seus enantiômeros, que possuem diferentes efeitos sobre o comportamento de insetos. As mariposas de *Helicoverpa armigera* possuem um receptor neuronal de alta sensibilidade e seletividade para o germacreno D. Entretanto, o enantiômero (-), mais freqüente nos vegetais superiores apresenta um efeito estimulante dez vezes maior que o enantiômero (+) (STRANDEN et al., 2002). Os receptores olfativos neuronais das mariposas *Heliothis virescens*, *Helicoverpa armigera* e *Helicoverpa assulta* também respondem ao (-)-germacreno D, sendo atribuída esta propriedade ao sistema anelar de 10 membros e às três duplas ligações, que agem como centros ricos em elétrons, além do grupamento isopropil, responsável pelos diferentes efeitos dos dois enantiômeros (STRANDEN et al., 2003).

Para o germacreno D é relatada atividade inibidora do apetite de larvas de *Thaumetopoea pityocampa* (PETRAKIS et al., 2005), inibidora da produção de óxido nítrico em macrófagos ativados (MATSUDA et al., 1999) e tripanossomicida *in vitro* (BIAVATTI et al., 2001). Também é descrita a ausência de toxicidade frente à *Artemia salina* (BIAVATTI et al., 2001) e ausência de atividade antimicrobiana frente a diferentes microrganismos (BIAVATTI et al., 2001; DEUSCHLE, 2003; DEUSCHLE et al., 2007). Francescato (2007) isolou o germacreno D de *S. heterotrichius* e, através de uma reação de foto-oxidação obteve o germacreno-D-1-hidroperóxido, que apresentou atividade antifúngica. Estes resultados indicam que modificações

estruturais em compostos inativos isolados de plantas possibilitam a obtenção de moléculas de interesse farmacêutico.

O germacreno D também é reconhecido como um estimulante sexual de machos de duas espécies de barata (*Periplaneta americana* e *P. japonica*) (KITAMURA et al., 1976), estimulante da ovoposição da mariposa *Diaphania nitidalis* Stoll. (PETERSON et al., 1994) e parece estar envolvido no reconhecimento da planta hospedeira pelo besouro do tomate (*Leptinotarsa decemlineata* Say) (WEISSBECKER et al., 1997).

A importância da interação dos compostos voláteis secretados de plantas com os insetos é evidente, sendo que esta relação pode acarretar vantagens ou desvantagens para a planta, como por exemplo, a polinização e atração de insetos fitófagos, respectivamente.

Não foram realizados testes de atividade antibacteriana para AM1, uma vez que análise estrutural permitiu concluir que se trata do germacreno D, substância já isolada por nosso grupo de pesquisa em espécies de *Senecio*. A avaliação de sua atividade antimicrobiana foi realizada por Deuschle (2003), sendo que a substância apresentou-se inativa frente as diferentes cepas bacterianas e fúngicas nas concentrações até 5000 µg/mL.

Sabe-se que a quantidade e a constituição do óleo essencial podem variar de acordo com o genótipo, as condições ambientais, saúde do vegetal, idade e órgão da planta utilizado. É comum ocorrer nas partes jovens de vegetais uma maior produção de terpenóides, já que estas possuem uma maior capacidade fotossintética e, conseqüentemente, uma maior atividade metabólica (VERPOORTE, 1998). Este fato pode ser observado ao realizar-se a análise do rendimento dos óleos essenciais (Tabelas 22 e 23), onde a coleta de abril apresentou melhor rendimento, período em que a *S. crassiflorus* apresenta-se em estágio inicial de desenvolvimento.

Fatores como coloração e odor dos óleos obtidos de diferentes órgãos de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* apresentaram variações pouco significativas.

Na análise da composição dos óleos essenciais obtidos das folhas, o óleo obtido da coleta de abril apresentou 15 compostos, prevalecendo os sesquiterpenóides oxigenados (86% do total) sendo os principais α -cadinol (56%) e τ -muurolol (25%). Já entre os sesquiterpenóides não oxigenados (19%), destacam-se o germacreno D (6%), o δ -amorfeno (4%) e o germacreno B (3%) (Tabela 26). O

α -cadinol e τ -muurolol foram descritos como constituintes majoritários do óleo essencial de *S. tephroisioides* Turcz. Os álcoois, a exemplo do α -cadinol e do τ -muurolol, são compostos que apresentam atividade bactericida conhecida frente a células vegetativas, agindo como agentes desnaturantes de proteínas, solventes ou agentes desidratantes (DORMAN; DEANS, 2000). Segundo Griffin et al.(1999), os sesquiterpenóides oxigenados apresentariam uma maior atividade sobre o crescimento microbiano, explicada pela capacidade de formar pontes de hidrogênio. Para o α -cadinol literatura relata propriedades citotóxicas (TEIBLER et al., 2001; LEGAULT et al., 2003).

Na coleta de dezembro, o óleo essencial das folhas apresenta o predomínio dos ésteres caracterizados, apenas pela análise de espectrometria de massas, como o acetato de non-3-enila (29%) e o acetato de undec-2-enila (28%) (NIST, 1998) seguido dos sesquiterpenóides não oxigenados zingibereno (22%) e germacreno D (5%). A correlação das classes de metabólitos encontradas nos óleos essenciais das folhas pode ser observada na Figura 22.

Nas plantas vasculares em toda a superfície das partes aéreas ocorre um filme delgado, a cutícula, que atua na proteção dos tecidos contra danos mecânicos, na reflexão e atenuação das radiações, desidratação, redução do acúmulo de água nas superfícies da planta, sendo também a primeira barreira mecânica contra fungos e insetos. A estrutura da cutícula é complexa e está sujeita a variações como: espécie, idade da planta e órgão vegetal. A cutícula é normalmente formada por um retículo de fitoxilipinas, geralmente com 16 -18 átomos de carbono e ligações éster (BLÉE, 1998).

É conhecido que uma grande diversidade de metabólitos secundários como terpenos, fenóis e derivados de ácidos graxos, derivados da estrutura básica do esqualeno, podem ser modificados por enzimas que catalisam descarboxilação, oxidação/redução, hidroxilação, glicosilação, metilação e reações de acilação. A acilação de compostos que contém oxigênio e nitrogênio originam ésteres e amidas, respectivamente. Estes tipos de modificações são muito comuns em metabólitos secundários (D'AURIA, 2006), fator que justifica a presença de ésteres nos óleos essenciais obtidos na coleta de dezembro.

Devido a grande importância farmacológica dos terpenos e fenilpropanóides em óleos essenciais e da dificuldade da sua caracterização, estão disponíveis na literatura várias compilações com análises, tempos de retenção e índices de Kovats,

para auxílio na sua caracterização. Por outro lado, a literatura referente aos ácidos graxos de baixo peso molecular, seus ésteres e derivados é pequena (FONSECA et al., 2006), o que dificulta a identificação dos compostos encontrados os óleos essenciais da coleta de dezembro.

Em um estudo realizado com espécies do gênero *Pelargonium* (Geraniaceae) foi demonstrado que o estresse das temperaturas elevadas e do aumento da luminosidade nos meses de verão acarreta na transformação de monoterpenóides, como o geraniol e o citronelol em seus ésteres (RAJESWARA et al., 1996). O aumento na produção destes metabólitos confere vantagens para a planta como proteção contra a desidratação (LIMA et al., 2003), o que é altamente vantajoso para esta espécie, que habita as dunas frontais do litoral sul do Brasil, e também como barreira física ao ataque de microrganismos (KUBO; MATSUMOTO, 1984).

Na coleta de abril os óleos essenciais dos caules aéreos e rizomatosos (Figuras 23 e 24) demonstraram um predomínio dos sesquiterpenóides não oxigenados (94 e 92%, respectivamente) sendo o germacreno D (Tabela 26) o constituinte majoritário, seguido do germacreno B. Nos óleos obtidos em dezembro ocorreu o predomínio da mesma classe de compostos. No entanto, o zingibereno foi o constituinte majoritário nos caules aéreos (40%) e caules rizomatosos (47%), seguido pelo germacreno D. Foi observada uma semelhança na morfologia entre os caules aéreos e rizomatosos, o que poderia ser uma das justificativas para a semelhança na constituição destes óleos essenciais. A maior concentração de ésteres nos caules aéreos pode ser relacionada ao maior número de fatores ambientais, como a maior exposição às radiações, aos qual este órgão esta sujeito.

A presença de monoterpenóides nos óleos da coleta do final da primavera, entre eles o β -pineno (caules rizomatosos), característico nos óleos essenciais de Asteraceas (ALVAREZ-CASTELLANOS; PASCUAL-VILLALOBOS, 2003), pode ser relacionada ao aumento da luminosidade neste período (LIMA et al., 2003).

A extração do óleo essencial das partes aéreas resultou em um incremento (Figura 25) por parte dos sesquiterpenóides não oxigenados (aproximadamente 62%), superior ao encontrado no óleo das folhas e caules aéreos, quando processados separadamente. Já os ésteres de ácidos graxos e monoterpenóides oxigenados sofreram redução percentual. Chama a atenção, o fato da atividade antibacteriana deste óleo ter sido superior ao óleo dos caules e inferior ao das folhas, o que já era esperado.

Estudos sobre a influência da variação de temperatura ambiental na produção de óleo essencial é válida somente para uma espécie, uma vez que cada uma delas possui uma temperatura ótima para a produção qualitativa e quantitativa desta classe de constituintes (LIMA et al., 2003). O valor de mercado do óleo essencial é determinado pela sua qualidade, que depende diretamente da composição. Este aspecto, em plantas medicinais, deve ser considerado como uma questão de alta relevância, visto ser a droga vegetal caracterizada pelo teor de substâncias ativas que contém. É sabido que, no caso dos medicamentos, a faixa de variação de compostos ativos deve ser muito pequena para garantir a sua eficácia e segurança.

Todos os óleos analisados neste trabalho apresentaram sesquiterpenóides como os principais constituintes e, entre eles, o germacreno D aparece como um dos presentes em maior proporção. No entanto, a quantidade de germacreno D pode variar nas plantas de acordo com condições sazonais e parte da planta analisada, a exemplo do que ocorre com os demais metabólitos secundários (KITAMURA et al., 1976).

O extrato CH_2Cl_2 das partes aéreas apresentou atividade antibacteriana contra a cepa Gram-negativa e as cepas Gram-positivas ensaiadas, exceto frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 que demonstrou resistência. Estes resultados sugerem que o germacreno constituinte terpênico majoritário não seja responsável pela atividade antibacteriana deste extrato. A estrutura terpênica deste composto parece contribuir como coadjuvante a outros compostos com atividade antimicrobiana. Uma vez que, segundo Cowan (1999), a lipofilia de hidrocarbonetos de estrutura terpênica permite a sua partição nos lipídios da membrana celular, aumentando a sua permeabilidade e desestabilizando a estrutura da célula bacteriana. Esta propriedade pode facilitar a penetração de agentes antimicrobianos no interior celular e assim facilitar a sua ação e é uma explicação plausível para as interações positivas de constituintes de natureza sesquiterpenóide com antibióticos de uso convencional (BREHM-STECHER, JOHNSON, 2003; RÍOS, RECIO, 2005), e reforça a teoria de que efeitos de sinergismo ou antagonismo ocorram em extratos, óleos e frações. Observa-se em outros estudos que o germacreno D é constituinte majoritário de óleos essenciais extraídos de diferentes espécies vegetais com atividade antimicrobiana comprovada (JUTEAU et al., 2002; GONZAGA et al., 2003; IACOBELLIS et al., 2005; CHAVAN et al., 2006).

O extrato diclorometânico dos caules (CIM de 64,06 µg/mL) apresentou atividade bacteriostática contra *S. aureus* (ATCC 25923) muito superior ao óleo essencial (8.200 µg/mL). O mesmo pode ser evidenciado com o extrato diclorometânico (512,5 µg/mL) e etanólico (2.050 µg/mL) das folhas, cuja a ação bacteriostática foi superior a do óleo essencial (4.100 µg/mL). Estes resultados indicam que os constituintes ativos presentes no extrato, pelo menos em parte, não foram extraídos pela hidrodestilação e, portanto, não são voláteis.

As bactérias Gram-negativas *E. coli* e *P. aeruginosa*, ao contrário das bactérias Gram-positivas utilizadas nos testes, foram resistentes às concentrações dos três óleos testados. Estes resultados concordam com os existentes na literatura, os quais relatam uma maior suscetibilidade das bactérias Gram-positivas frente aos extratos vegetais (OLIVEIRA et al., 2007). Segundo Holley e Patel (2005), a membrana dual apresentada pelas bactérias Gram-negativas, forma um envelope complexo, protegendo-as contra a ação de constituintes vegetais. Uma vez que a característica comum dos compostos voláteis de plantas é a sua natureza hidrofóbica, não surpreende que estudos direcionados à elucidação de seu mecanismo de ação antimicrobiana geralmente indiquem a membrana celular como primeiro alvo (STAMMATI, et al. 1999).

O mecanismo de ação dos compostos terpênicos não está totalmente elucidado. Alguns estudos indicam que a atividade antibacteriana pode ser conferida pela lipofilia dos hidrocarbonetos (Cowan, 1999; Burt, 2004). Por outro lado, o efeito de alguns terpenóides sobre a captação de oxigênio e sobre a fosforilação oxidativa da célula bacteriana também parecem contribuir para a sua atividade (OLIVEIRA et al., 2007).

O óleo essencial das folhas da coleta de abril, constituído principalmente de sesquiterpenóides oxigenados apresentou atividade fungicida e fungistática (CIM e CBM de 2.125 µg/mL) frente a cepa de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 28952. Já o óleo essencial obtido dos caules aéreos constituído quase predominantemente de sesquiterpenóides não oxigenados e tendo como principais representantes o germacreno D (59%) e germacreno B (22%) não expressou atividade antifúngica.

Este foi o primeiro trabalho a relatar a análise química e a avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* sendo também pela primeira vez descrito o isolamento do sesquiterpeno germacreno D. Para esta espécie, havia sido descrita até então a presença de

sesquiterpenóides do tipo isodaucano (JARES; POMÍLIO, 1989) e alcalóides pirrolizidínicos (TRIGO et al., 2003). Também são inéditos os resultados referentes à avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos diclorometânicos e etanólicos de diferentes órgãos vegetais da espécie em questão.

6 CONCLUSÕES

O fracionamento do extrato diclorometânico das partes aéreas de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* permitiu o isolamento do germacreno D, um intermediário chave na biossíntese de vários compostos sesquiterpenóides, presente em diversos extratos e óleos essenciais de plantas. O rendimento da substância em relação ao material vegetal fresco foi de 0,0037%.

A análise química dos óleos essenciais de *S. crassiflorus* var. *crassiflorus* indicou que estes são constituídos quase que exclusivamente por sesquiterpenóides, ocorrendo variação na composição conforme a parte do vegetal do qual este foi obtido. A variação quali e quantitativa foi pequena entre os óleos obtidos dos caules aéreos e dos caules rizomatosos, sendo mais significativa quando comparada com o óleo obtido das folhas.

O germacreno D é um constituinte presente em todos os óleos essenciais, sendo majoritário nos óleos dos caules aéreos e subterrâneos coletados no início do outono. No óleo essencial das folhas predominam os sesquiterpenóides oxigenados α -cadinol e τ -muurolol.

A presença de monoterpenóides e dos ésteres de ácido graxo de baixo peso molecular, foi evidenciada apenas nos óleos essenciais obtidos da coleta do final da primavera.

Os óleos essenciais obtidos da coleta de abril apresentam melhor atividade antibacteriana quando comparada aos óleos obtidos da coleta de dezembro. O óleo essencial das folhas foi o que apresentou melhor atividade antibacteriana em ambas as coletas; e na coleta de abril este óleo teve a atividade antifúngica avaliada, sendo fungistático e fungicida frente a cepa de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 28952 (CIM e CFM = 2.125 $\mu\text{g/mL}$).

A cepa de *B. cereus* ATCC 14579 foi a mais suscetível à ação antimicrobiana dos óleos obtidos a partir da coleta de abril, demonstrando maior sensibilidade frente ao óleo essencial das folhas. Já o óleo essencial das folhas e das partes aéreas,

coletadas em dezembro, foram os únicos a apresentarem atividade antibacteriana frente as cepas de *S. aureus* ATCC 25923 e *B. cereus* isolado clínico. Não foi evidenciada atividade de nenhum óleo frente as cepas Gram-negativas nas concentrações testadas, o que permite aferir-lhes atividade bacteriana de estreito espectro.

A cepa Gram-negativa testada apresentou resistência aos extratos diclorometânico e etanólico das folhas. O extrato CH₂Cl₂ dos caules e das partes aéreas foram os únicos a apresentarem atividade frente a cepa *E. coli* ATCC 25922, com CIM = 4.100 µg/mL. Também foi o extrato CH₂Cl₂ dos caules a apresentar melhor atividade frente as cepas Gram-positivas ensaiadas, demonstrando atividade bacteriostática e bactericida frente as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CIM = 64,06 µg/mL; CBM = 512,5 µg/mL) e *Bacillus cereus* ATCC 14579 (CIM e CBM = 128,1 µg/mL), sendo estes resultados superiores aos obtidos com os óleos essenciais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDO, S. et al. Furanoeremophilanes and other constituents from *Senecio canescens*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 3937-3941, 1992.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 2001.

AFFEK, H. P.; YAKIR, D. Protection by isoprene against singlet oxygen in leaves. **Plant Physiology**, v. 129, n. 1, p. 269-277, 2002.

AGUILAR, F. J. A. et al. Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, and one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 3, p. 207-215, 2000.

ALBERTO, R. M. F.; FONTOURA, N. F. Distribuição e estrutura etária de *Ocyde quadrata* (Fabricius, 1787) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) em praia arenosa do litoral sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 1, p. 95-108, 1999.

ALVAREZ-CASTELLANOS, P. P.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Effect of fertilizer on yield and composition of flowerhead essential oil of *Chrysanthemum coronarium* (Asteraceae) cultivated in Spain. **Industrial Crops and Products**, v. 17, n. 2, p. 77-81, 2003.

ALZAMORA, L. et al. Medicina tradicional en el Perú: actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. **Anales de la Facultad de Medicina**, v. 62, n. 2, p. 156-161, 2001.

ANDRADE-CETTO, A.; HEINRICH, M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 3, p. 325-348, 2005.

ANGELOPOULOU, D.; DEMETZOS, C.; PERDETZOGLOU, D. Na interpopulation study of the essential oils of *Cistus parviflorus* L. growing in Crete (Greece). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 4, p. 405-415, 2001.

ARMAKA, M. et al. Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of herpes simplex virus type 1. **Antiviral Research**, v. 43, n. 2, p. 79-92, 1999.

BALANDRIN, M. F.; KINGHORN, A. D.; FARNSWORTH, N. R. Plant-derived natural products in drug discovery and development. In: **Human Medicinal Agents from Plants**. KINGHORN, A. D., BALANDRIN, M. F. (Ed.). ACS Symposium Series 534. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1993. p. 2-12.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, n. 5, p. 431-441, 2005.

- BARANAUKIENE, R. et al. Sensory and instrumental evaluation of catnip (*Nepeta cataria* L.) aroma. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n 13, p. 3840-3848, 2003.
- BARRERO, A. F. et al. Biomimetic cyclization of cnicin to malacitanolide, a cytotoxic eudesmanolide from *Centaurea malacitana*. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 10, p. 1034-1035, 1997.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: UFV – Imprensa Universitária, 1986. v. 3, 326 p.
- BASER, K. H. C.; DEMIRCI, B. The essential oil of *Senecio farfarifolius* Boiss. et Kotschy growing in Turkey. **Journal Essential Oil Research**, v. 16, n. 6, p. 558-559, 2004.
- BENNET-JENKINS, E.; BRYANT, C. Novel sources of anthelmintics. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 8/9, p. 937-947, 1996.
- BIAVATTI, M. W. et al. Chemistry and bioactivity of *Raulinoa echinata* Cowan, an endemic Brazilian Rutaceae species. **Phytomedicine**, v. 8, n. 2, p. 121-124, 2001.
- BLEÉ, E. Phytooxylipins and plant defense reactions. **Progress in Lipid Research**, v. 32, n. 1, p. 33-72, 1998.
- BOHLMANN, F.; BAPUJI, M. Cacalol derivatives from *Senecio lydenburgensis*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 3, p. 681-683, 1982.
- BOHLMANN, F.; GUPTA, R. K. Eremophilene and germacrene derivatives from *Senecio glanduloso-pilosus*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 10, p. 2595-2597, 1982.
- BOHLMANN, F.; JAKUPOVIC, J.; ZDERO, C. Neue norsesquiterpene aus *Rudbeckia laciniata* und *Senecio paludaffinis*. **Phytochemistry**, v. 17, n. 11, p. 2034-2036, 1978.
- BOHLMANN, F.; ZDERO, C. New furanoeremophilanes from South African *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 17, n. 7, p. 1161-1164, 1978.
- BOHLMANN, F.; ZDERO, C. Germacrene derivatives and other sesquiterpenes from *Senecio* species and *Lordhowea insularis*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 10, p. 2537-2541, 1982a.
- BOHLMANN, F.; ZDERO, C. Sandaracopimarene derivatives from *Senecio subrubriflorus*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 7, p. 1697-1700, 1982b.
- BOHLMANN, F.; ZIESCHE, J. Eremophilane derivatives from *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 19, n. 12, p. 2681-2684, 1980.
- BOHLMANN, F.; ZIESCHE, J. Sesquiterpenes from three *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 3, p. 469-472, 1981.

BOHLMANN, F. et al. Terpen-derivate aus *Senecio*-arten. **Phytochemistry**, v. 16, n. 7, p. 965-985, 1977.

BOHLMANN, F. et al. Seven furanoeremophilanes from three *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 19, n. 12, p. 2675-2679, 1980.

BOHLMANN, F. et al. The first acetylenic monoterpene and other constituents from *Senecio clevelandii*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 10, p. 2425-2427, 1981a.

BOHLMANN, F. et al. Furanoeremophilanes from *Senecio smithii*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 10, p. 2389-2391, 1981b.

BOHLMANN, F. et al. Seco-eremophilanolides from *Senecio macrotis*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1155-1157, 1981c.

BOHLMANN, F. et al. Sesquiterpenes from *Kleinia* species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 2, p. 251-256, 1981d.

BOHLMANN, F. et al. Notonipetrone-like sesquiterpenes from *Senecio kleinia*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2024-2026, 1981e.

BOHLMANN, F. et al. Two sesquiterpenes from *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 22, n. 7, p. 1675-1677, 1983.

BOHLMANN, F. et al. Eremophilane derivatives and other constituents from *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 24, n. 6, p. 1249-1261, 1985.

BOHLMANN, F. et al. Further pyrrolizidine alkaloids and furoeremophilanes from *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 25, n. 5, p. 1151-1159, 1986.

BOLZAN, A. A. et al. A peroxide precursor from *Senecio platensis* Arech. In: SIMPÓSIO BRASIL-ALEMANHA, 2., 2005, Santa Maria/Santa Cruz do Sul. **Anais do 2º Simpósio Brasil-Alemanha: o uso racional da ciência e da tecnologia para o desenvolvimento sustentável**. Santa Maria/Santa Cruz do Sul, 2005. p. 121.

BOLZAN, A. A. et al. Espécies de *Senecio* na Medicina Popular da América Latina e Toxicidade Relacionada a sua Utilização. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 619-625, 2007.

BORK, P. M. et al. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF- κ B. **FEBS Lett.** v. 402, n. 1, p. 85-90, 1997.

BRASIL. Resolução RDC nº 48 de 16 de março de 2004. **ANVISA**. Normatização do registro de medicamentos fitoterápicos, 2004.

BRAUN, A. M.; OLIVEROS, E. Applications of singlet oxygen reactions: mechanistic and kinetic investigations. **Pure and Applied Chemistry**, v. 62, n. 8, p. 1467-1476, 1990.

BREHM-STECHER, B. F., JOHNSON, E. A. Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol, bisabolol and apritone. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 10, p. 3357-3360, 2003.

BREMER, K. **Asteraceae: cladistics and classification**. Portland: Timber Press, 1994. 752 p., il.

BROCHINI, C. B. et al. Identificação de componentes de óleos voláteis: análise espectroscópica de misturas de sesquiterpenos. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 37-40, 1999.

BÜLOW, N.; KÖNIG, W. A. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. **Phytochemistry**, v. 55, n. 2, p. 141-168, 2000.

BURGUEÑO-TAPIA, E. et al. Cacalolides from *Senecio madagascariensis*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 4, p. 518-521, 2001.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CABRERA, A. L. In: Burkart, A. **Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)**. Buenos Aires: Colección Científica del I. N. T. A., 1974. v. 6, p. 106-554

CABRERA, A. L.; KLEIN, R. M. Compostas. In: REITZ, P. P. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1975.

CALLIARI, L.R. et al. Variabilidade das dunas frontais no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul, Brasil. **Gravel**, v. 3; n. 3, p. 15-30, 2005.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 3, n. 2, p. 179-189, 2000.

CAMEJO-RODRIGUES, J. et al. An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of “Serra de São Mamede” (Portugal). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, n. 2/3, p. 199-209, 2003.

CAÑIGUERAL, S.; DELLACASSA, E.; BANDONI, A. L. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependência o factores de desarrollo? **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 22, n. 3, p. 265-278, 2003.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Non-antibiotic therapies for infectious diseases. **Communicable Diseases Intelligence**, v. 27 (suplementar), p. S143-S146, 2003.

CASTEEL, D. A. Peroxy natural products. **Natural Products Reports**, v. 9, n. 4, p. 289-312, 1992.

CATALANO, S. et al. A xanthone from *Senecio mikanioides* leaves. **Phytochemistry**, v. 42, n. 6, p. 1605-1607, 1996.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. In: **Plantas medicinais** – sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001. 500 p., p. 50-59.

CHALCHAT, J.-C. et al. Essential oil of *Senecio squalidus* L., Asteraceae. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, n. 3, p. 227-228, 2004.

CHAND, S. et al. Rapid screening of the antimicrobial activity of extracts and natural products. **The Journal of Antibiotics**, v. 47, n. 11, p. 1295-1304, 1994.

CHAVAN, M. J.; SHINDE, D. B.; NIRMAL, S. A. Major volatile constituents of *Annona squamosa*. **Natural Product Research**, v. 20, n. 8, p. 754-757, 2006.

CHENG D. L. et al. Diterpene glycosides from *Senecio rufus*. **Phytochem**, v. 32, n. 1, p. 151-153, 1993.

CHOJKIER, M. Hepatic sinusoidal-obstruction syndrome: toxicity of pyrrolizidine alkaloids. **Journal of Hepatology**, v. 39, n. 3, p. 437-446, 2003.

CHUN-LIN, L.; RONG, L. Ethnobotanical studies on medicinal plants used by the red-headed yao people in Jinping, Yunnan Province, China. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2/3, p. 389-395, 2004.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 829-837, 2004.

CLENNAN, E. L. New mechanistic and synthetic aspects of singlet oxygen chemistry. **Tetrahedron**, v. 56, n. 47, p. 9151-9179, 2000.

CLENNAN, E. L.; PACE, A. Advances in singlet oxygen chemistry. **Tetrahedron**, v. 61, n. 28, p. 6665-6691, 2005.

COIMBRA, R. **Notas de Fitoterapia**: Catálogo dos dados principais sobre plantas utilizadas em Medicina e Farmácia. Parcialmente revisada e ampliada por DA SILVA, E. D. 2. ed. Rio de Janeiro: L.C.S.A., 1958. p. 349.

COS, P. et al. Further evaluation of Rwandan medicinal plant extracts for their antimicrobial and antiviral activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 155-163, 2002.

CORDAZZO, C. V.; COSTA, C. B. S. Associações vegetais das dunas frontais de Garopaba (SC). **Ciência e Cultura**, v. 41, n. 9, p. 906-910, 1989.

CORDAZZO, C. V.; SEELIGER, U. **Guia ilustrado da vegetação costeira no extremo sul do Brasil**. Rio Grande: FURG, 1998. 275p.

CORDEIRO, S. Z. Composição e distribuição da vegetação herbácea em três áreas com fisionomias distintas na Praia do Perú, Cabo Frio, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.19; n.4; p. 679-693, 2005.

COULOMBE, R. A. Jr. Pyrrolizidine alkaloids in foods. **Advances in Food Nutrition Research**, v. 45, p. 61-99, 2003.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CULVENOR, C. C. J. et al. Hepato- and pneumotoxicity of pyrrolizidine alkaloids and derivatives in relation to molecular structure. **Chemico-Biological Interactions**, v. 12, n. 3/4, p. 299-324, 1976.

D'AURIA, J. C. Acyltransferases in plants: a good time to be BAHD. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 3, p. 331-340, 2006.

DE FEO, V. Ethnomedical field study in northern Peruvian Andes with particular reference to divination practices. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, n. 2/3, p. 243-256, 2003.

DELFINO, L.; MASCIADRI, S. Relevamiento florístico em el Cabo Polonio, Rocha, Uruguay. **Iheringia, Série Botânica**, v. 60, n. 2, p. 119-128, 2005.

DEUSCHLE, R. A. N. **Atividade antimicrobiana e análise fitoquímica de *Senecio desiderabilis* Vellozo (Asteraceae)**. 2003. 124f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

DEUSCHLE, R. A. N. et al. Antimicrobial activity of *Senecio desiderabilis* Vellozo (Asteraceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 3, p. 356-359, 2006.

DEUSCHLE, R. A. N. et al. Fracionamento do extrato diclorometânico de *Senecio desiderabilis* Vellozo e avaliação da atividade antimicrobiana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, 2007. No prelo.

DHINGRA, V.; RAO, K. V.; NARASU, M. L. Artemisinin: present status and perspective. **Biochemical Education**, v. 27, n. 2, p. 105-109, 1999.

DONG-LIANG, C. et al. Diterpene glycosides from *Senecio rufus*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 1, p. 151-153, 1993.

DOOREN, B.; BOS, R.; TATTJE, D. H. E. Composition of essential oils of some *Senecio* species. **Planta Medica**, v. 42, n. 4, p. 385-389, 1981.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

DREWES, S. E. et al. Antimicrobial monomeric and dimeric diterpenes from the leaves of *Helichrysum tenax* var *tenax*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 7, p. 716-722, 2006.

DUDAREVA, N. et al. (E)- β -Ocimene and myrcene synthase genes of floral scent biosynthesis in snapdragon: function and expression of three terpene synthase genes of a new terpene synthase subfamily. **The Plant Cell**, v. 15, p. 1227-1241, 2003.

DUPRÉ, S. et al. Eremophilane, germacrane and shikimic acid derivatives from Chilean *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 30, n. 4, p. 1211-1220, 1991.

EL-SHAZLY, A.; DORAI, G.; WINK, M. Chemical composition and biological activity of the essential oils of *Senecio aegyptius* var. *discoideus* Boiss. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 57, n.5/6. p. 434-439, 2002.

ELOFF, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, n. 1, p. 1-8, 1998.

ESPINEL-INGROFF, A.; PFALLER, M. A. Antifungal agents and susceptibility testing. In: MURRAY, P. R. et al. **Manual of clinical microbiology**. 6. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1995. p. 1405

ESTEVEES, I. et al. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1/3, p. 191-196, 2005.

FABRICANT, D. S.; FARNSWORTH, N. R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 1, p. 69-75, 2001.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFGRS / Editora da UFSC, 2003. p. 229-245.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

FARIAS, M. R. Avaliação da Qualidade de matérias-primas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFGRS / Editora da UFSC, 2003. p. 263-288.

FERNÁNDEZ-ZÚÑIGA, G.; FERNÁNDEZ-VALDERRAMA, I.; HAMMOND, G. B. Investigation of the essential oils of *Senecio tephrosioides* and *Salvia oppositiflora*. **Revista Latinoamericana de Quimica**, v. 25, n. 1, p. 14-16, 1996.

FERREIRA, A. G. et al. Germinação de sementes de Asteraceae nativas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 2, p. 231-242, 2001.

FONSECA, E. N. et al., Análise química e atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos de *Vitex cymosa* Bertero. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 87-91, 2006.

FORTIN, H. et al. In vitro antiviral activity of thirty-six plants from La Réunion Island. **Fitoterapia**, v. 73, n. 4, p. 346-350, 2002.

FOX, D. W. et al. Pyrrolizidine (*Senecio*) intoxication mimicking Reye syndrome. **The Journal of Pediatrics**, v. 93, n. 6, p. 980-982, 1978.

FRAGA, B. M. et al. A chemotaxonomical study of *Sideritis massoniana* taxa. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 23, n. 7/8, p. 835-842, 1995.

FRANCESCATO, L. N. **Constituintes de *Senecio heterotrichius* DC.: isolamento, elucidação estrutural, derivatização e avaliação da atividade antimicrobiana; estudos dos constituintes voláteis de outras espécies de *Senecio***. 2007. 158f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GABRIELSON, J et al. Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. **Journal of Microbiological Methods**, v. 50, n. 1, p. 63-73, 2002.

GAVA, A.; BARROS, C. S. L. *Senecio* spp. poisoning of horses in Southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 36-40, 1997.

GEISSBERGER, P.; SEQUIN, U. Constituents of *Bidens pilosa*. ; Do the components found so far explain the use of this plant in traditional medicine? **Acta Tropica**, v. 48, n. 4, p. 251-261, 1991.

GIMMLER-LUZ, M. C.; ERDTMANN, B. Clastogenic activity of integerrimine determined in mouse micronucleus assays. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 20, n. 3, p. 405-409, 1997.

GHANNADI, A. et al. Quantity and composition of the SDE prepared essential oil of *Nepeta macrosiphon* Boiss. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.2, n. 2, p. 103-105, 2003.

GHASEMI, N. et al. Ghasemi, N. Characterization of volatile constituents from aerial parts of *Varthemia persica* DC (var. *persica*). **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 2, n.4, p. 241-243, 2003.

GHELARDINI, C. et al. Local anaesthetic activity of β -Caryophyllene. **IL Farmaco**, v.56, n 5/7, p. 387-389, 2001.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GONZAGA, W. A. et al. Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Planta Medica**, v. 69, n. 8, p. 773-775, 2003.

GORDON, G. J.; COLEMAN, W. B.; GRISHAM, J. W. Induction of cytochrome P450 enzymes in the livers of rats treated with the pyrrolizidine alkaloid retrorsine. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 69, n. 1, p. 17-26, 2000.

GOTTLIEB, O. R. New underutilized plants in the Americas: solution to problems of inventory through systematics. **Interciência**, v. 6, n. 1, p. 22-29, 1981.

GRAHAM, J. G. et al. Plants used against cancer – an extension of the work of Jonathan Hartwell. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, n. 3, p. 347-377, 2000.

GRIFFIN, S. G. et al., The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity **Flavour and Fragrance Journal**, v. 14, n.5, p. 322- 332, 1999.

GROMBONE-GUARATINI, M. T. et al. Sesquiterpene and polyacetylene profile of the *Bidens pilosa* complex (Asteraceae: Heliantheae) from Southeast of Brazil). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 5, p. 479-486, 2005.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003. p. 14.

GUIDUGLI, F. H.; PESTCHANKER, M. J.; DE SALMERON, M. S. A.; GIORDANO, O. S. 1-Hydroxyplatyphyllide, a norsesquiterpene lactone from *Senecio gilliesiano*. **Phytochemistry**. v. 25, n. 8, p. 1923-1926, 1986.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

GUTIERREZ, M. I.; GARCIA, N. A. Dark and photoinduced interactions between xanthene dyes quinones. **Dyes and Pigments**, v. 38, n. 4, p. 195-209, 1998.

GUYNOT, M. E. et al. Screening for antifungal activity of some essential oils against common spoilage fungi of bakery products. **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 1, p. 25-32, 2005.

HABERMEHL, G. G. et al. Livestock poisoning in South America by species of the *Senecio* plant. **Toxicon**, v. 26, n. 3, p. 275-286, 1988.

HAMBURGER, M.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Search for new drugs of plant origin. In: TESTA, B. (editor). **Advances in Drug Research**. Vol. 20. New York: Academic Press, 1991. p. 167-215.

HAMMOND, G. B. et al. A survey of traditional medicinal plants from the Callejón de Huaylas, Department of Ancash, Perú. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 17-30, 1998.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HARMATA, M.; CARTER, K. W. Intramolecular 3+4 cycloadditions. A total synthesis of aphanamol. **Tetrahedron Letters**, v. 38, n. 46, p. 7985-7988, 1997.

HARVEY, A. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 7, p. 294-300, 2000.

HEINZMANN, B. M. **Inhaltsstoffe aus *Senecio selloi* Spreng. DC.** 1996. 149 p. Tese (Doutorado em Ciências Naturais e Exatas - Química Farmacêutica) - Universität Bonn, Alemanha, 1996.

HILGERT, N. I. Plants used in home medicine in the Zenta River basin, Northwest Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 1, p. 11-34, 2001.

HIND, D. J. N. A checklist of Brazilian Senecioneae (Compositae). **Kew Bulletin**, v. 48, n. 2, p. 279-295, 1993.

HNATYSZYN, O. et al. Argentinian plant extracts with relaxant effect on the smooth muscle of the *corpus cavernosum* of guinea pig. **Phytomedicine**, v. 10, n. 8, p. 669-674, 2003.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 273-292, 2005.

HUI, Z. et al. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Research International**, v. 39, n. 8, p. 833-839, 2006.

HUNTINGTON, S.; KINNEL, R. Germacrene D: variation of enantiomers in *Aster* leaves and ovoposition in the pearl crescent butterfly. Disponível em: <http://www.chem.hamilton.edu/~rkinnel/summer_research_2004.html>. Acesso em: 09 nov. 2006.

IACOBELLIS, N. S. et al. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 57-61, 2005.

ILHA, M. R. S.; LORETTI, A. P.; BARROS, S. S.; BARROS, C. S. L. Intoxicação espontânea por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 123-138, 2001.

INMAN, W. D. et al. Antihyperglycemic sesquiterpenes from *Psacalium decompositum*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 8, p. 1088-1092, 1999.

INOUYE, S. Laboratory evaluation of gaseous essential oils (Part 2). **The International Journal of Aromatherapy**, v. 13, n. 4, p. 173-184, 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA URUGUAY. INIA. **Estudios en domesticación y cultivo de especies medicinales y aromáticas nativas**. [S.l.:s.n.], nov. 2004. (Série 11, FPTA-INIA).

JAKUPOVIC, J. et al. Furoeremophilanes and other constituents from Chilean *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 30, n. 8, p. 2691-2693, 1991.

JARES, E. A.; POMILIO, A. B. Isolation of sesquiterpenes from *Senecio crassiflorus* by combined dry column and high performance liquid chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 12, n. 8, p. 565-568, 1989.

JARES, E. A.; TETTAMANZI, M. C.; POMILIO, A. B. Sitosterol 3-O- β -D-glucuronopyranoside from *Senecio bonariensis*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 1, p. 340-341, 1990.

JEFFREY, C.; HALLIDAY, P.; WILMOT-DEAR, M.; JONES, S. W. Generic and sectional limits in *Senecio* (Compositae), I: Progress report. **Kew Bulletin**, v. 32, n. 1, p. 47-67, 1977.

JIAN-QIAO, G. et al. Constituents of *Senecio chionophilus* with potential antitubercular activity. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 9, p. 1483-1487, 2004.

JOLY, A. B. **Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998. p. 628-636.

JUERGENS, U. R. et al. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. **Respiratory Medicine**, v. 97, n. 3, p. 250-256, 2003.

JUTEAU, F. et al. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. **Fitoterapia**, v. 73, n. 6, p. 532-535, 2002.

KARAM, F. S. C. et al. Fenologia de quatro espécies tóxicas de *Senecio* (Asteraceae) na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 33-39, 2002.

KELMANSON, J. E.; JÄGER, A. K.; VAN STADEN, J. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 3, p. 241-246, 2000.

KHAN, M. T. H. et al. Extracts and molecules from medicinal plants against *herpes simplex* viruses. **Antiviral Research**, v. 67, n. 3, p. 107-119, 2005.

KIEFER, A. **Untersuchung zur quantitative Bestimmung von Peroxiden am Beispiel der Schafgarbe**. 1993, 136f. Tese de Doutorado – Universidade de Bonn, Alemanha, 1993.

KIPRONO, P. C. et al. The in vitro antifungal and anti-bacterial activities of β -sitosterol from *Senecio lyratus* (Asteraceae). **Zeitschrift für Naturforsch C**, v. 55, n. 5/6, p. 485-488, 2000.

KITAMURA, C. et al. A sex stimulant to the male American cockroach in plants. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 40, n. 10, p. 1965-1969, 1976.

KITE, G. C.; SMITH, S. A. L. Inflorescence odour of *Senecio alticulatus*: temporal variation in isovaleric acid levels. **Phytochemistry**, v. 45, n. 6, p. 1135-1138, 1997.

KOENIG, W. A. Enantioselective gas chromatography in stereochemical studies of natural compounds. **Albany Molecular Research, Inc. - Technical Reports**, v. 6, n. 52, p. 2, 2001. Disponível em: < <http://www.albmolecular.com/chemlinks/reviews/vol06/no52/v06n52.pdf>>. Acesso em: 06 nov. 2006.

KONX, J. P.; DODGE, A. D. Singlet oxygen and plants. **Phytochemistry**, v. 24, n. 5, p. 889-86, 1985.

KRAKER, J.-W. et al. (+)-Germacrene A Biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 117, n. 4, p. 1381-1392, 1998.

KREBS, H. C.; CARL, T.; HABERMEH, G. G. Pyrrolizidine alkaloid composition in six Brazilian *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1227-1229, 1996.

KUBO, I. ET AL. Cytotoxic and oxidative sesquiterpenoids from *Heterotheca inuloides*. **Planta Médica**, v. 62, n. 5, p. 427-430, 1996.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFGRS / Editora da UFSC, 2003. p. 537-556.

LEIRO, J. M. et al. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor- α and transforming growth factor- β genes. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, n. 8, p. 1361-1371, 2003.

LEGAULT, J. et al. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by α -humulene as possible mechanism of action. **Planta Médica**, v. 69, n. 5, p. 402-407, 2003.

LIDDELL, J. R.; LOGIE, C. G. A re-investigation of the alkaloids of *Senecio pterophorus*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1629-1631, 1993.

LIDDELL, J. R.; STERMITZ, F. R.; BARROS, C. S. L. Pyrrolizidine alkaloids from *Senecio oxyphyllus*, a Brazilian poisonous plant. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n. 4, p. 393, 1992.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Floresta e Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 71-77, 2003.

LIN, W. Y. et al. Anti-platelet aggregation and chemical constituents from the rhizome of *Gynura japonica*. **Planta Medica**, v. 69, n. 8, p. 757-764, 2003.

LIU, C. H. et al. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 15, p. 1969-1973, 2006.

LIU, F.; NG, T. B. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. **Life Sciences**, v. 66, n. 8, p. 725-735, 2000.

LOIZZO, M. R. et al. Antibacterial and antifungal activity of *Senecio inaequidens* DC. and *Senecio vulgaris* L. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 9, p. 777-779, 2004.

LOIZZO, M. R. et al. Bioactive extracts from *Senecio samnitum* Huet. **Natural Product Research**, v. 20, n. 3, p. 265-269, 2006.

LOYOLA, L. A.; PEDREROS, S.; MORALES, G. *p*-hydroxyacetophenone derivatives from *Senecio graveolens*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1600-1602, 1985.

LÜCKER, J. et al. *Vitis vinifera* terpenoid cyclases: functional identification of two sesquiterpene synthase cDNAs encoding (+)-valencene synthase and (-)-germacrene D synthase and expression of mono- and sesquiterpene synthases in grapevine flowers and berries. **Phytochemistry**, v. 65, n. 19, p. 2649-2659, 2004.

MACÍA, M. J.; GARCÍA, E.; VIDAURRE, P. J. An ethnobotanical survey of medicinal plants commercialized in the markets of La Paz and El Alto, Bolivia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 337-350, 2005.

MACÊDO, M. E. et al. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 4, p. 565-570, 1997.

MCKENZIE, E. H. C. New Zealand rust fungi: additions and corrections. **New Zealand Journal of Botany**, v. 19, p. 227-232, 1981.

MANSOUR R. M. A.; SALEH, N. A. M. Flavonoids of three local *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1180-1181, 1981.

MATSUDA, H. et al. Effects of sesquiterpenes and triterpenes from the rhizome of *Alisma orientale* on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages: absolute stereostructures of alismaketones-B 23-acetate and -C 23-acetate. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 9, n. 21, p. 3081-3086, 1999.

MATZENBACHER, N. I. **O complexo “Senecionoide” (Asteraceae-Senecioneae) no Rio Grande do Sul Brasil.** 1998. 274p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

MEMARIAN, H. R.; ABDOLI-SENEJANI, M.; TANGESTANINEJAD, S. Photosensitized oxidation of unsymmetrical 1,4-dihydropyridines. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 3, n. 3, p. 285-292, 2006.

MENDONÇA, F. A. C. et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7/8, p. 629-636, 2005.

MENGI, N.; TANEJA, S. C.; MAHAJAN, V. P.; MANTHELA, C. S. Eudesmanolides from *Senecio chrysanthemoides*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2329-2330, 1991.

MERICLI, A. H. et al. Eremophilane derivatives and other constituents from Mexican *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 28, n. 4, p. 1149-1153, 1989.

METWALLY, M. A.; DAWIDAR, A. Constituents of *Senecio desfontainei*. **Pharmazie**, v. 41, n. 7, p. 522-523, 1986.

MILLER, J. S. Rose bengal-sensitized photooxidation of 2-chlorophenol in water using solar simulated light. **Water Research**, v. 39, n. 2/3, p. 412-422, 2005.

MOHAMED, A. E. H.; AHMED, A. A. Eremophilane-type sesquiterpene derivatives from *Senecio aegyptius* var. *discoideus*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 3, p. 439-442, 2005.

MORONKOLA, D. O. et al. Identification of the main volatile compounds in the leaf and flower of *Tithonia diversifolia*. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, n. 1, p. 63-66, 2007.

MOULE, Y.; MOREAU, S.; BOUSQUET, J. F. Relationships between the chemical structure and the biological properties of some eremophilane compounds related to PR toxin. **Chemico-Biological Interactions**, v. 17, n. 2, p. 185-192, 1977.

MOYNA, P.; HEINZEN, H. Lípidios: química y productos naturales que los contienen. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003. p. 463.

MOZURAITIS, R. et al. (-)-Germacrene D increases attraction and oviposition by the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. **Chemical Senses**, v. 27, n. 6, p. 505-509, 2002.

MURARI, A. L. et al. Sesquiterpeno das partes aéreas de *Senecio crassiflorus* (Poir.) DC. var. *crassiflorus*. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 58., 2006, Florianópolis. **Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC**. Florianópolis, 2006.

NAVARRO GARCÍA, V. M. et al. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 1, p. 85-88, 2003.

NAVICKIENE, H. D. et al. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboretum* and *Piper tuberculatum*. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 467-470, 2006.

NCCLS (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard M7-A4. Pensilvânia: NCCLS, 2003. NCCLS document M7-A6.

NCCLS (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS). **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**; Approved Standard - Second Edition. Pensilvânia: NCCLS, 2002. NCCLS document M27-A2.

NEWMANN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 7, p. 1022-1037, 2003.

NOORWALA, M.; MOHAMMAD, F. V.; AHMAD, V. U.; SENER, B.; ERGUN, F.; DELIORMAN, D. Pyrrolizidine alkaloids from *Senecio lorenthii*. **Fitoterapia**, v. 71, n. 5, p. 618-620, 2000.

NOSTRO, A. et al. Effects of *Helichrysum italicum* extract on growth and enzymatic activity of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 17, n. 6, p. 517-520, 2001.

OLIVEIRA, D. R. et al. Chemical and antimicrobial analysis of essential oil of *Lippia origanoides* H. B. K. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 236-240, 2007.

ORTEGA, P. A. et al. Dihydroeuparin as sunscreen. **Boletín de la Sociedad Chilena de Química**, v. 45, n. 4, p. 629-636, 2000.

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J.; ROBLEDO, A. Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, n. 1, p. 1-10, 1999.

PAULI, A. Antimicrobial properties of essential oil constituents. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 11, n. 3, p. 126-133, 2001.

PERES, V.; NAGEM, T. J.; OLIVEIRA, F. F. Tetraoxygenated naturally occurring xanthenes. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 683-710, 2000.

PÉREZ, C.; AGNESE, A. M.; CABRERA, J. L. The essential oil of *Senecio graveolens* (*Compositae*): chemical composition and antimicrobial activity tests. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, n. 1, p. 91-96, 1999.

PESTCHANKER, M. J.; ASCHERI, M. S.; GIORDANO, O. S. Uspallatine, a pyrrolizidine alkaloid from *Senecio uspallatensis*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1622-1624, 1985.

PETERSON, J. K.; HORVAT, R. J.; ELSEY, K. D. Squash leaf glandular trichome volatiles: identification and influence on behavior of female pickleworm moth. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 8, p. 2099-2109, 1994.

PETRAKIS, P. V. et al. The effect of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*. **Behavioural Processes**, v. 69, n. 3, p. 303-322, 2005.

PICAUD, S. et al. Cloning, expression, purification and characterization of recombinant (+)-germacrene D synthase from *Zingiber officinale*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 452, n. 1, p. 17-28, 2006.

PIERONI, A.; QUAVE, C. L.; SANTORO, R. F. Folk pharmaceutical knowledge in the territory of the Dolomiti Lucane, inland southern Italy. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2/3, p. 373-384, 2004.

PIMM, S. L. et al. The future of biodiversity. **Science**, v. 269, n. 5222, p. 347-350, 1995.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

POMILIO, A. B.; JARES, E. A. Toxic furanoterpenes from *Senecio bonariensis*. **Internacional Journal of Pharmacognosy**, v. 35, n. 3, p. 207-211, 1997.

PONCE, A. G. et al. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **Lebensmittel-Wissenschaft -Technologie**, v. 36, n. 7, p. 679-684, 2003.

PORTILLO, A. et al. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 1, p. 93-98, 2001.

PRAKASH, A. S. et al. Pyrrolizidine alkaloids in human diet. **Mutation Research**, v. 443, n. 1/2, p. 53-67, 1999.

PROSSER, I. et al. (+)-(10*R*)-Germacrene A synthase from goldenrod, *Solidago canadensis*; cDNA isolation, bacterial expression and functional analysis. **Phytochemistry**, v. 60, n. 7, p. 691-702, 2002.

RABE, T.; VAN STADEN, J. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, n. 1, p. 81-87, 1997.

RADULOVIC', N. et al. Chemotaxonomic significance of the volatiles in the genus *Stachys* (Lamiaceae): Essential oil composition of four Balkan *Stachys* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 4; p. 196-208, 2007.

RAJESWARA RAO, B. R. et al. Effect of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* species). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 7/8, p. 627-635, 1996

RAMOS, A. L. L. P.; MARQUES, E. K. Mutagenic action of integerrimine, an alkaloid present in *Senecio brasiliensis* (Sprengel) Less., in *Drosophila*. **Revista Brasileira de Genética**, v. 1, n. 3, p. 279-287, 1978.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

RAVAGNANI, F. Farmácia Natural. In: Revista Época. 301. ed. São Paulo, 2004. Disponível em: <<http://revistaepoca.globo.com/Revista/Epoca/0,EDG62844-6014,00.html>>. Acesso em: 15 abr. 2007

REINA, M. et al. Pyrrolizidine alkaloids from *Heliotropium bovei*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 2, p. 355-358, 1995.

REINA, M. et al. Defensive chemistry of *Senecio miser*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 1, p. 6-11, 2001.

REINA, M. et al. C-5-Substituted antifeedant silphinene sesquiterpenes from *Senecio palmensis*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 4, p. 448-453, 2002.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1/2, p. 80-84, 2005.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiocologia**. 1. ed. São Paulo: Editorial Premier, 1997. 372 p.

ROCHA, L. G. et al. A review of natural products with antileishmanial activity. **Phytomedicine**, v. 12, n. 6/7, p. 514-535, 2005.

RÖDER, E. Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. **Pharmazie**, v. 50, n. 2, p. 83-98, 1995.

ROJAS, R. et al. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 2/3, p. 199-204, 2003.

ROMERO, A. et al. Lesiones hepáticas inducidas por componentes volátiles de *Senecio grisebachii* (margarita del campo o primavera) en ratones. **Revista Veterinária**, v.12, n. 1, p. 15-18, 2002.

RÜCKER, G. et al. Peroxides and other constituents from *Heterothalamus alienus*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 1, p. 297-300, 1996a.

RÜCKER G. et al. Sesquiterpene peroxides from *Senecio selloi* and *Eupatorium rufescens*. **Planta Medica**, v. 62, n. 6, p. 565-566, 1996b.

RÜCKER, G. Peroxides as constituents of medicinal plants. **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 2, p. 79-83, 1997.

RÜCKER, G. et al. Antimalarial activity of 1,4-epoxy-bisabol-2,12-diene derivatives. **Archiv der Pharmazie – Pharmaceutical and Medicinal Chemistry**, v. 330, n. 1, p. 12-16, 1997.

RÜCKER, G. et al. Triterpenes with a new 9-epi-cucurbitan skeleton from *Senecio selloi*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 8, p. 1587-1591, 1999.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; CASTAÑERA, P. Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), a mite of stored food. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, n. 1, p. 93-101, 2001.

SANTOS, R. P. et al. Chemical Composition and Larvicidal Activity of the Essential Oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 5, p. 1027-1030, 2006.

SANTOS-MELLO, R. et al. Induction of micronuclei by alkaloids extracted from *Senecio brasiliensis* and stored for 23 years. **Mutation Research**, v. 516, n. 1/2, p. 23-28, 2002.

SAROGLOU, V. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum species* from Serbia. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 35, n. 3, p. 146-152, 2007.

SCHMIDT, C. O. et al. Mechanism of the biosynthesis of sesquiterpene enantiomers (+)- and (-)-germacrene D in *Solidago canadensis*. **Chirality**, v. 11, n. 5/6, p. 353-362, 1999.

SHAHIDI BONJAR, G. H. Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal-plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella bronchoseptica*. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 3, n. 1, p. 82-86, 2004.

SHIMADA, K.; MITAMURA, K.; HIGASHI, T. Gas chromatography and high-performance liquid chromatography of natural steroids. **Journal of Chromatography A**, v. 935, n. 1, p. 141-172, 2001.

SIANI, A. C. et al. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66 n. 1, p. 57-69, 1999.

SILVA, C. M. **Sesquiterpenóides de *Senecio bonariensis* Hook. et Arn.** 2006. 153f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

SILVA, C. M.; BOLZAN, A. A.; HEINZMANN, B. M. Alcalóides pirrolizidínicos em espécies do gênero *Senecio*. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1047-1053, 2006.

SILVA, S. R. et al. **Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio.** Quito/Equador: TRAFFIC – América do Sul – IBAMA, 2001, 57 p. Disponível em: <www.traffic.org/content/439.pdf>. Acesso em: 21 out. 2006.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003. p. 537-556.

SINGH, S.; FELOCK, P.; HAZUDA, D. J. Chemical and enzymatic modifications of integrin acid and HIV-1 integrase inhibitory activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v. 10, n. 3, p. 235-238, 2000.

SKÖLD, M. *et al.* The fragrance chemical β -caryophyllene - air oxidation and skin sensitization. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 4, p. 538-545, 2006.

SMITH, L. W.; CULVENOR, C. C. J. Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 2, p. 129-152, 1981.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, n. 1/2/3, p. 1-15, 1996.

SONAGLIO, D. *et al.* Desenvolvimento tecnológico na produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003. p. 289-326.

SONBOLI, A. *et al.* Essential oil composition and antibacterial activity of the leaves of *Stachys schtschegleevii* Fom Iran. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 41, n. 2, p. 171-174, 2005.

SOULÉ, M. E. Conservation: tactics for a constant crisis. **Science**, v. 253, n. 5021, p. 744-750, 1991.

STAHL, E. **Thin-layer chromatography** - a laboratory handbook. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1969. 1041 p.

STAMMATI, A. *et al.* A toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 8, p. 813-823, 1999.

STEELE, C. L. *et al.* Sesquiterpene synthases from grand fir (*Abies grandis*). Comparison of constitutive and wound-induced activities, and cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of delta-selinene synthase and gamma-humulene synthase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 4, p. 2078-2089, 1998.

STEENKAMP, V. *et al.* The effect of *Senecio latifolius* a plant used as South African traditional medicine, on a human hepatoma cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, n. 1, p. 51-58, 2001.

STEFANELLO, M. É. A. *et al.* Óleo essencial de *Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr. ssp *floccosa* Cabr. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 999-1002, 2006.

STELIOPOULOS, P. et al. Biosynthesis of the sesquiterpene germacrene D in *Solidago canadensis*: ^{13}C and ^2H labeling studies. **Phytochemistry**, v. 60, n. 1, p. 13-20, 2002.

STRANDEN, M.; BORG-KARLSON, A. K.; MUSTAPARTA, H. Receptor neuron discrimination of the germacrene D enantiomers in the moth *Helicoverpa armigera*. **Chemical Senses**, v. 27, n. 2, p. 143-152, 2002.

STRANDEN, M. et al. (-)-Germacrene D receptor neurons in three species of heliothine moths: structure-activity relationships. **Journal of Comparative Physiology A - Sensory Neural and Behavioral Physiology**, v. 189, n. 7, p. 563-577, 2003.

STUTZ, S.; PRIETO, A. Modern pollen and vegetation relationships in Mar Chiquita coastal lagoon area, southeastern Pampa grasslands, Argentina. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 126, p. 183-195, 2003.

SUAU, R. et al. Pyrrolizidine alkaloids from three Spanish *Senecio* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 10, p. 981-984, 2002.

SYLVESTRE et al. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 1, p.99-102, 2006.

TCHUENDEM, M. H. K.; MBAH, J. A.; TSOPMO, A.; AYAFOR, J. F.; STERNER, O.; OKUNJIC, C. C.; IWU, M. M.; SCHUSTER, B. M. Anti-plasmodial sesquiterpenoids from the African *Renellmia cincinnata*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 6, p. 1095-1099, 1999.

TEIBLER, P. G. et al. Estudios de toxicidad del *Senecio grisebachii* en ratones e identificación de componentes volatiles potencialmente toxicos. **Acta Toxicologica Argentina**, v. 9, n. 2, p. 86-91, 2001.

TETTAMANZI, M. C.; JARES, E. A.; POMILIO, A. B. Constituents of *Senecio bonariensis* roots. **Fitoterapia**, v. 63, n. 6, p. 551-552, 1992.

TETTAMANZI, M. C. et al. Constituents of *Senecio crassiflorus*. **Fitoterapia**, v. 65, n. 5, p. 468, 1994.

THEBTARANONTH, C. et al. Antimalarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus*: structure of 10,12-peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide. **Phytochemistry**, v. 40, n. 1, p. 125-128, 1995.

THOLL, D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 3, p. 297-304, 2006.

TISSERAND, R. Essential oil safety I. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 7, n. 3, p. 28-32, 1996.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. **Toxicon**, v. 40, n. 12, p. 1635-1660, 2002.

TOLSTIKOV, G. A.; TOLSTIKOV, A. G.; TOLSTIKOVA, O. V. Natural peroxides. Chemistry and biological activity. **Russian Chemical Reviews**, v. 65, n. 9, p. 769-783, 1996.

TOMA, W. et al. Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2/3, p. 345-351, 2004.

TOMMASI, N. et al. Polyhydroxylated triterpenes from *Senecio pseudotites*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 4, p. 1123-1125, 1998.

TORRES, P. et al. Furanoeremophilanes and a bakkenolide from *Senecio auricula* var. *major*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 1, p. 57-61, 1998.

TORRES, P. et al. Furanoeremophilane derivatives from *Senecio flavus*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 8, p. 1507-1513, 1999.

TORRES, P. et al. Secondary metabolites from *Senecio minutus* and *Senecio boissieri*: a new jacaranone derivative. **Fitoterapia**, v. 71, n. 1, p. 91-93, 2000.

TREDAFILOVA, A. B.; TSANKOVA, E. T.; EVSTATIEVA, L. N. Secoeremophilanolides from *Senecio macedonicus*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 1, p. 329-330, 1995.

TRIGO, J. R., et al. Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n. 9, p. 1011-1022, 2003.

TUNDIS, R. et al. Comparative chemical variability of the non-polar extracts from *Senecio cineraria* group (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 10, p. 1071-1076, 2005.

UCHIO, Y.; EGUCHI, S.; KUMAROTO, M.; NAKAYAMA, M.; HASE, T. Denticulatolide, an ichthyotoxic peroxide-containing cembranolide from the soft coral *lobophytum denticulatum*. **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 37, p. 4487-4490, 1985.

UEDA-NAKAMURA, T. et al. Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. **Parasitology International**, v. 55, n. 2, p. 99-105, 2006.

URZÚA, A. et al. Comparative leaf surface chemistry from *Senecio cerberoanus* and *Senecio viscosissimus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 4, p. 399-401, 2000.

URZÚA, A.; ANDRADE, L. Comparative chemical composition of the resinous exudates from *Senecio adenotrichius* and *S. viscosissimus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 8, p. 865-867, 2001.

UZUN, E. et al. Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2/3, p. 287-296, 2004.

VERPOORTE, R. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. **Drug Discovery Today**, v. 3, n. 5, p. 232-238, 1998.

VERPOORTE, R. Pharmacognosy in the new millennium: leadfinding and biotechnology. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 52, n. 3, p. 253-262, 2000.

VIEGAS Jr, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos medicinais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VILLAESCUSA-CASTILLO, L. et al. Antiprotozoal activity of sesquiterpenes from *Jasonia glutinosa*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, n. 3, p. 176-180, 2000.

VILLARROEL, L. V. et al. Secondary metabolites from genus *Senecio* and *Heliotropium*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 25, n. 3, p. 109-116, 1997.

VLIETINCK, A. J. et al. Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 46, n. 1, p. 31-47, 1995.

YANG et al. Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an *in vitro* experimental model of onychomycosis. **Mycopathologia**, v. 148, p. 79-82, 2000.

YILIANG, S.; RUIYAN, Z.; QINGQING, W. B. X. Programmed-temperature gas chromatographic retention index. **Journal of Chromatography A**, v. 657, n. 1, p. 1-15, 1993.

YOSHIHARA, K. et al. Germacrene D, a key intermediate of cadinene group compounds and bourbonenes. **Tetrahedron Letters**, v. 10, n. 27, p. 2263-2264, 1969.

YOSHIKUNI, Y. et al. Designed divergent evolution of enzyme function. **Nature**, v. 440, p. 1078-1082, 2006.

YOUNG-WON, C. et al. Drug discovery from natural sources. **The AAPS Journal**, v. 8, n. 2, p. E239-E253, 2006.

YU, Y. et al. Development of gas chromatography-mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid-phase microextraction for rapid determination of volatile constituents in ginger. **Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 43, n. 1/4, p. 24-31, 2007.

YUAN-CHUEN, W.; TUNG-LIANG, H. Screening of anti-*Helicobacter pylori* herbs deriving from Taiwanese folk medicinal plants. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 295-300, 2005.

YUE-ZHONG, S. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 8, p. 1053-1071, 1998.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

WAGNER, H. **Pharmazeutische Biologie**, 5. Auflage, New York: Gustav Fischer Verlag, 1993, 522p.

WEBB, C. J. Checklist of dicotyledons naturalised in New Zealand – Asteraceae (Compositae) subfamily Asteroideae. **New Zealand Journal of Botany**, v. 25, 489-501, 1987.

WEISSBECKER, B. et al. Analysis of volatiles emitted by potato plants by means of a Colorado beetle electroantennographic detector. **Talanta**, v. 44, n. 12, p. 2217-2224, 1997.

WIENDENFELD, H.; ROEDER, E.; LUCK, W. O⁷-Angeloylretronecine, a pyrrolizidine alkaloid from *Senecio inornatus*. **Planta Medica**, v. 62, n. 5, p. 483, 1996.

WILLIAMS, C. M.; MANDER, L. N. Chromatography with silver nitrate. **Tetrahedron**, v. 57, n. 3, p. 425-447, 2001.

ZARAPKAR, S. S. a NEW EUDESMANOLIDE FROM *Senecio jacquemontianus*. **Fitoterapia**, v. 65, n. 4, p. 331-332, 1994.

ZDERO, C.; BOHLMANN, F.; LIDDELL, J. R. Seco-eremophilanes and other constituents from South African *Senecio* species. **Phytochemistry**, v. 28, n. 12, p. 3532-3534, 1989.

ZEINSTEGER, P. et al. Hepatotoxicidad de compuestos volátiles de *Senecio grisebachii* (primavera). **Revista de la Asociación Toxicológica Argentina**. Disponível em: www.1.unni.edu.ar/cyt/2001/14Veterinari/v-033pdf. Acesso: 13 dez. 2005.

ZHENG, M. S.; LU, Z. Y. Antiviral effect of mangiferin and isomangiferin on herpes simplex virus. **Chinese Medical Journal**, v. 103, n. 2, p. 160-165, 1990.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (org.) **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003. p. 577-614.

8 ANEXO

Latin American Journal of Pharmacy
(formerly *Acta Farmacéutica Bonaerense*)

Lat. Am. J. Pharm. **26** (4): 619-25 (2007)

Revisões
Recibido el 9 de diciembre de 2006

Aceptado el 11 de marzo de 2007

Espécies de *Senecio* na Medicina Popular da América Latina e Toxicidade Relacionada a sua Utilização

Aline A. BOLZAN, Chana M. SILVA, Leandro N. FRANCESCATO, Anelise L. MURARI,
Glória N.S. SILVA, Clarissa G. HELDWEIN & Berta HEINZMANN *

*Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),
Faixa de Camobi, Km 9, Campus Universitário, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil*

RESUMO. Este trabalho apresenta uma revisão sobre as espécies de *Senecio* utilizadas na medicina popular na América Latina. São citadas 46 plantas, com as indicações de uso e o respectivo país. Também são apresentados os aspectos envolvidos na toxicidade destas espécies, de responsabilidade dos alcalóides pirrolizidínicos. São relatados os casos de intoxicação em humanos, sendo discutidas estratégias para preveni-las.

SUMMARY. "Senecio Species used as Medicinal in Latin America and Toxicity Associated to their Utilization". This work shows a review of the *Senecio* species used in the folk medicine of Latin America. 46 plants are mentioned with their medicinal uses and their corresponding countries. The aspects involved in the toxicity of these plants caused by the presence of pyrrolizidine alkaloids, are also presented. Cases of human toxicity are reported, and strategies to avoid them are discussed.

O gênero *Senecio* (tribo *Senecioneae*, Asteraceae) é constituído por mais de 3000 espécies de ampla distribuição mundial¹ presentes em regiões frias e tropicais, principalmente na Europa, África, Américas Central e do Sul, sendo a Argentina² e o Chile³ os países com o maior número de representantes, contando cada um com mais de 300 espécies catalogadas. São ervas anuais ou perenes, ocorrendo sob a forma de arbustos ou arvoretas de porte variado⁴.

Tradicionalmente conhecido por causar intoxicações em animais de grande porte e acarretar perdas consideráveis na pecuária de países como a Argentina, Brasil, Uruguai e Paraguai, entre outros⁵⁻⁷, devido à presença de alcalóides pirrolizidínicos, o

gênero *Senecio* também é motivo de preocupação na área de saúde pública, uma vez que várias espécies do gênero são utilizadas como medicinais em diferentes países da América Latina (Tabela 1).

A utilização destas plantas na medicina popular permite supor que, além de substâncias potencialmente nocivas, estas espécies contenham constituintes com propriedades terapêuticas. De fato, segundo a literatura, alguns metabólitos secundários com diferentes atividades biológicas potenciais foram isolados de espécies de *Senecio*⁸⁻¹⁰, sendo que várias atividades biológicas e farmacológicas foram descritas para extratos brutos obtidos a partir de plantas do gênero¹¹⁻¹⁴.

PALAVRAS CHAVE: América Latina, Alcalóides pirrolizidínicos, *Senecio* sp., Seneciose, Toxicidade.

KEY WORDS: Latin America, Pyrrolizidine alkaloids, Seneciosis, *Senecio* sp., Toxicity.

* Autor para o qual a correspondência deverá ser enviada. E-mail: berta@smail.ufsm.br

País	Espécie	Utilização preconizada na medicina popular	
Argentina	<i>S. bonariensis</i> Hook. et Arn.	Afeções cutâneas ⁴⁸ Doenças dermatológicas, respiratórias e osteoarticulares ⁴⁹	
	<i>S. brasiliensis</i> (Sprengel) Less.	Sudorífero, tranqüilizante e tonificante nervoso ⁵⁰	
	<i>S. clivicola</i> Wedd.	Cãibras musculares ⁵¹	
	<i>S. eriophyton</i> Remy	Digestivo, emenagogo, estimulante e afrodisíaco ¹³	
	<i>S. graveolens</i> Wedd.	Nos casos de indisposição causada pela altitude, supressor da tosse, digestivo, emenagogo ²	
	<i>S. nutans</i> Sch. Bip.	Doenças respiratórias ⁴⁹	
	<i>S. pinnatus</i> Poir. var. <i>pinnatus</i> <i>S. uspallatensis</i> Hook. et Arn.	Como antiofídico e nos casos de dores de cabeça ⁵² Indisposição causada pela altitude, na forma de infusão substituindo o mate ⁴¹	
Bolívia	<i>S. cf. canescens</i> (Bonpl.) Cuatrec.	Tosse ⁵³	
	<i>S. culcitioides</i> Wedd.	Não especificado ⁵⁴	
	<i>S. deferens</i> Griseb.	Dores reumáticas ⁵⁵	
	<i>S. graveolens</i> Wedd.	Dor de estômago ⁵³	
	<i>S. mathewsii</i> Wedd.	Doenças pulmonares ⁵⁴	
	<i>S. rhizomatus</i> Rusby <i>S. smithioides</i> Cabrera	Não especificado ⁵⁴ Dores nas costas ⁵³	
Brasil	<i>S. brasiliensis</i> (Sprengel) Less.	Externamente como emoliente e “resolutiva”, e internamente, como vermífugo ⁵⁶ Ferimentos da pele (aplicação tópica) ⁵⁷ Propriedades revulsivas ⁴⁸ Processos inflamatórios, dores estomacais e como “regulador sanguíneo” ⁴²	
	<i>S. sonchifolius</i> (L.) Moench	Febrífugo, diurético, antiasmático; contra gripe, faringite, amigdalite e afeções das vias urinárias; nos casos de ferimentos, eczemas e pruridos (aplicação tópica) ⁵⁸	
Chile	<i>S. adenophyllus</i> Meyen et Walp. <i>S. atacamensis</i> Phil.	Dor de estômago ⁵⁹ Para aliviar a indisposição causada pela altitude ⁶⁰ No tratamento de dor de cabeça, dor de estômago e vômito, nos casos de indisposição causada pela altitude, como estimulante da digestão ⁵⁹	
	<i>S. chionophilus</i> Phil.	Resfriados ⁹	
	<i>S. eriophyton</i> Remy Balsâmico,	estimulante, estomáquico e nos casos de indisposição causada pela altitude ⁵⁹	
	<i>S. fistulosus</i> Poepp. ex Less.	Emoliente, purgativo, cardiotônico, diurético, tratamento de tumores, feridas, úlceras e dores de ouvido ⁶¹	
	<i>S. graveolens</i> Wedd.	Para aliviar a indisposição causada pela altitude ^{2,62} Emenagogo, digestivo e supressor da tosse ²	
	<i>S. nutans</i> Sch. Bip.	Digestivo, emagrecedor, para tosse e resfriado; “para a pressão” e nos casos de dores estomacais ⁵⁹	
	<i>S. otites</i> Kunza ex DC <i>S. papii</i> Ricardo et Martic. <i>S. puchii</i> Phil.	Auxiliar da circulação ⁶¹ Dor no estômago ⁵⁹ Dor de estômago e “para a pressão” ⁵⁹	
	Colombia	<i>S. formosus</i> Kunth	Não especificado ⁶³
	Equador	<i>S. canescens</i> Humb. <i>S. reflexus</i> (Kunth) Cuatrec. <i>S. superandinus</i> Cuatrec.	Infecções e reumatismo ⁶⁴ Inflamações de ovário, próstata e vaginite ⁶⁵ Inflamações de ovário, próstata e vaginite ⁶⁵
Guatemala		<i>S. cobanensis</i> Coulter.	Reumatismo, contusões, tosse e cãibras ⁶⁶
Honduras		<i>S. chenopodioides</i> HBK.	Dores agudas e crônicas ⁶⁷
México	<i>Senecio</i> sp. <i>S. albo-lutescens</i> Sch. Bip.	Contra piolhos e no tratamento do couro cabeludo ressecado ⁶⁸ Hipoglicemiante ^{69,70}	

	<i>S. angulifolius</i> DC.	Infecções vaginais ⁷¹
	<i>S. aschenbornianus</i> Schauer	Varizes ⁶⁸
	<i>S. bellidifolius</i> Kunth. (sin. <i>S. vulneraria</i> DC.)	Doenças renais, ulcerações e vaginites ⁷²
	<i>S. candidissimus</i> Greene	Doenças renais e como anti-séptico ⁷³
	<i>S. palmeri</i> A. Gray	Hipoglicemiante ^{69,70}
	<i>S. peltiferus</i> Hemsl.	Hipoglicemiante ^{69,70}
	<i>S. roseus</i> Sch-Bip.	Para “limpar os rins” e abrir o apetite ⁷⁴
	<i>S. salignus</i> DC.	Febres e reumatismo ⁷⁵ Anti-inflamatório, na prevenção do reumatismo, enxaquecas, nos casos de doenças hepáticas e renais ⁷⁶
Paraguai	<i>S. grisebachii</i> Baker	Infecções fúngicas da pele ¹⁴
Peru	<i>S. calvus</i> Cuatr.	Tosse ⁷⁷
	<i>S. canescens</i> var. <i>canescens</i>	Tosse, bronquite, asma e febre ⁷⁸
	<i>S. culcitoides</i> Schultz-Bip	Tosse, asma, bronquite e doenças respiratórias ^{78,79}
	<i>S. elatus</i> Kunth	Em “rituais de purificação” ⁴⁴
	<i>S. ericaefolius</i> Benth	Tônico geral e cardiotônico ⁴⁴
	<i>S. rhizomatosus</i> Rusby	Depurativo da pele e colerético, no tratamento de feridas e pneumonia ⁷⁸
	<i>S. rudbeckiifolius</i> Meyen & Walp	“Febre intestinal”, diarreia e disenteria, hematomas e dores musculares ⁸⁰
	<i>S. serratifolius</i> (Meyen et Walp.) Cuatrec.	Peitoral, no tratamento de asma e outras afecções ⁸¹
	<i>S. tephrosioides</i> Turcz	Tosse e bronquite ⁷⁸ Afecções respiratórias ⁸²
	<i>S. violaeifolius</i> Cabrera	Tosse, asma e doenças respiratórias ⁷⁹

Tabela 1. Principais espécies de *Senecio* utilizadas na medicina popular na América Latina e indicações de usos.

Os alcalóides pirrolizidínicos formam uma classe de metabólitos bastante presente em espécies de *Senecio*¹⁵ e, segundo Trigo *et al.*¹⁶, podem ser utilizados como marcadores quimiosistemáticos para a tribo *Senecioneae*. Em recente revisão sobre os alcalóides pirrolizidínicos em espécies de *Senecio* é relatada a presença de 62 diferentes estruturas desta classe de constituintes no gênero¹⁵. No entanto, embora sejam considerados metabólitos secundários característicos do gênero *Senecio*, os alcalóides pirrolizidínicos não estão presentes em todas as espécies e também têm sido relatados em outros gêneros, como *Symphytum*, *Crotalaria* e *Heliotropium*¹⁷⁻¹⁹. Além disso, a presença destes constituintes tóxicos em uma espécie pode variar de acordo com as condições sazonais⁵, como também ser dependente das agressões por patógenos e/ou herbívoros que esta planta venha a sofrer, uma vez que sua produção e concentração pode aumentar nos tecidos da planta em resposta à agressões externas e estresse sofridos²⁰.

Os alcalóides pirrolizidínicos foram isolados pela primeira vez em 1885 por Gradsal & Lasoux²¹ e a seneciose, doença ocasionada por estes compostos, foi descrita primeiramente na África do Sul²². São

ésteres de aminoálcoois com um núcleo pirrolizidínico (necina) e ácidos alifáticos (ácidos nécicos) que podem ocorrer na forma de mono, di e diésteres cíclicos¹⁵.

A doença veno-oclusiva hepática é a manifestação mais freqüente resultante da intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos em humanos¹⁸. A evidência de que os alcalóides pirrolizidínicos são os agentes tóxicos responsáveis pela doença, provém de numerosos estudos em animais, nos quais o consumo crônico de alcalóides pirrolizidínicos purificados causou as clássicas alterações patológicas associadas a ela¹⁹.

As relações entre a estrutura e a toxicidade dos alcalóides pirrolizidínicos já foi elucidada, sendo a hepatotoxicidade maior no caso dos diésteres macrocíclicos²³.

Segundo Prakash *et al.*¹⁸, o potencial hepatotóxico dos alcalóides pirrolizidínicos é determinado por quatro características estruturais mínimas (Fig. 1): um anel 3-pirrolina (1), um ou dois grupamentos hidroxila ligados ao anel pirrolina (2), um ou dois grupamentos esterificados (3) e a presença de uma cadeia ramificada no resíduo ácido(4).

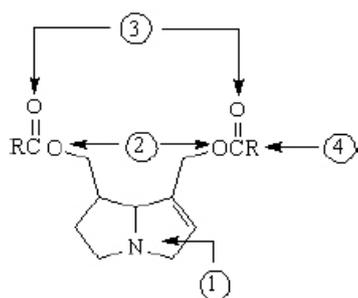


Figura 1. Características estruturais essenciais para a toxicidade dos alcalóides pirrolizidínicos^{18,31}. Os números correspondem aos itens listados no texto.

A ativação da toxicidade requer a desidrogenação dos alcalóides pirrolizidínicos, catalisada pelas monooxigenases do citocromo P450²⁴, originando de-hidropirrolizidinas, que são considerados os metabólitos tóxicos primários¹⁸. Estas tem caráter eletrofílico e reagem com componentes teciduais nucleofílicos, como ácidos nucléicos e proteínas^{15,25}, através de uma adição de Michael. As de-hidropirrolizidinas também podem sofrer hidrólise, com a formação dos álcoois correspondentes, que são considerados os metabólitos tóxicos secundários e que apresentam uma meia-vida maior que os primeiros, conseqüência de sua menor reatividade (Fig. 2).

Uma vez que o fígado é o órgão responsável pelo metabolismo de xenobióticos, entre eles os alcalóides pirrolizidínicos, ele é o primeiro alvo da patologia relacionada a estes compostos.

Os metabólitos tóxicos primários de muitos alcalóides pirrolizidínicos são suficientemente estáveis e migram do hepatócito para o lúmen sinusoidal²⁶, onde atacam as células endoteliais de revestimento e também podem se ligar às hemácias da circulação sanguínea. Os efeitos reativos imediatos dos metabólitos tóxicos primários são considerados os responsáveis pela lesão dos hepatócitos e das células endoteliais associadas aos vasos sinusoidais e às paredes das veias hepáticas de pequeno calibre, levando à doença veno-oclusiva hepática. As manifestações clínicas em humanos incluem dor epigástrica, distensão abdominal devido à ascite, hepatomegalia e elevação dos níveis séricos da transaminase^{27,28}.

Metabólitos de estrutura pirrólica com uma meia-vida especialmente longa também podem chegar aos pulmões e ao coração, onde causam lesões às macromoléculas destes órgãos. As mudanças

iniciais aparecem na vascularização pulmonar, incluindo trombos em vasos, inflamação aguda e espessamento da parede, levando à oclusão. Estes efeitos, juntamente com a fibrose do septo intra-alveolar levam à hipertensão pulmonar. O resultado do fluxo sanguíneo pulmonar comprometido é o aumento do trabalho do ventrículo direito, causando a sua hipertrofia e, eventualmente, levando à insuficiência cardíaca congestiva¹⁸.

Um dos aspectos relevantes relacionados à intoxicação por alcalóides pirrolizidínicos, é o aumento da sua toxicidade, provocado por substâncias indutoras de enzimas do citocromo P450, como por exemplo o fenobarbital²⁹. Também foi constatado que dietas pobres em proteínas aumentam os efeitos tóxicos dos alcalóides pirrolizidínicos³⁰. Por outro lado, a formação de metabólitos tóxicos é atenuada pela administração concomitante de aminoácidos contendo enxofre, como metionina e cisteína²³.

Quanto à carcinogenicidade dos alcalóides pirrolizidínicos para seres humanos, não há consenso na literatura. Para Prakash *et al.*¹⁸ existem indícios de que os hepatócitos humanos sejam resistentes à ação potencialmente genotóxica dos alcalóides pirrolizidínicos nas doses em que estes podem causar lesões nos animais. No entanto, Hänsel *et al.*³¹ citam a ocorrência endêmica de câncer hepático entre os bantos na África, em decorrência do consumo de plantas medicinais contendo esta classe de constituintes.

A literatura também traz evidências da ação teratogênica dos alcalóides pirrolizidínicos em seres humanos, uma vez que relata um caso de doença veno-oclusiva em recém-nascido cuja mãe consumia chá de uma planta contendo estes compostos³².

Alguns casos de intoxicações fatais em seres humanos foram relatados na literatura devido ao consumo de espécies de *Senecio* contendo alcalóides pirrolizidínicos^{33,34}. Também foram encontrados vários casos de doença veno-oclusiva hepática, relacionados ao consumo de espécies de *Senecio*, que não levaram ao óbito³⁵⁻³⁸.

A doença veno-oclusiva hepática foi endêmica em regiões da América do Sul durante parte do século passado³⁹, mas os casos tem diminuído com a melhoria na educação e a identificação adequada das espécies vegetais. No entanto, casos esporádicos ainda são relatados¹⁸.

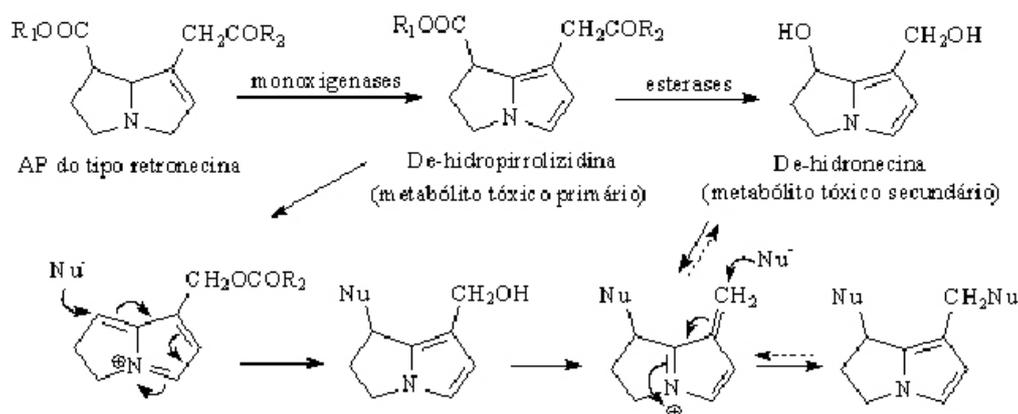


Figura 2. Rota metabólica responsável pela toxicidade dos alcalóides pirrolizidínicos^{18,31}. (AP = alcalóide pirrolizidínico; Nu = compostos nucleofílicos).

Com a ocorrência de intoxicações agudas por alcalóides pirrolizidínicos em humanos, estima-se que cerca de 20% dos indivíduos cheguem ao óbito e que cerca de 50% recuperem-se completamente dentro de poucas semanas. Dos indivíduos restantes, cerca de 20% parecem estar clinicamente recuperados, mas podem desenvolver doença veno-oclusiva hepática crônica e cirrose após alguns anos. Outros desenvolvem doença veno-oclusiva sub-aguda, que pode regredir ou progredir, levando inclusive à cirrose^{18,27}.

Para seis das quarenta e seis espécies de *Senecio* citadas na Tabela 1 já foi descrita a presença de alcalóides pirrolizidínicos: *Senecio bonariensis*⁴⁰, *S. uspalatensis*⁴¹, *S. brasiliensis*⁴², *S. grisebacchi*⁴³, *S. elatus*⁴⁴ e *S. tephrosioides*¹⁹. Para duas destas espécies, *S. brasiliensis* e *S. tephrosioides*, existem relatos de doença venooclusiva hepática em humanos. No caso de *Senecio brasiliensis* é relatado um caso da doença em paciente de 2 anos e 5 meses de idade, causada pelo uso crônico de chás das folhas desta espécie na profilaxia da gripe²⁸. Já para *Senecio tephrosioides*, é relatada a doença em uma mulher de 38 anos de idade, provocada pelo consumo ocasional das folhas desta espécie em infusão, durante alguns anos, no tratamento da tosse¹⁹.

Os casos de doença veno-oclusiva hepática associados à ingestão de plantas contendo alcalóides pirrolizidínicos forneceram evidências de que doenças subjacentes, estado nutricional do paciente e o uso concomitante de fármacos hepatotóxicos aumentam a probabilidade do desenvolvimento desta patologia²³.

Como o acesso às plantas medicinais é irrestrito e barato, e uma vez que a toxicidade dos alcalóides pirrolizidínicos está bem documentada, estes compostos caracterizam um sério risco à saúde de populações humanas, que são expostas a intoxicações quando plantas que os contêm são consumidas por via oral. Esta constatação levou diferentes países, entre eles o Canadá, a Alemanha, os Estados Unidos, a Grã-Bretanha e o Brasil, a restringirem o uso do

confrei (*Symphytum officinale* L.), outra espécie medicinal contendo alcalóides pirrolizidínicos^{23,45,46}.

A literatura relata que, entre outros fatores, a via de administração pode afetar enormemente a resposta à toxicidade²³. Desta forma, o uso externo destas plantas é bem mais seguro que seu uso interno; no entanto, a absorção de alcalóides pirrolizidínicos pela pele pode ocorrer, principalmente se esta estiver lesionada ou inflamada⁴⁷, podendo representar um risco para a saúde, ainda mais se o uso for prolongado e/ou a quantidade utilizada for significativa.

Através da análise das 46 espécies de *Senecio* utilizadas como medicinais na América Latina (Tabela 1), foi constatado que apenas 5 são preconizadas exclusivamente para uso externo enquanto que, para outras 9, são citados os usos interno e externo.

Devido aos efeitos nocivos potenciais de plantas contendo alcalóides pirrolizidínicos, entre elas as espécies de *Senecio*, é necessária a atenção dos órgãos de vigilância sanitária dos diferentes países, visando proibir a utilização destas plantas para uso interno. Também se faz necessário um trabalho continuado de divulgação das informações pertinentes junto aos profissionais da saúde, líderes de comunidades e à população em geral, com o objetivo de prevenir novos casos de intoxicação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Matzenbacher, N.I. (1998) "O Complexo "Senecionoide" (Asteraceae - Senecionae) no Rio Grande do Sul Brasil". Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Botânica, UFRGS, Tese.
2. Pérez, C., A.M. Agnese & J.L. Cabrera (1999) *J. Ethnopharmacol.* **66**: 91-6.
3. Urzúa, A. & L. Andrade (2001) *Biochem. Syst. Ecol.* **29**: 865-7.
4. Cabrera, A.L. & R.M. Klein (1975) "Compostas" em "Flora Ilustrada Catarinense" (P.R., Reitz), Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, pág. 136.
5. Habermehl, G.G., W. Martz, C.H. Tokarnia, J. Döbereiner & M.C. Mendez (1988) *Toxicon* **26**: 275-86.
6. Krebs, H.C., T. Carl & G.G. Habermehl (1996) *Phytochemistry* **43**: 1227-9

7. Ilha, M.R.S., A.P. Loretto, S.S. Barros & C.S.L. Barros (2001) *Pesq. Veter. Brasil*. **21**: 123-38.
8. Loyola, L.A., S. Pedreros & G. Morales (1985) *Phytochemistry* **24**: 1600-2.
9. Gu, J.Q., Y. Wang, S.G. Franzblau, G. Montenegro & B.N. Timmermann (2004) *J. Nat. Prod.* **67**: 1483-7.
10. Reina, M., M. Nold, O. Santana, J.C. Orihuela & A. González-Coloma (2002) *J. Nat. Prod.* **65**: 448-53.
11. Pascual-Villalobos, M.J. & A. Robledo (1999) *Biochem. Syst. Ecol.* **27**: 1-10.
12. Liu, F. & T.B. Ng (2000) *Life Sci.* **66**: 725-35.
13. Hnatyszyn, O., V. Moscatelli, J. Garcia, R. Rondina, M. Costa, C. Arranz, A. Balaszczuk, G. erraro & J.D. Coussio (2003) *Phytomedicine* **10**: 669-74.
14. Portillo, A., R. Vila, B. Freixa, T. Adzet & S. Cañigueral (2001) *J. Ethnopharmacol.* **76**: 93-8.
15. Silva, C.M., A.A. Bolzan & B.M. Heinzmann (2006) *Quím. Nova* **29**: 1047-53.
16. Trigo, J.R., I.R. Leal, N.I. Matzenbacher & T.M. Lewinsohn (2003) *Biochem. Syst. Ecol.* **31**: 1011-22.
17. Smith, L.W. & C.C.J. Culvenor (1981) *J. Nat. Prod.* **44**: 129-52.
18. Prakash, A.S., T.N. Pereira, P.E.B. Reilly & A.A. Seawright (1999) *Mutat. Res.* **443**: 53-67.
19. Tomioka, M., F. Calvo, A. Siguas, L. Sánchez, E. Nava, U. García, M. Valdivia & E. Reátegui (1995) *Rev. Gastroenterol. Peru* **15**: 299-302.
20. Gera Hol, W.H., M. Macel, J.A. Van Veen & E. Van Der Meijden (2004) *Basic Appl. Ecol.* **5**: 253-60.
21. Romero, A., P. Zeinsteger, P. Teibler, M. Montenegro, R.R. De Torrent, E. Rios & O.A. De Pérez (2001-2002) *Rev. Vet.* **12/13**: 15-8.
22. Wilmont, F.C. & G.W. Robertson (1920) *Lance* **1**: 48-9.
23. Rode, D. (2002) *Trends Pharmacol. Sci.* **23**: 497-9.
24. Castagnoli Jr. N., J.M. Rimoldi, J. Bloomquist & K.P. Castagnoli (1997) *Chem. Res. Toxicol.* **10**: 924-40.
25. Grasse, L.D., M.W. Lamé & H.J. Segall (1985) *Toxicol. Letters* **29**: 43-9.
26. Mattocks, A.R. & R. Jukes (1990) *Chem- Biol. Interac.* **76**: 19-30.
27. Larrey, D. (1994) *Presse Med.* **23**: 691-3.
28. Magnabosco, E.M., M.L. Rivera, I.R. Prolla, Y.M. De Verney & E.S. De Mello (1997) *J. Pediatr.* **73**: 115-8.
29. Stickel, F., E. Patsenker & D. Schuppan (2005) *J. Hepatol.* **43**: 901-10.
30. Schoental, R. (1968) *Cancer Res.* **28**: 2237-46.
31. Hänsel, R., O. Sticher & E. Steinegger (1999) "Pharmakognosie- Phytopharmazie". 6 Aufl. Berlin, Springer, págs. 960-4.
32. Roulet, M., R. Laurini, L. Rivier & A. Calame (1988) *J. Pediatr.* **112**: 433-6.
33. Fox, D.W., M.C. Hart, P.S. Bergeson, P.B. Jarrett, A.E. Stillman & R.J. Huxtable (1978) *J. Pediatr.* **93**: 980-2.
34. Liddell, J.R. & Logie, C.G. (1993) *Phytochem.* **34**: 1629-31.
35. González, G.T., E. Rojas Villamil & G. Arango Uribe (1997) *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exact. Fís. Nats.* **21**: 35-56.
36. Stillman, A.S., R. Huxtable, P. Consroe, P. Kohnen & S. Smith (1977) *Gastroenterol.* **73**: 349-52.
37. Ortiz, C.A., E.C. Valades, P.M. Blanco, J.S. Santamaría, J.M.G. Campillejo & T.R. Tellez (1995) *Gastroenterol. Hepatol.* **18**: 413-6.
38. Ridker, P.M., S. Ohkuma, W.V. McDermott, C. Trey & R.J. Huxtable (1985) *Gastroenterol.* **88**: 1050-4.
39. Brás, G., D.B. Jelliffe & K.L. Stuart (1954) *Arch. Pathol.* **57**: 285-300.
40. Paiva, J.A., L.E.S. Barata & J.R. Trigo (2004) *Biochem. Syst. Ecol.* **32**: 1219-22.
41. Pestchanker, M.J., M.S. Ascheri & O.S. Giordano (1985) *Phytochem.* **24**: 1622-4.
42. Toma, W., J.R. Trigo, A.C.B. De Paula & A.R.M.S. Brito (2004) *J. Ethnopharmacol.* **95**: 345-51.
43. Hirschmann, G.S. & C. Céspedes (1986) *J. Ethnopharmacol.* **17**: 195-6.
44. De Feo, V. (2003) *J. Ethnopharmacol.* **85**: 243-256.
45. Brasil (1992) Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria SNVS nº 19 de 30.1.1992, Proíbe o uso de confrei (*Symphytum officinale* L.) em preparações para uso interno. In: "Boletim do Sobravime", Vol. 5, pág. 2, nov./dez. 1991 e jan. 1992.
46. Rates, S.M.K. (2001) *Toxicol.* **39**: 603-13.
47. Chojkier, M. (2003) *J. Hepatol.* **39**: 437-46.
48. Zeinsteger, P., A. Romero, P. Teibler, M. Montenegro, E. Rios, E.M. Ciotti, O. Acosta De Perez & N. Jorge (2003) *Rev. Invest. Agropec.* **32**: 125-36.
49. Martínez, M.R. & M.L. Pochettino (2004) *Zonas Áridas* **8**: 19-32.
50. Manfred, L. (1947) "Siete mil recetas botánicas a base de mil trescientas plantas medicinales" Editora Kier, Buenos Aires, Vol. 1, pág. 697.
51. Hilgert, N.I. (2001) *J. Ethnopharmacol.* **76**: 11-34.
52. Carrizo, E.V., M.O. Palácio & L.D. Roic (2002) *Dominguezia* **18**: 26-35.
53. Macía, M.J., E. García & P.J. Vidaurre (2005) *J. Ethnopharmacol.* **97**: 337-50.
54. Abdel-Malek, S., J.W. Bastien, W.F. Mahler, Q. Jia, M.G. Reinecke, W.E. Robinson Jr, Y. Shu & J. Zalles-Asin (1996) *J. Ethnopharmacol.* **50**: 157-66.
55. Bourdy, G., L.R. Chavez De Michel & A. Roca-Coulthard (2004) *J. Ethnopharmacol.* **91**: 189-208.
56. Coimbra, R. (1958) "Notas de Fitoterapia: Catálogo dos dados principais sobre plantas utilizadas em Medicina e Farmácia" (E.D. da Silva, rev.), L.C.S.A., Rio de Janeiro, 2 ed., pág. 349.
57. Visbiski, V.N., P.H. Weirich Neto & A.L. Santos (2003) *Publ. UEPG Ci. Exatas Terra* **9**: 13-20.
58. Lorenzi, H. & F.J. A. Matos (2002) "Plantas Mediciniais no Brasil Nativas e Exóticas", Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP, pág. 161.
59. Villagrán, C., M. Romo & V. Castro (2003) *Chungara: Rev. Antropol. Chil.* **35**: 73-124.
60. Morales, G., P. Sierra, L.A. Loyola & J. Borquez (2000) *Bol. Soc. Chil. Quím.* **45**: 601-4.
61. Sánchez, M.R. (2001) "Folklore médico de Chiloé", Ediciones del Orfebre, Santiago, Vol. 1, pág. 24.
62. Loyola, L.A., S. Pedreros & G. Morales (1985) *Phytochemistry* **24**: 1600-2.
63. Caro, S.A. (2004) *Lyonia* **7(2)**: 89-104.
64. Abdo, S., M. De Bernardi, G. Marinoni, G. Mellerio, S. Samaniego, G. Vidari & P.V. Finzi (1992) *Phytochemistry* **31**: 3937-41.
65. Buitrón, X. (1999) "Ecuador: Uso y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación", Anexo 1, TRAFFIC

- International, disponível em <http://www.traffic.org/ecuador/>.
66. Thillet, B. (2003) “*Tierras municipales en Guatemala: un desafío para el desarrollo local sostenible*” Editora FLACSO, Guatemala, pág. 296.
67. Lentz, D.L., A.M. Clark, C.D. Hufford, B. Meurer-Grimes, C.M. Passreiter, J. Cordero, O. Ibrahimi & A.L. Okunade (1998) *J. Ethnopharmacol.* **63**: 253-63.
68. Nava, R.F. & D.R. Zamora (2001) *Polibotánica* **12**: 1-40.
69. Andrade-Cetto, A. & M. Heinrich (2005) *J. Ethnopharmacol.* **99**: 325-348.
70. Hernandez-Galicia, E, A. Aguilar-Contreras, L. Aguilar-Santamaria, R. Roman-Ramos, A.A. Chavez-Miranda, L.M. Garcia-Vega, J.L. Flores-Saenz & F.J. Alarcon-Aguilar (2002) *Proc. West. Pharmacol. Soc.* **45**: 118-24.
71. Navarro García, V.M., A. Gonzalez, M. Fuentes, M. Aviles, M.Y. Rios, G. Zepeda & M.G. Rojas (2003) *J. Ethnopharmacol.* **87**: 85-8.
72. Heinrich, M., M. Robles, J.E. West, B.R.O. Montellano & E. Rodriguez (1998) *Rev. Pharmacol. Toxicol.* **38**: 539-65.
73. Bah, M., R. Bye & R. Pereda-Miranda (1994) *J. Ethnopharmacol.* **43**: 19-30.
74. Pérez, L.C.N. & S.A. Reyes (2002) *Polibotánica* **14**: 67-84.
75. Usher, G. (1974) “*A Dictionary of plants used by man*”, Tinling Press, Londres, pág. 534.
76. Domínguez, M., A. Nieto, J.C. Marin, A. Keck, E. Jeffery & C.L. Céspedes (2005) *J. Agric. Food Chem.* **53**: 5889-95.
77. Angeles, C.T., D.I. Fukusaki & P.M. Díaz (2001) “*Pruebas fitoquímicas y biológicas de algunas especies de Senecio del Parque Nacional Huascaran (Ancash-Peru)*” em “*Anales Científicos UNALM*” (H.V. Cadima, ed.), Editorial Agraria, Lima, nº 47, págs. 37-47. Disponível em: <http://tumi.lamolina.edu.pe/anales.htm>.
78. Hammond, G.B., I.D. Fernández, L.F. Villegas & A.J. Vaisberg (1998) *J. Ethnopharmacol.* **61**: 17-30.
79. Rojas, R., B. Bustamante, J. Bauer, I. Fernández, J. Albán & O. Lock (2003) *J. Ethnopharmacol.* **88**: 199-204.
80. López-Giraldo, J.D., C. Cárdenas, N.M. Chávez, I. Salcedo & Y. Torreblanca (2000) “*An experience for learning Andean biodiversity contents included on the elementary school curriculum*”. Procedente do Simpósio Internacional “*BioEd 2000: The Challenge of the Next Century*”, Muséum National d’Histoire Naturelle (MNHN), Paris, França. Disponível em: http://www.iubs.org/cbe/cbe_paper_index.html.
81. Rivera, P.E.B. (2004) *Boletín CSI (Lima)* **51**: 7-8.
82. Alzamora, L., L. Morales, L. Armas & G. Fernández (2001) *An. Fac. Med. (Lima)* **62**: 156-61.