

## ESTRUTURAS FOLIARES DE *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae) RELACIONADAS COM A PROSPECÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL MEDICINAL

STRUCTURES OF LEAF *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae) RELATED TO PROSPECTION OF MEDICAL POTENTIAL SUBSTANCES

Marcielly Lima de Morais<sup>1</sup>  
Thácilla Caroline Cordeiro Caracas<sup>1</sup>  
Priscila Maria Andrade de Prince<sup>2</sup>  
Darlê Martins Barros Ramos<sup>2</sup>  
Guilherme Araújo Lacerda<sup>2,3</sup>

### RESUMO

Este trabalho apresenta como tema central o uso de uma planta medicinal nativa do cerrado mineiro a fim de relacionar a sua estrutura foliar a possíveis propriedades farmacológicas e ampliar o universo de pesquisas com extratos vegetais desse bioma. Utilizando o nosso objeto de estudo o Assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less.) realizamos pesquisas farmacobotânicas e testes de sensibilidade contra as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Valorizando assim, o nosso berço de espécies vegetais ricos em propriedades terapêuticas, criando oportunidades de expandir o conhecimento sobre a finalidade de cada planta para o desenvolvimento de medicamentos, podendo aumentar os recursos e diminuir os custos.

**Palavras Chave:** Estruturas Vegetais. Cerrado. Plantas Medicinais. Viabilidade Microbiana. Extratos Vegetais.

### ABSTRACT

This work has as its central theme the use of a medicinal plant native to the mountains of Minas Gerais, in order to relate their leaf structure to possible pharmacological properties and expand the universe of research on plant extracts of this biome. Using our object of study the Assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less.) will carry out research pharmacobotany and sensitivity tests against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Valuing so our crib plant species rich in therapeutic properties, creating opportunities to expand knowledge about the purpose of each plant for the development of drugs, which could increase the capabilities and reduce costs.

**Keywords:** Plant Structures. Cerrado. Medicinal Plants. Microbial Viability. Plant Extracts.

### INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são um valioso recurso terapêutico desde os tempos remotos até os dias de hoje. Devido a sua importância tem-se a necessidade de avaliar diferentes espécies vegetais, em função de suas propriedades medicinais. Através de comprovações científicas é que se garante a eficácia da planta sendo necessário conhecer as informações sobre elas utilizadas na medicina

<sup>1</sup> Graduandas do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas do Norte de Minas – FUNORTE.

<sup>2</sup> Professores do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas do Norte de Minas - FUNORTE, Montes Claros, MG, Brasil.

<sup>3</sup> E-mail: guilhermebiologia@hotmail.com

tradicional. Atualmente observa-se um aumento da utilização de plantas medicinais e medicamentos a base de plantas fitoterápicas.

Deste modo, plantas são usadas como o único recurso terapêutico de uma parcela da população brasileira e de mais de 2/3 da população do planeta. Os principais fatores que influenciam na manutenção desta prática são o baixo nível de vida da população e o alto custo dos medicamentos. Dessa forma, usuários de plantas de todo mundo, mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas algumas informações terapêuticas que foram acumuladas durante séculos (NEWALL *et al.*, 2002).

A microbiota humana constitui um dos mecanismos de defesa contra a patogênese bacteriana, mas ainda que a maioria dos componentes da microbiota normal seja inofensiva a indivíduos saudáveis, esta pode constituir um reservatório de bactérias potencialmente patogênicas. Muitas bactérias da microbiota normal podem agir como oportunistas. Nestas condições a microbiota residente pode ser incapaz de suprimir patógenos transitórios, ou mesmo, alguns membros da microbiota podem invadir os tecidos do hospedeiro causando doenças muitas vezes graves (TRABULSI; ALTERTHUM, 1999).

*Staphylococcus aureus* é um importante patógeno devido à sua virulência, resistência aos antimicrobianos e associação a várias doenças, incluindo enfermidades sistêmicas potencialmente fatais, infecções cutâneas, infecções oportunistas e intoxicação alimentar Lowy (1998). Esta bactéria habita com frequência a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos do homem e penetrar no alimento, causando a intoxicação alimentar estafilocócica Murray *et al.* (2000).

A *Escherichia coli* está entre os patógenos bacterianos de seres humanos mais frequente e mais importante, provocando mais de 90% de todas as infecções do trato urinário. Após caracterizar a epidemiologia, a patogenia e as manifestações clínicas deste microorganismo e cultivá-los, conclui-se que a *Escherichia coli* é o germe que ocorre com maior frequência na infecção do trato urinário (CORRÊA *et al.*, 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa extremamente versátil, que pode ser encontrada em diversos ambientes, principalmente solo e água, ou ainda associada a plantas e animais, onde pode causar infecções oportunistas (BORGES, 2005).

Estudos que analisam as propriedades antimicrobianas de espécies vegetais utilizadas na medicina popular revelam excelentes oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos medicinais Simões *et al.* (2001). O vegetal *Vernonia polyanthes* possui fins medicinais (BRASILEIRO *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 1998). O fato de estas espécies serem utilizadas popularmente como fitoterápicas justifica esta caracterização microscópica, como importante subsídio à identificação de cada espécie. Dessa forma o presente trabalho visou identificar suas

características foliares e avaliar a possibilidade de atividade antibacteriana dos extratos da planta para futuras pesquisas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O espécime de Assa-peixe *Vernonia polyanthes* Less. foi coletado na região da comunidade rural de Moradeiras da cidade de Januária, MG. As partes botânicas da espécie como folhas, caule e a raiz coletadas foram separadas e secas a sombra em temperatura ambiente durante 01 semana. Após a secagem, as folhas foram trituradas, acondicionadas em sacos de papel. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. Guilherme Araújo Lacerda e as exsiccatas depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES com respectivos registros, *Voucher 3753*.

Foram realizados cortes a mão livre no Laboratório de Botânica da Faculdade de Saúde Ibituruna – FASI utilizando folhas frescas do material botânico evitando-se aquelas doentes ou atacadas por insetos (FOSTER, 1949). Secções transversais e paradérmicas foram realizadas à mão livre. Os cortes foram então submetidos a coloração com fucsina básica (ROESER, 1972). Testes histoquímicos também foram realizados, empregando-se as soluções de lugol para amido (BERLYN e MIKSCHE, 1976) e de Sudan IV (SASS, 1951) para lipídeos.

Existem diversas metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. Um dos métodos considerados o mais adequado para a análise química farmacológica é a preparação de um extrato hidroalcolico - etanol/água Yunes *et al.* (2001). Onde foram utilizados 500 mL de etanol-água (70/30 v/v) com 50g do pó da folha, ambos misturados em um béquer durante 1 hora. Posteriormente, foi feita a filtração e repetiu-se a operação para garantir a qualidade do extrato. Em seguida, distribuiu-se o extrato líquido em placas de Petri e secou-se na estufa durante 4 dias a temperatura de 80° C sendo resfriada 1 dia a temperatura ambiente.

Após a secagem o extrato foi preparado para ter uma concentração de 100.000µg/mL, onde foi pesado 0,03g do extrato seco bruto da folha e diluído em 300µL de Dimetilsulfóxido (DMSO) sendo armazenado em microtubo estéril. Essa solução estoque foi diluída 100x para a obtenção da solução de uso com concentração igual a 1000µg/mL.

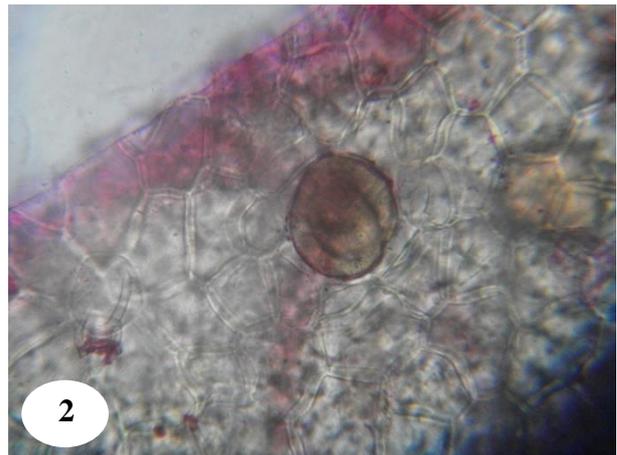
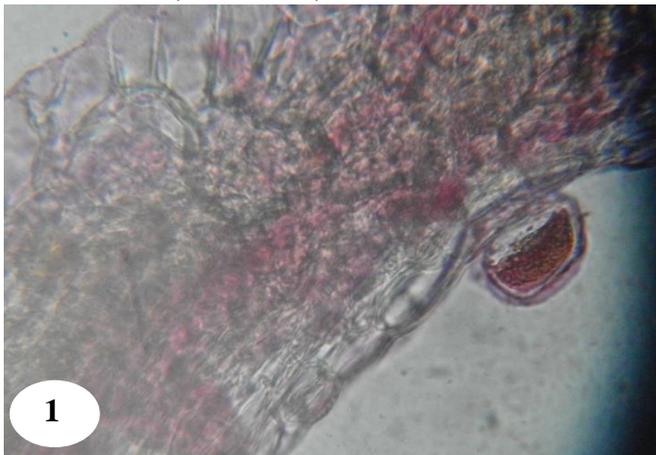
Para a realização da técnica REMA (*Resazurin Microtiter Assay*), foram utilizadas microplacas estéreis de 96 orifícios de fundo plano, caldo BHI, tetraciclina como droga de referência, Dimetilsulfóxido (DMSO) como diluente dos extratos, resazurina como substância reveladora e os micro-organismos *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Escherichia coli* (ATCC25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853).

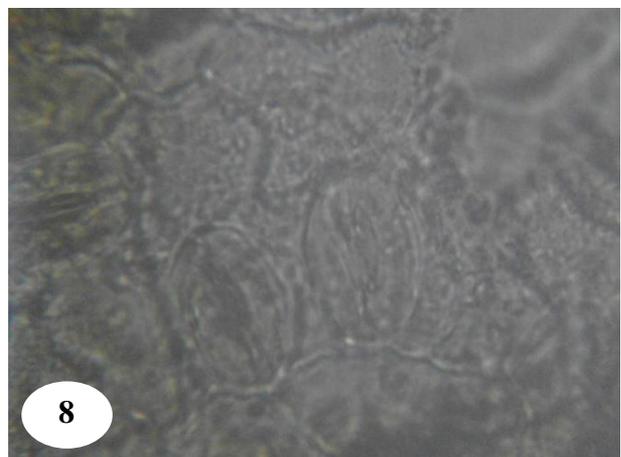
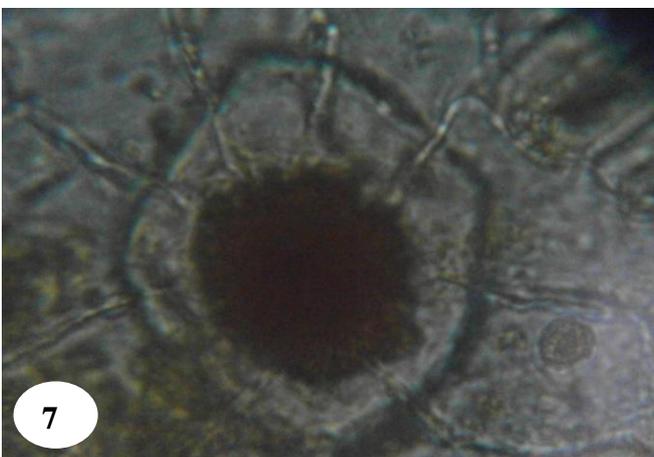
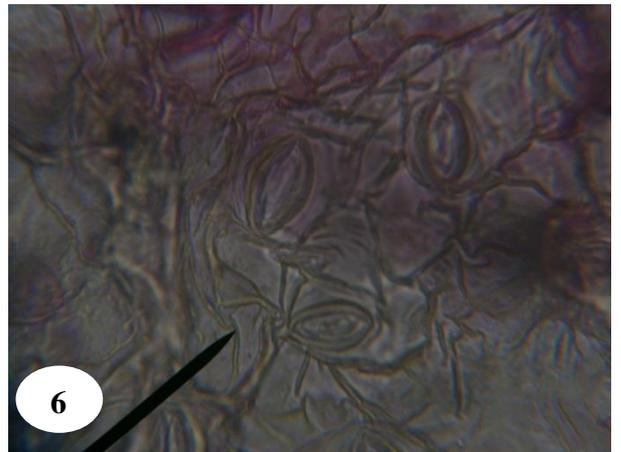
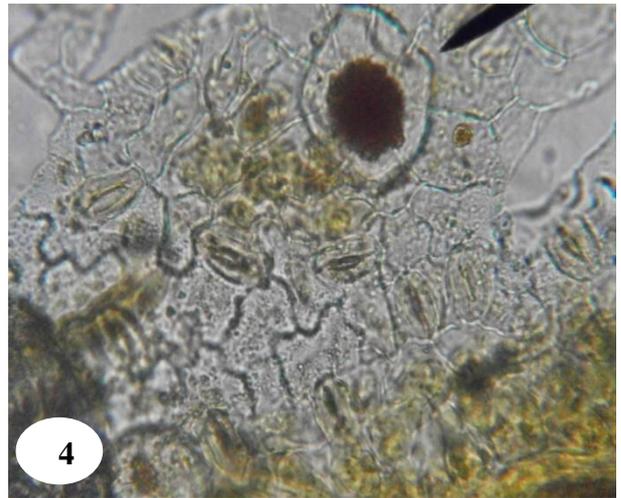
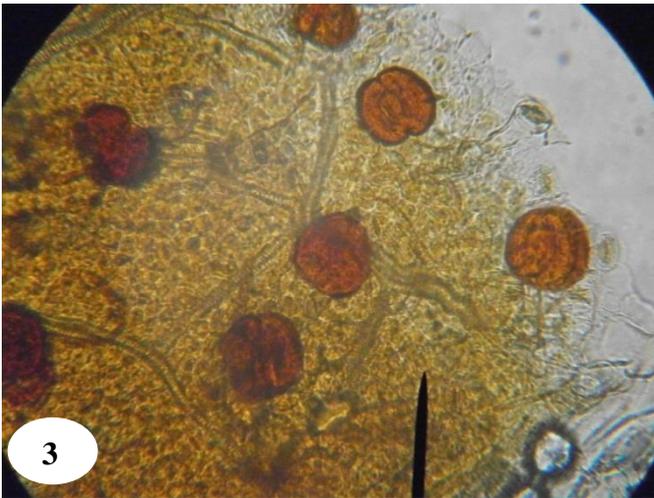
Foi utilizada uma solução estoque de tetraciclina (TET – Sigma) de concentração igual a 10.000µg/mL. A solução estoque foi diluída 78x para a obtenção da solução de uso para *S. aureus* (CIM 0,25-1) e *E. coli* (CIM 1-4) com concentração final de 128µg/mL. Para *P. aeruginosa* (CIM 8-32) a solução estoque foi diluída 39x para a obtenção da solução de uso com concentração final de 256µg/mL. Foram preparadas soluções bacterianas compatíveis com a escala 0,5 de MacFarland, resultando em uma suspensão de  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL. Da escala 0,5 de MacFarland, foi realizada uma diluição de 1:100 em caldo BHI. Não houve a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais utilizando a técnica do rema (*Resazurin Microtiter Assay*).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testados diferentes corantes como lugol (afinidade por carboidratos), fucsina (afinidade por peptídeoglicanos) e sudan IV (afinidade por lipídeos). No corte paradérmico da face abaxial da folha notamos estômatos do tipo anomocíticos ou ranunculáceo (ausência de células subsidiárias) utilizando a coloração com lugol (Figuras 1-8).

**Figuras 1-8:** Estruturas foliares de *Vernonia polyanthes* (Asteraceae). 1. Secção transversal, tricomas glândulares, Fucsina, aumento 100x. 2. Secção transversal, glândulas produtoras, Fucsina, aumento 100x. 3. Secção paradérmica, face adaxial, glândulas, Lugol, aumento 40x zoom 2.2. 4. Secção paradérmica, face abaxial, estômatos anomocíticos, Lugol, aumento 100x. 5. Secção transversal, tricoma tector multiseriado, Fucsina, aumento 40x zoom 3.0. 6. Secção paradérmica, face abaxial, estômatos anomocíticos, Fucsina, aumento 100x. 7. Secção paradérmica, face abaxial, tricoma glândular, Lugol, aumento 100x zoom 3.5. 8. Secção paradérmica, face abaxial, estômatos anomocíticos, Sudan IV, aumento 100x zoom 3.5.





**Fonte:** Dados da pesquisa.

No corte transversal foi perceptível notar a abundância de glândulas produtoras de essências presentes em ambas faces (adaxial e abaxial) como também nos tricomas glandulares, identificados com a utilização da fucsina. Com este mesmo corante tricomas tectores multisseriados foram observados em abundância em ambas as faces. O sudan IV não se demonstrou um bom corante, pois evidenciou o conteúdo denso nas estruturas. Já o lugol e a fucsina demonstraram conteúdos

monofásicos de coloração amarelada e rósea, respectivamente. Os detalhes das plantas matrizes podem ser observados (Figuras 9 e 10).

Estes resultados são corroborados por vários autores como Alves e Neves (2003), Lolis e Milaneze-Gutierrez (2003) e principalmente por Mauro *et al.* (2006) que dizem que três espécies: *Vernonia polyanthes*, *V. scorpioides*, e *V. condensata* apresentam limbo com mesofilo dorsiventral, com tricomas tectores unisseriados pluricelulares, menos abundantes em *V. condensata*, muito conspícuos nos 2 assa-peixes, sendo que em *V. scorpioides* estes tricomas apresentam uma dilatação basal. As 3 espécies exibem tricomas glandulares sésseis e pedicelados, sendo mais abundantes os pedicelados. Os pecíolos apresentam feixes vasculares dispostos de forma simétrica. Os estômatos anomocíticos estão situados principalmente na face dorsal do limbo. Há drusas, em idioblastos, no caule dos dois assa-peixes analisados por estes autores.

**Figuras 9-10:** 9. *Vernonia polyanthes*, arbusto onde foi retirado a suas partes botânicas, na região da comunidade rural de Moradeiras na cidade de Januária, MG. 10. Detalhes das folhas e caule do Assa-peixe.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Na técnica do REMA, o extrato da folha do vegetal mostrou não ter atividade antimicrobiana, pois houve crescimento bacteriano e todas as microdiluições testadas. Resultados diferentes foram obtidos por Jorgetto *et al.* (2011) que demonstrou atividades antibacterianas e antiprotozoárias no extrato etanol-água (70/30 v/v) foliar de *V. polyanthes* com 15 dias de maceração e método antibacteriano de disco (qualitativo). Benfatti *et al.* (2006) identificaram uma série de substâncias bioativas no extrato clorofórmico de folhas de Assa-peixe. Pereira e Castro (2010) encontraram substâncias fenólicas no mel desta planta indicando o potencial antioxidante do mesmo.

Estes dados indicam a valorosa aplicação do Assa-peixe como planta medicinal que muitas vezes perde seu espaço natural e ainda aquele colonizador pioneiro no ambiente devido a ser

considerado indesejável nas áreas de pastagem pelos pecuaristas (RASSINI e COELHO, 1994; SOUZA-FILHO *et al.*, 1996; FONSECA *et al.*, 2012).

## CONCLUSÃO

Identificou-se as principais características foliares motivando-se a possibilidade de atividade antimicrobiana dos extratos da planta para futuras pesquisas.

## AGRADECIMENTOS

Às instituições FUNORTE-FASI e UNIMONTES pelo suporte e apoio técnico.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, V. F. G.; NEVES, L. J. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae). **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, Rio de Janeiro, v. 22, n. 2, p. 1-8, 2003.
- BENFATTI, A. C.; BARBASTEFANO, V.; RODRIGUES, J; RINALDO, D.; SANTOS, L. C. dos; BRITO, A. R. M. S.; VILEGAS, W. Estudo químico do extrato clorofórmico das folhas de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae). **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, fevereiro de 2007, São Paulo.
- BRASILEIRO, B. G.; PIZZIOLO V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 2, abr./jun. 2006.
- BERLYN, G. P.; MIKSCH, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, Iowa State University, p. 121, 276. 1976.
- BORGES, A. L.; NASCIMENTO, A. P.; MEIRELES, D. A.; NICASTRO, G. G. **Genes envolvidos na patogenicidade da bactéria *Pseudomonas aeruginosa***. Instituto de Química-USP, 2005.
- CORRÊA, L. A.; CANALINI, A. F.; MATHEUS, W. E. Etiologia das infecções do trato urinário. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 29, p. 7-10, 2003.
- COSTA, A. F. E; FROTA, J.G.; LIMA, M. C.; MORAES, M. O. Plantas medicinais utilizadas por pacientes atendidos nos ambulatórios do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. **Pesquisa Médica Fortaleza**, v. 1, n. 2, p. 20-25, 1998.
- FONSECA, P. G.; NUNES, U. R.; NUNES, S. C. P. Aspectos da germinação de sementes de assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 633-637, abr. 2012.
- FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. 2. ed. Princeton: D.Van Nostrand, 1949. p. 218.

JORGETTO, G. V.; BORIOLO, M. F. G.; SILVA, L. M.; NOGUEIRA, D. A.; JOSÉ, T. D. S.; RIBEIRO, G. E.; OLIVEIRA, N. M. S.; FIORINI, J. E. Ensaio de atividade antimicrobiana *in vitro* e mutagênica *in vivo* com extrato de *Vernonia polyanthes* Less (Assa-peixe). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 53-61, 2011.

LOLIS, M. I. G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. **Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil"**. Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil, 2003.

LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. **New England Journal of Medicine**, v. 339, p. 520-532, 1998.

MAURO, C.; CARDOSO, C. M. Z.; FURLAN, M. R.; GARCIA, C. C. P.; FERNANDES, A. Y.; MELO, J. B. B.; SANCHES, L. S.; SILVA, M. C.; OLIVEIRA, P. G.; LIQUIERI, P.; STEFANINI, R. H.; SOUZA, V. S. S. Estudo anatômico comparado de duas espécies de assa-peixe, *Vernonia polyanthes* Less., *Vernonia scorpioides* (Lam.) Less. e boldo baiano, *Vernonia condensata* Baker Asteraceae. In: **XIX Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil** (19-22/09/2006, Salvador, BA). 2006.

MURRAY, K.; O'ROURKE, A. L.; McLAY, J.; SIMMONDS, R. Use of ground beef model to assess the effect of the lactoperoxidase system on the growth of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in red meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 57, n. 3, p. 147-58, jun. 2000.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Plantas Medicinas: Guia para profissional de saúde**. Porto Alegre: Editorial Premier, 2002. 300p.

PEREIRA, M. A.; CASTRO, R. N. **Perfil cromatográfico das substâncias fenólicas presentes em extratos de mel de assa peixe e avaliação de seu poder antioxidante**. Monografia-Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro. Seropédica, 2010. 67p.

RASSINI, J. B.; COELHO, R. R. Controle químico de Assa-peixe (*Vernonia polyanthes*) em pastagens. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 23, n. 6, p. 871-876, 1994.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 33-6, 1972.

DOS SANTOS, A.; SANTOS, D. O.; DE FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. Ames: Iowa State College Press, 1951. 391p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da UFSC, 2001.

SOUZA-FILHO, A. P. D. S. S.; RODRIGUES, L. R. A. D.; RODRIGUES, T. J. Efeitos de extratos aquosos de assa-peixe sobre a germinação de três espécies de braquiária. **Planta Daninha**, v. 14, n. 2, p. 93-101, 1996.

TRABULSI, L. B.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

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. 147-52, 2001.