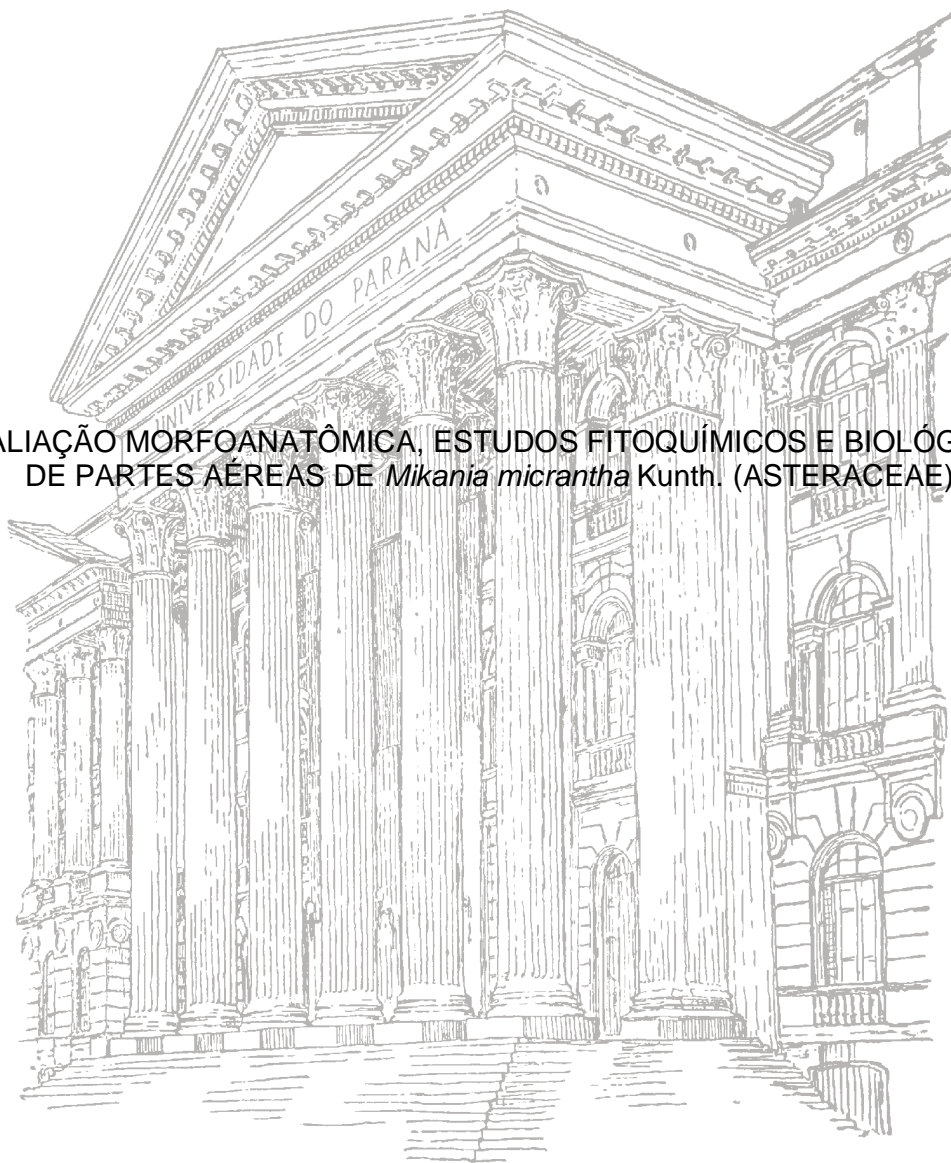


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA AMORIN

AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, ESTUDOS FITOQUÍMICOS E BIOLÓGICOS  
DE PARTES AÉREAS DE *Mikania micrantha* Kunth. (ASTERACEAE)



CURITIBA  
2015

MARIANA AMORIN

AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, ESTUDOS FITOQUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE  
PARTES AEREAS DE *Mikania micrantha* Kunth. (ASTERACEAE)

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tomoe Nakashima  
Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jane Manfron Budel

CURITIBA  
2015

Amorim, Mariana  
Avaliação morfoanatômica, estudos fitoquímicos e determinação da capacidade antioxidante das folhas e caule de *Mikania micrantha* Kunth. (Asteraceae) / Mariana Amorim – Curitiba, 2015.  
115 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm.

Orientadora: Professora Dra. Tomoe Nakashima  
Coorientadora: Professora Dra. Jane Manfron Budel  
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. 2015.

Inclui bibliografia

1. *Mikania micrantha*. 2. Asteraceae . 3. Morfoanatomia. 4. Fitoquímica. I. Nakashima, Tomoe. II. Budel, Jane Manfron. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.


CDD 615.321


## TERMO DE APROVAÇÃO

MARIANA AMORIN

Título: "AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, ESTUDOS FITOQUÍMICOS E DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS E CAULE DE *Mikania micrantha* Kunth. (ASTERACEAE)"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.

  
Profª. Drª. Tomoe Nakashima  
Orientadora

  
Profª. Drª. Elisa Perez  
Universidade Estadual do Centro-Oeste

  
Prof. Dr. Christian Boller  
Faculdade Pequeno Príncipe

Curitiba, 25 de fevereiro de 2015.

*Para minha mãe Cristina Carla Klüppel, guerreira e batalhadora, cuja educação e dedicação sempre foram à força e inspiração para não desistir e seguir sempre em frente.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por essa oportunidade, pelas bênçãos e por todos os dias da minha vida em que iluminou meu caminho, me fornecendo forças para continuar sempre em frente.

À minha super família, pela presença, pelo suporte prestado e por estarem ao meu lado me incentivando. Em especial aos meus avós maternos e paternos, os quais tive a honra de conhecer, conviver e escutar os sábios conselhos.

Ao meu companheiro Christopher Israel Alves de Lima pelo amor incondicional, pela grande paciência nos momentos de estresse e desespero, por ser meu porto seguro em diversas ocasiões e minhas forças para continuar.

À minha amiga e orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tomoe Nakashima que me acolheu, direcionou, aconselhou, apoiou e acreditou no meu desenvolvimento durante todos os dias de estudo, auxiliando em meu crescimento profissional e pessoal.

À minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jane Manfron Budel por toda paciência, atenção e ajuda prestada.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas e seus colaboradores e a Universidade Federal do Paraná por ter possibilitado meu desenvolvimento pessoal, profissional e intelectual durante esses 2 anos.

À agência de fomento à pesquisa CAPES pela concessão da bolsa de estudos e proporcionar a vivência acadêmica com as práticas de docência.

À Maria da Graça Teixeira de Toledo pela amizade, incentivo e auxílio no uso dos equipamentos da Central Analítica.

Aos preciosos amigos e colegas de laboratório Beatriz Spiri, Stephany Muraoka, Juliano Weles, Gabriel Machado, Juliana Starosta e Luana Campos, pelos momentos de ensino alegres e divertidos. Em especial à Sabrina Freitas e Fernanda Pasqualim, pela amizade, parceria e cooperação.

Às valerosas amigas Letícia Pereira e Anne Schreiber, doutorandas do Departamento de Farmacologia, minhas companheiras de ciência, que me apoiaram, incentivaram e realizaram diversos esforços para meu crescimento científico e pessoal.

Aos colegas do Programa de Pós Graduação, Isabel Mignoni, Jéssica Domingues, Vanessa Bobek, Vanessa Santos, Ellis Szabo, Camilla Madeira e Daniele Santos. Assim como aos Professores Obdúlio Gomes Miguel, Cid Aimbiré de Moraes Santos, Sandro Germano, Tânia Maria Bonfim, Ricardo Wagner, Joice Cunha.

Ao Professor Nelson Ivo Matzenbacher do ICN/UFRGS pela assistência na identificação e classificação taxonômica da espécie. E ao centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, por permitir a execução das análises ultra-estruturais dos materiais botânicos.

Enfim, à todos aqueles, que, de alguma forma, me incentivaram e me deram forças para que este trabalho fosse realizado, meus mais sinceros agradecimentos.

“Não chores pelo que perdeste, luta pelo que tens. Não chores pelo que está morto, luta por aquilo que nasceu em ti. Não chores por quem te abandonou, luta por quem está contigo. Não chores por quem te odeia, luta por quem te quer. Não chores pelo teu passado, luta pelo teu presente. Não chores pelo teu sofrimento, luta pela tua felicidade. Com as coisas que vão nos acontecendo, vamos aprendendo que nada é impossível de solucionar, apenas siga adiante” (Papa Francisco).

## RESUMO

*Mikania micrantha* Kunth pertence à família Asteraceae, que se destaca pela vasta quantidade de espécies vegetais usadas como medicinais. O Brasil conta com cerca de 198 espécies de *Mikania*, comumente conhecidas como guaco pela população e utilizadas por suas propriedades antimicrobianas, antiprotazoárias, antivirais e anti-inflamatórias. Entretanto as diferentes espécies de *Mikania* são muito semelhantes entre si, podendo ocorrer uma confusão durante sua utilização. Além disso, podem ocorrer adulterações e falsificações no que se refere a droga vegetal. O objetivo deste trabalho foi determinar morfo-anatomicamente e quimicamente o caule e folha de *Mikania micrantha*, a fim de elucidar características que possam ser utilizadas para identificar esta espécie medicinal, bem como diferenciá-la das demais espécies. Os ensaios anatômicos foram desenvolvidos por técnicas frequentes em microscopia fotônica e microscopia eletrônica de varredura. Para a determinação dos metabólitos secundários foram utilizadas metodologias usuais de extração e caracterização dos mesmos. As folhas são simples, com formato ovado-deltóide, base cordada, ápice acuminado. As margens são grosseiramente denteadas, levemente crenadas e glabras em ambos os lados. O pecíolo mede 3-7 cm de comprimento e a filotaxia é oposta. Em vista frontal, as paredes celulares são onduladas, com paredes anticlinais relativamente finas em ambos os lados. Estômatos anomocíticos são encontrados em ambas as superfícies e estão localizados no mesmo nível das células epidérmicas. No entanto, poucos são os estômatos na face adaxial. Em transecção, a epiderme é unisseriada ao longo da lâmina de foliar e revestida com uma fina cutícula lisa em ambos os lados. Vários tricomas foram encontrados na superfície foliar. Desses tricomas, os glandulares são do tipo capitado biseriado e unisseriados não capitados filamentosos curvos. Os tricomas tectores, com formato cônico, unisseriado e composto. Com relação aos testes fitoquímicos *M. micrantha* apresentou reação positiva para flavonoides, cumarinas, iridoides, esteroides e/ou triterpenoides, heterosídeos antociânicos e saponínicos, taninos e compostos aromáticos. De acordo com as características encontradas, espera-se contribuir para a identificação desse táxon e diferenciação das demais espécies desse grupamento vegetal.

Palavras-chave: *Mikania micrantha*, Asteraceae, morfoanatomia, fitoquímica.

## ABSTRACT

*Mikania micrantha* Kunth belongs to the Asteraceae family, noted for its vast amount of plant species used in traditional medicine. Brazil has about 198 species, commonly known as guaco the population and used for its antimicrobial properties, antiprotozoal, antiviral and anti-inflammatory. However *Mikania* different species are very similar to each other, so offer a confusion may occur during use, in addition, alteration and forgery can occur with respect to the herbal drug. The objective of this study was to determine morphological and anatomically and chemically *Mikania micrantha* sheet and in order to elucidate features that can be used to identify this medicinal species, and distinguish it from other species. The anatomical studies were developed by common techniques in light microscopy and scanning electron microscopy. For the determination of secondary metabolites usual extraction methods were used and characterization thereof. The leaves are simple, with ovate-deltoid format, cordate base, acuminate apex. The margins are coarsely toothed, slightly crenades and glabrous on both sides. Petiole measures 3-7 cm in length and is opposite phyllotaxis. In front view, the cell walls are corrugated, with relatively thin walls anticlines on both sides. Anomocytic stomata are found on both surfaces and are located at the same level of epidermal cells. However, few stomata on the adaxial surface. In transect the skin uniseriated along the leaf blade and coated with a thin cuticle smooth on both sides. Several trichomes were found on the leaf surface. These trichomes, glandular are the type capitate biseriate and uniseriate not capitated filamentous curved. The non-glandular trichomes, with conical shape, uniseriate and compound. Regarding the phytochemical tests *M. micrantha* showed positive reaction to flavonoids, coumarins, iridoids, steroids and / or triterpenoids, anthocyanin glycosides and saponinis, tannins and aromatic compounds. According to the characteristics found, is expected to contribute to the identification of this taxon and differentiation from other species of this plant grouping.

Keywords: *Mikania micrantha*, Asteraceae, morphoanatomy, phytochemistry.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - QUANTIFICAÇÃO DE NOVAS MOLÉCULAS APROVADAS PELA AGÊNCIA AMERICANA DE CONTROLE DE ALIMENTOS E MEDICAMENTOS (FDA).....	22
FIGURA 02 - DISTRIBUIÇÃO DAS FORMAÇÕES VEGETAIS PRESENTES NO PARANÁ.....	27
FIGURA 03 - PLANO DE MANEJO DA VEGETAÇÃO DO PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA.....	28
FIGURA 04 - AFLORAMENTOS ROCHOSOS PRÓXIMOS À PISCINA.....	29
FIGURA 05 - <i>Mikania hirsutissima</i> DC. (I) e <i>Mikania scandens</i> (II).....	36
FIGURA 06 - FLORES DE <i>Mikania scandens</i> .....	36
FIGURA 07 - RAMOS VEGETATIVOS DE <i>Mikania micrantha</i> .....	36
FIGURA 08 - ESTRUTURAS REPRESENTATIVAS DAS MOLÉCULAS DE 8-EPI-MIKANOKRYPTIN (1) E 11HB-11,13-DIHYDROMICRANTHOLIDE (2) DE <i>Mikania micrantha</i> Kunth.....	38
FIGURA 09 - SOLUÇÃO DE DPPH A 40 µg/mL, ANTES E DEPOIS DE RECEBER UM ELÉTRON DE UMA SUBSTÂNCIA ANTIOXIDANTE.....	49
FIGURA 10 - <i>Mikania micrantha</i> KUNTH, ASTERACEAE - FOLHA.....	56
FIGURA 11 - <i>Mikania micrantha</i> KUNTH, ASTERACEAE - SECÇÃO TRANSVERSAL DA FOLHA.....	59
FIGURA 12 - <i>Mikania micrantha</i> KUNTH, ASTERACEAE - CAULE.....	61
FIGURA 13 - <i>Mikania micrantha</i> KUNTH, ASTERACEAE - TESTES MICROQUÍMICOS.....	62
FIGURA 14 - VISUALIZAÇÃO DA REDUÇÃO DO MOLIBDÊNIO VI A MOLIBDÊNIO V EM MICROPLACAS.....	70
FIGURA 15 - MUDANÇA DE COLORAÇÃO NA REAÇÃO DE DPPH.....	72
FIGURA 16 - PLACA DE CCD (I).....	75
FIGURA 17 - PLACA DE CCD (II).....	75
FIGURA 18 - PLACA DE CCD (III).....	75
FIGURA 19 - PLACA DE CCD (IV).....	75

FIGURA 20 - PLACA DE CCD (V).....	76
FIGURA 21 - PLACA DE CCD (VI).....	76
FIGURA 22 - PLACA DE CCD (VII).....	76
FIGURA 23 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE ARRANJO DE FOTODIODOS DAS FRAÇÕES DE CAULE E DO EXTRATO BRUTO DE CAULE 21 .....	78
FIGURA 24 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE ARRANJO DE FOTODIODOS DAS FRAÇÕES DE FOLHA E DO PERFIL DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA 21.....	79
FIGURA 25 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE ARRANJO DE FOTODIODOS DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA 21 E DO PERFIL DO PADRÃO DE RUTINA.....	80
FIGURA 26 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA DOS EXTRATOS BRUTOS DE CAULE, COM DIFERENTES TEMPOS DE MACERAÇÃO (21 DIAS E 7 DIAS).....	81
FIGURA 27 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA DOS EXTRATOS BRUTOS DE FOLHA, COM DIFERENTES TEMPOS DE MACERAÇÃO (21 DIAS E 7 DIAS).....	82
FIGURA 28 - PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA DAS FRAÇÕES DE FOLHA.....	83
FIGURA 29 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BRUTO DE CAULE COM PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO COM O PICO DO EXTRATO BRUTO DE CAULE (TEMPO DE RETENÇÃO 25,70 MINUTOS).....	84
FIGURA 30 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE COM PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE (TEMPO DE RETENÇÃO DE 28,92 MINUTOS).....	85
FIGURA 31 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DE	

	CAULE COM PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DE CAULE (TEMPO DE RETENÇÃO 29,94 MINUTOS).....	86
FIGURA 32 -	PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA DE CAULE COM PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO COM O PICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA (TEMPO DE RETENÇÃO 25,45 MINUTOS).....	87
FIGURA 33 -	PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA DE CAULE COM PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA (TEMPO DE RETENÇÃO 28,70 MINUTOS).....	88
FIGURA 34 -	PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA DILUÍDO COM PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DO EXTRATO BRUTO (TEMPO DE RETENÇÃO 28,77 MINUTOS).....	89
FIGURA 35 -	PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA DILUÍDO COM PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO COM O PICO DO EXTRATO BRUTO (TEMPO DE RETENÇÃO 25,15 MINUTOS).....	90

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	SISTEMA GRADIENTE UTILIZADO NO CROMATÓGRAFO....	53
TABELA 2 -	CLASSES DE METABÓLITOS ESPECIAIS PRESENTES NAS FRAÇÕES DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS E CAULES DE <i>Mikania micrantha</i> Kunth.....	64
TABELA 3 -	CLASSES DE METABÓLITOS ESPECIAIS PRESENTES NO EXTRATO AQUOSO A 20% DAS FOLHAS E CAULES DE <i>Mikania micrantha</i> Kunth.....	65
TABELA 4 -	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS E TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS HIDROALCOOLICO A 20 % DE FOLHAS E CAULE.....	67
TABELA 5 -	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS E TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS AQUOSOS A 20 % DE FOLHAS E CAULE.....	67
TABELA 6 -	RENDIMENTO EM % DAS FRAÇÕES DE FOLHAS E CAULE.....	68
TABELA 7 -	PRINCIPAIS PLANTAS FARMACOPEICAS COM ALTO TEOR DE TANINOS.....	69
TABELA 8 -	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL COM RELAÇÃO AO ÁCIDO ASCÓRBICO.....	71
TABELA 9 -	PORCENTAGEM DE DPPH REMANESCENTE NAS FRAÇÕES ANALISADAS.....	73

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -	CURVAS ANALÍTICAS DE ÁCIDO ASCÓRBICO, ÁCIDO GÁLICO E RUTINA.....	71
GRÁFICO 2 -	CURVA ANALÍTICA DE DPPH.....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

±	Mais ou menos
%CA	Porcentagem da Capacidade Antioxidante
%CAR	Porcentagem de Capacidade Antioxidante Relativa
AA	Ácido Ascórbico
Abs	Absorvância
APG	Grupo de Filogenia das Angiospermas
cm	Centímetro
°C	Graus Celsius
DP	Desvio Padrão
DPPH	Radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
% DPPH <sub>REM</sub>	Porcentagem de DPPH remanescente
<i>et al.</i>	Expressão Latina abreviada et alli, (=e outros)
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas
g / %	Relação grama/porcento
Kg	Quilograma
M	Massa
m	Metro
mg / g	Relação miligrama/grama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Mol	Unidade de molaridade, quantidade de matéria
mol/L	Relação mol/litro
mmol/L	Relação milimol/litro
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
ηm	Nanômetro
nº	Número
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico

p/p	Relação peso/volume
RDC	RDC Resolução da Diretoria Colegiada
RENAFITO	Relação Nacional de Fitoterápicos
Rpm	Rotações por minuto
SUS	Sistema Único de Saúde
sp.	Relativo a espécie do gênero
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UV	Ultravioleta
v	Volume
VIS	Visível
v/v	Relação volume/volume
µg	Micrograma
µg/mL	Relação micrograma/mililitro
µL	Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	25
2.1 GERAL.....	25
2.2 ESPECÍFICOS.....	25
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	26
3.1. FLORESTA UMBRÓFILA MISTA.....	26
3.2 PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA.....	28
3.3 FAMÍLIA ASTERACAE.....	30
3.3.1. Características.....	31
3.4 GÊNERO <i>Mikania</i> .....	33
3.4.1. Características.....	34
3.5 <i>Mikania micrantha</i> Kunth.....	35
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
4.1 MATERIAL BOTÂNICO.....	39
4.1.1 Coleta e Identificação.....	39
4.1.2 Secagem.....	39
4.2 MORFOANATOMIA.....	39
4.2.1 Preparo do Material.....	40
4.2.2 Preparo de lâminas semipermanentes.....	40
4.2.3. Preparo de lâminas permanentes.....	40
4.2.4 Testes microquímicos.....	41
4.2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	41
4.3. TEOR DE UMIDADE.....	41
4.4 EXTRATOS E FRAÇÕES.....	42
4.4.1 Preparo do Extrato Hidroalcoólico a 20% (p/v).....	42
4.4.1.1 Fracionamento do Extrato Hidroalcoólico.....	43
4.4.2 Preparo do Extrato Aquoso 20% (p/v).....	44
4.5. ENSAIOS FITOQUÍMICOS.....	45
4.6 DOSEAMENTO DE TANINOS.....	45
4.7 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	47

4.7.1. Método do Fosfomolibdênio.....	47
4.7.2 Método do DPPH.....	49
4.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.....	50
4.9 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	52
4.9.1 Equipamentos.....	52
4.9.2 Condições Cromatográficas.....	52
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>54</b>
5.1 ANÁLISE FARMACOGNÓSTICA.....	54
5.2 TEOR DE UMIDADE.....	63
5.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA.....	63
5.3.1 Ensaios fitoquímicos preliminares.....	63
5.3.2 Características Organolépticas e Teor Sólidos (Resíduo Seco).....	66
5.3.3 Rendimento das Frações.....	68
5.4 DOSEAMENTO DE TANINOS.....	68
5.5 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	70
5.5.1 Método do Fosfomolibdênio.....	70
5.5.2 Método do DPPH.....	72
5.6 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.....	73
5.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	77
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>93</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenham sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa. A medicina tradicional chinesa desenvolveu-se com tal grandiosidade e eficiência que até hoje muitas espécies e preparados vegetais medicinais são estudados na busca pelo entendimento de seu mecanismo de ação e no isolamento dos princípios ativos (NEWMAN *et al.*, 2003; VIEGAS *et al.*, 2006).

As grandes navegações trouxeram a descoberta de novos continentes, legando ao mundo moderno um grande arsenal terapêutico de origem vegetal. Em 1500, com a chegada de Pedro Álvares Cabral ao Brasil, surgiu a primeira correspondência oficial de Pero Vaz de Caminha ao Rei de Portugal, D. Manuel, relatando o descobrimento da nova terra e suas características. O Padre José de Anchieta de 1560 a 1580 detalhou em suas cartas aos Superiores Geral da Companhia de Jesus as plantas comestíveis e medicinais do Brasil (SILVA, 2004; DUTRA 2009).

As plantas medicinais especificamente mencionadas foram: capim rei, ruibarbo do brejo, ipecacuanha-preta, cabriúva-vemelha, “erva boa”, hortelã-pimenta, que era utilizada pelos indígenas contra indigestão, aliviando nevralgias, reumatismos, doenças nervosas, purgativos, bálsamos e cura de feridas. Outro fato que chamou a atenção dos missionários foi a utilização dos timbós pelos índios, os quais produziam um efeito narcótico nos peixes para facilitar a pesca, possibilitando assim, pescar com a mão, uma vez que a planta era macerada e jogada na água. (SILVA, 2004; DUTRA 2009).

Historicamente foram os farmacêuticos, desde Galeno (129-199 D.C.), que procuraram descobrir e utilizar medicamentos naturais na sua forma pura. Exemplo relevante é o emprego de produtos naturais derivados dos fármacos cardiotônicos, como a planta *Digitalis*, que foi descrita em 1785 por Whitering e seu emprego como cardiotônico data de 1250. A digitoxina e a digoxina são princípios ativos importantes

encontrados nesta planta, tais substâncias atualmente classificadas como glicosídeos são responsáveis pela atividade cardiotônica desta planta. Embora tenham decorrido centenas de anos da identificação desses compostos na *Digitalis*, ainda hoje essa planta é fonte desses glicosídeos cardioativos (BARREIRO, 1990; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Em 1824 Pierre Jean Robiquet isolou a codeína (antitussígeno) também da papoula e em 1848, George Fraz Merck isolou a papaverina (alcaloide espasmolítico e vasodilatador) desta mesma planta. Outros exemplos importantes de princípios isolados de plantas são a atropina (antagonista muscarínico) proveniente da *Atropa beladonna* por Mein em 1831; a cafeína (alcaloide) obtida por Runge em 1820 da *Coffea arábica*; o curare (relaxante muscular) isolado por Winstersteiner e Dutcher em 1943 do *Chondrodendron tomentosum*. Entretanto, o marco histórico no processo de desenvolvimento da indústria farmacêutica mundial foi a descoberta da salicina (analgésico e antitérmico) por Rafaele Piria em 1829 a partir da planta *Salix alba*. A partir da salicina foi realizada a primeira modificação estrutural, originando o ácido salicílico em 1839. A partir do ácido salicílico, Felix Hoffman sintetizou a aspirina (ácido acetilsalicílico) em 1897, a primeira patente que se tem conhecimento na área de medicamentos (CALIXTO; SIQUEIRA JÚNIOR, 2008).

No entanto, após a Segunda Guerra Mundial, os produtos naturais foram esquecidos, acreditando-se obter fármacos somente através da síntese de um grande número de compostos e seu teste ao acaso, sem nenhuma orientação. Somente por volta de 1970, quando a Organização Mundial da Saúde reconheceu os benefícios da medicina chinesa (paradigma oriental à base de extratos = misturas) e, com o surgimento de alguns importantes medicamentos obtidos de fontes naturais, foi que cientistas e indústrias voltaram a se interessar por esse ramo (YUNES; CALIXTO, 2001).

A partir do século XX, surgem as grandes corporações farmacêuticas em vários países da Europa e, sobretudo, nos Estados Unidos. A indústria farmacêutica passa a utilizar os recursos da química sintética para aumentar o arsenal terapêutico. Uma forte e estreita interação entre as principais indústrias farmacêuticas, as universidades de vários países e institutos de pesquisas da Europa e Estados Unidos passou a ser firmada, iniciando a partir daí, o conceito moderno empregado para a pesquisa e desenvolvimento baseados na descoberta de alvos terapêuticos, desenho e seleção da molécula líder para o alvo pretendido,

otimização da molécula líder, desenvolvimento do candidato a fármaco e, finalmente, descoberta do medicamento (PALMEIRA FILHO; PAN, 2003).

Os dados da Figura 01 mostram que, apesar dos custos crescentes para desenvolver um medicamento, a quantidade de novas entidades químicas aprovadas mundialmente vem decrescendo marcadamente a cada ano, estabilizando em torno de 18 novos fármacos em 2005 e 2006. Para 2007, esse quadro não demonstrou sinais de alterações. Tal fato fez com que os investimentos em pesquisa e desenvolvimento, por parte das grandes indústrias farmacêuticas mundiais, passassem de cerca de dois bilhões de dólares na década de 1980, para mais de 40 bilhões de dólares atualmente. Isso explica, pelos menos em parte, o grande aumento dos preços observados para os medicamentos atuais (FRANTZ, 2005; OWENS, 2007).

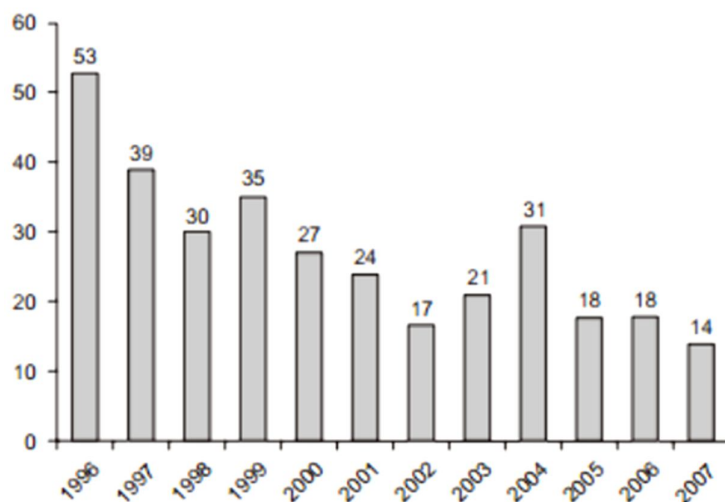


FIGURA 01 - QUANTIFICAÇÃO DE NOVAS MOLÉCULAS APROVADAS PELA AGÊNCIA AMERICANA DE CONTROLE DE ALIMENTOS E MEDICAMENTOS (FDA)  
FONTE: CALIXTO & SIQUEIRA JÚNIOR (2008)

O Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial, com destaque para as plantas superiores, nas quais detém aproximadamente 24% da biodiversidade. Entre os elementos que compõem a biodiversidade, as plantas são a matéria-prima para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos. Além de seu uso como substrato para a fabricação de medicamentos, as plantas são também utilizadas em práticas populares e tradicionais como remédios caseiros e comunitários, processo conhecido como medicina tradicional. Além desse acervo genético, o Brasil é detentor de rica

diversidade cultural e étnica que resultou em um acúmulo considerável de conhecimentos e tecnologias tradicionais, passados de geração a geração, entre os quais se destaca o vasto acervo de conhecimentos sobre manejo e uso de plantas medicinais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Nesse sentido, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, estabelece diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações pelos diversos parceiros em torno de objetivos comuns voltados à garantia do acesso seguro e uso racional de plantas medicinal e fitoterápico em nosso país, bem como ao desenvolvimento de tecnologias, inovações e ao uso sustentável da biodiversidade brasileira (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Atualmente, os fitoterápicos constituem importante fonte de inovação em saúde, sendo objeto de interesses empresariais privados. Esse contexto impõe a necessidade de uma ação transversal voltada ao fortalecimento da base produtiva e de inovação local e à competitividade da indústria nacional.

Portanto, é imprescindível conhecer mais profundamente as plantas medicinais para serem usadas na terapêutica de forma segura e eficaz, principalmente pela indústria que vem investindo na pesquisa e desenvolvimento de novas tecnologias de modo a buscar fármacos, dentre estes, os de origem vegetal que possuem efeito medicinal (BUDEL, 2003).

A autenticidade de uma amostra vegetal é dada por parâmetros de identificação botânica, por meio de ensaios macroscópicos e microscópicos, bem como pela presença dos marcadores químicos ativos. O estudo das partes internas, além de esclarecimentos taxonômicos dos vegetais, pode auxiliar no conhecimento de fenômenos que ocorrem fisiologicamente e que ajudam a compreender como surgem as substâncias farmacologicamente ativas nas plantas (GLÓRIA; GUERREIRO, 2003).

No entanto, ocorre falta de informação acerca da caracterização de espécies medicinais, o que pode acarretar em coletas equivocadas, utilizações incorretas e malefícios à saúde, principalmente devido a intoxicações, muitas vezes decorrentes de confusão entre as diferentes espécies pertencentes ou não a um mesmo gênero.

Baseando-se na grande importância do controle de qualidade para a produção de medicamentos fitoterápicos, o presente trabalho evidencia estudo morfoanatômico, fitoquímico e biológico do caule e da folha da espécie vegetal

*Mikania micrantha* Kunth., buscando contribuir com informações complementares que auxiliem na identificação da planta e fornecendo subsídios farmacognósticos para sua validação e a elaboração de um perfil químico-biológico. Esta espécie vegetal tão pouco conhecida cientificamente apresenta-se como um foco promissor para o estudo, justificando a realização de pesquisas ao seu respeito.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

O trabalho teve como objetivo analisar a morfoanatomia, realizar a identificação química, e determinar as atividades biológicas dos extratos das partes aéreas – folhas e caule – de *Mikania micrantha* Kunth (ASTERACEAE).

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Coletar o material botânico;
- Preparar a exsicata para identificação botânica;
- Preparar extrato hidroalcoólico bruto;
- Realizar extração líquido/líquido;
- Realizar os ensaios fitoquímicos das frações;
- Preparar o extrato aquoso bruto e detectar alguns metabólitos hidrossolúveis;
- Efetuar o doseamento de taninos totais;
- Avaliar ação antioxidante dos extratos e frações;
- Analisar os compostos fenólicos de baixo peso molecular por métodos cromatográficos (Cromatografia em Camada Delgada e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência);
- Correlacionar resultados de composição química com suas respectivas atividades;
- Contribuir para o conhecimento do gênero *Mikania micrantha* Kunth.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 FLORESTA OMBRÓFILA MISTA

A Floresta Ombrófila Mista (FOM) ocupava, no Paraná, uma extensão de 73.780 km<sup>2</sup>, recobrando cerca de 37% da superfície desse Estado (MAACK, 1981) e abrigando uma grande diversidade de espécies. Porém, desde o século XVIII, vem sofrendo intensa devastação, que se acentuou no começo do século passado até a década de sessenta. Atualmente, somando-se os três Estados do Sul, restam cerca de 10% de florestas manejadas e cerca de 2% de florestas originais dessa fitofisionomia (KOCH, 2002).

A Floresta Ombrófila Mista (FOM) caracteriza-se por mesclar elementos de duas floras de origens distintas, a tropical Afro-brasileira e a temperada Austro-brasileira. Suas comunidades florestais mostram variações correlacionadas às diversificações ambientais, apresentando desde formações densas, com árvores entre 25 a 35 m de altura, até formações raquíticas de densidade variada constituídas de arvoretas e arbustos, associadas a grupos de samambaias terrestres e taquarais. (MAACK, 1981; LEITE; KLEIN, 1990). Segundo dados de Britez e colaboradores (2000) e Castella e Britez (2004), no Estado do Paraná resta menos de 1% da composição original da FOM.

Seu “clímax climático” encontra-se no Planalto Meridional Brasileiro, no Rio Grande do Sul, em Santa Catarina e no Paraná, em terrenos acima de 500m de altitude, com disjunções em pontos mais elevados das serras do Mar e da Mantiqueira (VELOSO *et al.*, 1991).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE<sup>1</sup> (1997, citado por CARVALHO, 2010) a área de ocorrência coincide com o clima quente e úmido, sem período biologicamente seco, com temperaturas anuais em torno de 18°C, mas com 3 a 6 meses em que as temperaturas se mantêm abaixo dos 15°C.

---

<sup>1</sup> IBGE. **Recursos naturais e meio ambiente: uma visão do Brasil**. Rio de Janeiro, v. 2, p. 208, 1997.

A FOM é caracterizada pela presença de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, que por sua abundância, porte e copas corimbiformes imprime o aspecto fitofisionômico próprio desta formação. As floras tropicais com as quais apresenta relações florísticas são a Floresta Ombrófila Densa e a Floresta Estacional da Bacia Paraná-Uruguai (RAMBO, 1953; KLEIN, 1960; TEIXEIRA *et al.*, 1986).

A Floresta Ombrófila Mista ocorre intercaladamente com áreas savânicas e estépicas, originando um sistema em mosaico que caracteriza grande parte da paisagem da Região Sul do País (AUBREVILLE, 1949; KLEIN, 1960; 1984; HUECK, 1972; BACKES, 2001).

No Paraná a Floresta com Araucária ocorre de forma típica em altitudes superiores aos 800m. Sua região de cobertura vai do 1º Planalto, a oeste da serra do Mar, e estende-se pelos 2º e 3º Planaltos do Estado. No estado se destacam duas formações distintas, de acordo com critérios altitudinais e fisionômicos, são elas: Floresta Ombrófila Mista Aluvial e Floresta Ombrófila Mista Montana (FIGURA 02) (BLUM, 2008).

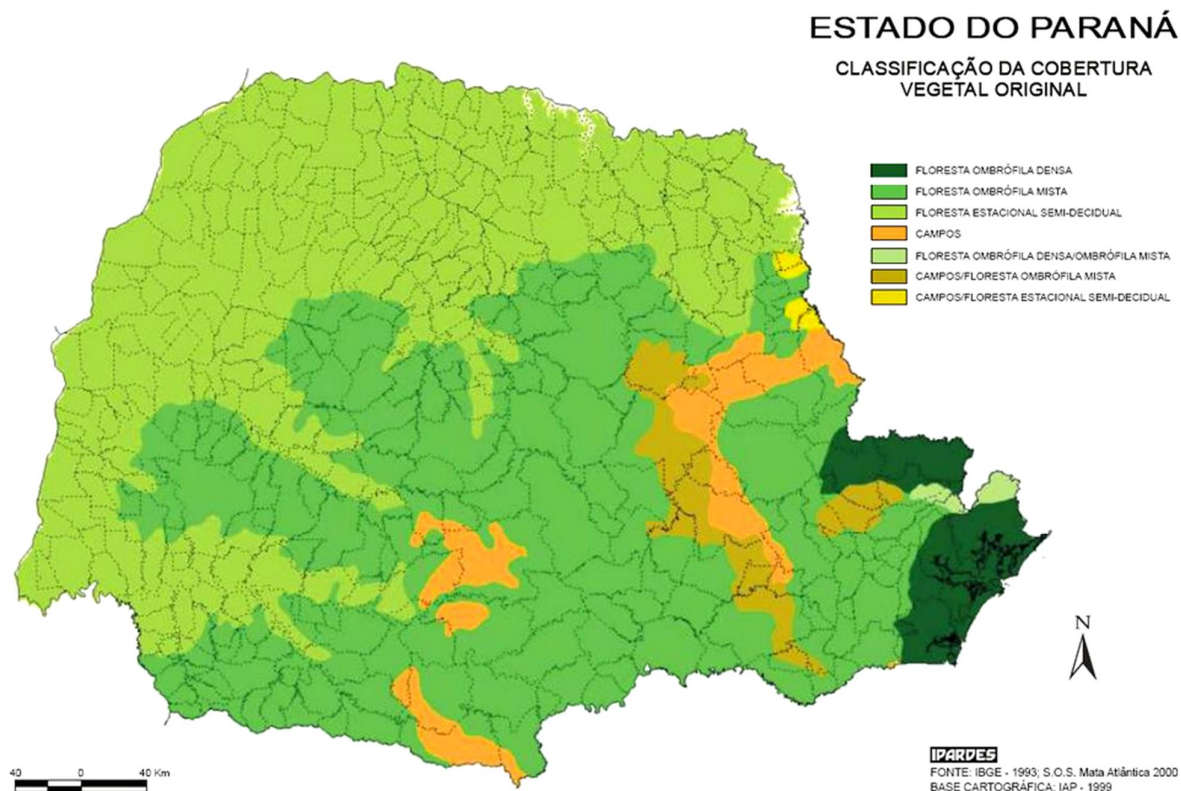


FIGURA 02 - DISTRIBUIÇÃO DAS FORMAÇÕES VEGETAIS PRESENTES NO PARANÁ  
FONTE: MAACK, 1981

### 3.2 PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA

O Parque Estadual de Vila Velha (PEVV) encontra-se localizado no segundo planalto paranaense, na região denominada Campos Gerais, município de Ponta Grossa, às margens da rodovia BR-376 (FIGURA 03).

Com uma área de 3.122,11 ha está localizado entre as coordenadas 25°12'34" e 25°15'35" de latitude S, 49° 58'04" e 50° 03'37" e com uma altitude máxima de 1.068m na área denominada Fortaleza (PARANÁ, 2004).

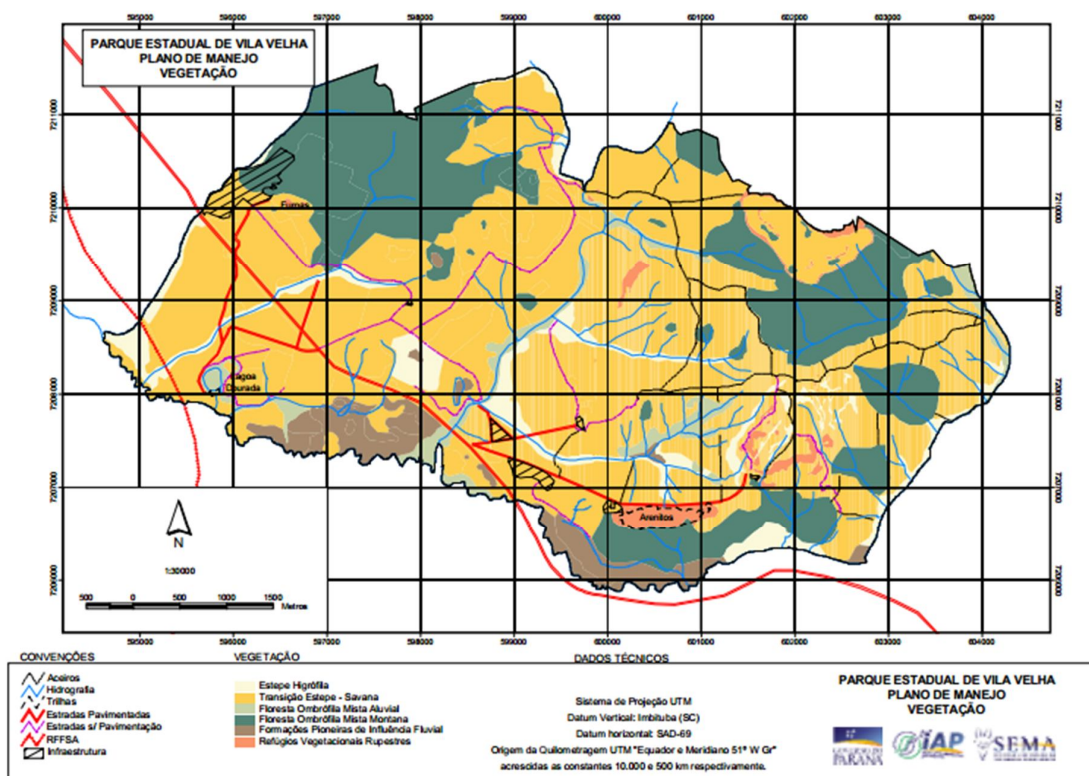


FIGURA 03 - PLANO DE MANEJO DA VEGETAÇÃO DO PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA  
FONTE: PARANÁ, 2004

De acordo com o Plano de Manejo do Parque Estadual de Vila Velha (2004), ocorre uma fragmentação denominada "sítios". Esses tratam de unidades de paisagem com peculiaridades em nível de microhabitats, capazes de favorecer este ou aquele grupo em termos de riqueza de espécies e presença de formas raras ou ameaçadas.

*Mikania micrantha* Kunth. está inserida na caracterização biótica do Sítio 8, denominada “Arenitos”. Trata-se da área mais intensamente utilizada de todo o Parque, em função da existência de blocos de arenito cujas formas e cores constituem atrativo de grande valor cênico. Compreende a trilha de visitação e a porção onde hoje se encontra a estrutura da piscina (artificial) e os afloramentos rochosos próximos (FIGURA 04), onde está instalado um mirante.



FIGURA 04 - AFLORAMENTOS ROCHOSOS PRÓXIMOS À PISCINA  
 FONTE: PARANÁ, 2004

Trata-se de uma área alta e seca, de boa drenagem, com vegetação herbácea predominante em relevo suave ondulado. Características especialmente importantes para fauna e flora são os nichos formados entre os blocos de rocha, que criam condições microclimáticas únicas e propiciam o desenvolvimento de vegetação especializada e, em diversos casos, endêmica (PARANÁ, 2004).

A cobertura vegetal tem densidade média, pois divide a ocupação com a exposição de rocha arenítica do subgrupo Itararé. Esses afloramentos rochosos encontram-se colonizados por líquens e espécies rupestres. Nas fendas das rochas observa-se formação de plantas de porte arbustivo e arbóreo.

As principais espécies observadas no campo seco e bordas dos afloramentos de arenito são *Mikania micrantha*, *M. sessilifolia*, *Eupatorium laevigatum*, *Oxypetalum sublanatum*, *Baccharis* sp., *Chloris polydactyla*, *Achyrocline satureoides*, *Aristida* sp., *Peltaea edouardii*, *Eupatorium multifidum*, *Oxalis* sp., *Evolvulus sericeus*, *Andropogon* sp., *Tibouchina* sp., *Serjania gracilis*, *Gaylussacia brasiliensis* (camarinha), *Solidago chilensis*, *Relbunium* sp., *Casearia sylvestris* (cafezeiro-bravo), *Drymis brasiliensis* (cataia), *Myrsine umbellata* (capororocão),

*Rhamnus septisepala* (fruto-de-pombo), *Cinamomum sellowianum* (canela-raposa) e *Schinus therebinthifolius* (aroeira) (PARANÁ, 2004).

### 3.3 FAMÍLIA ASTERACEAE

Asteraceae é uma das maiores famílias de plantas e compreende cerca de 1.600 gêneros e 23.000 espécies (ANDENBERG *et al.*, 2007), distribuídas de forma orbícula nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas, chega a representar até 10% da flora vascular mundial (WILSON, 1986). Várias características morfológicas suportam seu monofiletismo, entre elas a presença de um capítulo altamente modificado, ovário bicarpelar ínfero que se desenvolve em uma cipsela com óvulo basal e reto e anteras sinânteras (JANSEN; PALMER *et al.*, 1987).

No Brasil, a família é representada por, aproximadamente, 180 gêneros e 1.900 espécies, distribuídas em diferentes formações vegetacionais (BARROSO *et al.*, 1991; NAKAJIMA; SEMIR, 2001). Diversos estudos sobre padrões biogeográficos de distribuição da flora relatam que a família está entre as dez mais frequentes na cobertura arbustivo-herbácea do Brasil extra-amazônico (GIULIETTI *et al.*, 1987; GIULIETTI; PIRANI, 1997). Segundo Bautista (2000), as Asteraceae encontram sua maior representatividade nos estados de Minas Gerais e Bahia, onde se localizam exatamente as áreas da ocorrência da cobertura vegetal do tipo campo rupestre, campos gerais e outras formas de cerrado.

A família está posicionada na Ordem Asterales, normalmente sozinha ou junto com outras pequenas famílias. Cronquist (1988) considerou Asteraceae como única família da Ordem Asterales, relacionado-a com as Ordens Gentianales, Rubiales, Dipsacales e Calycerales. Atualmente, estudos filogenéticos baseados em dados morfológicos e moleculares, como os de APG II (Grupo de Filogenia das Angiospermas) de 2003 corroboram o posicionamento de Asteraceae em Asterales juntamente com outras dez famílias (FERREIRA *et al.*, 2009).

Cronquist (1988) sugeriu que seu sucesso evolutivo possa ser atribuído em parte ao desenvolvimento de um sistema químico de defesa que inclui a produção combinada de compostos secundários muito derivados, do tipo poliacetilenos e

lactonas sesquiterpênicas. Talvez essa característica peculiar seja a principal responsável pela importância econômica da família na medicina tradicional.

Além dos propósitos medicinais, várias espécies são utilizadas como produtos alimentícios, tais como *Chicorium* (chicória), *Cynara* (alcachofra), *Helianthus* (girassol) (FIGURA 05), *Taraxacum* (dente-de-leão) e *Lactuca* (alface). *Artemisia* contém algumas espécies usadas como especiarias. *Tanacetum* (tanaceto) e *Pulicaria* contém espécies com propriedades inseticidas. *Ambrosia* é o causador da febre-do-feno e muitas espécies são pragas agrícolas importantes. Finalmente, muitos gêneros contêm espécies ornamentais, tal como acontece com *Calendula*, *Dendranthema*, *Argyranthemum*, *Leucanthemum* (crisântemo), *Dahlia* (dália), *Tagetes*, *Senecio* (senecio), *Sphagneticola*, *Gaillardia*, *Helianthus*, *Zinnia*, *Carphephorus paniculatus* e muitos outros (JUDD *et al.*, 2009).

### 3.3.1 Características

Ervas anuais, bianuais ou perenes, arbustos, subarbustos, menos frequentemente árvores ou lianas, geralmente terrestres, raro epífitas ou aquáticas. Plantas glabras, glabrescentes ou com indumento de tricomas tectores e/ou glandulares. Caule geralmente cilíndrico, raramente alado. Folhas em roseta, alternas, opostas, alterno-opostas, ou menos comumente verticiladas, simples, frequentemente lobadas ou pinatissectas, raro compostas, estípulas ausentes. Inflorescência em capítulo; capítulos solitários no ápice do pedúnculo floral ou formando sinflorescência cimosas, corimbiforme, panícula-tirsóide, racemo, ou ainda agrupados em sinflorescência de segunda ou terceira ordem, livres ou fundidos entre si (sincefalia de capítulos). Capítulo formado de flores sésses, 1-500 ou mais por capítulo, maturação indeterminada, circundado por um involucreto de brácteas, cilíndrico, hemisférico ou globoso. Brácteas involucrais 1-2 muitas séries, persistentes, raro decíduas, imbricadas a eximbricadas. Eixo da inflorescência plano, convexo ou cônico, paleáceo, ciliado, escamiforme, piloso ou glabro, e então, liso, areolado com aréolas poligonais ou alveolado, com depressões nas quais as flores são inseridas. Capítulos homógamos (flores com arranjos sexuais iguais), do tipo discóide (contém um único tipo de flor); e capítulos heterógamos (flores com arranjos sexuais distintos), do tipo radiado (flores do raio e do disco) e disciforme (dois tipos

distintos de flores actinomorfas) (ROQUE; BAUTISTA, 2008; SOUZA-BUTURI, 2008).

Flores bissexuais, unissexuais (plantas monóicas, raro dióicas), estéreis (androceu e gineceu estéreis) ou neutras (sem androceu e gineceu); cálice ausente ou modificado em pápus. Flores gamopétalas, zigomorfas e normalmente radiais (situadas no capítulo em 1-2 séries), compostas de tubo basal e porção superior bilateral (limbo): corola radiada (limbo 3-4-lobado, geralmente pistilada, neutra ou estéril), corola ligulada (limbo 5-lobado, bissexual), corola bilabiada (limbo 2+3-lobado, bissexual) e corola pseudobilabiada (limbo 1+4-lobado, bissexual); ou flores gamopétalas, actinomorfas, não radiadas (normalmente situadas no centro ou disco do capítulo), 1-muitas séries, corola tubular ou filiforme, 3-5-lobado, bissexuais ou unissexuais (pistiladas ou estaminadas). Androceu com cinco estames, alternos às pétalas, epipétalos, filetes livres, geralmente com células com paredes espessadas formando o colar da antera; anteras sinânteras circundando o estilete, rimosas, introrsas, oblongas, ápice com apêndice do conectivo proeminente, agudo, apiculado, obtuso, bidentado ou retuso, base truncada, cordiforme, sagitada ou com apêndices caudiformes estéreis (anteras caudadas) e/ou tecido esporogênico alongado abaixo da inserção do filete (anteras calcaradas). Gineceu sincárpico, bicarpelar, ovário ínfero, unilocular, 1 óvulo ereto, placentação basal, estilete filiforme, 2-ramificado (raro 3), com superfície de papilas estigmáticas interna contínua ou em 2 linhas paralelas, marginais, porção apical fértil ou apêndices distais com papilas não estigmáticas (estéreis), comumente agudo, obtuso, truncado, papiloso, piloso, penicelado, base do estilete geralmente imersa em um disco nectarífero (estilopódio) localizado no ápice do ovário. Fruto cipsela, cilíndrico, obcônico, fusiforme, menos comumente achatado, ápice rostrado ou não, frequentemente marrom ou negro, glabro, tomentoso, seríceo, pubescente, base truncada ou estipitada; área de abscisão circundada por um carpopódio, distinguido pela forma de suas células e textura da sua superfície, indistinto a proeminente, simétrico, bilateral, decorrente nas costelas, ou ausente. Pápus ausente ou 1 (2)-muitas séries de cerdas (cerdoso, barbelado, plumoso), escamas, páleas, aristas, simples (unisseriesado) ou duplo (duas séries), isomorfo (todas as séries iguais) ou heteromorfo (pápus das flores mais externas diferente do das flores mais internas), persistente ou pelo menos as séries mais internas decíduas. Sementes sem endosperma, embrião reto (ROQUE; BAUTISTA, 2008; SOUZA-BUTURI, 2008).

### 3.4. GÊNERO *Mikania*

O gênero *Mikania* Willd. apresenta cerca de 450 espécies (HOLMES, 1995). É um gênero com distribuição pantropical, com extensões nas áreas temperadas da América e sudeste da África. Apresenta-se como um dos gêneros mais estáveis da tribo Eupatorieae, embora as espécies sejam de difícil delimitação. Esta dificuldade deve-se em parte à variabilidade morfológica que estas plantas apresentam. A ocorrência de “complexos” é citada por Robinson (1934).

Há dois grandes centros de diversidade do gênero na América do Sul. O primeiro, com aproximadamente 170 espécies (cerca de 150 endêmicas), localiza-se desde Minas Gerais e Rio de Janeiro até o Paraná e Santa Catarina, com muitas espécies estendendo-se até o Paraguai, Uruguai e Argentina (GASPARETTO *et al.*, 2010). O segundo, com aproximadamente 150 espécies (cerca de 130 endêmicas), localiza-se nos países andinos, da Colômbia até a Bolívia (HOLMES, 1990). Fora destes centros de diversidade, o número de espécies é reduzido.

*Mikania* é um dos poucos gêneros de Asteraceae que alcançaram sucesso nas terras baixas da região Amazônica, área considerada inadequada para a maioria dos membros da família. De acordo com Holmes (1995), o hábito trepador foi importante para a grande representatividade do gênero nesta região, ocupando principalmente áreas úmidas de bordas de rios e lagos.

As espécies eretas estão adaptadas ao ambiente mais seco de savanas, cerrados e campos. O hábito predominante é o volúvel, mas ocorrem plantas apoiantes, decumbentes e eretas. No Rio Grande do Sul, as espécies eretas e decumbentes de *Mikania* são campestres, enquanto que as volúveis e apoiantes habitam preferencialmente bordas e interior de matas (RITTER; MIOTTO, 2005).

Apesar de apresentar um grande número de espécies, o gênero *Mikania* foi pouco estudado no Brasil. Tem-se conhecimento do trabalho de Angely (1956) para o Paraná; de Barroso (1958) e de listagens de espécies em algumas floras regionais, como Cabrera e Vittet (1963) e Cabrera e Klein (1989) para Santa Catarina; e para o Rio Grande do Sul conhecia-se apenas listagens de espécies para certas regiões do Estado, além do levantamento de espécies de duas seções de *Mikania* (RITTER *et al.*, 1992).

Diversas espécies de *Mikania* foram estudadas quimicamente (CUENCA *et al.*, 1991; AGUINALDO *et al.*, 2003; WEI *et al.*, 2004) e, destes estudos foram caracterizados mais de 300 compostos diferentes. As estruturas mais frequentes deste gênero são os esteróis, os terpenoides e os flavonoides (RUFATO *et al.*, 2012; RIOS V *et al.*, 2014).

Além disso, tem-se observado que os diterpenoides são os principais constituintes de espécies que pertencem à seção *Summikania*, como *M. congesta*, *M. lindbergii*, *M. leavigata*, *M. hirsutissima* entre outras (HERZ; KULANTHAIVEL, 1985; FABBRI *et al.*, 1997; HERZ, 1998). Por sua vez na seção *Mikania* (complexo *M. scandens*), as lactonas sesquiterpênicas são componentes comumente encontrados (HERZ, 1998). Por exemplo, mikanolideo foi isolado a partir de *M. micrantha* sendo descrito por diversos autores (HERZ, 1970; CUENCA *et al.*, 1988; BAKIR *et al.*, 2004). Já as moléculas de deoxymikanolideo, scandenolideo e dihydroscandenolideo foram isolados a partir de *M. scandens* (HERZ *et al.*, 1970; CUENCA *et al.*, 1988). As moléculas de eudesmanolideos foram isolados a partir de *M. campanulata* (KRAUTMANN *et al.*, 2007) e de melampolideos de *M. minima* e *M. cordifolia* (GUTIÉRREZ *et al.*, 1987; HERZ, 1998; BARRERO *et al.*, 2000; RIOS V *et al.*, 2014).

#### 3.4.1 Características

Trepadeiras, escandentes, volúveis ou prostradas, lenhosas ou herbáceas, raros subarbustos eretos; ramos cilíndricos ou angulosos; maciços ou fistulosos. Folhas pecioladas ou sésseis, opostas, raramente verticiladas, inteiras, lobadas ou pinatissectas; estipulas ausentes ou presentes. Capitulescência em panículas de espigas, panículas de glomérulos ou em cimas corimbiformes. Capítulos homógamos, cliscoides, pedunculados ou sésseis; brácteas subinvolucrais persistentes, geralmente menores do que o involúcro; involúcro cilíndrico, 2-seriado; brácteas involucrais 4, dísticas, livres, as internas normalmente maiores do que as externas; receptáculo plano, epaleáceo, alveolado. Flores 4, monoclinas; corola alva, creme, esverdeada ou arroxeadas, tubulosa, tubo estreito, limbo tubuloso, infundibuliforme ou campanulado, 5-denteado ou 5-laciniado; anteras com apêndice ovado a oblongo, base normalmente obtusa; ramos do estilete longos, lineares, papilosos, geralmente com ápice agudo. Cipselas prismáticas, 5(-10)-costadas,

glabras ou pilosas; pápus 1-seriado, cerdoso, cerdas alvas (FIGURA 05), amarelas ou arroxeadas, barbeladas ou escabras, persistentes (FERREIRA, 2009).

### 3.5 *Mikania micrantha* Kunth.

*Mikania micrantha* Kunth (Asteraceae) é uma planta rasteira, perene e nativa da América do Sul. Pode ser relacionada morfológicamente à *M. scandens* - espécie do leste dos Estados Unidos, devido à grande capacidade dessas duas espécies se adaptarem as condições ambientais, Robinson (1934) colocou-as em um grupo denominado de “complexo scandens” (FIGURA 06). Esse polimorfismo também foi observado por Ritter e Miotto (2005) nos espécimes de *M. micrantha* para o Rio Grande do Sul (FIGURA 07).

Também assemelha-se a *M. cordifolia*, contudo essa é mais robusta, apresenta ramos hexagonais, brácteas subinvolucrais, capítulos e flores maiores, além das brácteas subinvolucrais vilosas. Outra espécie também muito semelhante é *M. trachipleura* B.L. Rob., porém, nesta espécie, apesar dos ramos serem hexagonais, as folhas são triangulares a deltoides, as brácteas involucrais são pilosas e as flores relativamente menores, com até 3,0 mm comprimento (SOUZA-BUTURI, 2008).

Quando em sua área de distribuição natural, a espécie geralmente tem o hábito ciliar, crescendo ao longo das margens dos rios e das vegetações ao redor (COCK, 1982; BARRETO; EVANS, 1995). Por outro lado, fora de seu habitat natural, como por exemplo, nas culturas da África ocidental e sudeste da Ásia, *Mikania micrantha* tornou-se uma praga para as lavouras, além de causar diversos danos nas vegetações locais (PARKER, 1972; HOLMES 1990; ZHANG *et al.*, 2004).

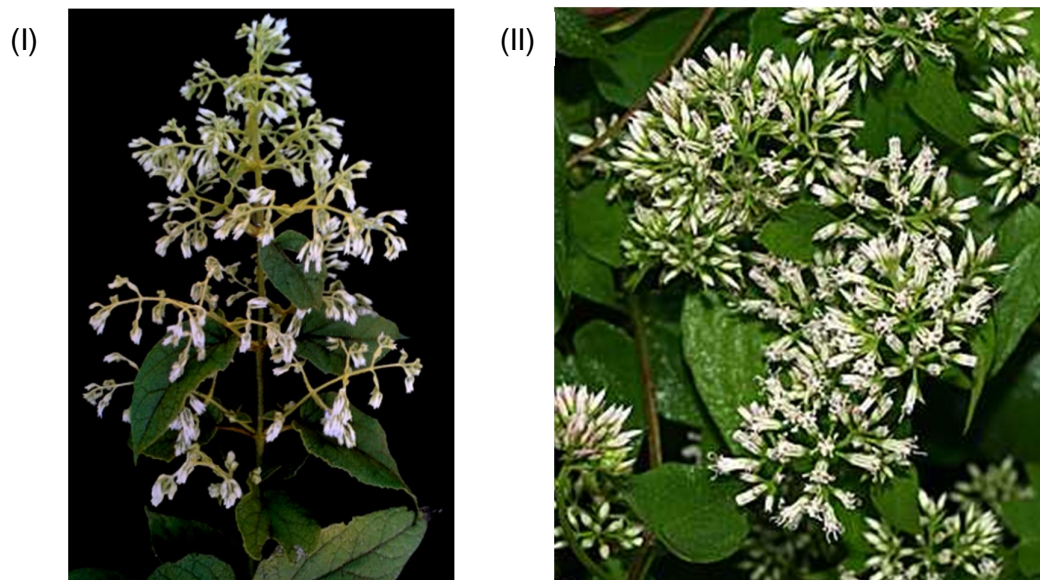


FIGURA 05 - *Mikania hirsutissima* DC. (I) *Mikania scandens* (II)  
 FONTE: SOUZA; LORENZI, 2005 (I); PIPPEN, 2006 (II)



FIGURA 06 – FLORES DE *Mikania scandens*  
 FONTE: PIPPEN, 2006



FIGURA 07 – RAMOS VEGETATIVOS DE *Mikania micrantha*  
 FONTE: ENGLBERGER, 2008

O primeiro registro de *M. micrantha* na Ásia remonta a 1884, a partir de Hong Kong, no Zoológico e Jardim Botânico (LI *et al.*, 2006). No entanto, as evidências sugerem que a planta foi introduzida em várias ocasiões, tanto para paisagismo de jardins, bem como uma plantação de cobertura vegetal (WIRJAHAR, 1976; HOLMES, 1982).

De acordo com o levantamento do Grupo de Especialistas em Espécies Invasoras da IUCN (International Union for Conservation of Nature), a espécie é listada como uma das 100 piores espécies exóticas invasoras do mundo (LOWE *et al.*, 2001). Estima-se que US\$ 9,8 milhões são gastos anualmente para controlar *M. micrantha* em lavouras na Malásia (TEOH *et al.*, 1985).

Por este hábito invasivo, *M. micrantha* é comumente conhecida como erva daninha milha-a-minuto ou alpinista sul-americano, com uma taxa de crescimento de oito a nove centímetros em 24 h (CHOUDHURY, 1972) e sua capacidade de sufocar as árvores maduras, mesmo com a sua videira, retorcendo-se na forma do crescimento (HOLM *et al.*, 1977; BARRETO; EVANS, 1995).

No México, várias espécies deste gênero foram relatadas a partir do Norte do México para Chiapas e na península de Yucatan (VILLASEÑOR; ESPINOSA, 1998). É utilizada na medicina tradicional local como um cataplasma para picadas de cobra, de escorpião e doenças de pele em várias partes do México (AGUILAR, 1994). Da mesma forma, em algumas ilhas do Pacífico, as folhas são utilizadas para estancar o fluxo de sangue de feridas frescas (WATERHOUSE, 2003).

No Brasil, *M. micrantha* ocorre em diversos estados, mais comumente em bordas de matas (RITTER; MIOTTO, 2005). King & Robinson (1987) atribuíram essa ampla distribuição geográfica à introdução humana. Sendo muito comum na Ilha do Cardoso, pode ser encontrada ao longo das trilhas e em locais antropizados, geralmente em solos arenosos (SOUZA-BURITI, 2008).

Estudos anteriores sobre algumas espécies de *Mikania* e seus constituintes químicos apresentaram resultados fitotóxicos e propriedades alelopáticas, sendo que a alelopátia tem sido considerada como uma importante estratégia invasiva de plantas exóticas (HUANG *et al.*, 2005; ZANG *et al.*, 2004; SHAO *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2009).

As estruturas de quatro dilactonas sesquiterpênicas e um glicosídeo flavonoide das partes aéreas de *M. micrantha* e, seus efeitos alelopáticos sobre várias plantas foram relatadas, mostrando que o rápido crescimento

da *M. micrantha* e a liberação de seus aleloquímicos ao ambiente estão intimamente relacionados (SHAO *et al.*, 2005; HUANG *et al.*, 2008).

No recente trabalho de Rios V e colaboradores (2014) foram isoladas e identificadas treze lactonas sesquiterpênicas, a partir de espécimes de *M. micrantha* e *M. cordifolia* coletadas no México, sendo que duas moléculas são inéditas: 8-epi-mikanokryptin (1) e 11H $\beta$ -11,13-dihydromicrantholide (2).

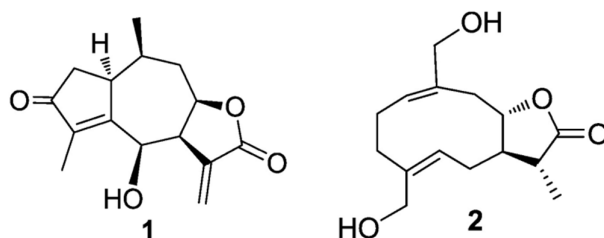


FIGURA 08 – ESTRUTURAS REPRESENTATIVAS DAS MÓLECULAS DE 8-EPI-MIKANOKRYPTIN (1) E 11H $\beta$ -11,13-DIHYDROMICRANTHOLIDE (2) DE *Mikania micrantha* Kunth  
 FONTE: RIOS V, 2014

Ainda, este estudo apresenta a ocorrência de três dilactonas sesquiterpênicas, três guaianolídeos e quatro melampolídeos, em proporções heterogêneas de diferentes populações de *M. micrantha*. Esta variabilidade pode estar correlacionada com a sua capacidade de adaptação e de ampla distribuição em diferentes partes do mundo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL BOTÂNICO

#### 4.1.1 Coleta e Identificação

O material vegetal da espécie *Mikania micrantha* Kunth., coletado de plantas adultas, está localizado no Parque Estadual de Vila Velha, em Ponta Grossa, Paraná, Brasil (latitude 24° 18' S e longitude 49° 37' W e altitude de 850 m), no período de setembro/outubro de 2013.

Para a identificação do material vegetal, este foi submetido à confecção de exsicata, identificado por taxonomista e o representante está depositado no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) sob registro HUPG 10438.

Após a confecção da exsicata o restante do material foi utilizado a realização de extrato bruto de folhas e caules, com posterior fracionamento.

#### 4.1.2 Secagem

As folhas da espécie em estudo foram separadas dos galhos manualmente, sendo então armazenadas à sombra e temperatura ambiente, durante um período de 15 dias para total secagem das mesmas. Após este período, as folhas e caules foram estabilizados em estufa com circulação de ar forçada à temperatura máxima de 40 °C, por 48 horas. E os caules foram retirados por meio de material cortante.

### 4.2 MORFOANATOMIA

A análise morfoanatômica foi desenvolvida no Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), e no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura, no Centro

de Microscopia Eletrônica (CME), no Campus Politécnico, da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

#### 4.2.1 Preparo do material

Foram coletadas amostras de folhas de *Mikania micrantha* Kunth, para a obtenção das medidas referentes ao comprimento e largura do limbo foliar. Com o auxílio de uma lâmina cortante, à mão livre, foram realizadas diferentes secções nas folhas – da porção mediana, da extremidade do limbo e da nervura mediana. O material em questão foi fixado em FAA 70 durante sete dias (JOHANSEN, 1940), e posteriormente armazenado em álcool etílico a 70% (BERLYN; MIKSCH, 1976). A descrição da morfologia externa da folha foi baseada em Hickey (1974).

#### 4.2.2 Preparo de lâminas semipermanentes

Para o preparo das lâminas semipermanentes foram realizados cortes à mão livre, das secções transversais da porção mediana do limbo foliar, bem como das secções paradérmicas das faces adaxial e abaxial das folhas da espécie em estudo. Para a coloração das secções foram empregados azul de astra e fucsina básica (BRITO; ALQUINI, 1996); a montagem das lâminas foi realizada com glicerina a 50% e a lutagem com esmalte incolor.

#### 4.2.3 Preparo de lâminas permanentes

As lâminas permanentes foram confeccionadas a partir do material fixado em FAA 70. A desidratação foi realizada em série etanólica crescente (80% e 95%) com intervalo de duas horas em cada concentração. Na pré-infiltração usou-se álcool etílico a 95% e resina, a vácuo. O material foi infiltrado, por quatro dias, em glicolmetacrilato (Leica Historesin®). Após emblocamento, cortes finos foram obtidos em micrótomo de rotação (Olympus CUT 4055). A coloração foi efetuada com azul de toluidina e a montagem das lâminas em resina (Permount®) (KRAUS; ARDUIN, 1997).

#### 4.2.4 Testes microquímicos

Os reativos utilizados para os testes microquímicos, depois de realizadas as secções transversais do material à mão livre, foram: cloreto férrico, para a comprovação de compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940); floroglucina clorídrica, para evidenciar a presença de lignina (FOSTER, 1949); Sudan III, para investigar substâncias graxas, gotículas de óleo, cutina e suberina (SASS, 1951); lugol, indicado para comprovação de amido (BERLYN, MIKSCHE, 1976); e ácido sulfúrico, para cristais (OLIVEIRA, AKISUE, 1987).

#### 4.2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise ultraestrutural de superfície em microscópio eletrônico de varredura (MEV) foi realizada segundo Souza (2007). As amostras fixadas passaram por desidratação etanólica crescente (80%, 90% e 100%), mantidas por 10 min em cada concentração. As amostras desidratadas foram inseridas em um suporte e colocadas em aparelho de ponto crítico (Bal-Tec CPD-030). Em seguida, foram aderidas com uma fita de cobre em suporte apropriado, metalizadas com ouro em aparelho (Bal-Tec SCD-030), observadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-6360LV).

Para preservar a organização da cera epicuticular, seguiu-se a metodologia estabelecida por Brito e Alquini (1996) com algumas modificações. Nesta análise, algumas amostras de folhas foram separadas, as quais foram apenas secas em dessecador para em seguida serem levadas diretamente ao ponto crítico e metalizadas em ouro. Posteriormente o material foi encaminhado para análise em microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-6360LV), observado e fotografado.

#### 4.3. TEOR DE UMIDADE

Esse ensaio se destina a determinar a quantidade de substância volátil de qualquer natureza, pela perda por dessecação, método gravimétrico descrito Farmacopeia Brasileira (2010).

O procedimento consiste em pesar, exatamente, cerca de 1 a 2 g e transferir para pesa-filtro chato previamente dessecado durante 30 minutos nas mesmas condições a serem empregadas na determinação. Após resfriamento em dessecador, pesar o pesa-filtro, tampado, contendo a amostra. Agitar o pesa-filtro brandamente para distribuir a amostra da maneira mais uniforme possível, a uma altura ideal de 5 mm. Colocar o pesa-filtro na estufa, retirar a tampa, deixando-a também na estufa. Secar a amostra (105°C) e por um determinado tempo de 1 hora. Esfriar até temperatura ambiente em dessecador. Pesar. Repetir a operação até peso constante.

A porcentagem de perda por dessecação é dada pela equação:

$$\frac{Pu - Ps}{Pa} \times 100$$

em que:

Pa = peso da amostra

Pu = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação

Ps = peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação

## 4.4 EXTRATOS E FRAÇÕES

### 4.4.1 Preparo do Extrato Hidroalcoólico a 20% (p/v)

O extrato hidroalcoólico das folhas de *Mikania micrantha* foi preparado seguindo metodologia proposta por Moreira (1979) e Nakashima (1993). A técnica utilizada foi a maceração à temperatura moderada, para isso pesou-se 40 g do material botânico, devidamente triturados a pó grosso (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), que, posteriormente, foram imersos em 200 mL de etanol a 70% (v/v) e levados ao banho-maria a 60 °C por um período de duas horas.

Após este tempo, o extrato foi filtrado em funil de vidro, com papel filtro, e teve seu volume completado para 200 mL, sendo acondicionado em frasco rotulado, devidamente fechado, sob refrigeração, até sua utilização.

O extrato hidroalcoólico do caule de *Mikania micrantha* foi obtido seguindo os mesmos procedimentos descritos para o extrato hidroalcoólico das folhas. Este extrato também foi acondicionado em frasco rotulado, devidamente fechado, e armazenado sob refrigeração até a sua utilização.

#### 4.4.1.1 Fracionamento do Extrato Hidroalcoólico

Após a obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas, este foi colocado em balão de vidro apropriado para a concentração no rotaevaporador, com temperatura mantida em 60°C, até redução a 1/5 do volume total, ou seja, cerca de 40 mL. Este volume foi utilizado para iniciar o fracionamento do extrato hidroalcoólico das folhas através da técnica de extração líquido/líquido em funil de separação, seguindo metodologia proposta por Nakashima (1993), com a utilização de solventes de polaridade crescente: *n*-hexano (F1), clorofórmio (F2), acetato de etila (F3) e butanol (F4). Cada extração foi realizada com pequenos volumes do solvente extrator (10 x 20 mL), possibilitando assim um maior esgotamento do extrato, totalizando um volume final de 200 mL para cada fração.

Ao final de cada etapa do fracionamento, o volume do extrato restante foi levado ao banho-maria, na temperatura 60°C, para que houvesse completa evaporação do solvente extrator, e assim conduzir a próxima extração livre do solvente utilizado anteriormente, evitando formação de emulsão ou um fracionamento inadequado.

Após a completa evaporação do solvente extrator butanol, o extrato restante foi reconstituído com a adição de etanol 70% (v/v) até completar o volume de 200 mL, correspondendo à fração remanescente hidroalcoólica.

Cada fração foi então acondicionada em frascos rotulados e mantida sob refrigeração até sua utilização para os testes biológicos.

A extração líquido/líquido com solventes de polaridade crescente também foi realizada com o extrato hidroalcoólico do caule de *Mikania micrantha*, tornando possível a obtenção das seguintes frações orgânicas deste órgão vegetal: fração hexano, fração clorofórmio, fração acetato de etila, fração butanol e fração hidroalcoólica. Todas as frações obtidas também foram armazenadas em frascos rotulados e mantidas sob refrigeração até a utilização das mesmas nos testes biológicos.

#### 4.4.2 Preparo do extrato aquoso a 20% (p/v)

Foi necessário 20 g de cada material vegetal fragmentado ficar imerso em 200 mL de água destilada. O preparo do extrato aquoso foi realizado através da maceração, a uma temperatura de 60°C em banho-maria durante duas horas. Após, efetuou-se a filtração e o extrato final foi completado na proporção de 20%. Em seguida foram determinadas as características organolépticas: cor, odor, sabor e pH, e também a análise do teor de sólidos.

#### 4.5 ENSAIOS FITOQUÍMICOS

A análise fitoquímica preliminar foi realizada a partir do preparo de extratos aquoso e frações de folhas e do caule de *Mikania micrantha*, segundo metodologia de Moreira (1979) modificada por Nakashima (1993).

Nas frações foram pesquisadas as seguintes classes de metabólitos especiais: alcaloides, glicosídeos flavônicos, leucoantocianidinas, glicosídeos antraquinônicos, cumarinas, esteroides e/ou triterpenos e iridoides.

No extrato aquoso foi realizada a pesquisa de glicosídeos antocianínicos, glicosídeos saponínicos, glicosídeos cianogenéticos, ácidos voláteis, ácidos fixos, taninos (hidrolisáveis e condensados), iridoides e aminogrupos.

Os resultados foram interpretados de acordo com a intensidade de cor e/ou aparecimento de precipitado, durante a realização das reações, como resposta aos seguintes ensaios qualitativos:

- Pesquisa de Alcaloides: reações gerais utilizando os reativos Bertrand, Bouchardat, Dragendorff e Mayer;
- Pesquisa de Flavonoides: reação de Shinoda, ensaio com Zn em HCl, reação de Taubock (Oxalo-Bórica), reação de Pacheco e pesquisa de Leucoantocianidinas;
- Pesquisa de Cumarinas: método do ultravioleta (360 nm) para detecção de fluorescência;
- Pesquisa de Antraquinonas: reação de Bornträeger;

- Pesquisa de Esteroides e/ou Triterpenos: reação de Liebermann-Burchard, Keller Kelliani, Baljet e Legal;
- Pesquisa de Iridoides: reação com cristais de fluoroglucinol/HCl, reação com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e reação com vanilina/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;
- Pesquisa de Taninos: reação com os reagentes gerais - cloreto férrico 1%, sulfato de ferro amoniacal 5%, cloridrato de papaverina, dicromato de potássio, cianeto de potássio e gelatina 2,5%;
- Pesquisa de Taninos Hidrolisáveis: reação com excesso de cristais de anidrido acético sódico e gotas de cloreto férrico 1%;
- Pesquisa de Taninos Condensados: reação do papel filtro com cloreto férrico 1% e hidróxido de potássio 1%;
- Pesquisa de Antocianinas: reação com variação de pH e mudança de coloração;
- Pesquisa de Saponinas: teste do índice de espuma (afrosimétrico);
- Pesquisa de Aminogrupos: reação com ninhidrina;
- Pesquisa de Ácidos Fixos: reação com reativo de Nessler;
- Pesquisa de Ácidos voláteis: reação com papel de pH;
- Pesquisa de Glicosídeos Cianogênicos: reação com papel picro-sódico;

Além da pesquisa desses metabólitos, também são determinadas as características organolépticas (cor, odor e sabor), pH e o teor de sólidos (%resíduo seco) dos extratos, de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).

#### 4.6 DOSEAMENTO DE TANINOS

O doseamento de taninos totais das partes aéreas de *Mikania micrantha* (folhas e caule) foi executado conforme a metodologia clássica descrita na Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (2010) da espécie medicinal de Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). As análises foram feitas em quintuplicata, as leituras de absorvâncias realizadas no espectrofotômetro UV-Visible Shimadzu-1800, em 760 nm. Todas as operações de extração e diluição foram realizadas ao abrigo da

luz. Sendo assim, foram manipuladas as seguintes soluções reagentes para a realização do cálculo de doseamento:

1. Solução Estoque: pesar 0,750 g da droga pulverizada (250  $\mu\text{m}$ ) e transferir para um erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água destilada. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura de 60°C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o erlenmeyer e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

2. Solução Amostra para Polifenóis Totais: diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água destilada. Transferir volumetricamente 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A1) após 30 minutos, utilizando água destilada para ajuste do zero.

3. Solução Amostra para Polifenóis Não Adsorvidos por Pó de Pele: pegar 10 mL do filtrado e adicionar 0,1 g de pó de pele SQR e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL desse filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água destilada. Transferir volumetricamente 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A2) após 30 minutos, utilizando água destilada para ajuste do zero.

4. Solução Padrão: dissolver imediatamente antes do uso 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL com água destilada. Transferir volumetricamente 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A3) após 30 minutos, utilizando água destilada para ajuste do zero. Calcular o teor, em porcentagem, de taninos (droga seca), expressos em pirogalol, segundo a equação:

$$TT = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1}$$

Em que:

$A_1$  = absorvância da Solução Amostra para Polifenóis Totais

$A_2$  = absorvância da Solução Amostra para Polifenóis Não Adsorvidos em Pó de Pele

$A_3$  = absorvância da Solução Padrão

$m_1$  = massa da amostra utilizada no ensaio, em gramas, considerando a determinação de água

$m_2$  = massa de pirogalol, em gramas

## 4.7 CAPACIDADES ANTIOXIDANTES

A capacidade antioxidante das frações (F3, F4 e F5) do extrato hidroalcoólico das folhas, assim como as frações (C3, C4 e C5) do extrato hidroalcoólico de caule foi determinada por duas metodologias: o método do fosfomolibdênio e o método do 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).

### 4.7.1 Método do Fosfomolibdênio

Esta metodologia, descrita por Prieto, Pineda e Aguilar (1999), se baseia na redução do molibdênio VI a V pela amostra em análise, ocasionando a formação de um complexo verde entre fosfato e molibdênio (V), em pH ácido, que é então determinado espectrofotometricamente a 695 nm. Por meio desta técnica, é possível determinar a capacidade antioxidante total da amostra em estudo.

A solução reagente é preparada pela adição de 36 mL do reagente molibdato de amônio a 4 mmol/L, 28mL do reagente diidrogenofosfato de sódio 28 mmol/L, 20 mL do reagente ácido sulfúrico na concentração de 0,6 mol/L, sendo completado o volume para 100 mL com água destilada.

Neste ensaio, utilizamos as frações acetato de etila (C3/F3), butanólica (C4/F4) e remanescente hidroalcoólica (C5/F5) das folhas e do caule, nas

concentrações de 25, 50, 100, 150, 200 e 250 µg/mL. Estas frações foram escolhidas devido ao seu caráter de polaridade, possibilitando uma grande quantidade de compostos fenólicos nas mesmas, que podem apresentar características antioxidantes devido à sua estrutura química e propriedades redutoras. Como controles da reação foram utilizadas soluções metanólicas de rutina e ácido gálico, ambas submetidas ao ensaio nas concentrações de 25 µg/mL até 250 µg/mL.

Para o preparo do meio reacional uma alíquota de 100 µL da amostra foi depositada em um tubo de ensaio, juntamente com 1 mL da solução reagente. O tubo fechado hermeticamente é levado ao banho-maria a 95°C por 90 minutos. Decorrido este período, o tubo foi resfriado em temperatura ambiente e a leitura efetuada no comprimento de 690 nm em fotômetro de microplacas (Multiscan FC) (PEREIRA, 2010), contra um branco (100 µL de metanol, acrescidos de 1 mL do reativo).

Uma curva analítica foi construída com os valores das absorvâncias a 690nm de uma solução de ácido ascórbico rutina e ácido gálico, nas concentrações de 25 µg/mL a 250 µg/mL, que receberam o mesmo tratamento das amostras. Uma equação da reta foi obtida, somente para o padrão de ácido ascórbico e esta utilizada para a determinação da capacidade antioxidante total das amostras de folha e caule, expressa como µg de padrões-referência / g de extrato.

Estes resultados também podem ser expressos, de forma qualitativa, através do cálculo da Porcentagem de Capacidade Antioxidante Relativa, segundo a equação:

$$\%CAR = (Abs_{amostra} - Abs_{branco} / Abs_{PR} - Abs_{branco}) \times 100$$

Sendo:

$Abs_{amostra}$  = absorvância da amostra

$Abs_{branco}$  = absorvância da solução metanólica

$Abs_{PR}$  = absorvância da solução de padrão-referência

Para efeitos de cálculo, o ácido ascórbico foi considerado como 100% de atividade antioxidante, e todos os ensaios foram realizados em quintuplicata. Ao analisar a capacidade antioxidante das frações do caule e da folha foi realizado o teste de ANOVA de duas vias, seguido de pós teste de Bonferroni. Durante a

realização do teste e confecção do gráfico, foi utilizado o software Graph Pad Prism, versão 4.0. Foi considerado valor significativo quando  $p < 0.05$ , quando comparados ao controle ácido ascórbico.

#### 4.7.1.2 Método do DPPH

O radical livre DPPH é um cromóforo muito estável, com absorção máxima no comprimento de onda de 517 nm, e apresenta, quando em solução, uma coloração violeta (BLOIS, 1958; ARNAO, 2000). Na medida em que o radical livre DPPH vai sendo reduzido por uma substância antioxidante, ocorre o emparelhamento de seu elétron, promovendo uma alteração do seu comprimento de onda de absorção (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995), o que provoca uma mudança na coloração da solução, demonstrada pela Figura 12.



FIGURA 09 – SOLUÇÃO DE DPPH A 40 µg/mL, ANTES E DEPOIS DE RECEBER UM ELÉTRON DE UMA SUBSTÂNCIA ANTIOXIDANTE

FONTE: FRANCO (2013)

NOTA: Tubo da esquerda: solução inicial de DPPH, Tubo da direita: solução de DPPH reduzida pela substância antioxidante.

O método do DPPH proposto é baseado segundo Blois (1958), modificado por Brand-Willians e colaboradores (1995), seguindo a metodologia descrita por Sousa e colaboradores (2007), com algumas modificações, analisando-se as mesmas amostras utilizadas na técnica do fosfomolibdênio.

Inicialmente, foi realizada uma curva analítica através dos valores da absorvância a 492 nm de uma solução de DPPH a 40 µg/mL e respectivas diluições (até 1 µg/mL), leituras realizadas em fotômetro de microplacas (Multiscan FC),

utilizando metanol como branco (PEREIRA,2010). Com estes valores tornou-se possível obter uma equação da reta, determinante dos demais resultados.

Todas as amostras foram submetidas a este teste nas concentrações de 25 a 250 µg/mL, assim como, os padrões-referência (solução de ácido ascórbico, rutina e ácido gálico). Para a elaboração do meio reacional, adicionou-se 30 µL da solução amostra ou padrão-referência e 270 µL da solução de DPPH 40 µg/mL. Após o período de 30 minutos (tempo necessário para que ocorra a reação), foi efetuada a leitura das absorvâncias das misturas reacionais a 492 nm.

Com os valores das médias das absorvâncias (n=5), e a equação da reta da curva analítica, é possível deduzir a concentração de DPPH remanescente em cada amostra ou padrão-referência, para então determinar os percentuais de DPPH remanescente, através da equação:

$$\%DPPH_{REM} = \{ [DPPH]_{T=t} / [DPPH]_{T=0} \} \times 100$$

Em que:

[DPPH]<sub>T=t</sub> corresponde à concentração de DPPH após a reação com a amostra ou padrão-referência

[DPPH]<sub>T=0</sub> é a concentração inicial de DPPH (40 µg/mL)

#### 4.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A cromatografia em camada delgada foi realizada em cromatofolhas de silicagel 60 F<sub>254</sub> (0,200 mm, Merck, Darmstadt, Germany) no tamanho de 5 cm (altura) por 2,5 cm (largura). De acordo com Stahl (1969); Wagner, Bladt e Zgainski (1983) foram escolhidos os seguintes sistemas eluentes:

- Acetato de Etila:Ácido Fórmico:Ácido Acético:Água Destilada (40:4,4:4,4:10 v/v);
- Acetato de Etila:Ácido Fórmico:Ácido Acético:Água Destilada (45:4,5:4,5:5 v/v);
- Acetato de Etila:Ácido Fórmico:Ácido Acético:Água Destilada (40:4,5:4,5:2 v/v);
- Acetato de Etila:Ácido Fórmico:Ácido Acético (40:4,5:4,5 v/v);

- Acetato de Etila:Tolueno:Ácido Fórmico:Água Destilada (80:10:5:5 v/v);
- Acetato de Etila:Tolueno:Ácido Fórmico:Água Destilada (80:10:5:2 v/v);
- Acetato de Etila:Metanol:Água Destilada (10:1,7:1,3 v/v);
- Clorofórmio:Acetona:Ácido Fórmico (7,5:1,6:0,9 v/v);
- Clorofórmio:Acetato de Etila (60:40 v/v);
- Clorofórmio:Metanol (3:1 v/v);
- Diclorometano:Acetona:Ácido Fórmico (74:17:9 v/v);
- Éter de Petróleo:Acetato de Etila:Ácido Fórmico (7,5:2,5:0,1 v/v);
- *n*-Butanol:Ácido Acético:Água Destilada (4:1:5 v/v);
- *n*-Propanol:Acetato de Etila:Água Destilada (4:3:3 v/v);
- Tolueno:Diclorometano:Acetato de Etila:Éter:Metanol (68:15:15:1:1 v/v);

As amostras (extrato bruto, frações e padrões) utilizadas na cromatografia em camada delgada são descritas abaixo:

1. Extratos Brutos: a partir de 1 grama de folha e caule, foram preparados extratos brutos com as seguintes soluções: solução etanólica (70%); solução metanol:água (1:1 v/v); solução acetona:água (1:1 v/v).
2. Frações: frações concentradas de folha (hexânica, clorofórmica, acetato de etila, butanólica e hidroalcoólica) e frações concentradas de caule (hexânica, clorofórmica, acetato de etila, butanólica e hidroalcoólica).
3. Padrões: soluções quercetina, rutina, ácido ferúlico, ácido clorogênico e cumarina, preparados na concentração de 3mg/mL em metanol.
4. Padrões: soluções de ácido gálico, ácido tânico, pirogalol e pirocatequina, preparados na concentração de 2mg/mL em metanol e água.

Com o auxílio de um capilar de vidro, aplicou-se aproximadamente 5 µL das amostras em diferentes cromatoplasmas. Essas foram visualizadas em luz ultravioleta (365 nm) sem solução para a visualização de compostos fenólicos, assim como com a utilização de reagente de NEU e solução Oxalo-Bórica 0,5% em etanol 70%. O desenvolvimento de coloração em tons amarelados, nas placas cromatográficas na ausência de luz ultravioleta, indica uma reação positiva para a presença de compostos fenólicos e possível atividade antioxidante.

## 4.9 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

O método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizado foi baseado no trabalho de Lopes e colaboradores (2009) empregado na determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron*, com modificações.

### 4.9.1 Equipamentos

Foi empregado o cromatógrafo líquido SYS-LC-240-E, marca Varian. Esse foi composto de um computador tipo desktop, software Workstation e dos seguintes módulos: AutoSampler modelo 410 Série 50492, Photodiode Array Detector modelo 335 série EL06019048, Solvent Delivery Module modelo 230 série 01513 e Fluorescence Detector modelo 363 série 00956. A coluna utilizada é da marca Varian, com as seguintes especificações: coluna nº 281751; empacotamento - microsorb-MV 100 C18; tamanho de partícula – 5 µm; comprimento 250 mm; diâmetro interno 4,6 mm; tamanho do poro – 100 Å; loop 50 µL.

### 4.9.2 Condições Cromatográficas

As condições cromatográficas foram as seguintes: varredura de 200-400 nm; detecção no comprimento de onda de 280 nm e 210 nm (detector de arranjo de fotodiodos); detecção com fluorescência em 335 nm (excitação) e 450 nm (emissão); temperatura das análises de 21°C (ambiente).

A separação cromatográfica foi realizada utilizando-se a fase móvel composta de: água ultrapurificada (milliQ) acidificada com ácido trifluoroacético (TFA) 0,05 % (v/v) (fase A) e acetonitrila acidificada com TFA 0,05% (v/v) (fase B) em sistema gradiente, com vazão de 0,8 mL/min; volume injeção das amostras de 10 µL, num tempo total de corrida de 35 minutos. O programa estabelecido, de acordo com o trabalho de Lopes e colaboradores (2009), com modificações (no volume de injeção da amostra e no tempo de 35 minutos), estão descritos na tabela 01:

TABELA 01 – SISTEMA GRADIENTE UTILIZADO NO CROMATÓGRAFO

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>% A</b>	<b>% B</b>
0	95	5
10	81	19
13	75	25
23	62	38
25	25	75
28	95	5
35	95	5

LEGENDA - A: ÁGUA ULTRAPURIFICADA ACIDIFICADA COM TFA; B: ACETONITRILA ACIDIFICADA COM TFA

FONTE: O Autor (2015)

Os extratos brutos das folhas e caules foram preparados de acordo com a metodologia da Farmacopeia Brasileira (2010), que determina uma maceração de 21 dias em líquido extrator (álcool etílico 70% PA), com modificações. Além do extrato bruto macerado durante 21 dias, também realizou-se uma maceração com o mesmo líquido extrator, contudo esta ocorreu durante 7 dias.

As amostras de frações (caule e folhas) são as mesmas que foram utilizadas na pesquisa dos metabólitos especiais, dos ensaios fitoquímicos preliminares. Assim como os padrões de flavonoides (quercetina e rutina) e ácidos orgânicos (ácido ferúlico, ácido clorogênico) - preparados na concentração de 3mg/mL em metanol (grau HPLC); e os padrões de taninos (ácido gálico, ácido tânico, pirogalol e pirocatequina) - preparados na concentração de 2mg/mL em metanol (grau HPLC) e água ultrapurificada (milliQ).

Os extratos brutos, frações, padrões e fases móveis foram filtrados com membrana filtrante (0,45 µm). Os resultados destes, expressos por comparação dos perfis cromatográficos dos extratos brutos e frações, com os cromatogramas dos padrões. E os perfis cromatográficos das amostras (extratos brutos e frações) que apresentaram semelhantes tempos de retenção com os padrões analisados, tiveram seus respectivos espectros avaliados de acordo com o grau de similaridade (parâmetros estatísticos de pureza), com auxílio do programa Polyview 2000, que se encontra no software do equipamento.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISE FARMACOGNÓSTICA

As folhas de *Mikania micrantha* (FIGURA 10A) são simples, de forma ovado-deltaide, base cordada, ápice acuminado e as margens são denteadas a ligeiramente crenadas. Medem 5-12 cm de comprimento e 3-8 cm de largura, com pecíolo variando de 2,5-7 cm de comprimento e apresentam filotaxia oposta. Esses dados vão ao encontro dos relatos de Ritter e Miotto (2005) para essa espécie.

Em relação à morfologia externa, *M. confertissima* e *M. hatschbachii* GM Barroso são confundidas com *M. glomerata* e *M. congesta* é usada para adulteração de *M. glomerata*. Da mesma forma que *M. microlepis* Baker é utilizada para fraudar *M. hirsutissima* DC. (OLIVEIRA *et al.*, 1994). *Mikania laevigata* é morfológica e quimicamente semelhante à *M. glomerata*, sendo consideradas como sucedâneas no Brasil. Adicionalmente, *M. hirsutissima* é muito parecida com *M. lanuginosa* DC. (AMORIN *et al.*, 2014).

Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são onduladas e delgadas em ambas as faces (FIGURAS 10B, 10C). Os estômatos anomocíticos (FIGURA 10C) são encontrados em ambas as faces e estão localizados no mesmo nível das células epidérmicas. No entanto, raros estômatos estão presentes na face adaxial.

Em secção transversal, a epiderme é unisseriada ao longo da lâmina foliar (FIGURA 11A) e revestida por cutícula lisa e delgada em ambas as superfícies. Estas características são comuns para o gênero, como observado em *M. congesta*, *M. microlepis* (OLIVEIRA *et al.*, 1994), *M. conferta* Gardner (OLIVEIRA *et al.*, 1999), e *M. laevigata* (OLIVEIRA *et al.*, 1986; BUDEL *et al.*, 2009). No entanto, *Mikania confertissima* e *M. hatschbachii* apresentam camada subepidérmica na face adaxial (OLIVEIRA *et al.*, 1994). Por outro lado, *M. hookeriana* evidenciou estômatos anisocíticos (OLIVEIRA *et al.*, 1994).

A ocorrência de um tipo específico de tricoma muitas vezes pode definir os limites das espécies, gêneros e famílias (METCALF; CHALK, 1950). Neste estudo,

vários tricomas glandulares e tectores foram encontrados tanto nas folhas como no caule (FIGURAS 10C-H).

Neste estudo foram observados dois tipos de tricomas glandulares, o primeiro é capitato, bisseriado, formado por 6 células e a secreção pode ser encontrada no espaço subcuticular. Esses são frequentemente localizados em depressão devido à invaginações das células epidérmicas adjacentes (FIGURA 10C, 10E-F).

Para *Mikania* estes tricomas foram relatados para *M. laevigata* (BUDEL *et al.*, 2009), *M. congesta*, *M. microlepis* (OLIVEIRA *et al.*, 1994), *M. cordifolia* (OLIVEIRA *et al.*, 2000) e *M. glomerata* (NEVES; SÁ, 1991). Além de estarem presentes em outros gêneros de Asteraceae, como *Gochnatia* Kunth (CASTRO *et al.*, 1997; YOUSSEF *et al.*, 2013), *Baccharis* L. (OLIVEIRA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2014), *Calea* L. (CASTRO *et al.*, 1997; BUDEL *et al.*, 2006), *Vernonia* Schreb. (CASTRO *et al.*, 1997; CAMILOTTI *et al.*, 2014), *Pterocaulon* Ell., *Elephantopus* L. (CASTRO *et al.*, 1997).

O outro tipo de tricoma glandular encontrado é não-capitato, unisseriado, filamentososo, curvo e com número variável de células (FIGURAS 10E, 10H) e pode estar localizado em depressão epidérmica. Tricomas semelhantes são descritos para *M. malacolepis* B.L. Rob. (MILAN *et al.*, 2006), *M. cordifolia* (OLIVEIRA *et al.*, 2000), *M. congesta*, *M. glomerata* (OLIVEIRA *et al.*, 1994) e *M. laevigata* (OLIVEIRA *et al.*, 1986; BUDEL *et al.*, 2009). Neste estudo, os dois tipos de tricomas glandulares secretam compostos lipofílicos que foram detectados em testes microquímicos com Sudam III.

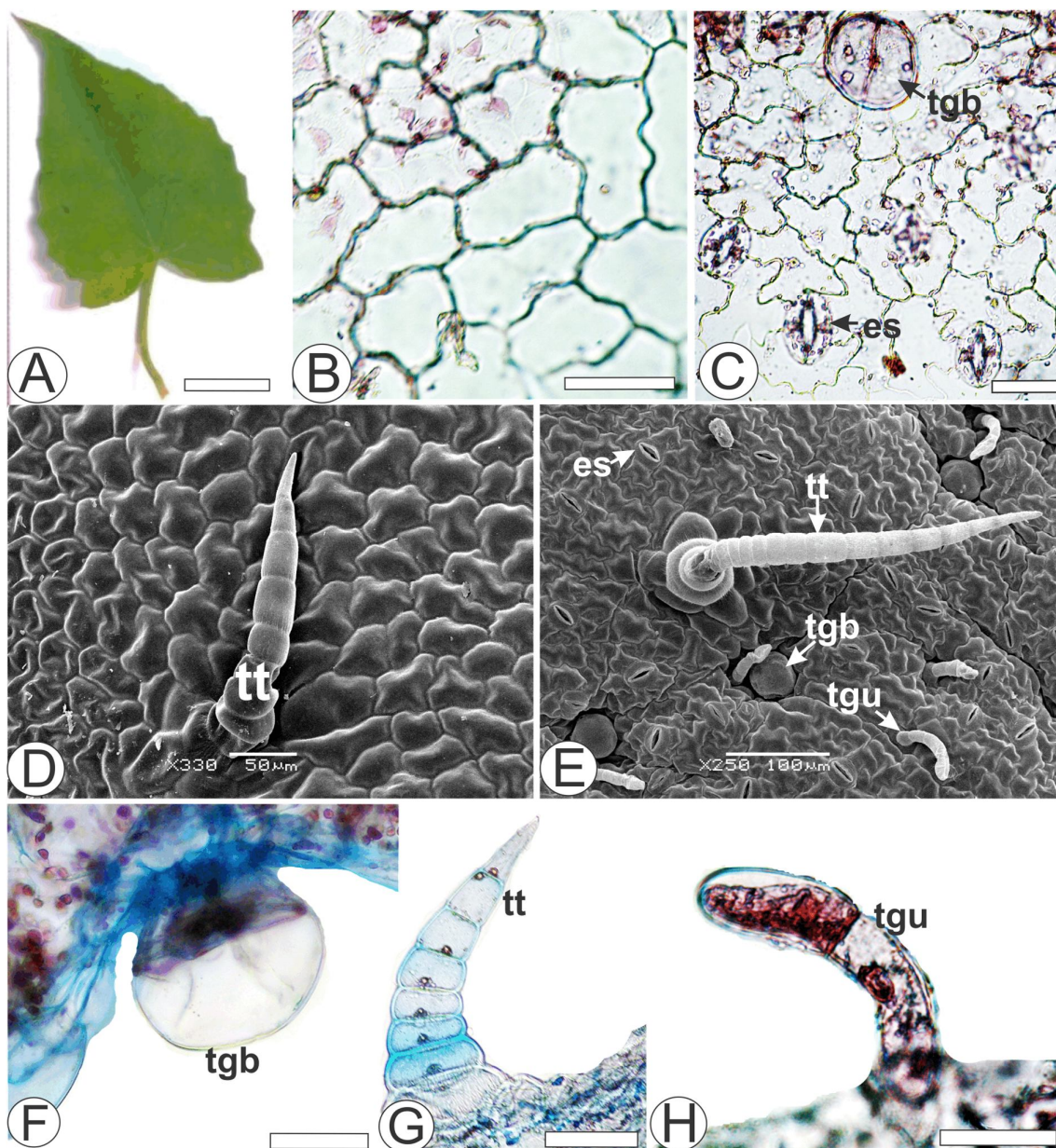


FIGURA 10 - *Mikania micrantha* KUNTH, ASTERACEAE – FOLHA.

LEGENDA: A. ASPECTO GERAL DA FOLHA. B. VISTA FRONTAL DA FACE ADAXIAL DA EPIDERME, MOSTRANDO AS PAREDES ANTICLINAIS DAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS. C. VISTA FRONTAL DA FACE ABAXIAL DA EPIDERME, EVIDENCIANDO PAREDES ANTICLINAIS DAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS, ESTÔMATOS E TRICOMA GLANDULAR CAPITADO BISSERIADO. D. VISTA FRONTAL DA FACE ADAXIAL DA EPIDERME, INDICANDO TRICOMA TECTOR EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV). E. VISTA FRONTAL DA FACE ABAXIAL DA EPIDERME, INDICANDO ESTÔMATOS, TRICOMA TECTOR, TRICOMA GLANDULAR CAPITADO BISSERIADO E TRICOMA GLANDULAR NÃO CAPITADO UNISSERIADO (MEV). F. TRICOMA GLANDULAR CAPITADO BISSERIADO. G. TRICOMA TECTOR. H. TRICOMA GLANDULAR NÃO CAPITADO UNISSERIADO. es: ESTÔMATO, tgc: TRICOMA GLANDULAR CAPITADO BISSERIADO, tgu: TRICOMA GLANDULAR NÃO CAPITADO UNISSERIADO, tt: TRICOMA TECTOR. BAR = 20 $\mu$ m (B, C, F, G); 50 $\mu$ m (H).  
 FONTE: O Autor (2015)

Os tricomas tectores de *Mikania micrantha* se apresentam em formato cônico, unisseriado e compostos de até 25 células (FIGURAS 10D-E, 10G). Diversas espécies do gênero possuem este tipo de tricoma, como *M. cordifolia* (OLIVEIRA *et al.*, 2000), *M. malacolepis* (MILAN *et al.*, 2006), *M. congesta*, *M. microlepis* (OLIVEIRA *et al.*, 1994) e *M. conferta* (OLIVEIRA *et al.*, 1999). O conjunto de tricomas encontrados em *M. micrantha* podem auxiliar no diagnóstico deste táxon. Divergindo das observações gerais, *M. confertissima* não apresentou tricomas glandulares e nem tectores em estudo de Oliveira *et al.*, 1994.

O mesofilo está organizado dorsiventralmente, com 1-2 camadas de parênquima paliçádico, 5-6 camadas de parênquima esponjoso, contendo células com formatos variados e altamente compactados (FIGURA 11A). Os feixes vasculares colaterais de menor porte estão mergulhados no mesofilo e são envoltos por uma endoderme (FIGURA 11A). Essa característica é comum em *Mikania* (NEVES; SÁ, 1991; OLIVEIRA *et al.*, 1994; RODRIGUES *et al.*, 1996; OLIVEIRA *et al.*, 2000; MILAN *et al.*, 2006; BUDEL *et al.*, 2009). No entanto, existem variações nas espécies de *Mikania* em relação ao número de camadas de parênquima paliçádico e esponjoso, mas essas variações não caracterizam um fator consistente para a distinção entre as espécies, pois essa característica é facilmente influenciada pelas condições ambientais, sobretudo à luz (SMITH *et al.*, 1997).

A nervura central, em secção transversal, mostra formato biconvexo, sendo mais proeminente na superfície abaxial. A epiderme unisseriada é coberta por uma cutícula espessa e lisa. Observa-se de 3 a 4 camadas de colênquima angular na superfície adaxial e 2 camadas na superfície abaxial (FIGURA 11B). Cinco feixes vasculares colaterais livres estão mergulhados no parênquima fundamental e o câmbio interfascicular está presente (FIGURA 11C). Nas proximidades destes feixes, dutos secretores podem ser encontrados. O lúmen dos dutos secretores é limitado por epitélio unisseriado e contém substâncias lipofílicas que reagem positivamente com Sudam III.

Descrições semelhantes foram descritas para *M. cordifolia* (OLIVEIRA *et al.*, 2000), *M. glomerata* (NEVES; SÁ, 1991; CAMILOTTI *et al.*, 2014) e *M. laevigata* (OLIVEIRA *et al.*, 1986). Entretanto, *M. malacolepis* apresenta 8 feixes vasculares colaterais livres organizados em dois arcos abertos, sendo quatro em cada arco (OLIVEIRA *et al.*, 1994) e *M. conferta* apresenta 12 feixes vasculares colaterais livres, sendo sete no arco externo e cinco no arco interno (OLIVEIRA *et al.*, 1994).

Em *M. micrantha*, o pecíolo, em secção transversal, é côncavo-convexo mostrando duas costelas do lado adaxial e três do lado abaxial (FIGURA 11D). A epiderme unisseriada têm as mesmas características anteriormente descritas para a lâmina foliar. Nas costelas são encontradas várias camadas de colênquima angular (FIGURAS 11D-E). Os parênquimas fundamentais da nervura central e do pecíolo evidenciaram a presença de grãos de amido que reagiram na presença de lugol (FIGURA 13A). O sistema vascular apresenta cerca de 12 feixes distribuídos em arco aberto no centro do parênquima fundamental (FIGURA 11D). Os feixes vasculares são do tipo colaterais, evidenciam câmbio interfascicular e dutos secretores podem ser comumente encontrados entre os feixes vasculares (FIGURA 11F).

De uma maneira diferente, o pecíolo de *M. laevigata* mostrou-se plano-convexo, evidenciando cerca de sete feixes vasculares organizados em um arco aberto (BUDEL *et al.*, 2009), enquanto que *M. glomerata* mostrou-se com formato plano-convexo ou côncavo-convexo, com nove feixes vasculares em um arco aberto (NEVES; SÁ, 1991). Adicionalmente, *M. lanuginosa* apresentou feixes vasculares colaterais dispersos no parênquima fundamental (AMORIN *et al.*, 2014).

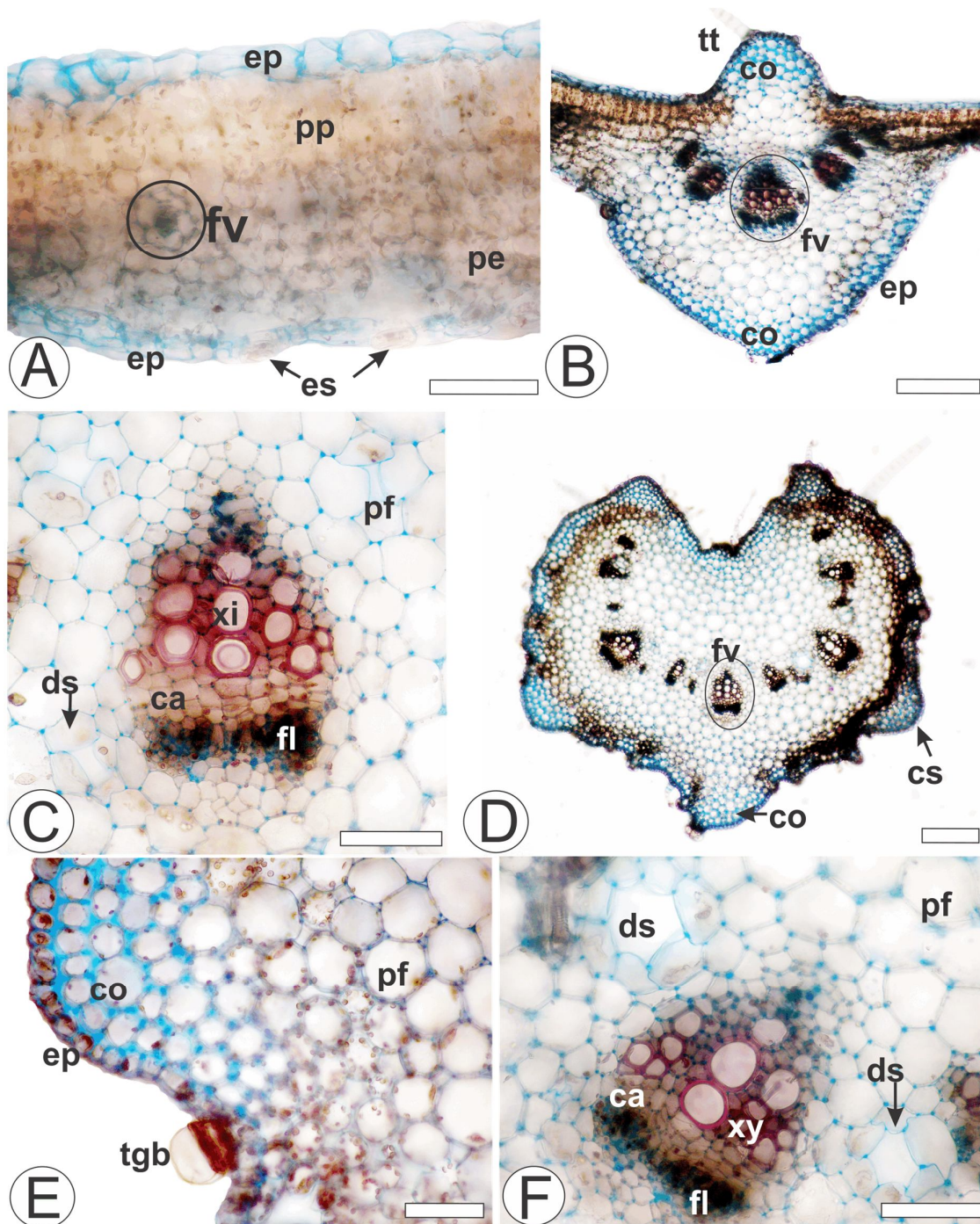


FIGURA 11 - *Mikania micrantha* KUNTH, ASTERACEAE – SECÇÃO TRANSVERSAL DA FOLHA. LEGENDA: A. MESOFILO DORSIVENTRAL. B. NERVURA CENTRAL, MOSTRANDO FORMATO BICONVEXO. C. DETALHE DO FEIXE VASCULAR DA NERVURA CENTRAL. D. PECÍOLO, MOSTRANDO FORMATO CÔNCAVO-CONVEXO. E. DETALHE DA COSTELA DO PECÍOLO. F. PORMENOR DO FEIXE VASCULAR DO PECÍOLO. ca: CAMBIO, cs: COSTELA, co: COLÊNQUIMA, ds: DUTO SECRETOR, ep: EPIDERME, fl: FLOEMA, fv: FEIXE VASCULAR, pe: PARÊNQUIMA ESPONJOSO, pf: PARÊNQUIMA FUNDAMENTAL, pp: PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, tgc: TRICOMA GLANDULAR CAPITADO BISSERIADO, xi: XILEMA. BAR = 50µm (A, C, E, F); 100µm (B); 200µm (D). FONTE: O Autor (2015)

O caule de *Mikania micrantha*, em secção transversal e em crescimento secundário, mostra formato hexagonal (FIGURA 12A). A epiderme consiste em uma única camada de células cobertas por uma cutícula delgada e levemente estriada (FIGURA 12B) que reagiu positivamente na presença de Sudam III (FIGURA 13B). Tricomas glandulares e tectores semelhantes aos encontrados na folha podem ser observados (FIGURA 12B).

Subjacente à epiderme observa-se 2-4 camadas de colênquima angular (FIGURAS 12C-D). O parênquima cortical é formado por várias camadas de células isodiamétricas. O córtex é limitado internamente pela endoderme (FIGURA 12D) e estrias Caspary são visíveis. Nos testes microquímicos, o córtex e o sistema vascular reagiram com cloreto férrico (FIGURA 13D).

O sistema vascular é típico, apresentando xilema disposto para o interior e o floema para o exterior (FIGURAS 12A, C, D, E). A zona cambial fascicular e interfascicular pode ser observada. Calotas de fibras perivasculares são encontradas apostas ao floema e reagem com floroglucina clorídrica (FIGURA 13C). Dutos secretores estão presentes próximos ao sistema vascular (FIGURA 12D). Estes são formados por 4-8 células e produzem um material lipofílico que reagiu com Sudam III. O parênquima medular é formado por células isodiamétricas e não-lignificadas (FIGURA 12F) que contém grãos de amido.

O formato do caule, em seção transversal, é uma característica importante para diferenciar as espécies vegetais. Neste contexto, *Mikania malacolepis* (OLIVEIRA *et al.*, 1994) e *M. cordifolia* (OLIVEIRA *et al.*, 2000) apresentaram formato hexagonal, enquanto que *M. laevigata* mostrou forma circular (RODRIGUES *et al.*, 1996). Algumas *Mikania* apresentaram um anel esclerenquimático no córtex e dutos secretores foram encontrados na medula (OLIVEIRA *et al.*, 2000; BUDEL; DUARTE, 2009; AMORIN *et al.*, 2014). Neste estudo, estas características não foram observadas.



FIGURA 12 - *Mikania micrantha* KUNTH, ASTERACEAE – CAULE.

LEGENDA: A. ASPECTO GERAL. B. VISTA FRONTAL DA EPIDERME (MEV). C. DETALHE DA FIGURA A, MOSTRANDO CÂMBIO FASCICULAR, CÂMBIO INTERFASCICULAR, COLÊNQUIMA, EPIDERME, FIBRAS, FLOEMA, MEDULA E XILEMA. D. DETALHE DA FIGURA ANTERIOR. E. PORMENOR DO SISTEMA VASCULAR. F. PARÊNQUIMA MEDULAR. Caf: CÂMBIO FASCICULAR, cai: CÂMBIO INTERFASCICULAR, co: COLÊNQUIMA, ds: DUTO SECRETOR, en: ENDODERME, ep: EPIDERME, fi: FIBRAS, fl: FLOEMA, me: MEDULA, tgc: TRICOMA GLANDULAR CAPITADO BISSERIADO, tgu: TRICOMA GLANDULAR NÃO CAPITADO UNISSERIADO, tt: TRICOMA TECTOR E xi: XILEMA. BAR = 50µm (D, F); 100µm (E); 200µm (C), 300µm (A). FONTE: O Autor (2015)

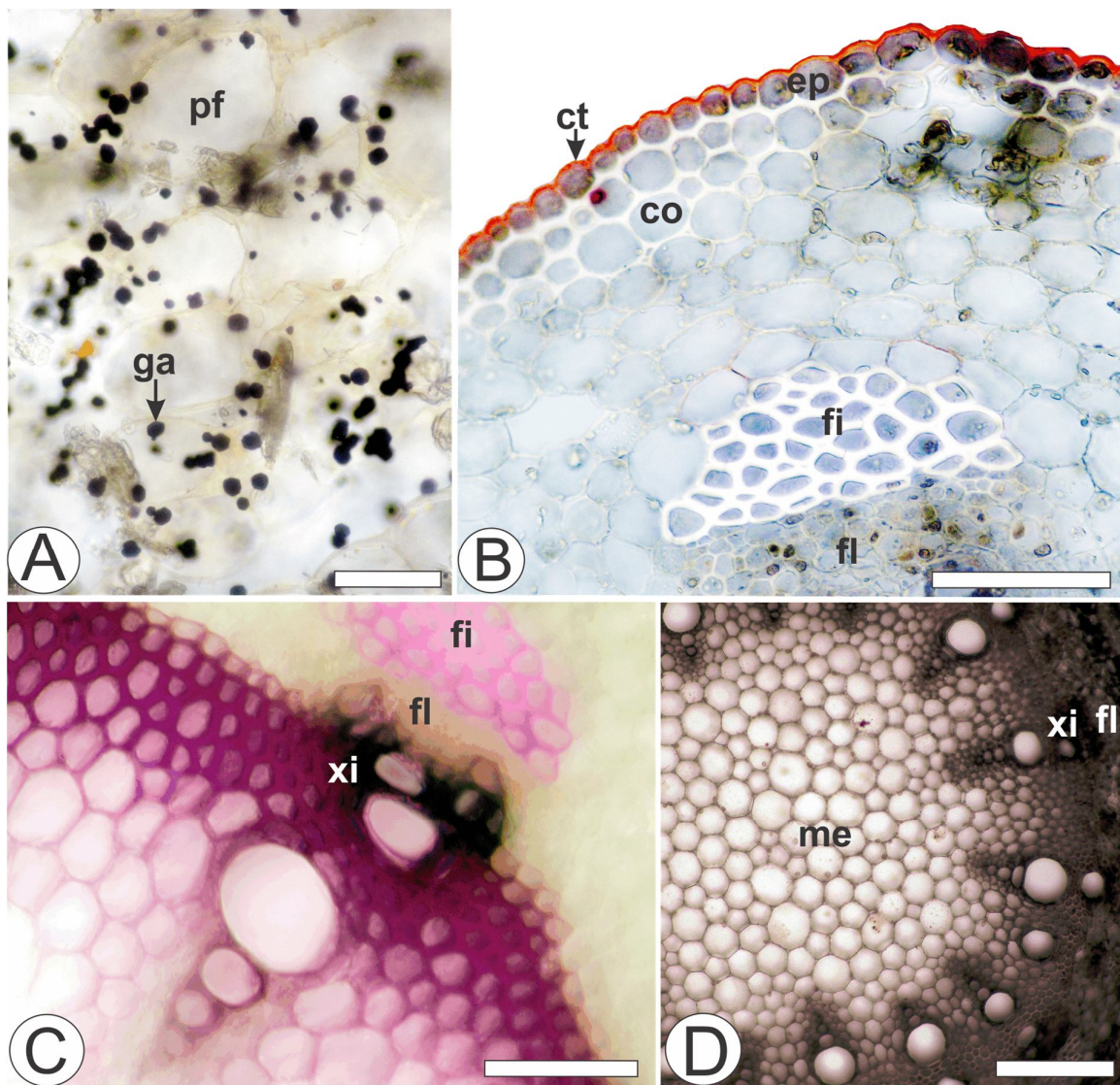


FIGURA 13 - *Mikania micrantha* KUNTH, ASTERACEAE – TESTES MICROQUÍMICOS.

LEGENDA: A. GRÃOS DE AMIDO DO PARÊNQUIMA FUNDAMENTAL DO PECÍOLO EM REAÇÃO COM LUGOL. B. CUTÍCULA DO CAULE EM REAÇÃO COM SUDAM III. C. FIBRAS E XILEMA DO CAULE EM REAÇÃO COM FLOROGLUCINA CLORÍDRICA. D. CAULE EM REAÇÃO COM CLORETO FÉRRICO. CO: COLÊNQUIMA, CT: CUTÍCULA, EP: EPIDERME, FI: FIBRAS, FL: FLOEMA, GA: GRÃOS DE AMIDO, ME: MEDULA PF: PARÊNQUIMA FUNDAMENTAL, XI: XILEMA. BAR = 50 $\mu$ M (A, B, D); 200 $\mu$ M (C)  
 FONTE: O Autor (2015)

## 5.2 TEOR DE UMIDADE

A partir do ensaio de perda por dessecação, foi averiguada a determinação de água. Neste ensaio, a secagem prosseguiu até que duas pesagens consecutivas não foram diferentes em mais de 0,5 mg por grama da substância em exame, sendo que a segunda pesagem ocorreu após uma hora de secagem adicional nas condições especificadas na Farmacopeia Brasileira (2010). Sendo assim, o material foliar apresentou uma umidade de 10,70% e o material caulinar 11,87%.

Também existem outros métodos que podem ser empregados para a determinação de água, como: azeotrópico (destilação de tolueno), volumétrico (Karl Fischer) e balança por infravermelho ou lâmpada halogenada, que requerem equipamentos especiais e compreendem técnicas mais complexas (FARMACOPEIA, 2010).

## 5.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

### 5.3.1 Ensaio fitoquímico preliminares

Os ensaios fitoquímicos preliminares, realizados a partir dos extratos aquosos e das frações *n*-hexano (F1), clorofórmio (F2), acetato de etila (F3), butanol (F4) e hidroalcoólica (F5) de folhas e caule, revelaram uma ampla gama de metabólitos especiais produzidos pela espécie vegetal *Mikania micrantha* Kunth.

Nas frações, a pesquisa foi direcionada levando-se em consideração a probabilidade de encontrar determinada classe de compostos. Desta forma, por exemplo, a classe dos flavonoides foi pesquisada nas frações F3, F4 e F5 do extrato hidroalcoólico fracionado, tendo em vista suas características intermediárias de polaridade, em função de sua estrutura química.

De acordo com Farias (2010), a identidade baseada nos constituintes químicos exige conhecimentos fitoquímicos prévios, por intermédio de reações químicas de caracterização ou de um perfil cromatográfico, bem como o isolamento, a purificação e a elucidação estrutural das principais substâncias. As reações

químicas permitem verificar a presença de grupos de substâncias, por exemplo, flavonoides, alcaloides, esteroides, entre outros, sendo método simples, de rápida execução e baixo custo. Estas reações são, geralmente, inespecíficas, ocorrendo através de grupos funcionais ou estruturas comuns a várias substâncias. Algumas reações, entretanto, são consideradas específicas, ocorrendo somente com algumas estruturas típicas de uma única classe de substâncias.

No extrato hidroalcoólico de folhas, posteriormente fracionado, verificou-se a presença de flavonoides na fração acetato de etila, butanólica e etanólica a 70%; cumarinas na fração etanólica e butanólica; esteroides e/ou triterpenoides na fração hexânica, clorofórmica e butanólica; presença de iridoides na fração hexânica e clorofórmica. Nas frações do caule foram obtidos os mesmos resultados, sendo, porém, os iridoides presentes somente na fração hexânica, esteroides e/ou triterpenoides em todas as frações, com exceção da hidroalcoólica; conforme dados da TABELA 2.

TABELA 2 - CLASSES DE METABÓLITOS ESPECIAIS PRESENTES NAS FRAÇÕES DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS E CAULES DE *Mikania micrantha* Kunth

METABÓLITOS ESPECIAIS	ANÁLISE	FOLHAS					CAULES				
		F1	F2	F3	F4	F5	F1	F2	F3	F4	F5
ALCALOIDES	Reativo de Bertrand	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Reativo de Bouchardat	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
	Reativo de Dragendorff	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
	Reativo de Mayer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FLAVONOIDES	Leucoantocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Shinoda	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	Oxalo-Bórica	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
	Pacheco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Zn + HCl	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
CUMARINAS	UV	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
IRIDOIDES	Floroclucinol Cristais + HCl	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Vanilina + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
ANTRAQUINONAS	Bornträeger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESTEROIDES / TRITERPENOS	Libermann-Bouchardat	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-
	Keller – Kelliani	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Baljet	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
	Legal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

FONTE: O autor (2015)

Por meio dos ensaios preliminares com a espécie *Mikania micrantha* foi evidenciada a presença de aminogrupos, glicosídeos antociânicos, taninos hidrolisáveis e condensados no extrato aquoso a 20% de folhas, assim como no extrato aquoso do caule da espécie em questão, que apresentou além dos grupos citados a presença de saponinas, de acordo com os dados da TABELA 3.

TABELA 3 - CLASSES DE METABÓLITOS ESPECIAIS PRESENTES NO EXTRATO AQUOSO A 20% DAS FOLHAS E CAULES DE *Mikania micrantha* Kunth

BIOATIVOS	FOLHAS	CAULES
Heterosídeo Antocianos	+	+
Saponinas	-	+
Heterosídeo Cianogenético	-	-
Taninos	+	+
Amino Grupos	+	+
Ácidos Fixos	-	-
Ácidos Voláteis	-	-

Fonte: O autor (2015)

De acordo com os resultados das TABELAS 2 e 3, podem ser observadas a presença dos seguintes metabólitos especiais para *Mikania micrantha*: flavonoides, iridoides, esteroides/triterpenoides, saponinas, heterosídeos antociânicos, amino grupo e taninos.

Nesse contexto, a presença de compostos fenólicos como flavonoides já foi descrita para *Mikania cordata* (KIANG *et al.*, 1965; AGUINALDO *et al.*, 2003). *Mikania micrantha* (HERZ *et al.*, 1969; WEI *et al.*, 2004) *Mikania glomerata* (CAROLLO *et al.*, 2006; BOLINA *et al.*, 2009) e *Mikania laevigata* (BOLINA *et al.*, 2009; FERREIRA, OLIVEIRA, 2010). Assim como o ácido caurenoico para *Mikania lanuginosa* (SILVA *et al.*, 2002).

A presença de esteroides e triterpenoides é uma característica comum para o gênero *Mikania* (HERZ *et al.*, 1967; MATHUR, CENIS, 1973; BOHIMANN *et al.*, 1981; CUENCA *et al.*, 1988; FABRI *et al.*, 1997; LOBITZ *et al.*, 1997; 1998; VENEZIANI *et al.*, 1999; REIS *et al.*, 2003; NUNEZ *et al.*, 2004; OHKOSHI *et al.*, 2004; REIS *et al.*, 2008; BOLINA *et al.*, 2009; FERREIRA, OLIVEIRA, 2010; RIOS V, *et al.*, 2014). Da mesma forma que as lactonas sesquiterpênicas (CUENCA *et al.*, 1993; ZAMORANO *et al.*, 1994; BARDON *et al.*, 1996; VENEZIANI *et al.*, 1999; RÜNGELER *et al.*, 2001; FERREIRA, OLIVEIRA, 2010; RIOS V, *et al.*, 2014).

Contudo, o resultado positivo para o grupo de taninos *Mikania micrantha*, foi pouco descrito na literatura. O trabalho de Oliveira e colaboradores (1984) cita a presença do grupo no estudo de prospecção fitoquímica de partes aéreas de *Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*.

O grupo de metabólitos especiais das cumarinas, é descrito por diversos autores como marcador para do gênero *Mikania* (BIAVATI *et al.*, 2004; BRIGHETTI *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2006; TALEB-CONTINI *et al.*, 2006; SAÚDE-GUIMARÃES, FARIA, 2007; CORRÊS *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008; BOLINA *et al.*, 2009; FERREIRA, OLIVEIRA, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2013) contudo, estes metabólitos não foram evidenciados neste estudo.

Da mesma forma que os trabalhos de Carollo e colaboradores (2006), realizado com *Mikania glomerata*; e Pérez-Amador (2010) e colaboradores com *Mikania micrantha*. Ambos não evidenciaram a presença de cumarinas, e sim do grupo de flavonoides (CAROLLO *et al.*, 2006) e dos terpenos (PÉREZ-AMADOR *et al.*, 2010), que corroboram os resultados deste estudo.

### 5.3.2. Características Organolépticas e Teor de Sólidos (Resíduo Seco)

Extratos, do latim extractus, referindo-se à algo que extraído de uma outra coisa, são preparações concentradas obtidas de drogas vegetais ou de plantas frescas por meio de um dissolvente apropriado seguido de sua evaporação total ou parcial e ajuste do concentrado a padrões previamente estabelecidos. Dentre os meios de obtenção, destaca-se a maceração, decocção, infusão, digestão e a percolação (OLIVEIRA; AKISUE, 2000).

Dentre os tipos de extratos passíveis de serem obtidos têm-se os extratos fluidos, que consistem de preparações líquidas obtidas de drogas vegetais e preparadas de modo que cada mililitro contenha os princípios ativos solúveis de 1 g da droga devidamente dessecada ao ar livre (OLIVEIRA; AKISUE, 2000).

A partir dos extratos líquidos aquosos e hidroalcoólicos de *Mikania micrantha* foram realizados os ensaios de caracteres organolépticos e determinou-se, ainda, o teor de resíduo seco dos mesmos e das respectivas frações, após partição com solventes de polaridades crescentes.

Nos ensaios com o extrato hidroalcoólico a 20%, o extrato das folhas apresentou-se com cor verde escuro, sabor picante, pH 7 e teor de sólidos de 9,86

g%. O extrato do caule, por outro lado, apresentou cor marrom esverdeado escuro, sabor levemente adocicado, pH 6 e teor de sólidos de 10,08 g%, conforme pode ser evidenciado abaixo (TABELA 4).

TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS E TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS HIDROALCOOLICO A 20 % DE FOLHAS E CAULE

<i>EXTRATO HIDROALCOOLICO A 20%</i>		
<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	<b>FOLHAS</b>	<b>CAULES</b>
COR	Verde Escuro	Marrom-esverdeado Escuro
ODOR	Aromático/Adocicado	Aromático/Adocicado
SABOR	Picante	Picante
Ph	6	7
<b>TEOR DE SÓLIDOS (m/m)</b>	9,86 g%	10,08 g%

FONTE: O Autor (2015)

Nos ensaios de características organolépticas do extrato aquoso a 20% de folhas de *M. micrantha*, as folhas apresentaram extrato com cor esverdeado escuro, odor aromático, sabor adocicado e pH entre 6-7. Entretanto, os caules apresentaram extrato com cor marrom-esverdeado suave, odor aromático, sabor levemente adocicado e pH entre 6-7. O extrato aquoso das folhas apresentou teor de sólidos de 26,45 g% e o extrato aquoso de caules 12,40 g%, conforme apresentado na TABELA 5.

TABELA 5 - CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS E TEOR DE SÓLIDOS DOS EXTRATOS AQUOSOS A 20 % DE FOLHAS E CAULE

<i>EXTRATO AQUOSO A 20%</i>		
<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	<b>FOLHAS</b>	<b>CAULES</b>
COR	Esverdeado Escuro	Marrom-esverdeado Suave
ODOR	Aromático	Aromático
SABOR	Adocicado	Adocicado
Ph	6-7	6-7
<b>TEOR DE SÓLIDOS (m/m)</b>	26,45 g%	12,40 g%

FONTE: O Autor (2015)

### 5.3.3 Rendimento das Frações

A fração hexânica das folhas apresentou o menor rendimento, enquanto que a fração hidroalcoólica foi a de melhor rendimento. Estes valores podem indicar uma maior concentração de compostos fenólicos neste órgão vegetal, uma vez que, devido as suas características de polaridade (presença das hidroxilas fenólicas), são extraídos, em maior concentração nos solventes de maior polaridade, como o acetato de etila, butanol e hidroalcoólico. Os rendimentos de cada fração das folhas e caule são apresentados na abaixo (TABELA 6).

TABELA 6 – RENDIMENTO EM % DAS FRAÇÕES DE FOLHAS E CAULE

<b>FRAÇÃO</b>	<b>FOLHAS %</b>	<b>CAULE %</b>
HEXÂNICA	0,32	0,23
CLOROFÓRMICA	0,63	0,59
ACETATO DE ETILA	2	1,01
BUTANÓLICA	2,48	0,9
HIDROALCOOLICA	5,84	9,31

FONTE: O Autor (2015)

Da mesma forma como ocorreu para o rendimento das folhas, a fração hexânica dos caules apresentou um rendimento ainda menor do que o encontrado para as folhas, pressupondo que este órgão vegetal contém um número baixo de compostos extraíveis com este solvente, ou seja, compostos mais lipofílicos. Entretanto, a fração hidroalcoólica foi a que exibiu o maior rendimento, quase o dobro do valor encontrado para as folhas, indicando uma presença notável de compostos mais polares neste órgão vegetal.

### 5.4 DOSEAMENTO DE TANINOS

O método utilizado para o doseamento dos taninos se baseia na propriedade destes em precipitar proteínas, onde se retiram duas alíquotas da mesma amostra. Na primeira é adicionado ácido fosfotúngstico que reage com todos os componentes redutores (hidroxilas fenólicas) pela redução do ácido fosfotúngstico a azul de

tungstênio e na segunda alíquota adiciona pó de pele que precipita os taninos, em seguida filtra-se e também se adiciona ácido fosfotúngstico que reage com os componentes redutores que não são taninos. Com diferença de absorção medida entre a primeira e a segunda alíquota calcula-se a porcentagem de taninos expressa em pirogalol.

Os resultados (média  $\pm$  desvio padrão) do teor de taninos em porcentagem expressos em pirogalol para a espécie em estudo foram os seguintes:  $1,99 \pm 0,54$  para as folhas e  $0,78 \pm 0,30$  para o caule. Portanto, o teor de taninos obtidos para as folhas está próximo do teor encontrado para o caule. E ao comparar os valores de outras plantas ricas em constituintes tânicos (TABELA 7), como por exemplo, *Phyllanthus tennellus* Roxb.; *Stryphnodendron barbatimão* Mart.; *Phyllanthus niruri* L.; *Eugenia uniflora* L.; *Krameria triandra* Ruiz & Pav.; *Paulinia cupana* Kunth; *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reissek; *Hamamelis virginiana* L.; pode-se dizer que o doseamento de taninos das folhas e caules de *Mikania micrantha* são respectivamente, valores próximos aos da Espinheira-Santa e da Hamamélis (FARMACOPEIA, 2010).

TABELA 7 – PRINCIPAIS PLANTAS FARMACOPEICAS COM ALTO TEOR DE TANINOS

<b>Nome Popular</b>	<b>Nome Científico</b>	<b>Família</b>	<b>Taninos Totais (expressos em pirogalol)</b>
Quebra-Pedra	<i>Phyllanthus tennellus</i> Roxb..	PHYLLANTHACEAE	9,0%
Barbatimão	<i>Stryphnodendron</i> <i>barbatimão</i> Mart	FABACEAE	8%
Quebra-Pedra	<i>Phyllanthus niruri</i> L.	PHYLLANTHACEAE	6,5%
Pitangueira	<i>Eugenia uniflora</i> L.	MYRTACEAE	5,0%
Ratânia	<i>Krameria triandra</i> Ruiz & Pav.	KRAMERIACEAE	5,0%
Guaraná	<i>Paulinia cupana</i> Kunth	SAPINDACEAE	4%
Espinheira-Santa	<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. Ex Reissek	CELASTRACEAE	2%
Hamamélis	<i>Hamamelis virginiana</i> L.	HAMAMELIDACEAE	0,6%

FONTE: FARMACOPEIA (2010); Modificado pelo autor (2015)

## 5.5 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

### 5.5.1 Método do Fosfomolibdênio

Na determinação da capacidade antioxidante das frações acetato de etila, butanol e hidroalcoólica remanescente, de folha e caule, foi necessário a construção de uma curva analítica com uma solução de ácido ascórbico, ácido gálico e rutina, apresentados no Gráfico 1. Nesta metodologia, a capacidade antioxidante da amostra pode ser visualizada através da mudança da coloração do meio reacional para uma solução esverdeada, demonstrado na FIGURA 14, que ocorre devido à redução do molibdênio VI a molibdênio V em pH ácido.

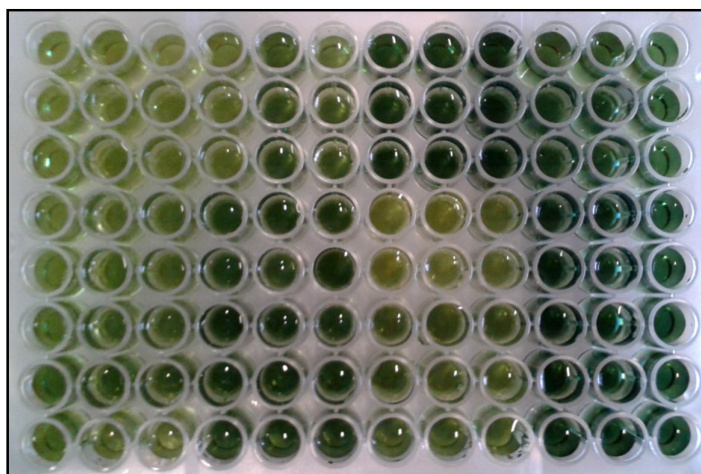


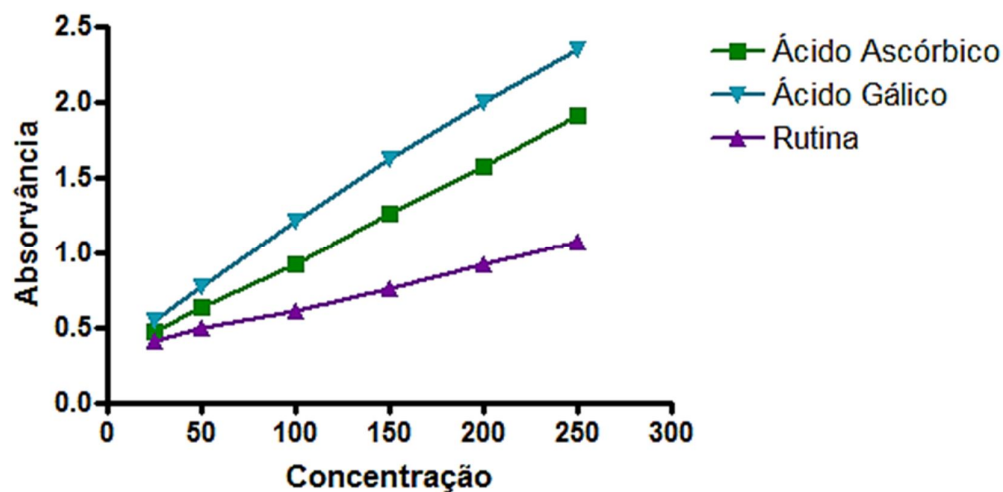
FIGURA 14 – VISUALIZAÇÃO DA REDUÇÃO DO MOLIBDÊNIO VI A MOLIBDÊNIO V EM MICROPLACAS

FONTE: O Autor (2015)

Em posse dos dados, foram confeccionadas curvas analíticas para os controles da reação (rutina e ácido gálico) e para o padrão de ácido ascórbico, com auxílio do software Graph Pad Prim (versão 4.0). A rutina gerou uma equação da reta  $Y=0,0029x+0,3331$  ( $r^2=0,9971$ ) e o ácido gálico  $Y=0,008x+0,3733$  ( $r^2=0,9980$ ). O padrão de ácido ascórbico uma equação linear simples, onde  $Y=0,0063x+0,3111$ , com um valor de  $r^2=0,9996$ . Substituindo-se o Y pelo valor da absorvância, apresentada pela amostra, foi possível determinar a capacidade antioxidante total da mesma, expresso como  $\mu\text{g}$  de ácido ascórbico / g de extrato ( $\mu\text{g AA/ g extrato}$ )

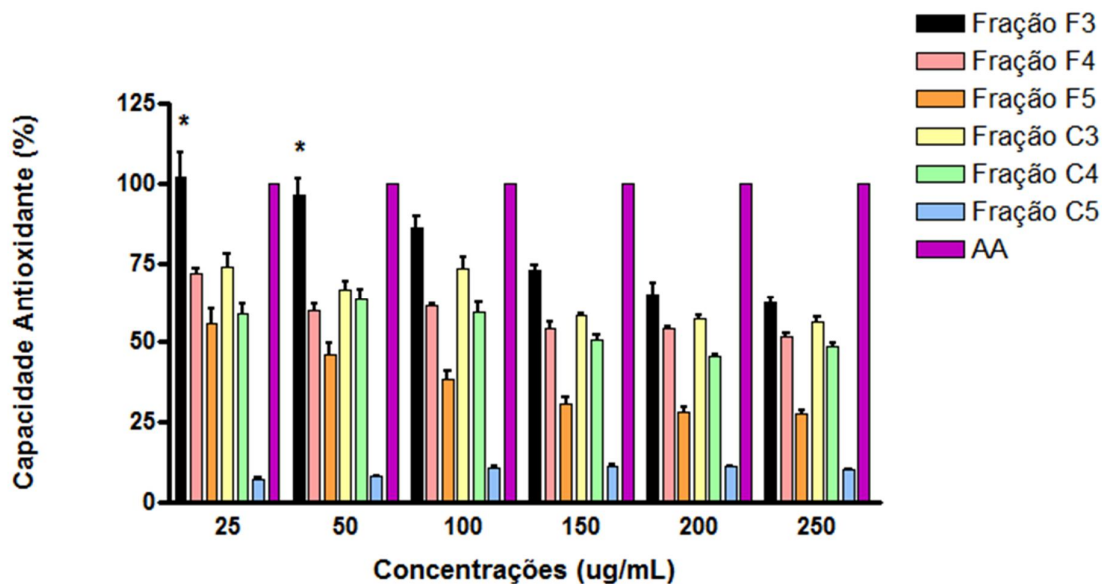
observados na TABELA 8. Para efeito de cálculo o ácido ascórbico foi considerado 100% de atividade antioxidante.

GRÁFICO 1 – CURVAS ANALÍTICAS DE ÁCIDO ASCÓRBICO, ÁCIDO GÁLICO E RUTINA



FONTE: O Autor (2015)

TABELA 8 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL COM RELAÇÃO AO ÁCIDO ASCÓRBICO



FONTE: O Autor (2015)

Os resultados obtidos revelam a capacidade antioxidante das diferentes frações da folha e do caule de *Mikania micrantha*, foi observado que quando comparados ao padrão (ácido ascórbico), somente a fração F3 (acetato de etila),

nas concentrações de 25 e 50 µg/mL não apresentou diferença estatística. Assim, é possível inferir que esta fração, nas concentrações indicadas, possui atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico, o que não foi evidenciado para as demais frações estudadas. Pelo fato de as demais frações não apresentarem capacidade antioxidante significativa, a diferença entre elas não foi assinalada.

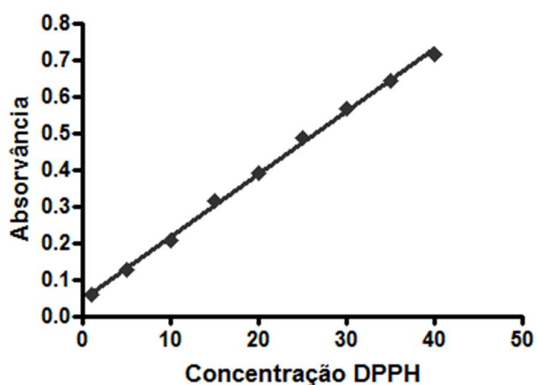
### 5.5.2 Método do DPPH

A partir dos resultados da avaliação fitoquímica preliminar procedeu-se à quantificação da capacidade antioxidante das frações acetato de etila, butanol e hidroalcoólica remanescente do extrato bruto das folhas e caule de *M. micrantha* através do método DPPH. Como controle positivo foi empregado o ácido ascórbico nas mesmas concentrações das amostras.

O método do DPPH baseia-se no descoloramento de uma solução cor violeta de um radical livre estável quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio (HUANG *et al.*, 2005; ABE *et al.*, 2014), ou seja, baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. A mudança de coloração pode ser visualizada na FIGURA 15.

A curva analítica de DPPH foi construída no Graph Pad Prism (versão 4.0) a partir das absorvâncias em 492 nm das soluções de DPPH e de suas respectivas concentrações em µg/mL. A equação de reta  $Y=0,0171x+0,0458$  e  $r^2=0,9983$  obtidos (GRÁFICO 2) foram empregados para o cálculo da % DPPH remanescente (TABELA 9), uma vez que substituição do x pela absorvância resulta na concentração de DPPH.

GRÁFICO 2 – CURVA ANALÍTICA DE DPPH



FONTE: O Autor (2015)

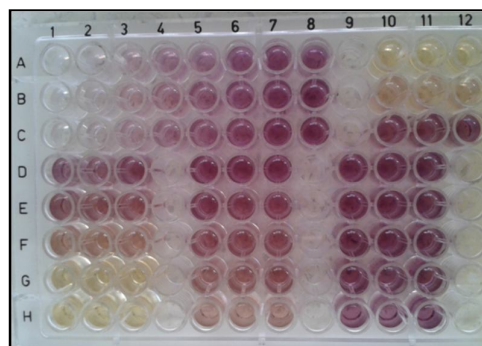
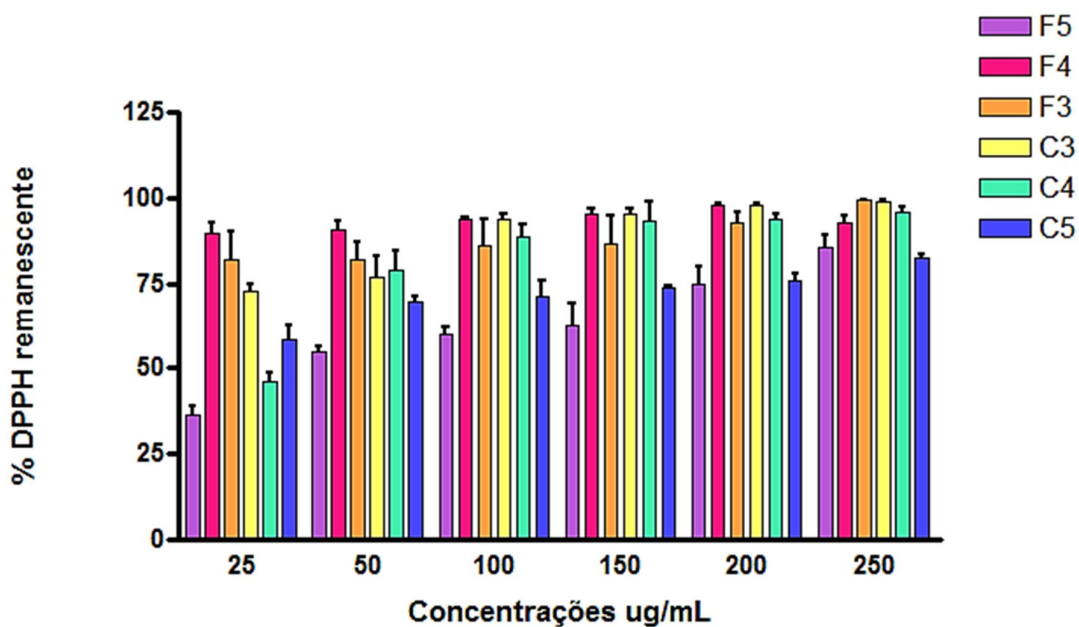


FIGURA 15 – MUDANÇA DE COLORAÇÃO NA REAÇÃO DE DPPH  
FONTE: O Autor (2015)

TABELA 9 – PORCENTAGEM DE DPPH REMANESCENTE



FONTE: O Autor (2015)

As seis frações avaliadas quanto à capacidade antioxidante apresentaram atividade, em maior ou menor grau. Correlacionando os dados das absorvâncias e as concentrações, no tempo 0 minutos e 30 minutos, foi possível a elaborar uma tabela, que demonstra a porcentagem de DPPH remanescente nas folhas e no caule (TABELA 9). Dessa forma, pode-se observar que na concentração de 25 µg/mL, da fração hidroalcoólica de folhas e da fração butanólica de caule, a porcentagem de DPPH remanescente é superior, quando comparada com as demais frações. Nas demais concentrações de DPPH remanescente analisadas, nenhuma apresentou resultado significativo.

## 5.6 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Vários métodos e técnicas analíticas são descritos para identificação de substâncias, entre os quais, pode-se escolher avaliando fatores referentes à substância (propriedades químicas, físicas e biológicas) como também do método

utilizado (disponibilidade, simplicidade, viabilidade financeira, adequação técnica, entre outros).

Um método muito usado no perfil das substâncias químicas presentes em extratos vegetais é a cromatografia em camada delgada (CCD). As substâncias encontram-se na ordem de microgramas e o procedimento analítico é realizado de forma mais rápida, com baixo custo e de maneira simplificada. Por essas razões, a cromatografia em camada delgada pode auxiliar preliminarmente, na identificação de metabólitos especiais, tais como taninos, flavonoides entre outros.

Esta análise permitiu observar que os perfis cromatográficos obtidos para os extratos brutos e frações foram semelhantes qualitativamente, no que diz respeito ao aparecimento de manchas nas placas quando observadas sob irradiação UV (365 nm). Os sistemas solventes de melhor separação foram os seguintes: Acetato de Etila (80), Ácido Fórmico (5), Tolueno (10) e Água (2) v/v (FIGURAS 16, 18, 20 e 21); Acetato de Etila (40), Ácido Fórmico (4,5), Ácido Acético (4,5) e Água (2) v/v (FIGURA 17); e Butanol (4), Ácido Acético (1), Água (5) v/v (FIGURA 19 E 22).

A polaridade e a escolha do sistema solvente são importantes fatores para a separação de diversos compostos, tais como os fenólicos de baixo peso molecular. Os resultados, as colorações desenvolvidas dos extratos e frações foram comparados entre os melhores sistemas solventes e em algumas, foi adicionado um padrão-referência para uma possível correlação.

A presença de ácidos fenólicos nos extratos e frações foi inicialmente constatada pela presença de coloração fluorescente característica de tons amarelados e esverdeados. Assim como, pelo uso de reveladores específicos, por exemplo, reagente de NEU (difetilborinato de amino-2etila) (FIGURAS 16-20), solução oxalo-bórica 0,5% em metanol (FIGURA 21) e solução de cloreto de alumínio 2% em metanol (FIGURA 22).

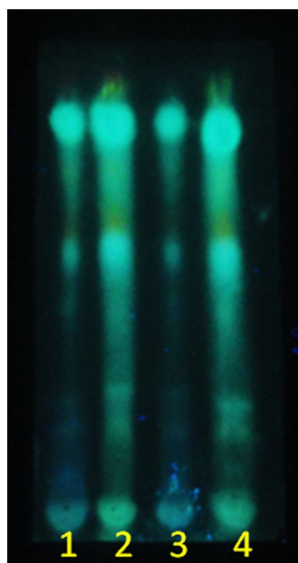


FIGURA 16 - PLACA DE CCD (I) APÓS REVELAÇÃO COM REAGENTE DE NEU. 1 - EXTRATO BRUTO DE CAULE; 2 - EXTRATO BRUTO DE FOLHA; 3 - FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA REMANESCENTE DO CAULE; 4 - FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA REMANESCENTE DE FOLHA.

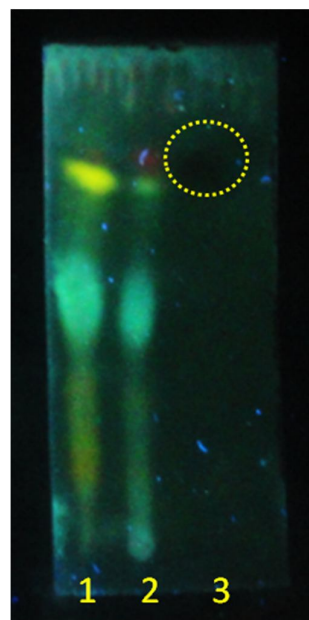


FIGURA 18 - PLACA DE CCD (III) APÓS REVELAÇÃO COM REAGENTE DE NEU. 1 - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE FOLHA; 2 - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE; 3 - PADRÃO DE PIROGALOL.

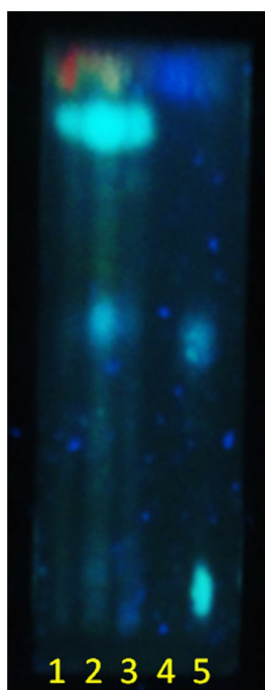


FIGURA 17 - PLACA DE CCD (II) APÓS REVELAÇÃO COM REAGENTE DE NEU. 1 - PRECIPITADO; 2 - EXTRATO BRUTO DE FOLHA; 3 - EXTRATO BRUTO DE CAULE; 4 - PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO; 5 - PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO.

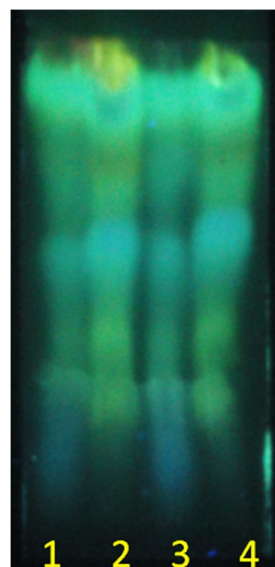


FIGURA 19 - PLACA DE CCD (IV) APÓS REVELAÇÃO COM REAGENTE DE NEU. 1 - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE FOLHA; 2 - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE; 3 - FRAÇÃO BUTANÓLICA DE FOLHA; 4 - FRAÇÃO BUTANÓLICA DE CAULE.

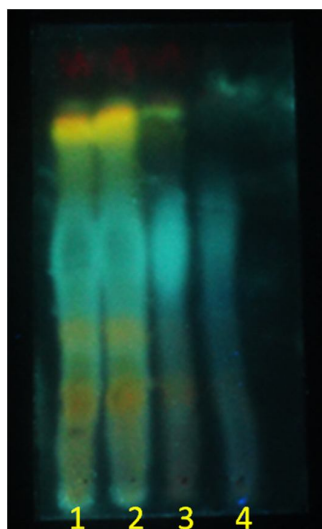


FIGURA 20 - PLACA DE CCD (V) APÓS REVELAÇÃO COM REAGENTE DE NEU. 1 - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE FOLHA; 2 - FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE; 3 - FRAÇÃO BUTANÓLICA DE FOLHA; 4 - FRAÇÃO BUTANÓLICA DE CAULE.

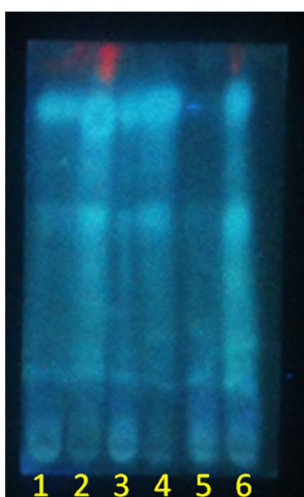


FIGURA 21 - PLACA DE CCD (VI) APÓS REVELAÇÃO COM SOLUÇÃO OXALOBÓRICA 0,5%. 1 - EXTRATO BRUTO ACETÔNICO DE CAULE; 2 - EXTRATO BRUTO ACETÔNICO DE FOLHA; 3 - EXTRATO BRUTO METANÓLICO DE CAULE; 4 - EXTRATO BRUTO METANÓLICO DE FOLHA; 5 - FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA REMANESCENTE DO CAULE; 6 - FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA REMANESCENTE DE FOLHA.

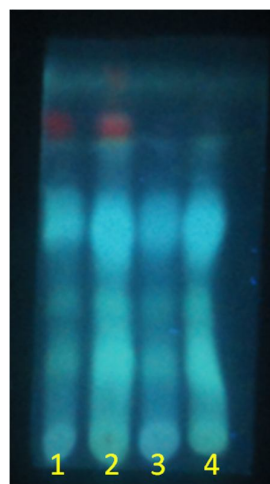


FIGURA 22 - PLACA DE CCD (VII) APÓS REVELAÇÃO COM SOLUÇÃO DE CLORETO DE ALUMÍNIO 2%. 1 - EXTRATO BRUTO ACETÔNICO DE CAULE; 2 - EXTRATO BRUTO ACETÔNICO DE FOLHA; 3 - EXTRATO BRUTO METANÓLICO DE CAULE; 4 - EXTRATO BRUTO METANÓLICO DE FOLHA.

Nas análises cromatográficas das FIGURAS 16, 18-20 podem ser observadas a presença de fluorescência em tons amarelados e esverdeados, ou seja, estes cromatogramas são positivos para a presença de compostos fenólicos. Já na FIGURA 17, além da evidência de compostos fenólicos, ocorreu a adição de

dois padrões (ácido ferúlico e ácido clorogênico), sendo que o extrato bruto de folha apresenta uma fluorescência correspondente ao do ácido clorogênico.

Todavia, as FIGURAS 16, 18-20 apresentam coloração alaranjada característica para a presença do grupo de flavonoides, assim como na FIGURA 18 a mancha escura, próximo ao final do cromatograma é esperada na reação do reativo de NEU com taninos, nesse caso o padrão de pirogalol. Da FIGURA 16 até a 20 o revelador utilizado foi o reativo de NEU.

Com relação à FIGURA 21 o revelador utilizado foi uma solução oxalo-bórica à 5% em metanol, que resultou em fluorescências azuladas, assim como para a FIGURA 22, em que o revelador foi uma solução de cloreto férrico à 2% em metanol. Essas figuras e suas colorações, também são indicativas para a presença de compostos fenólicos nos extratos e frações de *Mikania micrantha*, sendo que a fração acetato de etila apresenta uma maior frequência dessa classe de metabólitos, quando comparada com a fração butanólica.

## 5.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A fase móvel em CLAE arrasta os componentes da amostra através do sistema cromatográfico e participa do processo de separação. Ela deve ser de alto grau de pureza, dissolver a amostra sem decompor seus componentes e ser compatível com o tipo de detector utilizado (NAKASHIMA, 2005; AN *et al.*, 2013).

Segundo Collins e colaboradores (2006) a classe de detectores mais usada em CLAE é a óptica, que engloba os de absorvância (fotométrico de comprimento de onda fixo, espectrofotométrico de comprimento de onda variável, espectrofotométrico por arranjo de diodos), índice de refração, fluorescência e espalhamento de luz.

O uso de cartuchos C18-E como suporte para a extração em fase sólida permite melhor resolução e repetibilidade na separação cromatográfica; e a fase móvel acidulada, em sistema gradiente, resulta numa diminuição no tempo de análise (LOPES *et al.*, 2009).

A análise dos perfis cromatográficos de amostras (extratos brutos e frações) e padrões, pelo método da cromatografia líquida de alta eficiência, permitiu a

determinação da correlação entre os perfis cromatográficos das amostras e de alguns padrões, na espécie em estudo. As FIGURAS 23 e 24 apresentam uma varredura de 200-400 nm com o uso do detector de arranjo de fotodiodos (280 nm), das amostras de extrato bruto de folhas e caule, com suas respectivas frações, sem nenhuma correlação com os tempos de retenção.

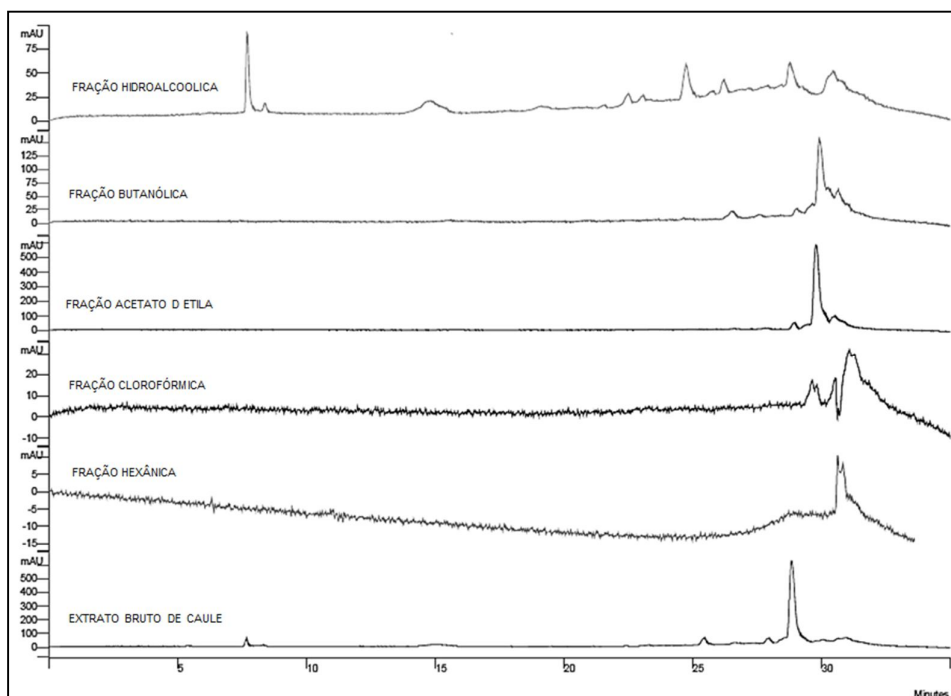


FIGURA 23 – PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE ARRANJO DE FOTODIODOS DAS FRAÇÕES DE CAULE E DO EXTRATO BRUTO DE CAULE 21  
FONTE: O Autor (2015)

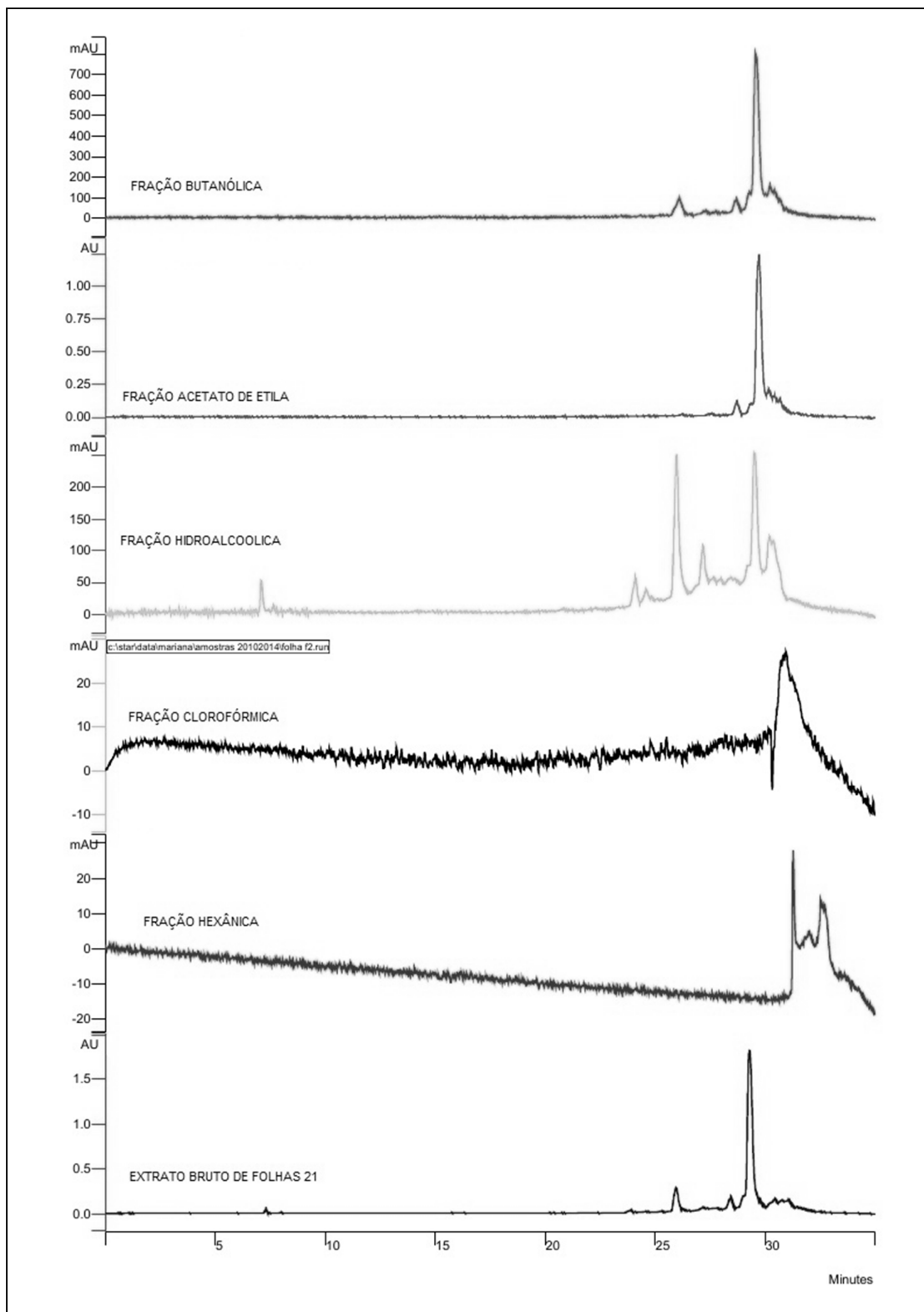


FIGURA 24 – PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE ARRANJO DE FOTODIÓDOS DAS FRAÇÕES DE FOLHA E DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA 21  
FONTE: O Autor (2015)

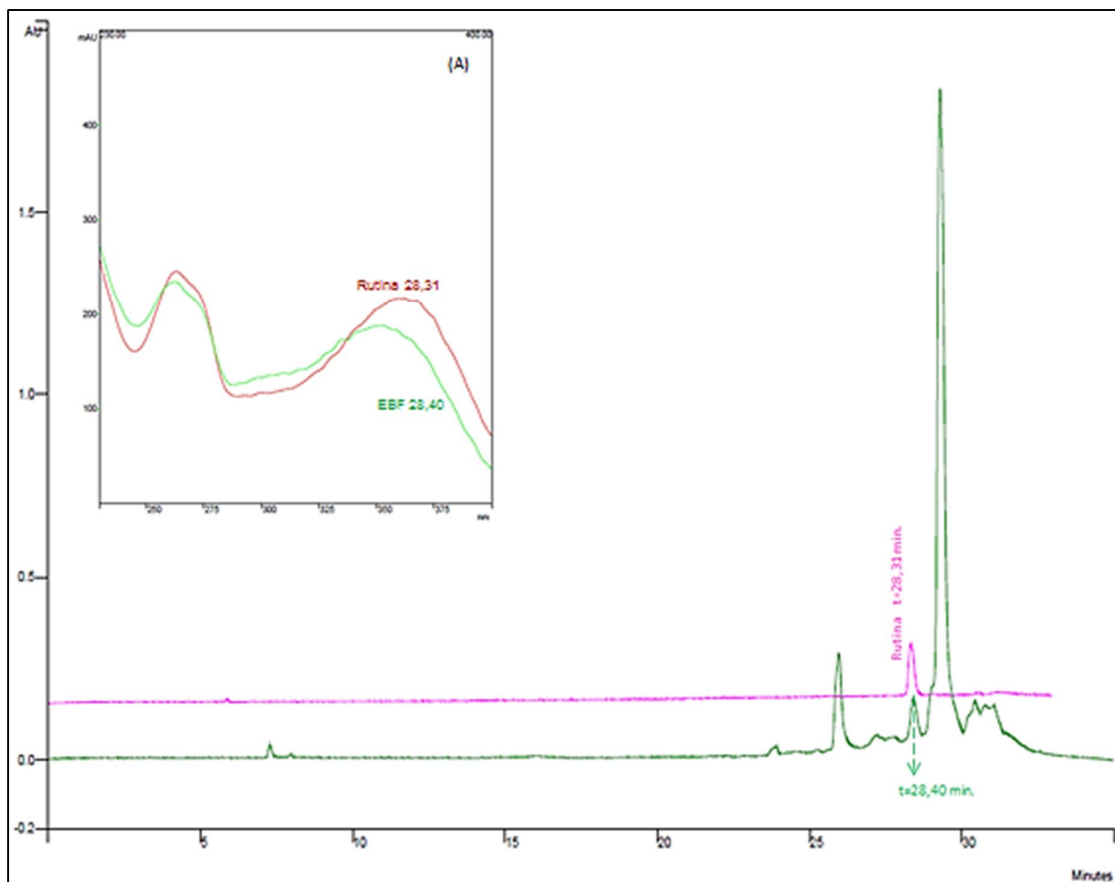


FIGURA 25 – PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FOTODIÓDOS DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA 21, EM RELAÇÃO AO PERFIL DO PADRÃO DE RUTINA  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 25 mostram que o pico presente no extrato bruto de folha (com maceração de 21 dias), o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 28,40 minutos é semelhante ao tempo de retenção da rutina que é de 28,31 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, rutina 308,287 nm e composto do extrato bruto de folha 297,167 nm, fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 25-A). Sendo assim, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,987590 de similaridade entre o padrão de rutina e o composto do extrato bruto de folha cujo  $t_r$  é de 28,40 minutos.

As FIGURAS 26-28 mostram os perfis cromatográficos de extrato bruto de caule, extrato bruto de folhas e as frações das folhas, respectivamente, no detector de fluorescência, com seus tempos de retenção.

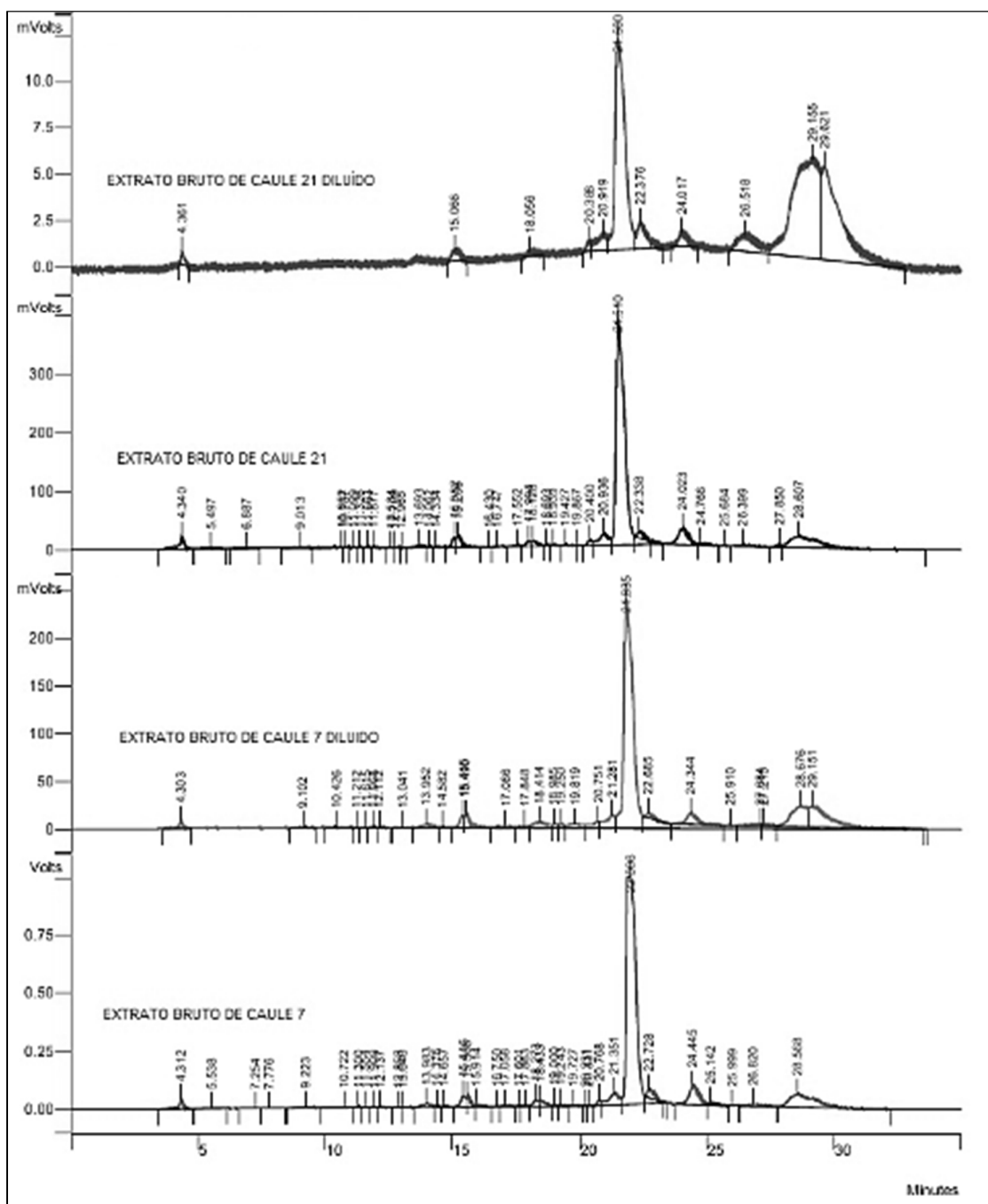


FIGURA 26 – PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA DOS EXTRATOS BRUTOS DE CAULE, COM DIFERENTES TEMPOS DE MACERAÇÃO (21 DIAS E 7 DIAS)  
 FONTE: O Autor (2015)

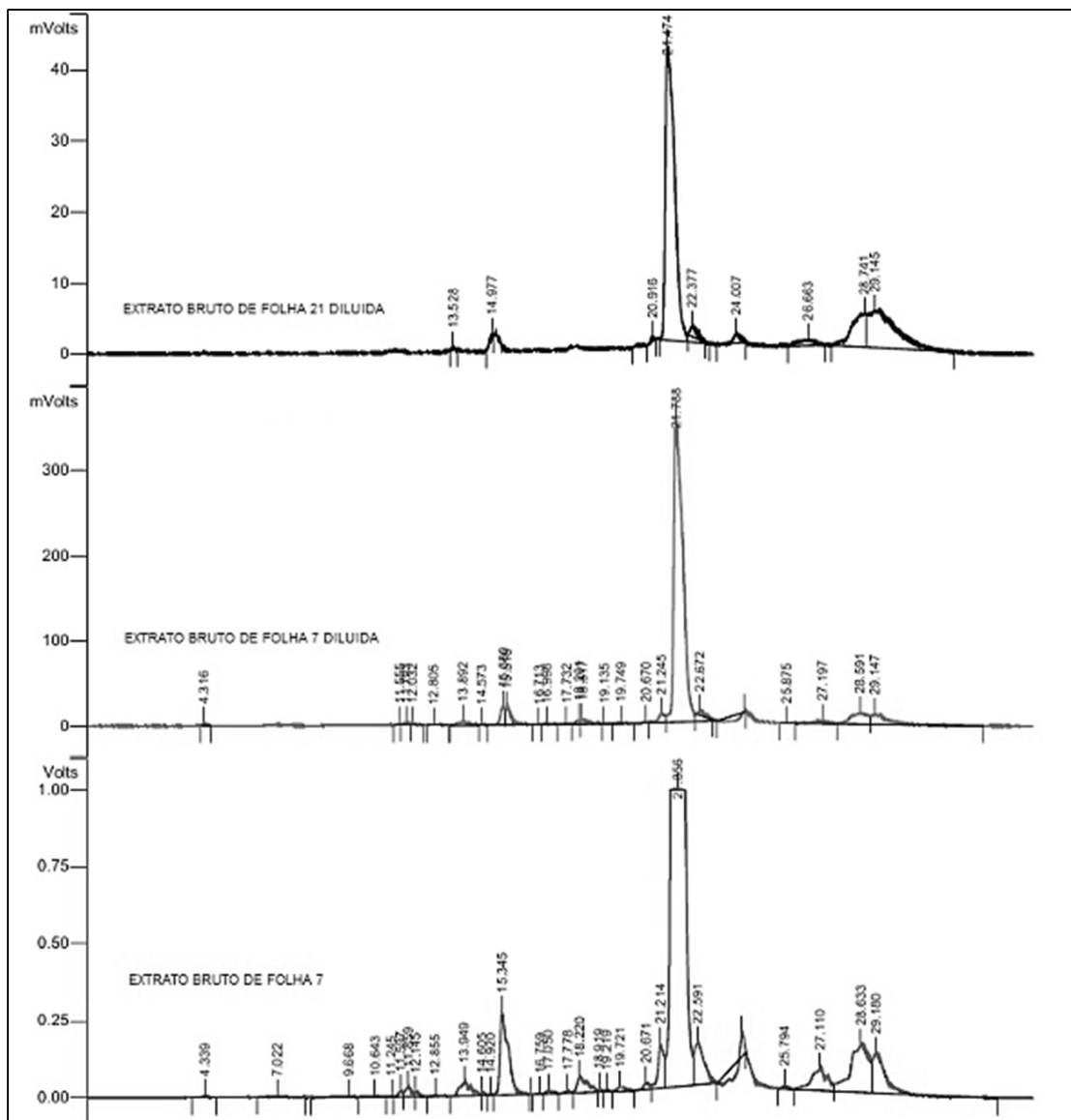


FIGURA 27 – PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA DOS EXTRATOS BRUTOS DE FOLHA, COM DIFERENTES TEMPOS DE MACERAÇÃO (21 DIAS E 7 DIAS)

FONTE: O Autor (2015)

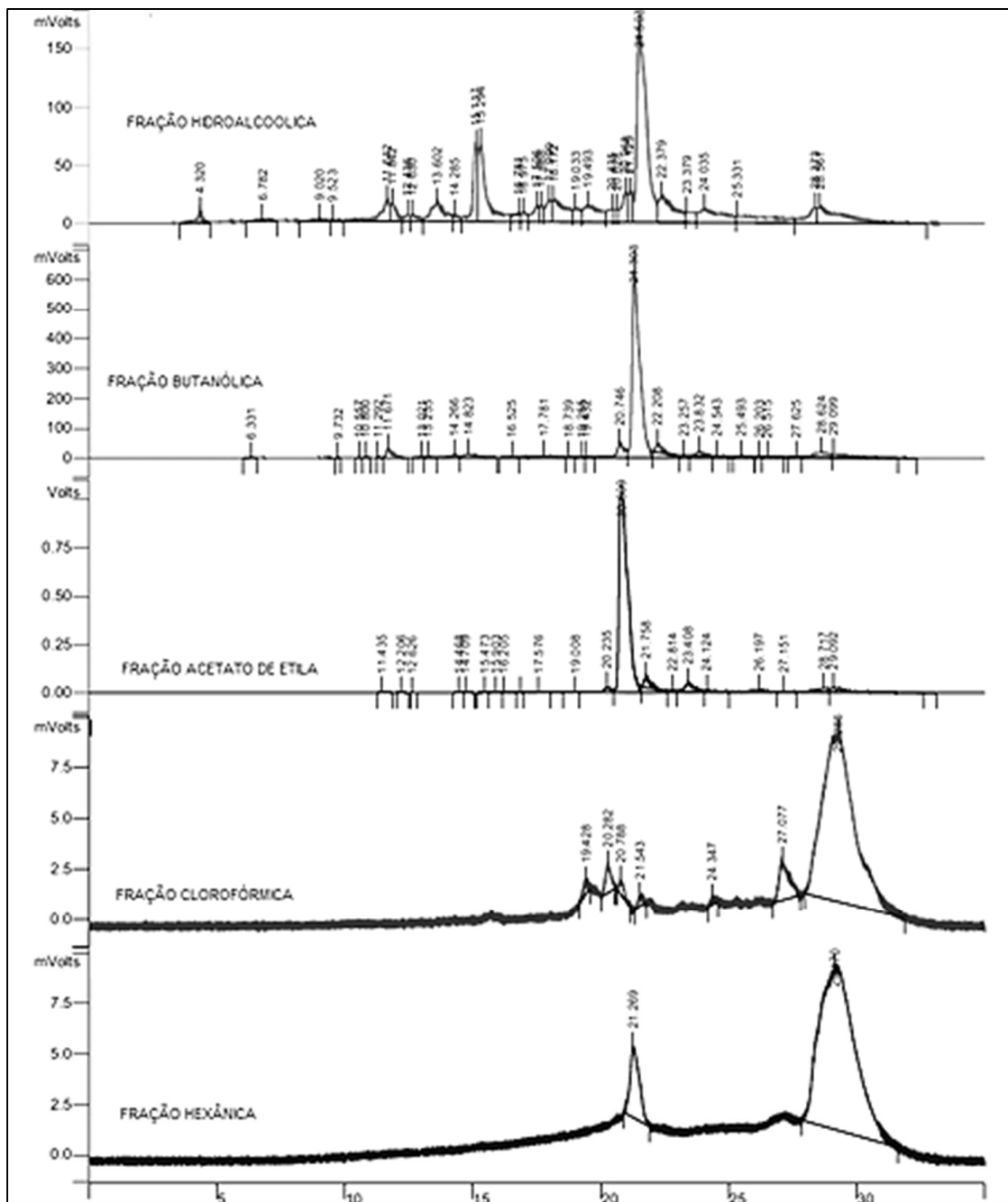


FIGURA 28 – PERFIS CROMATOGRÁFICOS COM DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA DAS FRAÇÕES DE FOLHA  
 FONTE: O Autor (2015)

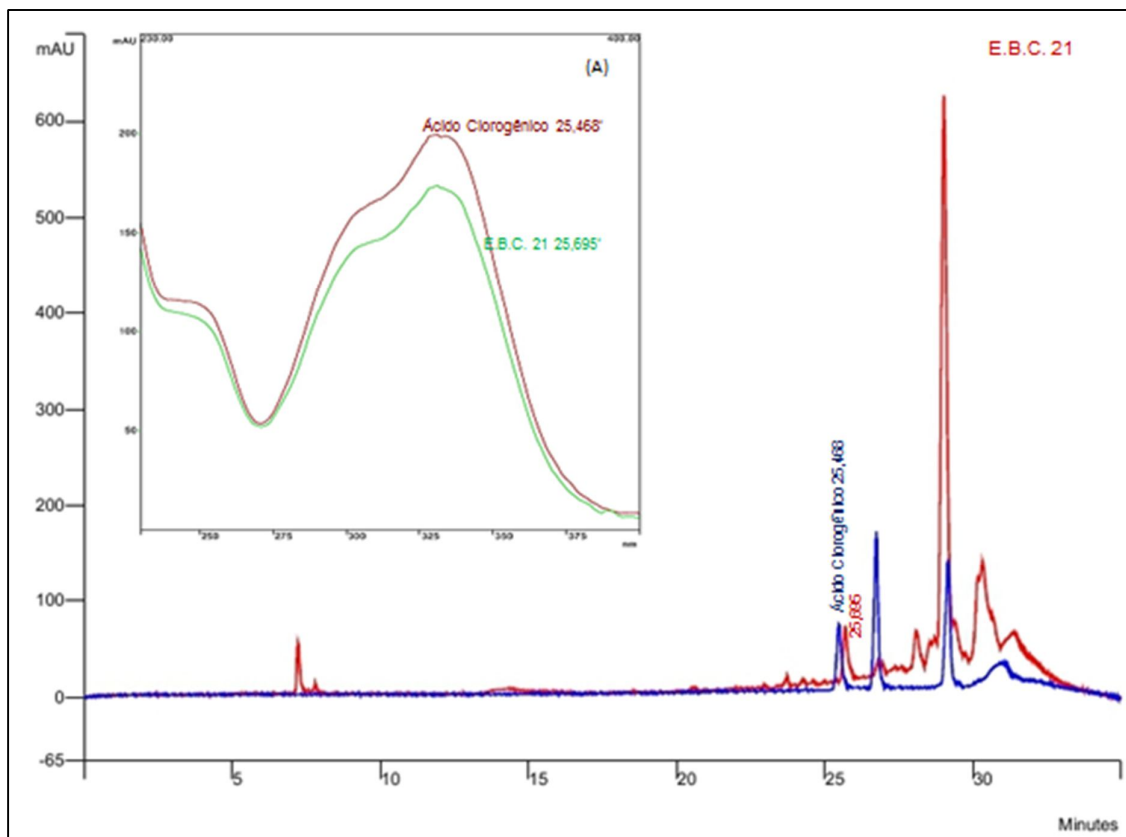


FIGURA 29 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BRUTO DE CAULE COM O PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO COM O PICO DO EXTRATO BRUTO DE CAULE (TEMPO DE RETENÇÃO 25,70 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 29 mostram que o pico presente no extrato bruto de caule (maceração de 21 dias), o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 25,70 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido clorogênico que é de 25,47 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido clorogênico 307,909 nm e composto do extrato bruto de caule 305,343 nm, fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 29-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,999464 de similaridade entre o padrão de ácido clorogênico e o composto do extrato bruto de caule cujo  $t_r$  é de 25,70 minutos.

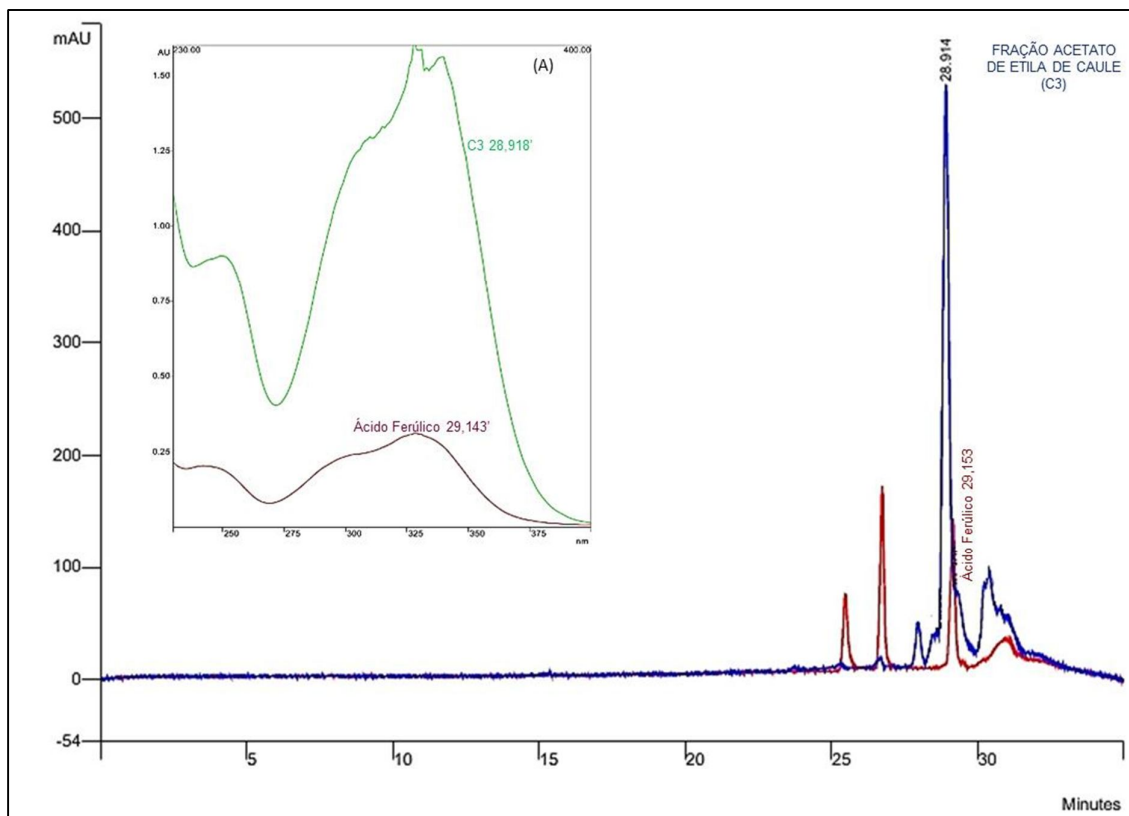


FIGURA 30 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE COM O PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE CAULE (TEMPO DE RETENÇÃO 28,92 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 30 mostram que o pico presente na fração caulinar de acetato de etila, o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 28,92 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido ferúlico que é de 29,14 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido ferúlico 304,450 nm e composto da fração caulinar de acetato de etila 310,404 nm, fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 30-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,990412 de similaridade entre o padrão de ácido ferúlico e o composto da fração caulinar de acetato de etila cujo  $t_r$  é de 28,92 minutos.

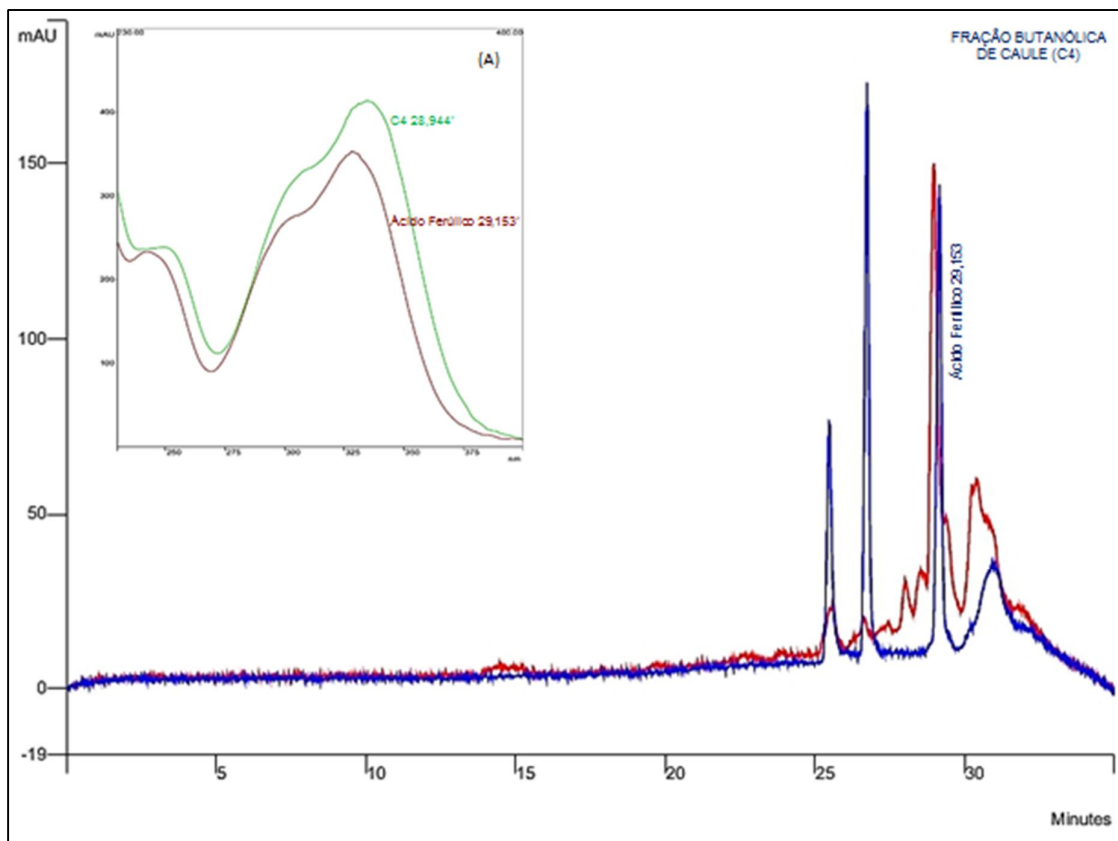


FIGURA 31 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DE CAULE COM O PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DE CAULE (TEMPO DE RETENÇÃO 29,94 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 31 mostram que o pico presente na fração caulinar butanólica, o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 29,42 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido ferúlico que é de 29,14 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido ferúlico 304,227 nm e composto da fração caulinar butanólica 309,793 nm, fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 31-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,990003 similaridade entre o padrão de ácido ferúlico e o composto da fração caulinar butanólica cujo  $t_r$  é de 29,94 minutos.

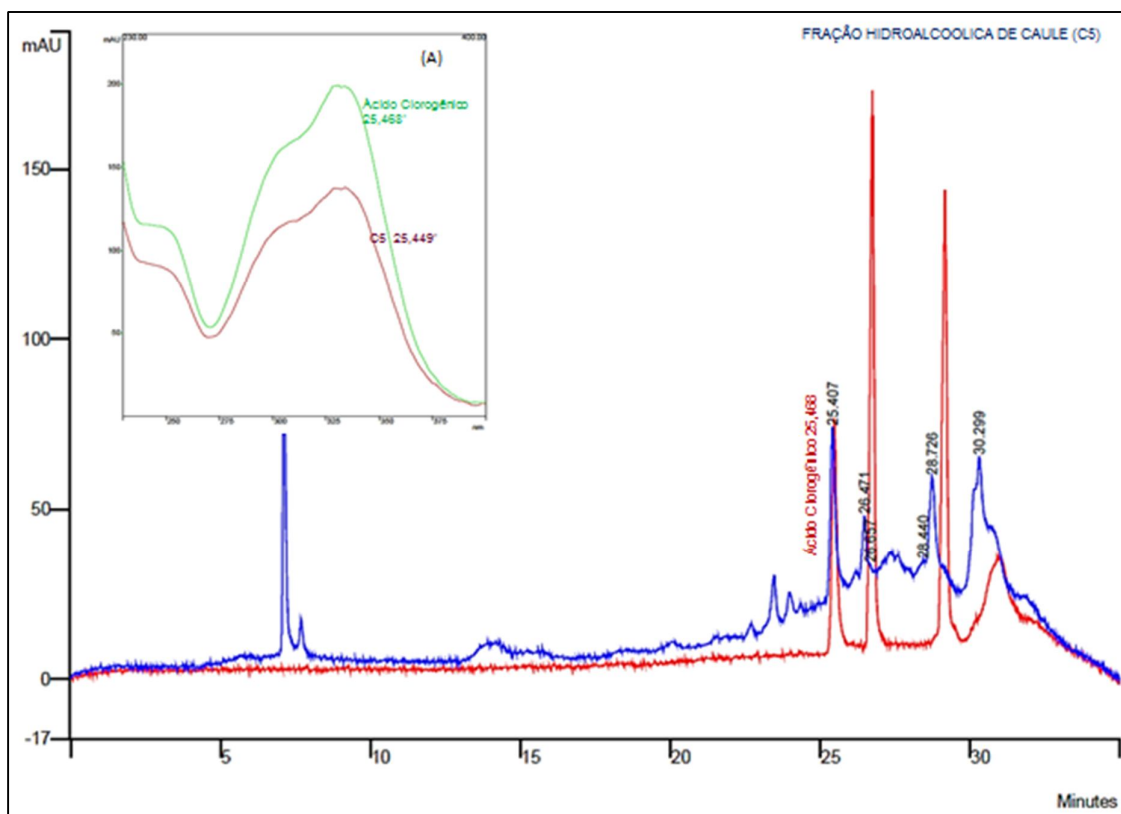


FIGURA 32 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA DE CAULE COM O PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO COM O PICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA (TEMPO DE RETENÇÃO 25,45 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 32 mostram que o pico presente na fração hidroalcoólica remanescente de caule, o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 25,45 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido clorogênico que é de 25,47 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido clorogênico 308,303  $\eta\text{m}$  e composto da fração hidroalcoólica remanescente de caule 304,901  $\eta\text{m}$ , fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 32-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,998558 de similaridade entre o padrão de ácido clorogênico e o composto da fração hidroalcoólica remanescente de caule cujo  $t_r$  é de 25,45 minutos.

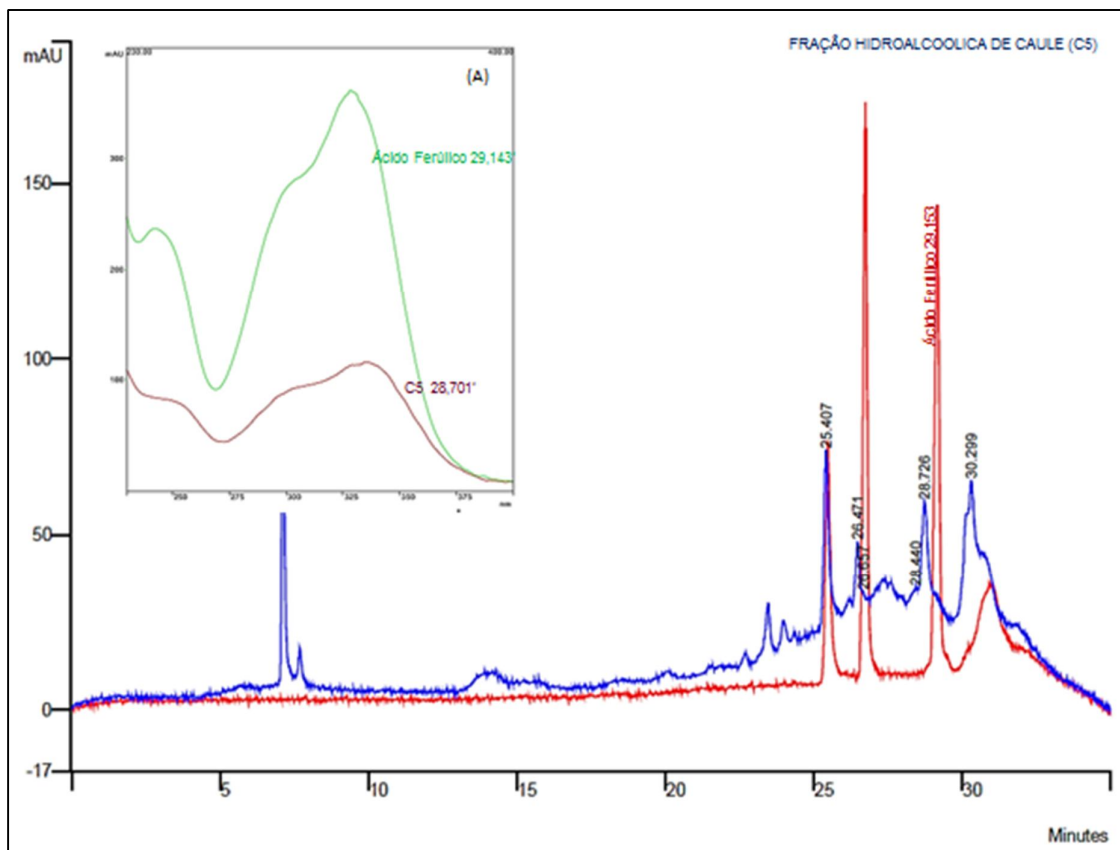


FIGURA 33 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA DE CAULE COM O PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DA FRAÇÃO HIDROALCOOLICA (TEMPO DE RETENÇÃO 28,70 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 33 mostram que o pico presente na fração hidroalcoólica remanescente caulinar, o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 28,70 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido ferúlico que é de 29,14 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido ferúlico 304,433  $\eta\text{m}$  e composto da fração hidroalcoólica remanescente caulinar 303,592  $\eta\text{m}$ , fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 33-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,987839 de similaridade entre o padrão de ácido ferúlico e o composto da fração hidroalcoólica remanescente caulinar cujo  $t_r$  é de 28,92 minutos.

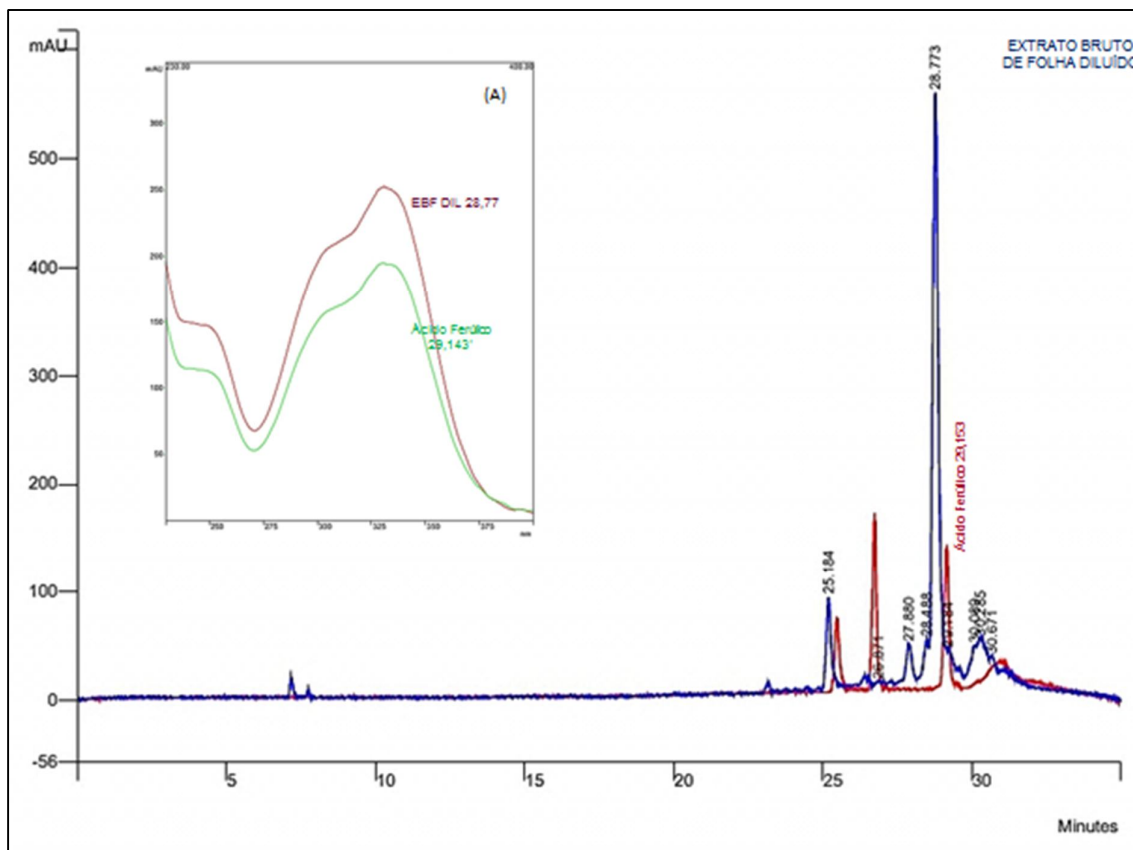


FIGURA 34 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA DILUÍDO COM PADRÃO DE ÁCIDO FERÚLICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO FERÚLICO COM O PICO DO EXTRATO BRUTO (TEMPO DE RETENÇÃO 28,77 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 34 mostram que o pico presente no extrato bruto de folha diluída, o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 28,77 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido ferúlico que é de 29,14 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido ferúlico 304,450 nm e composto do extrato bruto de folha diluída 310,594 nm, fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 34-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,988345 de similaridade entre o padrão de ácido ferúlico e o composto do extrato bruto de folha diluída cujo  $t_r$  é de 28,77 minutos.

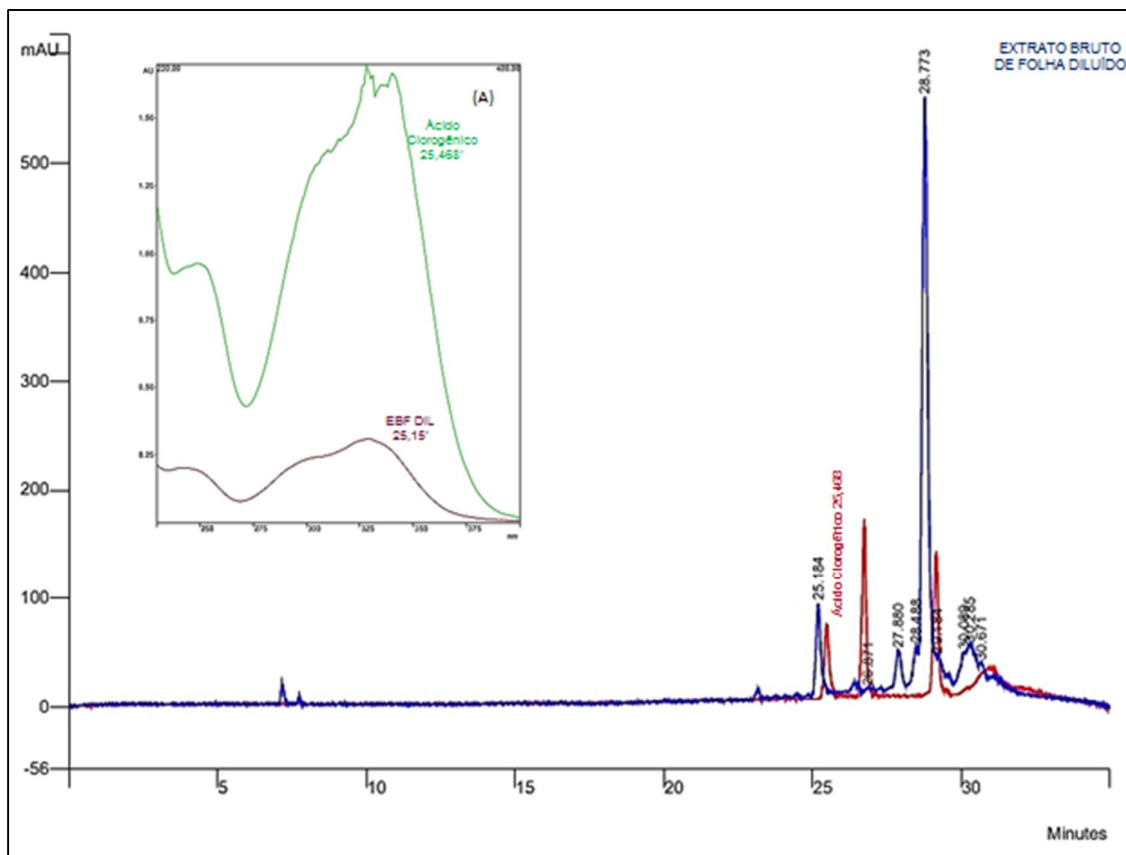


FIGURA 35 – PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BRUTO DE FOLHA DILUÍDO COM PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO (A) ESPECTRO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO COM O PICO DO EXTRATO BRUTO (TEMPO DE RETENÇÃO 25,15 MINUTOS)  
 FONTE: O Autor (2015)

Os cromatogramas da Figura 35 mostram que o pico presente no extrato bruto de folha diluído, o qual apresenta tempo de retenção ( $t_r$ ) de 25,15 minutos é semelhante ao tempo de retenção do ácido clorogênico que é de 25,47 minutos. Como os resultados dos espectros de varredura dos picos foram semelhantes, ácido clorogênico 307,987 nm e o composto do extrato bruto de folha diluído 307,826 nm, fez-se as sobreposições dos espectros para se obter a correlação entre os mesmos (FIGURA 35-A). Dessa forma, é possível observar grande similaridade entre os mesmos, confirmando esse mérito através do resultado de 0,999908 de similaridade entre o padrão de ácido clorogênico e o composto do extrato bruto de folha diluído cujo  $t_r$  é de 25,15 minutos.

## 6 CONCLUSÕES

A presença de características morfoanatômicas normalmente encontradas em representantes da família Asteraceae e do gênero *Mikania* foi demonstrado para *Mikania micrantha*, na análise morfológica da folha, da nervura mediana, pecíolo e caule, bem como a disposição dos feixes vasculares na nervura central e o conjunto de tricomas. Conclui-se que os resultados obtidos para as folhas *Mikania micrantha*, tanto morfológica e anatomicamente, são elementos científicos de grande importância na diagnose da espécie.

As principais classes de compostos encontrados para a espécie em estudo foram flavonoides, esteroides/triterpenoides, iridoides, saponinas, heterosídeos antociânicos, amino grupo e taninos hidrolisáveis. Esta grande diversidade de metabólitos especiais para *Mikania micrantha*, sugere uma discussão sobre a biossíntese e os fatores que influenciam a composição química diferenciada encontrada.

No doseamento de taninos, os resultados deste ensaio proporcionaram resultados promissores. Por essa razão, buscou-se a realização dos perfis cromatográficos por cromatografia líquida de alta eficiência, que evidenciou a presença de rutina, ácido clorogênico e ferúlico, tanto para folhas, quanto para o caule de *Mikania micrantha*.

As atividades antioxidantes foram deduzidas através dos resultados da cromatografia em camada delgada, ou seja, reações positivas com reagente de NEU e solução oxalo-bórica 0,5%. Dessa forma procedeu-se para a análise da capacidade antioxidante pelo método DPPH, que evidenciou a atividade sequestradora do radical DPPH. Assim como na metodologia, da capacidade antioxidante com fosfomolibdênio, que apresentou resultados significativos.

Esta pesquisa reporta, pela primeira vez, a presença do grupo dos taninos, uma classe de metabólitos especiais que até o presente momento não haviam sido relatadas para o gênero *Mikania*. Por esta razão, sugere-se uma promissora perspectiva para a formulação de produtos farmacêuticos e cosméticos, que auxiliam na cicatrização.

Todavia, tratando-se de uma espécie medicinal com poucas abordagens químicas, deve-se aprofundar seu conhecimento, investigando os componentes

polifenólicos ali encontrados, compreendendo notadamente os taninos, moléculas ainda quase desconhecidas no táxon e que possivelmente guardam algum relacionamento com sua atividade farmacológica.

Em vista dos resultados obtidos, a metodologia aqui aplicada demonstrou potencial para sua aplicação em outros extratos vegetais ricos em compostos fenólicos de baixo peso molecular.

Para dar continuidade com os estudos desta espécie, sugere-se também o isolamento de compostos, pois podem ser encontrados novos princípios ativos para o tratamento de diversas enfermidades, como inflamações e queimaduras, aplicações em que os taninos podem ser utilizados.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR, A. **Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social**. IMSS, México, p. 52, 1994 Disponível em: <<http://bvs.per.paho.org/texcom/cd048358/tratamie.pdf>>. Acesso em: 10/11/2013.
- AGUINALDO, A. M. *et al.* **Flavonoides from *Mikania cordata***. *Biochem Syst Ecol*, v. 31, p. 665–668, 2003.
- AMORIN, M. *et al.* **Pharmacobotanical study of the leaf and stem of *Mikania lanuginosa* for its quality control**. *Rev. Bras. Farmacogn*, v. 24, p. 531-537, 2014.
- AN, H. *et al.* **Simultaneous qualitative and quantitative analysis of phenolic acids and flavonoids for the quality control of *Apocynum venetum* L. leaves by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS and HPLC-DAD**. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 85, p. 295–304, 2013.
- ANDENBERG, A.A. *et al.* **Flowering Plants Eudicots Asterales. The Families and Genera of Vascular Plants**. Springer, Verlag, v. 3, p. 61-588, 2007.
- AUBREVILLE, A. **A floresta de pinho do Brasil**. *Anais Brasileiros de Economia Florestal* 2, v. 2, p. 21-36, 1949.
- BACKES, A. **Determinação da idade e regeneração natural de uma população de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em um povoamento florestal localizado no município de Caxias do Sul, RS, Brasil**. *Iheringia, Série Botânica*, v. 56, p. 115-130, 2001.
- BAKIR, M. *et al.* **Mikanolide from Jamaican *Mikania micrantha***. *Acta Crystallogr C*, v. 60, p. 798–800, 2004.
- BARDON, A. *et al.* **15- norGuaianolides and germacranolides from *Mikania mendocina***. *Phytochemistry*, v. 41, p. 845-849, 1996.
- BARRERO, A. F. *et al.* **Preparation, stereochemistry, and cytotoxic activity of the melampolides from *Mikania minima***. *J Nat Prod*, v. 63, p. 305–307, 2000.
- BARRETO, R. W.; EVANS, H. C. **The mycobiota of the weed *Mikania micrantha* in southern Brazil with particular reference to fungal pathogens for biological control**. *Mycol. Res.* v. 99, n. 3, p. 343-352, 1995. Disponível em: <[http://ac.els-cdn.com/S0953756209809118/1-s2.0-S0953756209809118-main.pdf?\\_tid=af49fa3e-9791-11e4-b9d4-00000aab0f01&acdnat=1420761449\\_2295d2ec4f76cba5e205f675f13ae667](http://ac.els-cdn.com/S0953756209809118/1-s2.0-S0953756209809118-main.pdf?_tid=af49fa3e-9791-11e4-b9d4-00000aab0f01&acdnat=1420761449_2295d2ec4f76cba5e205f675f13ae667)>. Acesso em: 10/11/2013.
- BARREIRO, E. J. **Produtos naturais bioativos de origem vegetal e o desenvolvimento de fármacos**. *Revista Química Nova*. Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 29-39, 1990.

BARREIRO, E. J; BOLZANI, V. S. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos**. Revista Química Nova. Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARROSO, G.M. *et al.* **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 3, p. 237-315, 1991.

BAUTISTA, H.P. **Sistemática e filogenia de um gênero endêmico do Brasil: *Acritopappus* R.M.King & H.Rob. (Asteraceae, Eupatorieae)**. Tese de Doutorado, Universidade de Santiago de Compostela, Espanha. 2000.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Iowa: Iowa University, 1976.

BLOIS, M.S. **Antioxidant determinations by the use of stable free radical**. Nature, v.181, p.1199-1959, 1958.

BLUM, C.T. **Lista Preliminar de Espécies Vegetais da Floresta Ombrófila Mista no Paraná** - versão 2008. FLORAPARANÁ, Sociedade Chauá. Disponível em <[www.chaua.org.br/fa](http://www.chaua.org.br/fa)>. Acesso em: 10/11/2013.

BOHLMANN, F. *et al.* **Diterpenes from *Mikania* species**. Phytochemistry, v. 17, p. 4836, 1981.

BOLINA, R.C. *et al.* **Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker**. Rev. bras. farmacogn., v.19, n.1b, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W., *et al.* **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity**. Lwt – Food Science and Technology, v.2, p.25-30, 1995.

BRITEZ, R. M. *et al.* **Estratégias de conservação da Floresta com Araucária para o Estado do Paraná - Diagnóstico da vegetação**. In: Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação 2. Campo Grande. Anais: Rede Nacional Pró-Unidades de Conservação, v. 3, p. 731-737, 2000.

BRITO, J. F. A.; ALQUINI, Y. **A new method for staining botanical material embedded in glycol metacrilate (GMA)**. Arquivos de Biologia e Tecnologia, v. 39, n. 4, p. 949- 951, 1996.

BUDEL, J. M. **Estudo farmacognóstico de espécies de carqueja: *Baccharis dracunculifolia* DC., *B. articulata* (Lam.) Pers., *B. cylindrica* (Less) DC. *B. gaudichaudiana* DC., ASTERACEAE**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. Dissertação de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2003.

BUDEL, J. M. *et al.* **Caracteres anatômicos de folha e caule de *Calea uniflora* Less., Asteraceae**. Rev. Bras. Farmacogn, v.16, p. 53-60, 2006.

BUDEL, J. M. *et al.* **Contribution to the pharmacognostic study of *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker "Guaco" for the quality control**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.19, n. 2b, 2009.

- BUDEL, J. M.; DUARTE, M.R. **Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker (guaco), visando o controle de qualidade da matéria-prima.** Braz. J. Pharm. Scienc., v. 45, p. 178-88, 2009.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. M. **Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios.** *Gazeta Médica da Bahia*. Bahia, v. 78, suplemento 1, p. 98-106, 2008.
- CAMILOTTI, J.G. *et al.*, **Anatomical Characters of Leave and Stem of *Calea serrate* Less., Asteraceae.** Braz. Arc. Biol. Technol, v. 57, p. 867-73, 2014.
- CAROLLO, C. A. *et al.* **Identificação do flavonóide 3-O-sulfato de Mikanina em *Mikania glomerata* (guaco) utilizando HPLC-DAD-ESI-TOF-MS e RMN de 1H.** Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cd29ra/resumos/T1397-1.pdf>>. Acesso em: 12/12/2014.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Embrapa Informação Tecnológica. Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras. Colombo (PR), v. 4, p. 644, 2010.
- CASTELLA, P. R.; BRITZ, R. M. (Org.). **A Floresta com Araucária no Estado do Paraná.** Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, p. 236, 2004.
- CASTRO, M. M. *et al.* **The use of secretory structures for identification of genera of Asteraceae from cerrado vegetation.** Rev. Bras. Bot., v. 20, p. 163-174, 1997.
- CHOU DHURY, A. K. **Controversial *Mikania* climber – a threat to the forests and agriculture.** Indian Forester, v. 98, p. 178-86, 1972. Disponível em: <<http://www.indianforester.co.in/index.php/indianforester/rt/printerFriendly/26539/0>>. Acesso em: 10/11/2013.
- COCK, M. J. W. **Potential biological control agents for *Mikania micrantha* H. B. K. from the Neotropical region.** Tropical Pest Management, v. 28, p. 242-254, 1982. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09670878209370717#.VLF27CvF9qU>>. Acesso em: 10/11/2013.
- COLLINS, C. H. *et al.* **Fundamentos de Cromatografia.** Campinas, Editora Unicamp, 2006.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants.** Columbia University Press, New York, 1988.
- CUENCA, M. D. R. *et al.* **Sesquiterpene lactones from *Mikania micrantha*.** J. Nat. Prod, v. 51, p. 625, 1988.
- CUENCA, M. R. *et al.* **Monoterpenes and lignanes from *Mikania saltensis*.** J Nat Prod, v. 54 p. 1162–1164, 1991.

CUENCA, M.R., *et al.* **Sesquiterpene lactones of *Mikania minima***. *Phytochemistry*, v. 32, p. 5091-5131, 1993.

DUTRA, M. G. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás**. Anápolis: UniEv., 2009.

ENGLBERGER, K. ***Mikania micrantha***. 2008. 1 fotografia, color. Disponível em: <<http://www.hear.org/pier/imagepages/singles/mimicp12.htm>>. Acesso em: 10/11/2014.

FABBRI, H. *et al.* **Diterpenes of *Mikania lindbergii* baker**. *Biochem Syst Ecol*, v. 25, p. 562–564, 1997.

FARMACOPEIA Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Fundação Oswaldo Cruz. 5. ed., v. 1. Brasília: Anvisa, 2010.

FARMACOPEIA Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Fundação Oswaldo Cruz. 5. ed., v. 2. Brasília: Anvisa, 2010.

FERREIRA, S.C. *et al.* **A Família Asteraceae em um Fragmento Florestal de Viçosa**. *Rodriguésia*, v. 60, n.4, p. 903-942, 2009.

FERREIRA, F. P.; OLIVEIRA, D. C. R. de. **Novos componentes de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker**. *Tetrahedron Letters*, v. 51, n. 52 , p. 6856-6859, 2010.

FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. New York: Van Nostrand, 1949.

FRANCO, G. **Bioprospecção das partes aéreas e óleo essencial de *Liquidambar styraciflua* L. ALTINGIACEAE**. 118f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

FRANTZ, S. **Approvals: the demise of the blockbuster?** *Nature Reviews Drug Discovery*. London, v. 4, n. 1, p. 93-94, 2005.

GASPARETTO, J.C. *et al.* ***Mikania glomerata* Spreng e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil**. *Rev. Bras. Farmacogn.* v. 20, p. 627-640, 2010.

GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R. **Espinhaço range region, eastern Brazil**. In: *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. World Wide Fund For Nature (WWF) & The World Conservation Union (IUCN). Cambridge, v. 3, p. 397-404, 1997.

GIULIETTI, A.M. *et al.* **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies**. *Bol. Bot. Univ. São Paulo*, v. 9, p. 1-151, 1987.

- GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2003.
- HERZ, W. **Structure elucidation of sesquiterpene dilactones from *Mikania scandens* (L.) Willd.** J Org Chem, v. 35, p. 1453–1463, 1970.
- HERZ, W. **Terpenoid chemistry of *Mikania* species** J Indian Chem Soc, v. 75, p. 559–564, 1998.
- HERZ, W.; KULANTHAIVEL, P. **Diterpenes and sesquiterpene lactones from *Mikania congesta***. Phytochemistry, v. 24, p. 1761–1768, 1985.
- HERZ, W. *et al.* **The structure of mikanolide, a new sesquiterpene dilactone from *Mikania scandens* (L.) Willd.** Tetraedron Lett. v.3111, 1967.
- HERZ, W. *et al.* **Isolation, structure and synthesis of 4',5,6,7-tetrahydroxy-3'-methoxyflavone (Batatifolin), a new flavone from *Mikania batatifolia* DC.** Tetraedron Lett. 3419, 1969.
- HOLM, L. G. *et al.* **The World's Worst Weeds: Distribution and Biology**. University Press of Hawaii: Honolulu, 1977.
- HICKEY, L. J. **Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas**. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, v. 16, p. 1-26, 1974.
- HOLMES, W. C. **Revision of the Old World *Mikania* (Compositae)**. Botanisches Jahress Beitraege fuer Systematik, v. 103, p. 211–246, 1982.
- HOLMES, W. C. **The genus *Mikania* (Compositae, Eupatorieae) in Mexico**. Sida Bot Misc, v. 5, p. 27–28, 1990.
- HOLMES, W. C. A review preparatory to an infrageneric classification of *Mikania* (tribe: Eupatorieae). In: Hind DJN, Jeffrey C, Pope GV (eds) *Advances in Compositae Systematics*, Royal Botanical Gardens: Kew. p. 239-254, 1995.
- HUANG, D. *et al.* **The chemistry behind antioxidant capacity assays**. J. Agric. Food Chem., v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.
- HUANG, H. *et al.* **Allelopathic potential of sesquiterpene lactones and phenolic constituents from *Mikania micrantha* H. B. K.** Biochemical Systematics and Ecology, v. 36, p. 867-871, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197808001221>>. Acesso em: 12/12/2013.
- HUECK, K. **As florestas da América do Sul: ecologia, composição e importância econômica**. São Paulo, Polígono, 1972.
- INSTITUTO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Recursos naturais e meio ambiente: uma visão do Brasil**. Rio de Janeiro, v. 2, p. 208, 1997.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill Book, 1940.

JUDD, W.S. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KIANG, A. *et al.* **Constituents of *Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Robinson (Compositae) . Isolation of Mikanin, Epifriedelinol, and Fumaric Acid; the Xstructure of Mikanin**. J. Chem. Soc. Nov. p. 6371, 1965. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/1965/jr/jr9650006371>>. Acesso em: 12/12/2014.

KING, R. M.; ROBINSON, H. **The genera of the Eupatorieae (Asteraceae)**. Missouri Botanical Garden, St. Louis, v. 22, p. 581, 1987.

KLEIN, R.M. **O aspecto dinâmico do pinheiro brasileiro**. Sellowia, v. 12, p. 17-44, 1960.

KLEIN, R.M. **Aspectos dinâmicos da vegetação do sul do Brasil**. Sellowia, v. 36, p. 5-54, 1984.

KOCH, Z. **Araucária: a floresta do Brasil Meridional**. Curitiba: Olhar Brasileiro, p. 148, 2002.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Edur, 1997. 198 p.

KRAUTMANN, M. *et al.* **C-15-funcionalized eudesmanolides from *Mikania campanulata***. J Nat Prod, v. 70, p. 1173–1179, 2007.

LEITE, P.F.; KLEIN, R.M. **Vegetação**. In Geografia do Brasil: Região Sul. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, v. 2, p. 113-150, 1990.

LOBITZ, G. O. *et al.* **Diterpenes and sesquiterpenes from *Mikania banisteriae***. Phytochemistry, v. 46, p. 161-164, 1997.

LOBITZ, G. O. *et al.* **Kaurene diterpenes from *Mikania vitifolia***. Phytochemistry, v. 49, p. 805-809, 1998.

LOPES, G. C. *et al.*, **Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência**. Braz. J. Pharm. Sci., v. 45, n. 1, p. 135-143, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-82502009000100017&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-82502009000100017&script=sci_arttext)>. Acesso em: 12/12/2013.

LOWE, S. *et al.* **100 of the World's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database**. IUCN-ISSG, 2001. Disponível em: <[http://www.issg.org/database/species/reference\\_files/100English.pdf](http://www.issg.org/database/species/reference_files/100English.pdf)>. Acesso em: 10/11/2013.

- MAACK, R. **Notas complementares a apresentação preliminar do Mapa Fitogeográfico do Estado do Paraná (Brasil)**. Bol. Geo, Rio de Janeiro. p.450, 1981.
- MATHUR, S.; CENIS, F. **Terpenes of *Mikania mongenans***. Phytochemistry, v. 12, p. 226, 1973.
- MILAN, P. *et al.* **Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species**. Braz Arc Biol Technol, v. 49, p. 135-144, 2006.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos & Departamento de Assistência Farmacêutica Ministério da Saúde, 2006.
- MOREIRA, E. A. **Marcha sistemática de análise em fitoquímica**. Tribuna Farmacêutica, v. 47, n. 1, p. 1-19, 1979.
- NAKAJIMA, N.J.; SEMIR, J. **Asteraceae do Parque Nacional da Serra da Canastra**. Minas Gerais, Revta. Brasil. Bot. v. 24, n. 4, p. 471-478, 2001.
- NAKASHIMA, K. **High-performance liquid chromatographic analysis of drugs of abuse in biologic samples**. Journal of Health Science, Tokio, v. 51, n. 3, p. 272-277, 2005.
- NAKASHIMA, T. **Manual prático de fitoquímica**. Curitiba: Departamento de Farmácia - UFPR, 1993.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Information supplement 15th M100-S15. Wayne, PA: NCCLS/CLSI, 2005/CLSI. 2005.
- NEVES, L. J.; SÁ, M. F. A. **Contribuição ao estudo de plantas medicinais *Mikania glomerata* Spreng**. Rev Bras Farm, v. 72, p. 42-47, 1991.
- NEWMAN, D.J. *et al.* **Natural Products as Source of New Drugs over the Period 1981-2002**. J. Nat. Prod, v. 66, p. 1022-1037, 2003.
- NUNEZ, C. V. *et al.* **Diterpene acids from *Mikania sp.* (Asteraceae)**. Biochem Syst Ecol, v. 32, p. 233-237, 2004.
- OHKOSHI, E. *et al.* **Ent-Kaurenoic acids from *Mikania hirsutissima* (Compositae)**. Phytochemistry, v. 65, p.885-890, 2004.
- OLIVEIRA, F. *et al.* **Isolamento e identificação de componentes químicos de *Mikania glomerata* Sprengel e de *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker**. Rev Farm Bioquim Univ São Paulo, v. 20, p. 169-183, 1984.
- OLIVEIRA, F. *et al.* **Morfodiagnose das folhas e das partes reprodutivas de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker**. Rev Bras Farmacogn 1: 20-34, 1986.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Farmacobotânica: curso de identificação de drogas vegetais**. São Paulo: Atheneu, p. 163, 1987.

OLIVEIRA, F. *et al.* **Morfologia externa das partes aéreas e anatomia foliar das espécies brasileiras de *Mikania* Will de now secção Globosae Robinson – visão farmacognóstica**, LECTA – USF, Bragança Paulista, v.12, n.1, p. 23-65, 1994.

OLIVEIRA, F. *et al.* **Estudo farmacognóstico da almécega-da-praia –*Mikania conferta* Gardn.** Lecta, v. 17, p. 43-68, 1999.

OLIVEIRA, F. *et al.* **Caracterização morfohistológica e verificação da atividade microbiológica da espécie vegetal *Mikania cordifolia* (Lf) Willd.** Lecta v.18, p. 33-63, 2000.

OLIVEIRA, A. M. A. *et al.*, **Comparative morpho-anatomical study of *Baccharis curitybensis* Heering ex Malme and *Baccharis spicata* (Lam.) Baill.** Lat. Am. J. Pharm, v. 30, p. 1560-1566, 2011.

OLIVEIRA, A. L. *et al.* **Supercritical extraction of coumarin from guaco (*Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*) for pharmaceutical applications.** The Journal of Supercritical Fluids, v. 83, p. 65–71, 2013.

OWENS, J. **Drug approvals: finding the niche.** Nature Reviews Drug Discovery. London, v. 6, n. 1, p. 99-101, 2007.

PALMEIRA FILHO, P. L.; PAN, S. S. K. **Cadeia farmacêutica no Brasil: avaliação preliminar e perspectivas.** BNDES Setorial. Rio de Janeiro, v. 1, n. 18, p. 3-22, 2003.

PARANÁ. **Instituto Ambiental do Paraná.** Plano de Manejo: Parque Estadual de Vila Velha. Curitiba, 2004. Disponível em:  
<<http://www.iap.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1255>>.  
Acesso: 10/11/2013.

PARKER, C. **The *Mikania* problem.** PANS, v. 18, p. 312–315, 1972. Disponível em:  
<<http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/09670877209411811#.VLF7MCvF9qU>>.  
>. Acesso em 10/11/2013.

PÉREZ-AMADOR, V. M. *et al.*, **Phytochemical and pharmacological studies on *Mikania micrantha* H.B.K (Asteraceae)** Int. J. Exp. Bot., v. 79, p.77-80, 2010.

PEREIRA, C. B. *et al.* **Contribution to the Pharmacognostic Study of Carquejas: *Baccharis milleflora* DC., Asteraceae.** Acta Farmacéutica Bonaerense, v. 33, p. 841-847, 2014.

PEREIRA, M. A. **Perfil cromatográfico das substâncias fenólicas presentes em extratos de mel de assa peixe e avaliação de seu poder antioxidante.** 77p.  
Trabalho de Graduação (Licenciatura em Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. **Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E.** Analytical Biochemistry, v.269, p.337-341, 1999.

PIPPEN, J. **Mikania scandens.** 2006. 1 fotografia, color. Disponível em: <<http://www.jeffpippen.com/plants/mikania.htm>>. Acesso em: 10/11/2014.

RAMBO, B. **História da flora do planalto riograndense.** Anais Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues, v. 5, p. 185-232, 1953.

REIS, A. A. *et al.* **Terpenes from *Mikania hookeriana*.** Biochem Syst Ecol, v. 31, p. 1061- 1062, 2003.

REIS, A. A. *et al.* **Preliminary studies on the volatile constitution of *Mikania* species.** Rev Bras Farmacogn, v. 18(Supl.), p. 683-685, 2008.

RIOS V, E. *et al.* **Sesquiterpene lactones from *Mikania micrantha* and *Mikania cordifolia* and their cytotoxic and anti-inflammatory evaluation.** Fitoterapia, México, v. 94, p. 155-163, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X14000495>>. Acesso em: 12/12/2014.

RITTER, M.R. *et al.* **Asteraceae. O gênero *Mikania* Willd. secções Globosae e Thysigerae.** Boletim do Instituto de Biociências, Bot. 50: 1-84, 1992.

RITTER, M. R.; MIOTTO, S. T. S. **Taxonomia de *Mikania* Willd. (Asteraceae), no Rio Grande do Sul, Brasil.** Hoenhea v. 32, n. 3, p. 309-359, 168 fig., 2005. Disponível em: <[http://www.ambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/files/2011/11/hoehnea\\_32\(3\)\\_t\\_01.pdf](http://www.ambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/files/2011/11/hoehnea_32(3)_t_01.pdf)>. Acesso em: 12/12/2013.

ROBINSON, B. L. ***Mikania scandens* and its near relatives.** Contributions Gray Herbarium v. 104, p. 55-71, 1934.

RODRIGUES, R. F. I. O. *et al.* **Morfodiagnose da droga conhecida como cipó-almécega –*Mikania malacolepsis* Robinson.** Rev Farm. Bioquim, v. 32, p. 37-44, 1996.

ROQUE, N.; BAUTISTA, H. P. **ASTERACEAE: Caracterização e Morfologia Floral.** Ilustração: Natanael Santos & Maria Daniela Guimarães. Salvador: EDUFBA, p. 11-19, 2008.

RÜNGELER, P. *et al.* **Germacranolides from *Mikania guaco*.** Fitoterapia, v. 56, p. 475-489, 2001.

SANTOS, S.C. **LC characterisation of guaco medicinal extracts, *Mikania laevigata* and *M. glomerata*, and their effects on allergic pneumonitis.** Planta Med, v. 72, p. 679-684, 2006.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames: Iowa State College, 1951.

SAÚDE-GUIMARÃES, D.A.; FARIA, A.R. **Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi***. Rev Bras Farmacogn, v. 17, p. 455-465, 2007.

SHAO, H. *et al.* **Potential allelochemicals from an invasive weed *Mikania micrantha* H.B.K.** J Chem Ecol, v. 31, p. 1657–1668, 2005. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10886-005-5805-0>>. Acesso em: 10/11/2013.

SILVA, N.M. **A fitoterapia na história do Brasil**. Informativo Herbarium Saúde. n. 29, 2004.

SILVA, R.Z. *et al.* **Investigação fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana da *Mikania lanuginosa* DC (Asteraceae)**. Visão Acad, v. 3, p. 59-64, 2002.

SILVA, C.R. *et al.* **Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel**. Rev Bras Farmacogn, v. 18, p. 594-599, 2008.

SOUZA-BUTURI, F.O. **Flora Fanerogâmica da Ilha do Cardoso**. São Paulo: Instituto de Botânica, volume 13, pg 29-30, 2008.

SOUSA, C.M.M. *et al.* **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais**. Química Nova, v.30, n.2, p.351-355, 2007.

SOUZA, W. **Técnicas de microscopia eletrônica aplicadas às Ciências Biológicas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, p. 357, 2007.

SOUZA, V.C.; LORENZI, L. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2005.

STAHL, E. **Thin-layer chromatography – A laboratory handbook**. New York: Springer, 1969.

TALEB-CONTINI, S.H. *et al.* **Differences in secondary metabolites from leaf extracts of *Mikania glomerata* Sprengel obtained by micropropagation and cuttings**. Rev Bras Farmacogn, v. 16, p. 596-598, 2006.

TEOH, C. H. *et al.* **Prospects for biological control of *Mikania micrantha* HBK in Malaysia**. Planter, v. 61, p. 515-530, 1985. Disponível em: <<http://www.cabdirect.org/abstracts/19870796463.html>>. Acesso em: 10/11/2013.

TEIXEIRA, M.B. *et al.* **Vegetação**. In Levantamento de recursos naturais. IBGE, v. 33, p. 541-632. Rio de Janeiro, 1986.

- VELOSO, H. P. *et al.* **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal.** IBGE. Rio de Janeiro, p.124, 1991.
- VENEZIANI, R.C.S. *et al.* **Constituents of *Mikania glomerata* Sprengel.** Bichem Syst Ecol, v. 27, p. 99- 102, 1999.
- VIEGAS, J.R. *et al.* **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** Quím. Nova. v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- VILLASEÑOR, J. L.; ESPINOSA, F. J. **Catálogo de Malezas de México.** UNAM y Fondo de Cultura Económica. México, p. 407, 1998.
- WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E. M. **Dragenanalyse: Dunnschicht-chromatographische Analyse von Arzneidrogen.** Berlin: Springer, 1983.
- WANG, H. *et al.* **Cloning, expression and wounding induction of  $\beta$ -caryophyllene synthase gene from *Mikania micrantha* H.B.K. and allelopathic potential of  $\beta$ -caryophyllene.** Allelopathy Journal, v. 24, n. 1, p. 35-44, 2009.
- WATERHOUSE, B.M. **Know your enemy: recent records of potentially serious weeds in northern Australia, Papua New Guinea and Papua (Indonesia).** Telopea, v. 10, n. 1, p. 477-485, 2003. Disponível em: <  
[https://www.rbgsyd.nsw.gov.au/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0009/72729/Tel10Wat477.pdf](https://www.rbgsyd.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0009/72729/Tel10Wat477.pdf)  
>. Acesso em: 10/11/2013.
- WEI, H. *et al.* **Phenolic constituents from *Mikania micrantha*.** Biochem Syst Ecol, v. 32, p. 1091–1096, 2004.
- WIRJAHAR, S. **Autecological study of *Mikania spp.*** In Proceedings of Fifth Asian-Pacific Weed Science Society Conference. Tokyo: Asian Weed Science Society. p. 70–73, 1976.
- WILSON, E. O. **Biodiversity.** National Academy Press, Washington, 1986.
- YOUSSEF, J. *et al.* ***Gochnatia polymorpha*: macro-and microscopic identification of leaf and stem for pharmacognostic quality control.** Rev. Bras.Farmacogn, v. 23, p. 585-591, 2013.
- YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente.** Chapecó, Argos, 2001.
- ZAMORANO, G. *et al.* **Germacranolides and sesquiterpeno dilactones from *Mikania dusenii*.** Phytochemistry, v. 37, p. 187-190, 1993.
- ZHANG, W.H. *et al.* ***Mikania micrantha* H.B.K. in China—an overview.** Weed Res, v. 44, p. 42–49, 2004.