

Caracterização da droga vegetal e atividade antioxidante de *Ageratum conyzoides* L

Characterization the herbal drug and antioxidant activity of *Ageratum conyzoides* L

DOI:10.34117/bjdv7n8-209

Recebimento dos originais: 07/07/2021

Aceitação para publicação: 10/08/2021

Ingrid Estefania Mancía de Gutiérrez

Doutora em Biotecnologia

Universidade Estadual de Feira de Santana

Avenida Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, Feira de Santana, Bahia, CEP 44036-900

far_gutierrez@uefs.br

Larissa Mimaes Carneiro Souza

Farmacêutica

Instituto de Pós Graduação

Rua Júpiter, 691, Jardim Acácia, Feira de Santana, Bahia, CEP 44004-336

larissamimaescs@gmail.com

Acsa Oliveira Magalhães

Mestre em Biotecnologia

Universidade Estadual de Feira de Santana

Avenida Ayrton Senna, Papagaio, nº 7671, casa i30, Feira de Santana, Bahia, CEP 44059-125

acsomagalhaes@hotmail.com

Edna Dória Peralta

Doutora em Biotecnologia

Faculdade Anísio Teixeira (Feira de Santana/BA)

Rua Rubens Francisco Dias, s/n, Condomínio Villaggio Papagaio, 78, Feira de Santana, Bahia, CEP 44059-370

edna.peralta@gmail.com

Lenaldo Muniz de Oliveira

Doutorado

Universidade Estadual de Feira de Santana

Rua Oxossi Guerreiro, 99, Baraúnas, Feira de Santana, Bahia, CEP 44020-342

lenaldo.uefs@gmail.com

Angélica Maria Lucchese

Doutorado

Universidade Estadual de Feira de Santana

Avenida Transnordestina, s/n, Novo Horizonte, Feira de Santana, Bahia, CEP 44036-900

angelica.lucchese@gmail.com

Laryssa Thaylle Santos da Silva

Graduanda em Farmácia

Universidade Estadual de Feira de Santana

Rua Norma Sueli, 06, Gabriela, Feira de Santana, Bahia, CEP 44028-580

laryssathaylle@hotmail.com

RESUMO

Introdução: *Ageratum conyzoides* é uma planta medicinal nativa do Brasil, utilizada nas Farmácias Vivas do país, contudo ainda não existe a produção industrial do fitoterápico. **Objetivos:** Caracterizar a droga vegetal, avaliar a presença de alcaloides pirrolizidínicos (AP), os constituintes do óleo volátil, o teor de fenólicos/flavonoides da droga e do chá medicinal, e a capacidade antioxidante da droga vegetal. **Métodos:** Os ensaios de pureza e integridade foram realizados nas partes aéreas segundo testes farmacopeicos, a composição do óleo essencial realizada em CG/DIC e CG/EM, o teor de fenólicos e flavonoides totais foi realizada por espectrofotometria e a atividade antioxidante foi determinada pelo método do sequestro de DPPH e pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico. **Resultados:** Não foi verificada a presença de AP, nas condições testadas, e o óleo essencial apresentou-se como quimiotipo precoceno I (82,7%). O teor de fenólicos para a droga vegetal foi de 14,20 mg EAG/g, e o teor de flavonoides totais de 3,24 mg EQ/g, enquanto para infuso e decocto o teor de flavonoides não diferiu. A CE_{50} da atividade antioxidante por sequestro do radical livre DPPH• foi de 1,12 mg/mL, com comprovação da capacidade de degradar radicais peróxidos, indicando uma ação antioxidante. **Conclusões:** A caracterização da droga vegetal de *A. conyzoides* contribuiu para a padronização dos dados qualitativos e quantitativos da matéria-prima vegetal, além do estudo ampliar o conhecimento da fitoquímica e atividade biológica da espécie.

Palavras-chave: partes aéreas, mentrasto, DPPH•, teor de fenólicos e flavonoides, óleo essencial, Asteraceae

ABSTRACT

Ageratum conyzoides a medicinal plant native to Brazil, is used in the country's so-called 'Living Pharmacies', but is not yet industrially produced. The aim of this study is to characterize the plant-based drug and assess the presence of pyrrolizidine alkaloids (PAs), essential oil components, phenolic/flavonoid content of the drug and medicinal tea and antioxidant capacity of the drug. No PAs were observed under the conditions tested and the essential oil chemotype was precone I (82.7%). The phenolic content of the herbal drug was 14.20 mg EAG/g, with total flavonoid content of 3.24 mg EQ/g; flavonoid content for infusion and decoction did not differ. The EC_{50} of antioxidant activity by DPPH free radical scavenging was 1.12 mg/mL, with evidence of the ability to degrade peroxide radicals, indicating antioxidant activity.

Keywords: aerial parts, whiteweed, DPPH•, phenolic/flavonoid content, essential oil, Asteraceae

1 INTRODUÇÃO

Ageratum conyzoides L. (Asteraceae), originária das Américas (Tropicos, 2021), apresenta duas formas fisiológicas, uma de floração precoce que possui folhagem escassa

e menor (tipo florífero) e outra de floração tardia com folhagem abundante e folhas maiores (tipo vegetativo) (Matos, 2007).

A espécie possui inúmeros relatos de utilização medicinal pela população (Zucchi et al., 2013; Biavatti & Miranda, 2017), sendo confirmado seus benefícios para o tratamento da artrose sem atribuição de toxicidade (Brasil, 2006), com manipulação de fitoterápico de *A. conyzoides* nas Farmácias Vivas (FV) do Brasil (Silva et al., 2006; Netto-Junior, 2012), contudo até o momento não há registro de fitoterápico industrializado no país.

A caracterização da droga vegetal é requisito exigido no controle de qualidade de fitoterápicos, quer sejam eles industrializados (Brasil, 2014a) ou manipulados (Brasil, 2007). O controle de qualidade é fundamental para garantir a segurança e eficácia dos medicamentos, e ainda mais se tratando de fitoterápicos, já que o fitocomplexo pode ser influenciado em função de fatores genéticos, climático-edáficos, de coleta, beneficiamento e modo de fabricação até o produto acabado (Xu et al., 2019).

A existência de monografia de droga vegetal em uma farmacopeia reconhecida pela Anvisa favorece a produção de fitoterápicos por parte das indústrias, uma vez que os ensaios de controle de qualidade encontram-se descritos, sem a necessidade de validação dos métodos utilizados (Carvalho, 2011). Das 83 monografias de drogas vegetais descritas na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (FB6) (Brasil, 2019), a maior parte (9,6%) são de representantes da família Asteraceae, contudo não existe monografia farmacopeica para a espécie. A caracterização macroscópica e microscópica das folhas, pecíolo, caule e raiz da espécie tem sido descrita por Ferreira e colaboradores (2002), Millani e colaboradores (2010), Malheiros (2012), Santos e colaboradores (2016).

Diante do potencial medicinal da espécie e ausência de monografia farmacopeica, a finalidade deste trabalho é caracterizar a droga vegetal através de métodos descritos em compêndios oficiais, avaliar o conteúdo de fenólicos e flavonoides totais, bem como a capacidade antioxidante, fornecendo dados da matéria-prima vegetal que possam auxiliar na autenticidade da amostra, assim como na constância da qualidade da matéria-prima vegetal para a obtenção de fitoterápicos.

2 METODOLOGIA

2.1 AMOSTRA VEGETAL

As partes aéreas de *A. conyzoides* foram coletadas em junho de 2013, no município de São Felipe, região de Mata Atlântica da Bahia, Brasil, exsicata (nº 196816)

depositada no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), Bahia e atividade de acesso ao patrimônio genético cadastrada (nº A929A8F) no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen). O material vegetal (talos e folhas) foi coletado em área de pasto, em fase anterior à floração, pelo período da manhã em dia nublado. O material vegetal foi seco em estufa com ventilação forçada de ar a 50 °C/5 dias, seguida pulverização em moinho de facas, sendo posteriormente a granulometria padronizada em peneira 16 mesh, abertura de malha 1,00 mm e armazenado em sacos plásticos (Tipo ZIP) para evitar entrada de umidade e envoltos por sacos plásticos pretos para evitar contato com a luz. Os sacos contendo a droga vegetal foram mantidos em sala refrigerada (21 ± 2 °C), umidade controlada (49 ± 2 %) por desumidificador de ambiente, e protegidas da luz até o momento das análises.

2.2 ENSAIOS DE PUREZA E INTEGRIDADE

Os ensaios realizados para a caracterização da droga vegetal seguiram os métodos da FB6 (Brasil, 2019) e do Guia de controle de qualidade para matéria-prima vegetal da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2011). Os procedimentos foram executados com três amostras distintas, obtendo-se uma média de três determinações. O teor de umidade foi determinado por gravimetria. A determinação de substâncias extraíveis da droga vegetal pulverizada por água e por álcool foi realizada pela técnica de maceração a frio e extração por Soxhlet, respectivamente (Brasil, 2019; WHO, 2011).

2.3 PROSPECÇÃO DE ALCALOIDES PIRROLIZIDÍNICOS (AP)

Para a análise preliminar de AP, durante a extração, os N-óxidos foram reduzidos às suas bases livres adicionando-se zinco em pó e com o sistema eluente clorofórmio:metanol:amônia (85:14:1) em CCD (Roeder, 1999; Wretensjo, 2004). Para a revelação utilizou-se os reagentes de Dragendorff (Wagner & Bladt, 2001) e de Erlich (Trigo, 1993; Bah & Miranda, 2010).

2.4 DETERMINAÇÃO DE ÓLEOS VOLÁTEIS E SEUS CONSTITUINTES

A hidrodestilação em aparelho de Clevenger foi feita em triplicata. O cálculo do rendimento foi realizado através da relação da massa do óleo obtido com a massa de material vegetal seco utilizado na extração e a análise da composição química por CG/DIC e CG/EM.

O CG/DIC utilizado foi um Shimadzu® CG-2010 equipado com injetor automático AOC-20i, coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm), temperatura de injetor 220 °C e de detector 240 °C, tendo o hélio como gás de arraste (1,2 mL/min), com programa de temperatura do forno de 60 a 240 °C a 3 °C/min, mantendo a 240 °C por 20 min, split de 1:20, volume de injeção de 20 µL. As análises por CG/EM foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a espectrômetro de massas CG/EM-QP 2010 Shimadzu®, com injetor automático AOC-20i à temperatura de 220 °C, coluna capilar de sílica fundida com fase BPX5 (5% fenil polisilfenileno-siloxano) (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm) e hélio como gás de arraste (1,0 mL/min). A temperatura da interface do CG e da fonte de ionização 240 °C, energia de ionização 70 eV, corrente de ionização 0,7 kV e programa de temperatura e split semelhante à descrita acima.

Para a análise da composição química, o óleo essencial diluído em diclorometano a 3,0 mg/mL foi preparado para a análise em CG. A identificação dos constituintes foi realizada através do cálculo do Índice de Kovats (IK) de cada um dos picos e pelos dados de EM. Os índices foram calculados com a utilização de cromatogramas obtidos pela injeção da amostra com uma série homóloga de *n*-alcanos (C₈ a C₂₄). Cada pico do cromatograma foi também identificado pelo seu espectro de massas, comparação com a biblioteca do equipamento e consulta de bibliografia especializada (Adams, 2007).

2.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES E FENÓLICOS TOTAIS

As amostras de droga vegetal foram preparadas a partir de metodologia adaptada (Oliveira, 2011), no qual 125,0 mg da droga vegetal foram transferidas para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume do mesmo com etanol 70% (v/v) e colocado em sonicação por 10 minutos, filtrando-se a solução extrativa em papel filtro. O infuso e o decocto também foram avaliados, sendo preparados conforme o preconizado pela revogada RDC nº 10 (Brasil, 2010), 3,0 g da droga em 150 mL de água por 15 minutos.

Para flavonoides totais metodologias da literatura (Woisky & Gomide, 1996; Banov et al., 2006) foram adaptadas, no qual 0,1 mL de solução metanólica de AlCl₃ a 5% (p/v) foi adicionado à 1,5 mL da amostra em tubo de ensaio e o volume ajustado para 5,0 mL com solução metanólica de ácido acético a 5%. Após 30 minutos, foi realizada a leitura da absorbância a 425 nm e curva de calibração construída com o padrão quercetina (2,0-45,0 µg/mL), sendo os teores de flavonoides expressos como µg de equivalentes de quercetina por g de droga vegetal (µg EQ/g).

O conteúdo de fenólico total da droga vegetal foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (FC) (Peres et al., 2009) com modificações. Uma alíquota de 100 µL da amostra foi transferida para tubos de ensaio, no qual se adicionou 1,0 mL de água ultrapura e, posteriormente, 0,2 mL do reagente FC, sendo o material homogeneizado. Após 5 minutos de repouso, adicionou-se 0,6 mL de solução aquosa de Na₂CO₃ à 15% (p/v) e completou-se o volume para 5,0 mL com água ultrapura, agitando a mistura em vórtex. Decorridos 90 minutos em repouso e protegido da luz, a absorbância das amostras foi medida a 750 nm e curva de calibração construída com padrão de ácido gálico (50,0-500,0 µg/mL).

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), testando-se as médias pelo teste de Tukey.

2.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método do sequestro de radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH•) (Sousa et al., 2007) e pelo sistema β-caroteno/ácido linoleico (Lima, 2008), ambos com adaptações. A partir da amostra preparada por ultrassom para a determinação de fenólicos e flavonoides, diluições sucessivas foram preparadas.

Uma alíquota de 2,0 mL da solução do DPPH• (40,0 µg/mL), preparada previamente ao uso, foram adicionadas a 1,0 mL de cada diluição da amostra. As medidas das absorbâncias das misturas reacionais foram feitas a 517 nm, após 30 minutos do início da reação. Como controle da amostra utilizou-se 2,0 mL de metanol com 1,0 mL de cada diluição da amostra e como controle da solução do DPPH•, 2,0 mL da solução do DPPH• com 1,0 mL de etanol 70%. Para comparação da CE₅₀ das amostras foram construídas curvas de calibração com os padrões Trolox (3,0-18,0 µg/mL) e o ácido ascórbico (1,0-12,0 µg/mL). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de Sequestro do Radical Livre DPPH• (% SRL) foi efetuado com o auxílio da fórmula: $\% \text{ SRL} = \frac{A_{\text{DPPH}} - (A_A - A_C)}{A_{\text{DPPH}}} \times 100$, onde A_{DPPH} é a absorbância do controle da solução do DPPH•, A_A é a absorbância da amostra e A_C é a absorbância do controle.

Para o preparo da mistura reativa β-caroteno/ ácido linoleico, adicionou-se 40 µL de ácido linoleico, 530 µL de Tween 40, 20 µL de solução de β-caroteno a 2 mg/mL em clorofórmio e 1000 µL de clorofórmio em erlenmeyer. Posteriormente, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio sob a bomba de vácuo. A esta mistura

isenta de clorofórmio, adicionou-se cerca de 50 mL de água destilada. O valor da absorvância da solução sistema do β -caroteno/ácido linoleico foi ajustada para 0,6-0,7 nm com um comprimento de onda de 470 nm.

Adicionou-se 5 mL da solução sistema de β -caroteno/ácido linoleico e 400 μ L da amostra em diferentes concentrações de 1000-5000 μ g/mL. Como controle negativo foi utilizado 5 mL de solução sistema com 400 μ L de etanol 70%, substituindo a amostra, e como controle positivo, uma solução de Trolox com uma concentração de 0,2 mg/mL. Os tubos foram mantidos em banho-maria durante 120 minutos à uma temperatura de 50 °C, com leituras a cada 15 minutos. Sendo a primeira leitura feita antes de submeter às soluções ao banho-maria. Os testes foram realizados em triplicata. O decaimento da densidade ótica do controle ($A_{c0} - A_{cf}$) foi considerado como 100% de oxidação. A partir dessa relação o decréscimo da absorvância das amostras foi correlacionado com a queda do controle, obtendo-se a porcentagem da inibição da oxidação e a curva cinética.

O percentual de oxidação das amostras foi calculado pela fórmula que segue: $\text{oxidação \%} = (\text{Abs. inicial}_{\text{amostra}} - \text{Abs final}) \times 100 / (\text{Abs inicial}_{\text{controle}} - \text{Abs final})$ e do percentual de inibição da oxidação [proteção] pela equação: $\% \text{ Proteção} = 100 - (\% \text{ oxidação})$.

Para verificar a eficiência do antioxidante foi também realizada uma avaliação a partir das tangentes, expresso através dos valores de F1 e F2 (Yanishlieva & Marinova, 1995) calculados a partir de dois intervalos da curva cinética de oxidação (absorvância a 470 nm x tempo em min). Na parte inicial da curva (entre 15 e 45 min.) é mensurada a eficiência do antioxidante em bloquear o início da reação em cadeia por meio de interação com os radicais peróxidos (F1). E no intervalo final da curva (entre 75 e 105 min.), infere-se a possibilidade de o antioxidante participar de outras reações durante o processo oxidativo, produzindo espécies radicalares que aceleram a oxidação no sistema (F2).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entende-se por droga vegetal a planta medicinal, ou suas partes, que contenham as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta/colheita, estabilização, quando aplicável, e secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada (Brasil, 2014a).

O teor de umidade determinado para a droga vegetal foi de 9,75% \pm 0,99, estando dentro dos limites preconizados por diferentes Farmacopeias que é de 8 a 14%, pois assim evita-se o crescimento microbiano e de insetos e conseqüentemente a deterioração dos

constituintes químicos de interesse terapêutico ou até mesmo a produção de substâncias tóxicas para o organismo (WHO, 2011; Brasil, 2014b).

O teor médio de cinzas totais para *A. conyzoides* foi de 11,44%±0,04 e o valor médio do teor de extrativos em água e em etanol foi de 24,77%±0,44 e 17,93%±0,21, respectivamente (Quadro 1). O teor médio de cinzas totais para *A. conyzoides* encontra-se conforme os valores descritos nas monografias da FB6, entre 2 a 20%, e de acordo com os encontrados para as folhas da espécie na Índia (Quadro 1). O teor de cinzas insolúveis em ácido foi de 2,61 indicando a presença de cinzas que não são de origem fisiológica (Brasil, 2014b).

QUADRO 1 – Ensaio físico-químico relatados em publicações científicas para a droga vegetal de *A. conyzoides* (busca em fev. 2015).

Ensaio físico-químico	Droga vegetal		
	Folha	Folha	Partes aéreas
Cinzas totais	10,8	12,6	11,44
Cinzas insolúveis em ácido	3,2	0,96	2,61
Teor de extraíveis em água	13,6	18,33	24,77
Teor de extraíveis em álcool	5,2	18,69	17,93
Referência	(1)	(2)	autores

(1) Dash & Murthy, 2011; (2) Shailajan et al., 2013

A contagem total de bactérias aeróbias, fungos e leveduras na droga vegetal mostrou-se superior ao limite estabelecido na FB6 (Tabela 1).

TABELA 1 – Análises microbiológicas das partes aéreas da droga vegetal de *A. conyzoides*

Micro-organismos	Resultados	FB6	
		Extrato a quente	Extrato a frio
Bactérias aeróbias	5 x 10 ⁷	10 ⁷ UFC/g	10 ⁴ UFC/g
Fungos e leveduras	25,33 x 10 ⁶	10 ⁵ UFC/g	10 ³ UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	Presente	10 ² UFC/g	10 ¹ UFC/g
<i>Salmonella spp.</i>	Presente	Ausência	Ausência

FB6 – Farmacopeia Brasileira 6ª edição; UFC – unidades formadoras de colônia

O limite superior ao estabelecido na FB6 da contagem total de bactérias aeróbias, fungos e leveduras (Tabela 1), pode ser explicado em parte, pelo fato do material vegetal ter sido proveniente de área silvestre. Não foi encontrada em publicação científica dados de avaliação microbiana na droga vegetal e derivados para a espécie. Percebe-se que a

contaminação microbiana é um ponto crítico na cadeia produtiva de plantas medicinais e poderia ser minimizada com a criação de normas referentes às boas práticas de manejo de populações nativas, já que as plantas medicinais podem ser obtidas por extrativismo, assim como pela elaboração de norma referente às Boas Práticas Agrícolas no cultivo de plantas medicinais, até o momento inexistente no país. Um maior número de esforços para o desenvolvimento de metodologias que busquem minimizar a carga microbiana durante as etapas de produção das drogas e derivados vegetais também seriam necessários, visto que a eficácia e segurança de fitoterápicos estão associadas ao seu controle de qualidade.

A pesquisa de AP não revelou a presença desses metabólitos na espécie, diferentemente do resultado positivo obtido em outros trabalhos de *A. conyzoides* detectados por CCD com a utilização de reveladores de Dragendorff e/ou de Erlich (Desta et al., 2014; European Medicines Agency [EMA], 2014).

As plantas coletadas nesse estudo são do tipo floração tardia, em fase anterior a floração, o que pode justificar o resultado negativo para a prospecção de alcaloides realizados na espécie. Para fins medicinais *A. conyzoides* deve ser coletada somente das plantas do tipo floração tardia, e mesmo assim no estado vegetativo, isto é, antes do aparecimento das flores, pois os AP estão presentes, principalmente nos ramos floríferos, agindo como atraentes para insetos polinizadores que os utilizam como meio de defesa contra seus predadores (Matos, 2007), substâncias com reconhecida ação hepatotóxica (EMA, 2014). Contudo, estudos *in vivo* com o uso oral de derivado de *A. conyzoides* livre de AP confirmou a ausência de efeitos adversos na fase de desenvolvimento pré-natal (Subah et al., 2020) e de genotoxicidade (Palmer et al., 2019).

Outra possibilidade da ausência dos AP na droga vegetal testada pode ter sido a alteração dessas substâncias durante a secagem (50 °C/5dias), visto que essas substâncias podem ser degradadas com o aquecimento ou por ação enzimática durante secagem e armazenamento (Mattocks, 1986). No entanto, a detecção de AP na droga vegetal mesmo quando seca em estufa (40-60 °C) tem sido relatada em outros trabalhos com a espécie (Akinyemi et al., 2005; Hassan et al., 2012).

Em diversos países o órgão regulador restringe o uso de espécies medicinais contendo AP apenas para uso externo, a exemplo do confrei (*Symphytum officinale*) no Brasil (Brasil, 2014a) e nos Estados Unidos (United States, 2006), dessa forma não impede a indústria/academia de desenvolver um medicamento fitoterápico.

A droga vegetal rendeu um teor de 0,26% de óleo volátil, de odor forte e coloração amarelo-claro. A composição química do óleo essencial de *A. conyzoides* possui como constituinte majoritário (82,7%) o precoceno I, sendo detectado apenas sesquiterpenos e derivados cromenos (Tabela 2).

TABELA 2 – Constituintes químicos do óleo essencial das partes aéreas secas de *A. conyzoides* em período anterior à floração

		IK _L	IK _C	Área (%)*
1	β-cariofileno	1419	1423	1,63±0,12
2	α-humuleno	1454	1458	0,37±0,06
3	precoceno I	1463	1465	82,70±1,39
4	germacreno D	1485	1487	0,37±0,06
5	β-sesquifelandreno	1522	1526	0,93±0,12
6	(E)-nerolidol	1563	1565	1,17±0,31
7	espatulenol	1578	1581	1,77±0,25
8	óxido de cariofileno	1583	1587	6,00±0,26
9	desmetoxiencecalina	1647	1651	0,87±0,32
10	precoceno II	1660	1660	0,60±0,17
11	androencecalinol	1676	1668	1,43±0,42
TOTAL				97,3

IK_L – índice de Kovats da literatura (Adams, 2007); IK_C – índice de Kovats calculado; *Valor da média da triplicata±desvio padrão

O óleo essencial de *A. conyzoides* apresenta uma prevalência de três quimiotipos: precoceno I, misto (precoceno I e II) e precoceno II (Nébié et al., 2004). Entretanto, há relato de óleo essencial ausente de precocenos, tendo como constituinte majoritário os sesquiterpenos germacreno D (61,33%) e β-cariofileno (12,67%) (Jaya, Prakash & Dubey, 2011). Com os constituintes do óleo essencial da espécie, detectou-se ação contra dor neuropática em animais com atividade igual ao controle positivo utilizado, com indicação do envolvimento de receptores opioides (Sukmawan, Anggadiredja & Adnyana, 2021).

O teor de fenólicos para a droga vegetal foi de 14,20±0,48 mg EAG/g de droga vegetal, e o teor de flavonoides totais de 3,24±0,18 mg EQ/g de droga vegetal. O teor de flavonoides para infuso e decocto não diferiram estatisticamente entre si, enquanto o teor de fenólicos para o infuso foi superior ao observado para o decocto (Tabela 3).

TABELA 3 – Teor de fenólicos e flavonoides totais do infuso e decocto das partes aéreas de *A. conyzoides*

Método de extração	Fenólicos mg EAG/g	Flavonoides mg EQ/g
Infusão	73,86±3,55 A	5,47±0,70 A
Decocção	65,22±3,95 B	5,55±1,09 A
CV%	5,41%	16,66%

EAG (equivalente em ácido gálico); EQ (Equivalente em Quercetina); CV – coeficiente de variação; Médias e desvios padrões, seguidos pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si ($\alpha=0,05$) pelo teste de Tukey; valores apresentados para a infuso e decocto em mg/g de droga vegetal

O único resultado publicado para a quantificação de fenólicos e/ou flavonoides do extrato aquoso da espécie foi realizado com folhas coletadas na Índia (1,86 mg EAG/g), no entanto a forma de extração não é descrita (Koche et al., 2012), sendo um teor 38 vezes inferior que o relatado no presente estudo, o que evidencia a importância de se descrever os fatores endógenos e exógenos a planta no seu habitat e as condições de beneficiamento do material vegetal, já que todas essas condições irão interferir na composição qualitativa e quantitativa do fitocomplexo.

Nesse estudo a droga vegetal apresentou atividade antioxidante por sequestro do radical livre DPPH• com CE_{50} de 1,12±0,04 mg/mL da amostra, enquanto para os padrões utilizados, ácido ascórbico e trolox foi de 7,12±0,66 e 9,49±0,82 µg/mL, respectivamente.

De acordo com a Tabela 4, pode-se observar que a atividade antioxidante apresentou uma relação dose dependente no ensaio de β -caroteno/ácido linoleico. Além disso, pode-se notar que as concentrações testadas apresentaram todos os valores do fator F1 menores que 1, entretanto valores F2 maiores que 1.

 TABELA 4 – Atividade antioxidante e parâmetros cinéticos caracterizando a inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico da droga vegetal de *A. conyzoides*

CONCENTRAÇÕES DAS AMOSTRAS (µg/mL)	% de inibição da oxidação	FATORES CINÉTICOS	
		F1	F2
1000	8,16±3,69	0,90±0,30	1,20±0,70
2000	21,60±10,32	0,70±0,27	1,29±0,59
3000	23,01±7,51	0,60±0,12	1,30±0,58
4000	36,95±10,35	0,57±0,25	1,10±0,48
5000	42,60±7,41	0,45±0,08	1,09±0,63
Trolox	71,72±10,56	0,11±0,03	0,62±0,46

Valores expressos em média± desvio padrão

O resultado mostra que a droga vegetal foi mais eficiente em combater os produtos primários da oxidação (F1), mas não tão efetivos contra os produtos secundários (F2). A

amostra, embora iniba a formação dos radicais livres no período de indução, gera espécies químicas que aceleram a oxidação durante a degradação do ácido linoleico.

O potencial antioxidante e o teor de fenólicos totais podem ser úteis para promover outras investigações e correlacionar esta atividade a outras importantes (Rosa et al., 2010), pois a oxidação e formação dos radicais livres estão associadas a processos biológicos como envelhecimento, inflamação, câncer, doenças cardiovasculares (Prevedello & Comachio, 2021).

4 CONCLUSÃO

O presente estudo pode se tornar um material de partida para a elaboração de uma monografia da espécie, facilitando as análises de controle de qualidade da matéria-prima. Muitos trabalhos não informam a fase de desenvolvimento do vegetal, ou o órgão coletado, ou até mesmo se o material coletado sofreu secagem ou não, assim como as condições de armazenagem do material a ser analisado, o que dificulta o entendimento da relação entre produção de metabólitos e fatores que alteram o seu conteúdo. Tais descrições permitirão relacionar a produção dos metabólitos com a fase de desenvolvimento de *A. conyzoides*, ficando ainda mais evidente a necessidade desse conhecimento para espécies onde há relato de substâncias reconhecidamente tóxicas, pois só assim será possível comparar os resultados publicados nas diversas áreas que envolvem o desenvolvimento de fitoterápico, tornando-se assim segura a utilização medicinal dessas espécies.

REFERÊNCIAS

- Adams, R.P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. (4^a ed.). Allured Publishing Corporation.
- Akinyemi, K.O., Oladapo, O., Okwara, C. E., Ibe, C. C., & Fasure, K. A. (2005). Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 5, 6. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-5-6>.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2019). *Farmacopeia Brasileira*. (6^a ed.).
- Brasil. Ministério da Saúde. (2006). *A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos*. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf
- Brasil. Instrução Normativa nº 4, de 18 de junho de 2014. (2014b, 20 junho). Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada nº 10, de 09 de março 2010. (2010, 09 março). Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada nº 26, de 13 de maio de 2014. (2014a, 14 maio). Dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada nº 67, de 8 de outubro de 2007. (2007, 08 outubro). Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Bah, M., & Miranda, R.P. (2010). *Farmacognosia: da planta ao medicamento* (6^a ed.). UFRGS.
- Banov, D., Baby, A. R., Del Bosco, L. M., Kaneko, T. M., & Velasco, M. V. R. (2006). Caracterização do extrato seco de *Ginkgo biloba* L. em formulações de uso tópico. *Acta Farm. Bonaerense*, 25 (2), 219-240.
- Biavatti, M.W., & Miranda, R.P. (2017). *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Artmed.
- Carvalho, A. C. B. (2011). *Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil*. [Tese de Doutorado, Universidade de Brasília].
- Dash, G.K., & Murthy, P.N. (2011). The wound healing effects of a new polyherbal formulation. *Pharmacia Lettre*, 3 (1), 342-349.

Desta, T., Afework, M., Unnithan, C. R., & Alay, H. (2014). Isolation and structural elucidation of toxic pyrrolizidine alkaloids from *Ageratum conyzoides* collected from VOD disease affected communities. *International Journal of Pharmacy and Technology*, 6 (1), 6281-6290.

European Medicines Agency. (2014). *Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs)*. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Public_statement/2014/12/WC500179559.pdf.

Ferreira, E. A., Procópio, S. O., Silva, E. A. M., Silva, A. A., & Rufino, R. J. N. (2002). Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas: II - *Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia*, *Ageratum conyzoides* e *Sonchus asper*. *Planta daninha*, 20 (3), 327-335. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582002000300001>

Hassan, M. M., Shahid-Ud-Daula, A. F. M., Jahan, I. A., Nimmi, I., Adnan, T., Al-Mansur, A., & Hossain, H. (2012). Anti-inflammatory activity, total flavonoids and tannin content from the ethanolic extract of *Ageratum conyzoides* Linn. leaf. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 1 (5), 234-241.

Jaya, S., Prakash, B., & Dubey, N.K. (2011). Evaluation of chemically characterised essential oils of *Coleus aromaticus*, *Hyptis suaveolens* and *Ageratum conyzoides* against storage fungi and aflatoxin contamination of food commodities. *International Journal of Food Science and Technology*, 46 (4), 754-760.

Koche, D., Suradkar, S. S., Kokate, P., & Bhadange, D. G. (2012). Preliminary phytochemistry and phenolic compounds of some folk medicinal plants. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacia*, 3 (2), 281-282.

Lima, A. (2008). *Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (Caryocar brasiliense, Camb.)*. [Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo].

Malheiros, S. G. L. (2012). *Estudo farmacobotânico de seis espécies de uso medicinal no nordeste brasileiro*. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba].

Mattocks, A.R. (1986). *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids*. Academic.

Matos, F.J.A. (2007). *Plantas Mediciniais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. (3ª ed). Imprensa Universitária.

Millani, A.A., Rossatto, D. R., Rubin Filho, C. J., & Kolb, R. M. (2010). Análise de crescimento e anatomia foliar da planta medicinal *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) cultivada em diferentes substratos. *Rev. bras. plantas med.*, 12 (2), 127-134. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000200001>

Nébié, R.H.C., Rigobert, T. Y., Bélanger, A., & Faustin, S. S. (2004). Composition chimique des huiles essentielles d'*Ageratum conyzoides* du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chimie*, 7 (10-11), 1019-1022. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.027>

Netto-Junior, N.L. (2012). Farmácia Viva: padronização, dispensação e abrangência. *Revista de Fitoterapia*, 12 (S1), 258.

Oliveira, A.P. (2011). *Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato metanólico e desenvolvimento tecnológico de preparações extrativas das partes aéreas de Marrubium vulgare L. (Lamiaceae)*. [Dissertação de Mestrado, Universidade do Vale do Itajaí].

Palmer, P. A., Bryson, J. A., Clewell, A. E., Endres, J. R., Hirka, G., Vértesi, A., Béres, E., Glávits, R., & Szakonyiné, I. P. (2019). A comprehensive toxicological safety assessment of an extract of *Ageratum conyzoides*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 103, 140-149. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.01.027>

Peres, M. T. L. P., Simionatto, E., Hess, S. C., Bonani, V. F. L., Candido, A. C. S., Castelli, C., Poppi, N. R., Honda, N. K., Cardoso, C. A. L., & Faccenda, O. (2009). Estudos químicos e biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (Lansd. & Fisch.) Copel (Polypodiaceae). *Química Nova*, 32 (4), 897-901. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400013>

Prevedello, M. T., & Comachio, G. (2021). Antioxidantes e sua relação com os radicais livres, e Doenças Crônicas Não Transmissíveis: uma revisão de literatura. *Brazilian Journal of Development*, 7 (6), 55244-55285. [10.34117/bjdv7n6-096](https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-096)

Roeder, E. (1999). Analysis of pyrrolizidine alkaloids. *Current Organic Chemistry*, 3, 557-576.

Rosa, E.A., Silva, B. C., Silva, F. M., Tanaka, C. M. A., Peralta, R. M., Oliveira, C. M. A., Kato, L., Ferreira, H. D., & Silva, C. C. (2010). Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. *Rev. bras. Farmacogn*, 20 (4), 484-488. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000400004>

Santos, R. F., Nunes, B. M., Sá, R. D., Soares, L. A. L., & Randau, K. P. (2016). Morpho-anatomical study of *Ageratum conyzoides*. *Rev. bras. farmacogn.*, 26 (6), 679-687. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.07.002>

Shailajan, S., Wadke, P., Joshi, H., & Tiwari, B. (2013). Evaluation of quality and efficacy of an ethnomedicinal plant *Ageratum conyzoides* L. in the management of pediculosis. *J Young Pharm*, 5 (4), 139-143. <https://doi.org/10.1016/j.jyp.2013.10.005>

Silva, M.I.G., Gondim, A. P. S., Nunes, I. F. S., & Sousa, F. C. F. (2006). Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16 (4), 455-462. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000400003>

Sousa, C.M.M., Silva, H. R., Vieira-Jr, G. M., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. da., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., Barros, E. D. S., Araújo, P. B. M., Brandão, M. S., & Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova*, 30 (2), 351-355. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>

Subah, S., Bogoda, N., Glávits, R., Venkatesh, R., Murbach, T. S., & Kolep-Csete, K. (2020). Prenatal developmental toxicity study of an alkaloid-free *Ageratum*

conyzoides extract powder in rats by oral administration. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 117, 104748. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104748>

Sukmawan, Y. P., Anggadiredja, K., & Adnyana, I. K. (2021). Anti-Neuropathic Pain Activity of *Ageratum conyzoides* L due to the Essential Oil Components. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 20 (2), 181-189. 10.2174 / 1871527319666201120144228

Trigo, J.R. (1993). *Alcaloides pirrolizidínicos em borboletas Ithomiinae – alguns aspectos em ecologia química*. [Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas].

Tropicos. (2021). Missouri Botanical Garden. www.tropicos.org.

United States. Drugs and Lactation Database (LactMed) [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2006–.2021 May 17. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000832/>

Wagner, H., Bladt, S. (2001). *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas* (2^a ed.). Springer.

Woisky, R., & Gomide, R. (1996). *Método de controle químico de amostras de própolis*. [Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo].

World Health Organization. (2011). Quality control methods for herbal materials.

Wretensjo, I. (2004). *Characterisation of borage oil by GC-MS*. Department of Analytical Chemistry, Stockholm University. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?rep=rep1&type=pdf&doi=10.1.1.219.5661>.

Xu, X. R., Zhang, T., Li, P., Xu, Q., Feng, B., Tan, P., Cao, J. H., Xu, R. C., Zhang, D. K., & Han, L. (2019). Overview and prospects of traditional Chinese medicine blending technology oriented by quality consistency. (2019). *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 44 (22), 4786-4792. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20190901.302>

Yanishilieva, N.V., & Marinova, E.M. (1995). Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty of sunflower oil. *Food Chemistry*, 54 (4), 377-382.

Zucchi, M.R., Oliveira Júnior, V. F., Gussoni, M. A., Silva, M. B., Silva, F. C., & Marques, N. E. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Ipameri – GO. (2013). *Rev. bras. plantas med*, 15 (2), 273-279. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000200016>