https://eventos.utfpr.edu.br//sicite/sicite2019

Bioatividades de óleos essenciais de espécies do gênero *Baccharis*

Bioactivities of essential oils from species of *Baccharis* genus

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar a bioatividade dos óleos essenciais das folhas dos espécimes feminino (BPF) e masculino (BPM) de *B. punctulata* frente a ensaios antioxidante e citotóxico. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação utilizando *apparatus* Clevenger modificado, verificou-se atividade antioxidante frente ao radical 2,2difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). e a citotóxica frente a *A. salina.* Os compostos majoritários presentes na BPF foram α-acorenol (13,64%), espatulenol (11,81%) e β-pineno (3,29%) enquanto para BPM os compostos majoritários foram espatulenol (23,03%), β-cariofileno (7,76%) e biciclogermacreno (5,44%). A amostra BPF apresentou na concentração de 12,5 mg/mL atividade de 56,96 µg equivalente ácido ascórbico/mL (EAA/mL), resultando em 26,21% de inibição do radical enquanto que a amostra BPM apresentou na mesma concentração 31,02 µg EAA/mL equivalente a 14,05% de inibição do radical DPPH, já no ensaio citotóxico frente a *Artemia salina* a amostra BPF apresentou concentração letal (CL_{50}) de 240,80 µl/ml e a BPM de 63,92 µl/ml. Conclui-se que os óleos essenciais de ambos espécimes de *B. punctulata* apresentou atividade antioxidante e citotóxica.

PALAVRAS-CHAVE: *B. punctulata*. Óleo essencial. Atividade antioxidante. Atividade citotóxica.

Murilo Silva de Oliveira
murilo_tinelli@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

Jociani Ascari
jascari@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.
Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the bioactivity of essential oils from leaves of the specimens female (BPF) and male (BPM) of the *B. punctulata* front the antioxidants and cytotoxic assays. The essential oils were extracted by hydrodistillation using modified Clevenger *apparatus,* antioxidant activity was evaluetaded against radical 2,2diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical and cytotoxic activity against *A. salina*. The major compounds for BPF were α-acorenol (13,64%), spatulenol (11,81%) ande β-pinene (3,29%) while for BPM the major compounds were spatulenol (23,03%), β-caryophyllene (7,76%) and bicyclogermacrene (5,44%). The BPF sample presented at a concentration of 12.5 mg/mL activity of 56.96 µg equivalent ascorbic acid/mL (EAA/mL), resulting in 26.21% of the radical inhibition while the BPM sample presented at the same concentration 31.02 µg EAA/mL equivalent the 14.05% inhibition of DPPH radical, in the cytotoxic assay against *Artemia salina* the BPF sample apresented a lethal concetration 50 (LC_{50}) of 240.80 µl/ml and a BPM of 63.92 µl/ml. It is concluded that essential oils of both *B. punctulata* specimens presented antioxidant and cytotoxic activity.

KEYWORDS: *B. punctulata*. Essential oil. Antioxidant activity. Cytotoxic activity.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Baccharis punctulata* DC. ocorre na América do Sul, no Brasil há registro dessa espécie nos estados das regiões Sul e Sudeste, conhecida popularmente como chirca-do-mato. Relata-se seu uso no tratamento de asma, luxações e contusões na província de Bustillo, Bolívia, entretanto há poucos estudos sobre suas bioatividades (HEIDEN, 2009; SCHOSSLER et al., 2009; FERNANDEZ; SANDI; KOKOSKA, 2003)

Schossler et al. (2009) analisou os óleos essenciais obtidos por hidrodestilação das folhas de *B. punctulata* coletadas em Guaíba-RS, os compostos majoritários presentes no óleo essencial foram o biciclogermacreno (9,73%), cis-cadin-4-en-7-ol (6,77%), Z-ocimeno (6,33%) e limoneno (6%). Minteguiaga et al. (2018) analisou os compostos voláteis obtidos de partes aéreas de *B. punctulata* coletadas em Paysandú, Uruguai, com apparatus Likens-Nickerson, observou-se como compostos majoritários o germacreno D-4-ol (7%), β-felandreno (5,20%) e acetato de bornila (5,20%).

Budel et al. (2018) analisou o óleo essencial obtido por hidrodestilação com o *aparratus* tipo Clevenger das folhas de *B. punctulata* coletadas em Campos Gerais, Ponta Grossa-PR, os compostos majoritário presentes foram espatulenol (9.96%), germacreno D (3,63%) e β-cariofileno (3,35%). Gonzáles (2019) demonstrou em seu estudo a diferenciação química dos óleos essências obtidos por hidrodestilação partes aéreas de espécimes feminino e masculino de *B. punctulata* coletadas na Argentina. Como compostos majoritários para o espécime feminino foram observados verbocidentafurano (47,5%), germacra-1(10),5-dien-4α-ol (7%) e cis-cadin-4-en-7α-ol (6,3%) e no espécime masculino verbocidentafurano (43,9%), cis-cadin-4-en-7α-ol (5%) e δ-elemeno (9,1%).

O objetivo deste trabalho é verificar as bioatividades dos óleos essenciais de *B. punctulata*. Desta forma analisou-se os óleos essenciais de espécimes feminino e masculino de *B. punctulata* coletadas na região Oeste do Paraná e verificou-se a citoxicidade frente a *A. salina* e atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH.

2. MÉTODOS

2.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Ramos de espécimes feminino (BPF) e masculino (BPM) da *B. punctulata* foram coletadas em maio de 2018 na época de floração durante o período da manhã, no munícipio de Santa Helena no Oeste do estado do Paraná. Exsicatas foram confeccionadas e identificadas pelo Dr. Gustavo Heiden e depositados no Herbário ECT da Embrapa Clima Temperado em Pelotas-RS, com a numeração ECT0003431 para BPF e ECT0003425 para a BPM. Tirou-se as folhas dos caules, as quais logo em seguida foram secas na estufa de esterilização com circulação de ar forçada Lucadema Luca-82/480 à 45°C por três dias, posteriormente foram trituradas no moinho de facas Tecnal TE-648 e mantidas no freezer até a data da extração.

2.2 EXTRAÇÕES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E ANÁLISES QUÍMICAS

Os óleos essenciais foram obtidos a partir de 100g de material vegetal por hidrodestilação durante três horas com o uso do *apparatus* Clevenger. O óleo essencial foi separado do hidrolato utilizando éter etílico, seco com sulfato de

sódio anidro e evaporado no evaporador rotativo Marconi MA120/TH sem vácuo a 45 °C. O rendimento do óleo essencial foi calculado em relação a massa seca do material vegetal. Os óleos essências foram submetidos a análises no Cromatógrafo Gasoso Acoplado ao Espectrômetro de Massa e Ionizador de Chamas (CG-EM-DIC) Shimadzu GCMS-QP2010 Plus com coluna não-polar Rtx-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm).

2.3 ENSAIO DE CITOXIDADE COM *A. salina*

Cistos de *A. salina* foram colocados para eclodir em solução de sal marinho na concentração de 38g/L preparada com água destilada por 48 horas atingindo a fase de náuplio, durante esse período foram mantidas sob luz artificial, temperatura de 28 °C e pH entre 8 e 9 (RODRIGUES, 2012). Em média de 10 náuplios foram transferidos para frascos de penicilina com as concentrações dos óleos essenciais, controles negativo e positivo. O experimento foi conduzido sob iluminação constante e após 24 horas verificou-se a mortalidade das larvas de *A. salina* (RODRIGUES, 2012; ADEOGUN; MAROYI; AFOLAYAN, 2018).

As concentrações de óleos essenciais utilizadas no ensaio de citotoxidade foram de 35 a 1000µg/mL, como controle positivo utilizou-se o lapachol (25 a 150µg/mL) e como controle negativo o DMSO (80 e 200 µg/mL) (RODRIGUES, 2012; ADEOGUN; MAROYI; AFOLAYAN, 2018). O experimento foi realizado em triplicata e os resultados submetidos ao Software GraphPad Prism 6 para os cálculos de CL_{50}.

2.4 ENSAIO ANTIOXIDANTE

As atividades antioxidantes das amostras BPF e BPM foram mensurados frente à captura do radical livre DPPH, o teste foi realizado em triplicata usando a metodologia adota por Granato et al. (2015) com modificações. Como controle negativo utilizou-se metanol, os resultados foram comparados com uma curva padrão de ácido ascórbico (0,98-14 µg/mL, R^2=0,9956) e os resultados foram expressos em µg EAA/mL.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os rendimentos dos óleos essenciais da *B. puncutulata* em relação à massa seca foram de 1,55% para o espécime feminino e 1,47% para o masculino, rendimentos esses maiores do que os rendimentos dos óleos essenciais de *B. puncutulata* de 85,9% para espécime masculino e 91,8% para o feminino obtidos por Gonzáles (2019).

Os compostos majoritários presentes na BPF foram α-acorenol (13,64%), espatulenol (11,81%) e β-pineno (3,29%) enquanto que a BPM apresentou como compostos majoritário espatulenol (23,03%), β-cariofileno (7,76%) e biciclogermacreno (5,44%). Observou-se que a composição química dos óleos essenciais são diferentes do que há relatado na literatura, e tais diferenças podem estar relacionadas a fatores abióticos e bióticos (GONZÁLES, 2019; NETO; LOPES, 2007).

3.2 ATIVIDADE CITOTÓXICA

Ambas as amostras apresentaram atividade citotóxica frente as *A. salina*. O controle positivo apresentou CL_{50} de 73,04 µl/ml enquanto que a amostra BPF de 240,80 µl/ml e a BPM de 63,92 µl/ml.

Danham et al. (2015) verificou a atividade anticâncer do β-cariofileno isolado de óleos essências de casca de caules fresco de *Aquilaria crassna* frente a linhagens de células de carcinoma HCT 116, PANC-1, HT-29, ME-180, PC3, K562 e MCF-7, e linhagens de células normais CCD-18, NIH/3T3-L1 e RGC5, o β-cariofileno mostrou-se mais ativo frente as linhagens HCT 116 e PANC-1 e não apresentou atividade significativa frente as células normais.

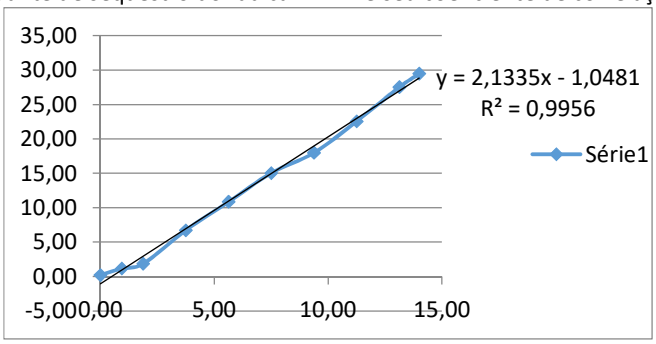
No trabalho realizado por Costa et al. (2017) verificou-se a atividade antitumoral frente a linhagem de células U251, MCF-7, NCI-ADR/RES, 786-0, NCI-460, OVCAR-3, HT-29, K562 e PC-3 do óleo essencial de folhas de *Nectandra lanceolata* tendo como compostos majoritários biciclogermacreno (18,2%), espatulenol (16,9%) e β-cariofileno (12,5%), o óleo essencial foi ativo frente as linhagens K62, U251 e NCI-460.

Infere-se que a maior atividade citotóxica observada na amostra BPF possa estar relacionada com a alta concentração os compostos majoritários.

3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para o cálculo da atividade antioxidante dos óleos essenciais utilizou-se a padronização com ácido ascórbico frente ao radical DPPH• (Figura 1).

Figura 1- Curva analítica do ácido ascórbico padrão de referência (n = 9) para capacidade antioxidante de sequestro do radical DPPH e seu coeficiente de correlação linear (R^2).



Fonte: Autoria própria

Observou-se que ambas as amostras apresentaram atividade antioxidante frente ao radical DPPH. A amostra BPF apresentou na concentração de 12,5 mg/mL atividade de 56,96 µg EAA/mL, resultando em 26,21% de inibição do radical DPPH. Enquanto que a amostra BPM apresentou na mesma concentração 31,02 µg EAA/mL equivalente a 14,05% de inibição do radical DPPH.

Nascimento et al. (2018) verificou a atividade antioxidante frente ao radical DPPH do óleo essencial de *Psidium guineense* tendo como majoritários similares ao da *B. punctulata*, sendo eles espatulenol (80,71%), 2Z,6E-farnesol (3,65%) e 2Z,6Z-farnesol (1,06%) e do espatulenol isolado, o óleo essencial apresentou EC_{50} de 63.08 µg/mL e o espatulenol de 85.60 µg/mL.

Daula et al. (2016) estudou a atividade antioxidante frente ao DPPH e ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfonico (ABTS) do óleo essencial de folhas de *Etlingera fimbriobracteata* tendo com compostos majoritários β-pineno (67,8%), α -pineno (17,8%) e limoneno (2,1%), o óleo essencial apresentou atividade em

ambos ensaios, sendo o EC_{50} para o DPPH de 518.29 mg/mL enquanto para o ABTS o EC_{50} foi de 165.46 mg/mL.

Infere-se que a atividade antioxidante de ambas as amostras podem estar relacionadas com compostos majoritários.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio das análises por CG-EM-DIC foi possível verificar diferenças entre na composição química dos óleos essenciais de espécimes feminino e masculino de *B. punctulata*.

Em relação atividade antioxidante ambas as amostras foram ativas e pela primeira vez foi relatado atividade citotóxica dos óleos essenciais de ambos espécimes de *B. punctulata,* sendo os resultados promissores, logo ressalta-se a importância da continuidade dos estudos com essa espécie.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação Araucária pelo o apoio financeiro e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelo os laboratórios cedidos para realização dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS

ADEOGUN, O. O.; MAROYI, A.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of essential oils from *Lippia javanica* L. leaf obtained by two methods and their effect on *Artemia salina* L. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, v. 17, n. 1, p. 105-115, 2018. Disponível em: < https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/166819 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

BUDEL, Jane et al. Essential Oils of Five *Baccharis* Species: Investigations on the Chemical Composition and Biological Activities. Molecules, v. 23, n. 10, p. 2620, 2018. Disponível em: < https://www.mdpi.com/1420-3049/23/10/2620 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

COSTA, E. R. et al. Chemical composition, antitumoral and antibacterial activities of essential oils from leaves and stem bark of *Nectandra lanceolata* (Lauraceae). Journal of Essential Oil Bearing Plants, v. 20, n. 5, p. 1184-1195, 2017. Disponível em: < https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2017.1394223 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

DAHHAM, S. et al. The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β-caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. Molecules, v. 20, n. 7, p. 11808-11829, 2015. Disponível em: < https://www.mdpi.com/1420-3049/20/7/11808/htm >. Acesso em: 29/Jun./2019.

FERNANDEZ, E. C.; SANDI, Y. E.; KOKOSKA, L. Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in the Bustillo Province of the Potosi Department, Bolivia. Fitoterapia, v. 74, n. 4, p. 407-416, 2003. Diponível em: <

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X03000534 >. Acesso em: : 29/Jun./2019.

GONZÁLEZ, M. D. Chemical composition of the leaf oil from *Baccharis punctulata* DC. at two phenological stages. Journal of Essential Oil Research, p. 1-9, 2019. Disponível em: < https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10412905.2019.1612472>. Acesso em: 29/Jun./2019.

GRANATO, D. et al. Authentication of geographical origin and crop system of grape juices by phenolic compounds and antioxidant activity using chemometrics. Journal of food science, v. 80, n. 3, p. C584-C593, 2015. Diponível em: < https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.12794 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

MINTEGUIAGA, M.; GONZÁLEZ, A.; CASSEL, E.; et al. Volatile Constituents from *Baccharis* spp. L. (Asteraceae): Chemical Support for the Conservation of Threatened Species in Uruguay. Chemistry and Biodiversity, v. 15, n. 5, 2018. Disponível em: < https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201800017 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

DO NASCIMENTO, K. F. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of Psidium guineense Sw. and spathulenol. Journal of ethnopharmacology, v. 210, p. 351-358, 2018. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874117317476 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

NETO, L. G.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química nova, v. 30, n. 2, p. 374, 2007. Diponível em: < http://www.quimicanova.sbq.org.br/ >. Acesso em: : 29/Jun./2019.

SCHOSSLER, P. et al. Volatile compounds of *Baccharis punctulata, Baccharis dracunculifolia* and *Eupatorium laevigatum* obtained using solid phase microextraction and hydrodistillation. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 20, n. 2, p. 277-287, 2009. Diponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532009000200012&script=sci_arttext&tlng=pt >. Acesso em: : 29/Jun./2019.

RODRIGUES, V. G. et al. Evaluation of antimicrobial activity and toxic potential of extracts and triterpenes isolated from *Maytenus imbricata*. Química Nova, v. 35, n. 7, p. 1375-1380, 2012. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874117317476 >. Acesso em: 29/Jun./2019.

UD-DAULA, A. F. M. S. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from leaves, aerial stems, basal stems, and rhizomes of *Etlingera fimbriobracteata* (K. Schum.) RM Sm. Industrial Crops and products, v. 84, p. 189-198, 2016. Disponível em < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015306208 >. Acesso em: 29/Jun./2019.