

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas tem sido um recurso ao alcance do ser humano. Atualmente, os produtos de origem vegetal vêm conquistando a população numa proporção cada vez maior. O aumento no número de pesquisas com produtos naturais, que comprovam cientificamente o seu uso popular, a menor agressividade ao organismo e os bons efeitos terapêuticos, são alguns dos fatores atribuídos a esse crescimento.

O uso de medicamentos a base de ervas, cresceu 380% apenas nos Estados Unidos entre 1990 e 1997 (Funari, 2005).

Em relação aos medicamentos prescritos mundialmente, sabe-se que 25% são de origem vegetal, com 121 substâncias ativas sendo utilizadas na terapêutica (Hamburger e Hostettmann, 1991).

Em referência aos 252 fármacos essenciais selecionados pela OMS, 11% são de origem exclusivamente vegetal. A OMS publicou 28 monografias de espécies vegetais úteis na terapêutica. Segundo Cragg e colaboradores (1997), no período de 1983 a 1994, os produtos naturais representaram 30% dos fármacos existentes para o tratamento de câncer e doenças infecciosas, e 60% em relação aos novos medicamentos (Rates, 2001).

Nesse contexto, as moléculas naturais tem sido a base para síntese e descoberta de novos fármacos. Já foram isolados cerca de 500 constituintes químicos, representando apenas 0,4% das 120.000 espécies vegetais estudadas (Korolkovas, 1989). O Brasil detêm um terço da flora mundial, rica em biodiversidade vegetal, com significativa produção científica na área de produtos naturais. Entretanto, muitas espécies ainda não foram estudadas (Yunes et al., 2001) e possivelmente, as plantas terão a solução para muitas doenças e problemas de saúde ainda não resolvidos.

O gênero *Conyza* pertencente à família Asteraceae, está inserido na ordem evolutiva thallophyta (Algae), e pertence à subclasse dicotyledoneae da classe Angiospermae, segundo classificação de Engler. Esse gênero possui cerca de 100 espécies, distribuídas por todo o mundo (Cabrera, 1941 apud Azevedo, 1999).

A *Conyza bonariensis* (L.) (Figura 1), pertencente à família Asteraceae é conhecida popularmente como buva, margaridinha-do-campo, capioçaba, enxota, erva-lanceta, salpexinho, catiçoba, rabo-de-foguete, rabo-de-raposa, voadeira, acatóia, capetiçoba (Lorenzi e Matos, 2000).

Na medicina popular, é utilizada para tratar reumatismo, gota, cistite, nefrites, dismenorréia, dor de dente, dor de cabeça (Asongalem et al. 2004), úlceras estomacais, anti-helmíntica, digestiva e diurética (Pacciaroni et al., 2000), anti-hemorroidal, leucemia e anemia (Lopes e Álvares, 1996) e na forma de infuso ou decocto de diversas partes da planta, como anti-séptico, anti-ulcerativo e hepatoprotetor (Azevedo, 1999).



FIGURA1- Aspectos Gerais de *Conyza bonariensis* (L.).

É uma planta nativa da América do Sul e encontrada na Argentina, Uruguai, Paraguai, Colômbia, Venezuela e, no Brasil ocorre nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. É considerada uma planta invasora, sendo facilmente encontrada em lavouras, beira de estradas e campos baldios (Kissman e Groth, 1997), muito resistente a ação de herbicidas, da classe do bipiridil, por apresentar um sistema de defesa antioxidante enzimático, que protege a planta contra a ação desses herbicidas, sendo considerada uma planta de difícil controle (Pyon et al., 2004)

A espécie *Conyza bonariensis* (L.), é uma planta anual, herbácea, ereta, cuja altura depende das condições do seu desenvolvimento. O caule apresenta-se como vara reta, cilíndrica, com até 15 mm de espessura, em geral com pequenas ramificações, glabro ou curto-piloso em seu ápice. A raiz principal é pivotante (Leitão, 1972). As folhas são alternas e pubescentes de 1,5 a 10 cm de comprimento por 0,5 a 2,5 mm de largura (Lopez e Álvares, 1996).

A inflorescência é terminal e axilar, formada por capítulos isolados e pedunculados. As flores são marginais de corola ligulada e esbranquiçadas, e as flores centrais são hermafroditas de corola tubulosa e branco-amarelada. A reprodução ocorre por sementes, em ciclos de 100 a 120 dias. O florescimento predomina nos meses de setembro a outubro (Leitão, 1972).

A espécie em estudo apresenta as seguintes sinónímias: *Erigeron bonariensis*, *Erigeron undulatus*, *Erigeron sordidum*, *Erigeron floribundum*, *Conyza floribunda*, *Conyza chenopodioides*, *Conyza erigeroides*. A classificação mais recente e mais usada é *Conyza bonariensis* (L.) (Leitão, 1972). Além disso, ([site://mobot.mobot.org](http://mobot.mobot.org)) apresenta outras sinónímias frequentemente utilizada em outros países como *Conyza albida*, *Erigeron linifolius* e *Erigeron floribundus*.

A espécie tem como característica marcante a liberação de aquênios maduros que são espalhados pelo vento, garantindo, assim, a disseminação da espécie (Kissman e Groth, 1997).

Dentro de uma mesma espécie ocorrem variedades, que se diferenciam em algumas características botânicas. A *Conyza bonariensis* (L.) apresenta três variedades, assim especificadas: *angustifolia* que pode atingir até 70 cm de altura, a *microcephala* até 180 cm e a *bonariensis* com até 100 cm de altura (Kissman e Groth, 1997). A variedade *microcephala* se diferencia da variedade *bonariensis* por apresentar os capítulos menores, pedicelados, dispostos em amplas inflorescências pluricéfalas com involúcros de somente 4-5 mm de diâmetro. A variedade *angustifolia* se diferencia da variedade *bonariensis* por ter todas as folhas extremamente lineares de 25 a 60 mm de comprimento por 1-2 mm de largura e os capítulos em menor número, dispostos em espigas alargadas (Burkart, 1974).

Apesar de sua utilização como planta medicinal, foram encontradas poucas informações sobre a *Conyza bonariensis* (L.), fundamentando-se, assim, a realização dessa pesquisa como contribuição ao estudo da espécie.

No estudo dos óleos voláteis, utilizaram-se duas variedades da espécie *Conyza bonariensis* (L.), a var. *bonariensis* e a var. *microcephala*, sendo que para a determinação das atividades biológicas, foram realizadas apenas na var. *bonariensis*.

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo realizar um estudo químico e biológico dos óleos voláteis do extrato bruto e frações da espécie *Conyza bonariensis* (L.).

2.1 Objetivos Específicos

- Realizar um estudo químico dos óleos voláteis de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis* e da variedade *microcephala*;
- determinar a atividade antimicrobiana por bioautografia, frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e fungos leveduriformes;
- determinar ação citotóxica, utilizando o ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* (TAS);
- determinar a toxicidade aguda do extrato aquoso e hidroalcolólico;
- determinar ação antioxidante pelos métodos do β -caroteno e do 1,1 difenil-2-picrilhidrazila (DPPH);
- determinar o teor de fenólicos totais do extrato bruto e das frações de *Conyza bonariensis* (L.);
- realizar o estudo de histoquímica nos principais constituintes químicos presentes na *Conyza bonariensis* (L.).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos Gerais da Família Asteraceae

A família Asteraceae está distribuída amplamente e consiste na sua maior parte de ervas, mas também incluem algumas árvores de lenha e arbustos (Metcalf e Chalk, 1957). Engloba espécies de relevância para cosmética, indústria farmacêutica e alimentícia (Hay e Svoboda, 1993 apud Azevedo, 1999).

A família Asteraceae compreende cerca de 1.100 gêneros, com aproximadamente 25.000 espécies e 13 tribos, e de ampla distribuição geográfica, bem representadas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Barroso, 1991; Joly, 1991)

O nome da família Asteraceae é derivado da estrutura característica da inflorescência, em capítulos florais (Burkart, 1974; Cronquist, 1981; Joly, 1991). Conforme Oliveira (1993), é considerada uma das famílias mais numerosas e evoluídas do reino vegetal.

A família Asteraceae é cosmopolita, com grande concentração de espécies em regiões subtropicais, temperado-frias e temperadas. Também são muito abundantes nas regiões montanhosas. No Brasil, estão representadas por, aproximadamente, 180 gêneros (Barroso, 1991).

As ervas, arbustos, árvores baixas ou medias, trepadeiras perenes, com abundantes princípios ativos muito diversificados, incluindo inulina, alcalóides, com ou sem sistema de canais lactíferos e condutos ou depósitos, esquizolisígenos de resina, freqüentemente com floema ou canais vasculares em uma medula (Salinas, 1992).

A inflorescência das Asteraceae é o capítulo, que é composto de um receptáculo comum sobre no qual se inserem as flores, rodeadas por brácteas especializadas, as brácteas involucrais (chamadas também de escamas ou filárias). Neste involúcro pode constar uma ou mais séries de brácteas herbáceas, coriáceas ou escariosas, livres ou soldadas nos seus bordos. O receptáculo pode ser delgado ou carnoso, maciço ou oco, côncavo, plano, convexo ou cônico. A superfície pode ser quase lisa, estando somente marcada pelas cicatrizes da inserção das flores, pode ser desnudo ou coberto por tricomas (Cabrera, 1963).

Considera-se que o tipo de flor mais primitivo é a flor hermafrodita com corola tubulosa, pentadentada ou pentalobada no limbo, sendo que este é o tipo de flor que se encontra na parte interior dos capítulos da maioria das espécies de Asteraceae (Cabrera, 1963).

A família Asteraceae tem contribuído com um grande número de plantas com monografias descritas nas Farmacopéias, e isso se deve ao elevado número de espécies medicinais dessa família, devido suas propriedades biológicas, assim como pela presença de produtos naturais tais como: monoterpenos, lactonas sesquiterpênicas, alcalóides, compostos fenólicos (flavonóides) e poliacetilênicos.

A família Asteraceae apresenta um grande teor de óleos voláteis, sendo esses secretados em estruturas especializadas (vesículas secretoras), em todos os órgãos da planta (Simões, 2004).

Os constituintes químicos dos óleos voláteis são determinados geneticamente para cada planta, entretanto, ocorrem variações na composição química desses óleos, para vegetais da mesma espécie, denominados de quimiotipos. Isso se deve a presença de alguns fatores extrínsecos como solo, latitude, temperatura, sazonalidade de coleta, que podem alterar os constituintes químicos dos óleos.

Em relação às propriedades farmacológicas dos óleos voláteis destacam-se a ação carminativa, isto é, atua na eliminação de gases, antiespasmódica, cardiovascular, anestésica local, antiinflamatória, antiséptica (Simões, 2004), antimicrobiana (Mourey, 2002), antiviral (Bishop, 1995), e inseticida (Karpouhtsis, 1998).

São poucas as informações relacionadas sobre a via biossintética dos poliacetilênicos, entretanto, Zhu (2003), observa que esses compostos possuem uma significativa atividade biológica, sendo que muitos deles apresentam ação nematicida, fungicida, alelopática, antitumorais e inseticidas. Como exemplo, cita-se o panaxitriol com ação anticancerígena, isolado do ginseng vermelho, e que em estudos posteriores foi demonstrado sua atividade inibitória contra as células MK-1 e também inibir o crescimento de células B-16 de transplantes de melanoma em camundongos.

Esse ensaio contribuiu na inibição da respiração celular e no balanço energético em células humanas de linhagem cancerígena, além de aumentar a citotoxicidade da mitomicina C contra adenocarcinoma gástrico em células de linhagem humana. Outros compostos poliacetilênicos denominados de ácido

minquartinoico e dehidrofalcarindol apresentam potentes atividades antitumorais, bem como o falcarindiol (agente antifúngico) e a cicutoxina (neurotoxina). Os poliacetilênicos da classe tiofenos podem estar associados com as propriedades inseticidas e nematocidas de espécies de *Tagetes* (Asteraceae) (Jacobs et al., 1995).

Essa classe de produtos naturais, além de ser encontrados em vegetais superiores, também ocorre em fungos, algas, esponjas marinhas e microrganismos.

O primeiro relato da presença de compostos poliacetilênicos foi descrita por Arnaud em 1892, do óleo das sementes de *Picramnia tariri* DC, sendo denominado de ácido tarírico. Em 1935, o químico Russian isolou o primeiro diacetileno natural, o lachnophyllum éster, resultando numa violenta explosão (Cahoon et al., 2003).

Atualmente, com o auxílio dos métodos espectroscópicos, especialmente o RMN e EM, têm-se isolado milhares de compostos poliacetilênicos naturais.

Em relação às características físico-químicas, são termicamente instáveis e extremamente perigosos no estado cristalino e líquido, sendo que a instabilidade se deve a fusão carbono-carbono da tripla ligação. A concentração dos poliacetilênicos varia de 10^{-6} % para 1% da planta fresca.

Os estudos na via de degradação dos poliacetilênicos naturais, utilizando poliacetilênicos radioláveis, foram ineficazes devido à rápida transformação em compostos altamente polares com estruturas indeterminadas.

Em relação à biossíntese dos compostos poliacetilênicos em plantas, as recentes pesquisas indicam que, geralmente envolve a conversão de (*Z*) alquenos em ésteres de ácidos graxos, como a conversão do ácido linolêico em compostos poliacetilênicos internos de enzimas divergentes na dessaturação (Lee et al., 1998), conforme mostra a Figura 2.

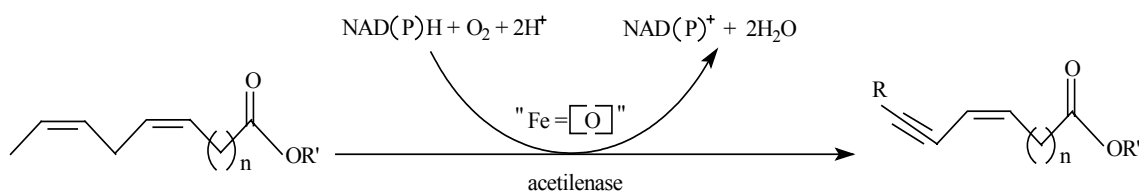


FIGURA 2- Biossíntese dos compostos poliacetilênicos

Na presença de citocromo-b₅, NADPH-citocromo-b₅ oxidoreductase e prótons, uma acetilenase consome um NADPH e uma molécula de oxigênio na conversão de um éster insaturado de ácido graxo no acetileno correspondente, com a produção de 2 moléculas de H₂O e 1 molécula de NADP⁺ (Mazliak, 1994).

O ácido crepenínico com um grupo alquino no C-12 é o primeiro metabólito conhecido na via de muitos ésteres de ácidos graxos derivados de produtos naturais acetilênicos (Lee et al., 1994).

O ácido linoleico é utilizado como material de iniciação durante a primeira dessaturação catalizada pela acetilenase I, que é convertida em ácido crepenínico. Esse composto é o ponto de partida do metabolismo primário e a via do metabolismo secundário. Assim, o ácido crepenínico está sob a segunda dessaturação catalizada pela Δ^{14} -dessaturase para introduzir a dupla ligação *cis* C=C no C-14 obtendo o (14Z)-dehidrocrepeninato. Uma dessaturação catalizada pela acetilenase I introduz uma tripla ligação na posição C-14. Uma dessaturação final, hidroxilação e descarboxilação produzem poliacetilenos oxigenados como o falcarindiol e panaxitriol (Kohn et al., 1994), conforme representa a Figura 3.

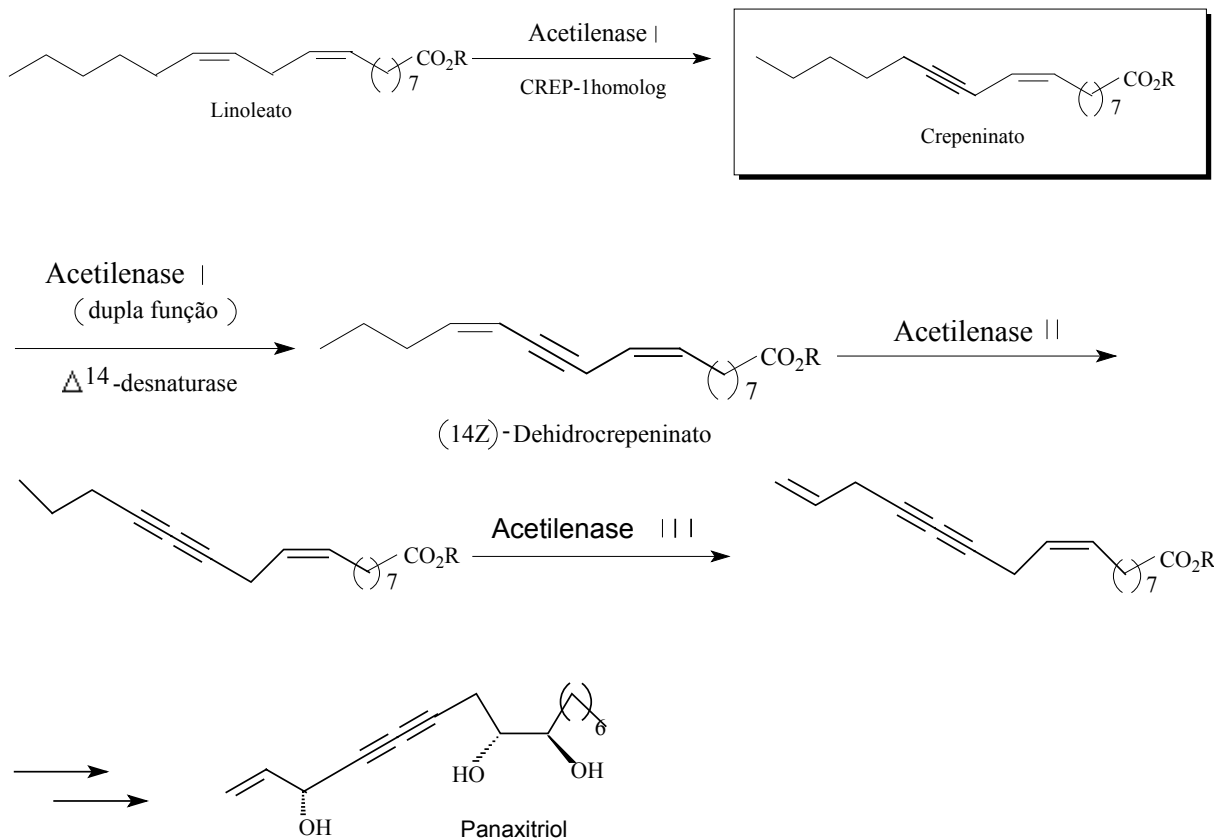


FIGURA 3-Via proposta para a biossíntese de poliacetilênicos

O mecanismo detalhado dessa dessaturação e reações de acetilações não são ainda bem compreendidos. Os estudos dos efeitos cinéticos dos isótopos permitirão a quantificação do grau de quebra da ligação no estado de transição e provê uma visão detalhada da dessaturação dos alquinos. Os efeitos cinéticos dos isótopos provêm uma eficaz revelação nos detalhes do mecanismo da dessaturação.

No estudo da acetilação catalizada por enzimas tendo como substrato o ácido linoleico [$12\text{-}^2\text{H}$] e [$13\text{-}^2\text{H}$], podem ser consistentes com os passos corretos para remover o átomo de hidrogênio de C=C iniciando no C-12 ou removendo ambos os átomos de hidrogênio. O desenvolvimento de rotas de ésteres de ácidos graxos polinsaturados com isótopos específicos facilitará o estudo biológico de membranas protéicas na composição das bicamadas lipídicas compostas de fofatidilcolina poliinsaturada e fosfatidiletanolamina (Reed et al., 2002).

3.2 Constituintes Químicos do Gênero *Conyza*

Na literatura foram encontrados diversos estudos químicos referente ao gênero *Conyza*. Nesses trabalhos, foram pesquisados vários metabólitos secundários, entre eles, destacam-se a presença de óleos voláteis, flavonóides, saponinas, terpenos, principalmente terpenóides do tipo labdano, clerodano, seco-clerodano e alicíclicos (Seaman et al., 1997 apud Galal et al., 1990), bem como a presença de compostos poliacetilênicos.

Dominguez e colaboradores (1972), em estudo com a *Conyza filaginóides*, isolaram do extrato etéreo 3 triterpenóides já conhecidos na literatura, sendo eles os triacontana, α -espinasterol e β -amirina que foram identificados por Ressonância Magnética Nuclear e dados da literatura.

Mahato e colaboradores (1981) identificaram das partes aéreas e raízes de *Conyza stricta*, diterpenos ácidos denominados de ácido estríctico (**1**), ácido conízico (**2**) e seco-nidoresedasaure (**3**), conforme a Figura 4.

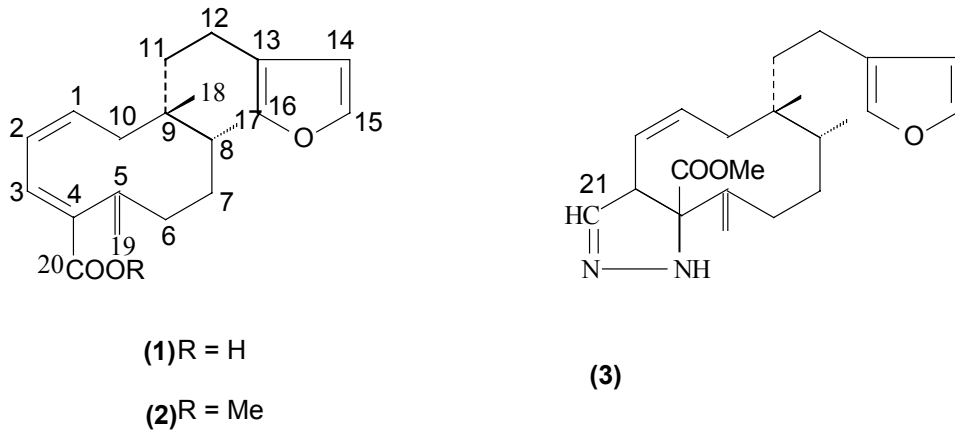
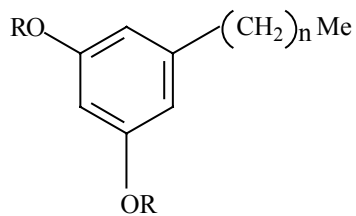


FIGURA 4 - Diterpenos isolados de *Conyza stricta*.

O estudo realizado em 1982 por Bohlmann e Wegner, com as partes aéreas de *Conyza podocephala*, isolou os compostos, germacreno D, biciclo germacreno, fitol, derivados do resorcinol (**4a-6a**) bem como os diterpenos (**7, 8, 9**), conypododiol (**10**), conforme Figura 5.



	4a	4b	5a	5b	6a	6b
R	H	Ac	H	Ac	H	Ac
n		14		15		16

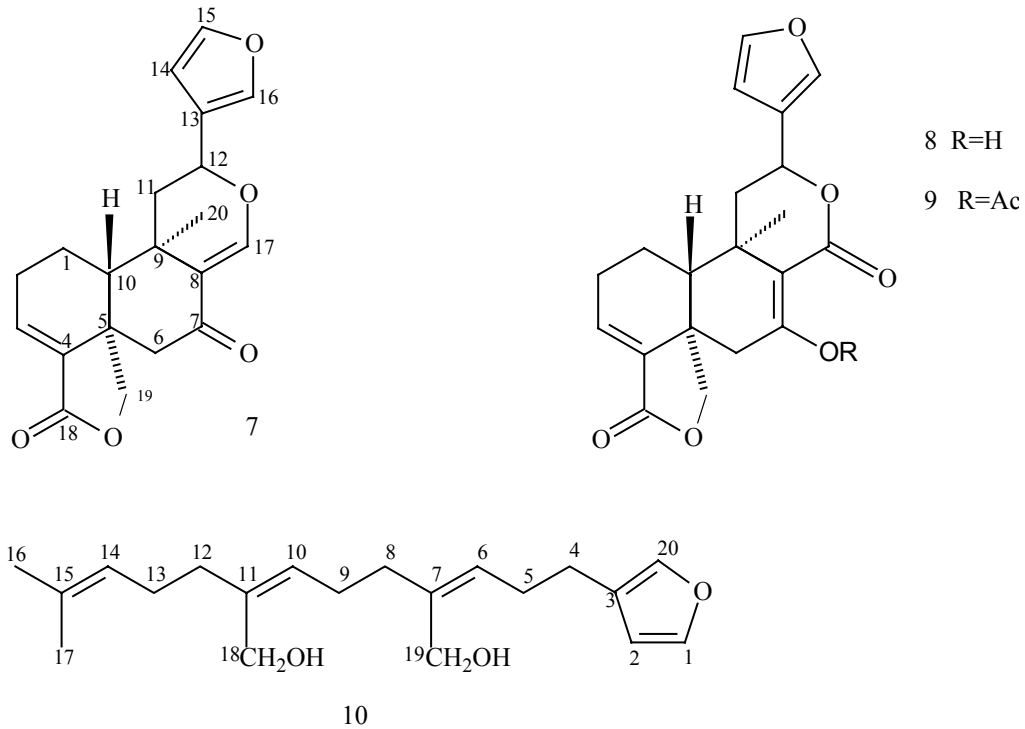


FIGURA 5 - Metabólitos isolados de *Conyza podocephala*

Das partes aéreas de *Conyza japonica*, Pandey e colaboradores (1984), isolaram do extrato clorofórmico os seguintes compostos, o ácido estríctico, *ent*-2 β-hidroxi-15,16-epoxi-3,13, o ácido 14-clerodatrieno-18-oico e o 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona.

Na literatura foram encontrados vários trabalhos referentes aos constituintes químicos dos óleos voláteis no gênero *Conyza*. Harbola e colaboradores (1985) pesquisando o óleo volátil das partes aéreas de *Erigeron linifolius*, identificaram 5 monoterpenos, entre eles α-pineno, canfeno, β-pineno, β-felandreno, p-cimeno, também foram isolados 3 sesquiterpenos, γ-elemeno, β-cariofileno, γ-cadineno e 4 compostos acetilênicos, lachnophyllum éster, lachnophyllum lactona, C₁₄H₂₀O₂ (éster), C₁₄H₂₂O (álcool), sendo o lachnophyllum éster o composto majoritário (64,04%).

O estudo do óleo volátil de *Conyza canadensis*, realizado por Hrutfiord e colaboradores (1988), identificaram 25 compostos, sendo o composto majoritário o limoneno (67,3%), seguido do composto (*Z,Z*)-matricaria éster (9,2%), 3 isômeros do matricaria éster, lachnophyllum éster e bergamoteno.

Já em 1990, Ahmed e Ahmed, isolou do extrato etéreo das partes aéreas dessa mesma espécie, 4 novos diterpenos da série labdano. O composto **(11)** foi designado de ácido labda-8 butenolídeo, 13-dieno-15,19-dioico, o composto **(12)** ácido butenolídeo 16-hidroxilabda-8, 13-dieno 15,19-dióico, e os novos diterpenos **(13)**, que são dois epímeros inseparáveis α e β , que são os compostos ácido butenolídeo 16 α e 16 β -metoxilabda-8(17),13-dieno-15,19-dioico. Os epímeros do ácido metoxi butenolídeo foram derivatizados do composto **(13)**, sendo assim denominados de conyzanol A **(14)** e conyzanol B **(15)** e o ácido farnesílico **(16)** demonstrado na Figura 6.

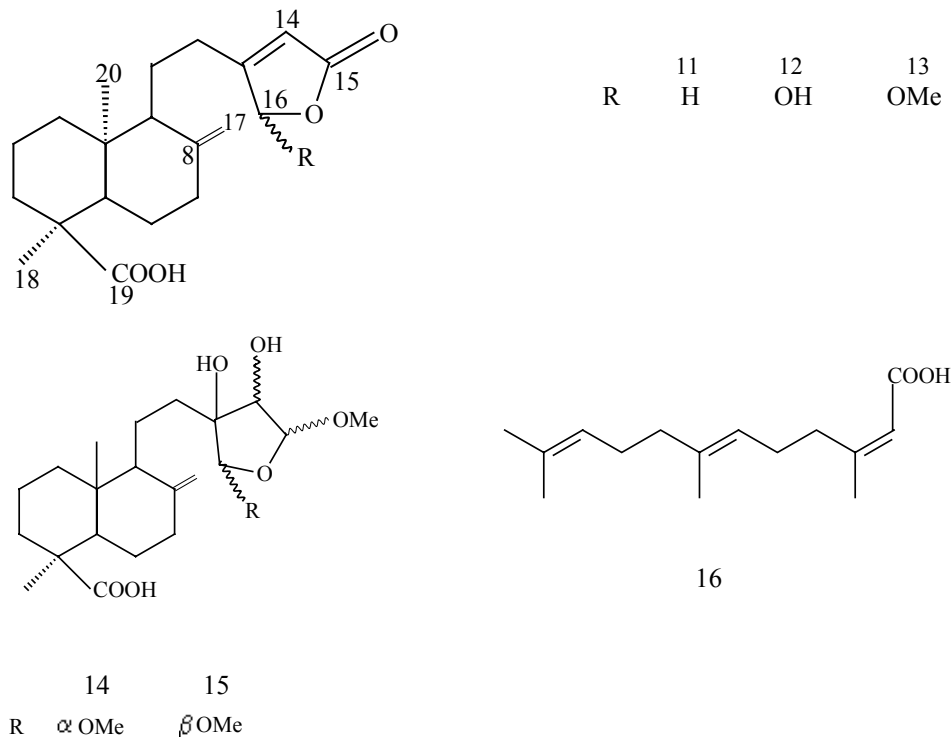


FIGURA 6- Diterpenos e derivados de *Conyza stricta*

Em pesquisa com as partes aéreas de *Conyza welwitschii*, Zdero e colaboradores (1990), isolaram os seguintes compostos, germacreno D, fitol, derivados do ácido estríctico, clerodanos, ácido danielico, succinato, diterpenos alicíclicos e ácidos insaturados hidroxilados, presentes em altas concentrações.

Em estudo com as folhas de *Erigeron canadensis*, Myazawa e colaboradores (1992) identificaram os compostos majoritários lachnophyllum éster (83,3%), matricaria éster (56,1%), bem como sesquiterpenos (4,0%) e monoterpenos (10,3%).

Urzua e Mendonza (1994), em estudo com a espécie de *Conyza linearis*, isolaram do extrato diclorometano, 2 novos diterpenos acetilxilósídeos obtidos a partir das partes aéreas, sendo um deles o manool 13-O- β -D-4'-acetilxilopiranosídeo (**17**) e o manool-13-O- β -D-3' acetilxilopiranosídeo (**18**) demonstrados na Figura 7.

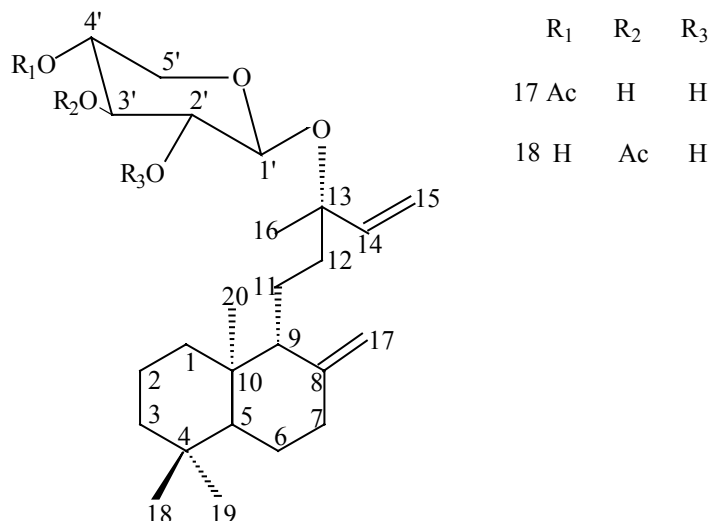


FIGURA 7- Diterpenos acetilxilósídeos de *Conyza linearis*

Trabalhando com essa mesma espécie, Ragasa e colaboradores (1997) isolaram do extrato clorofórmico das folhas, 2 novos monoterpênicos glicosilados (**19**) e (**20**), conforme a Figura 8. Esse trabalho foi o primeiro relato da presença do pineno glicosilado encontrado no gênero *Erigeron*.

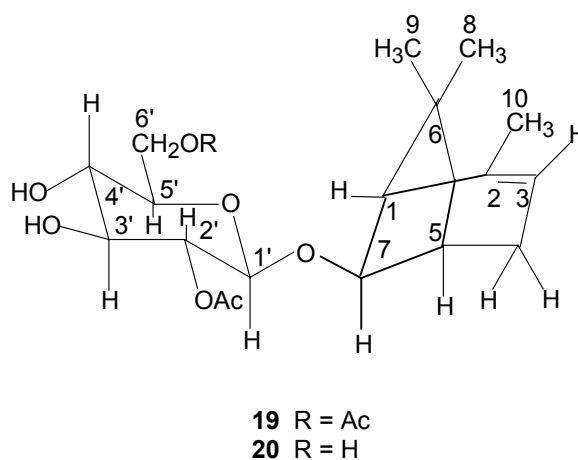
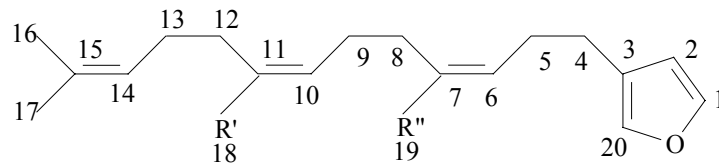


FIGURA 8- Metabólitos de *Erigeron linifolius*

Em estudo com as partes aéreas de *Conyza incana*, Galal e colaboradores (1998) utilizando o extrato diclorometânico elucidaram a estrutura de três diterpenos, sendo dois ácidos alicíclicos furano (**21**) e (**22**) e o éster *ent*-labdano succinato (**23**) (Figura 9).



21 R' = R'' = COOH

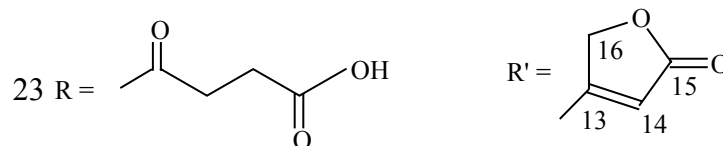
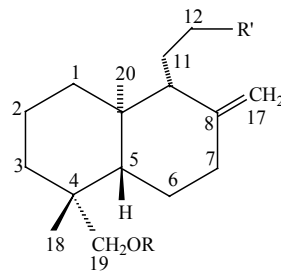
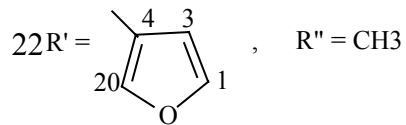
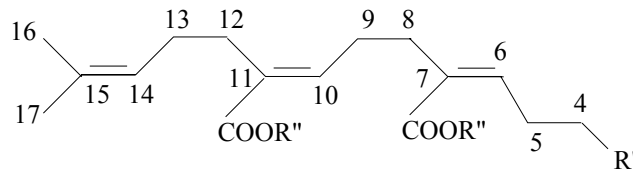


FIGURA 9- Diterpenos isolados de *Conyza incana*

Sattar (2001), utilizando o extrato diclorometânico, isolou das partes aéreas de *Conyza incana*, 3 diterpenos ácidos alicíclicos menores, denominados de ácido (*E,E*)-Inconízico A (**24**), ácido (*E,Z*)-Inconízico B (**25**), ácido (*E,E*)-Inconízico C (**26**), conforme Figura 10.

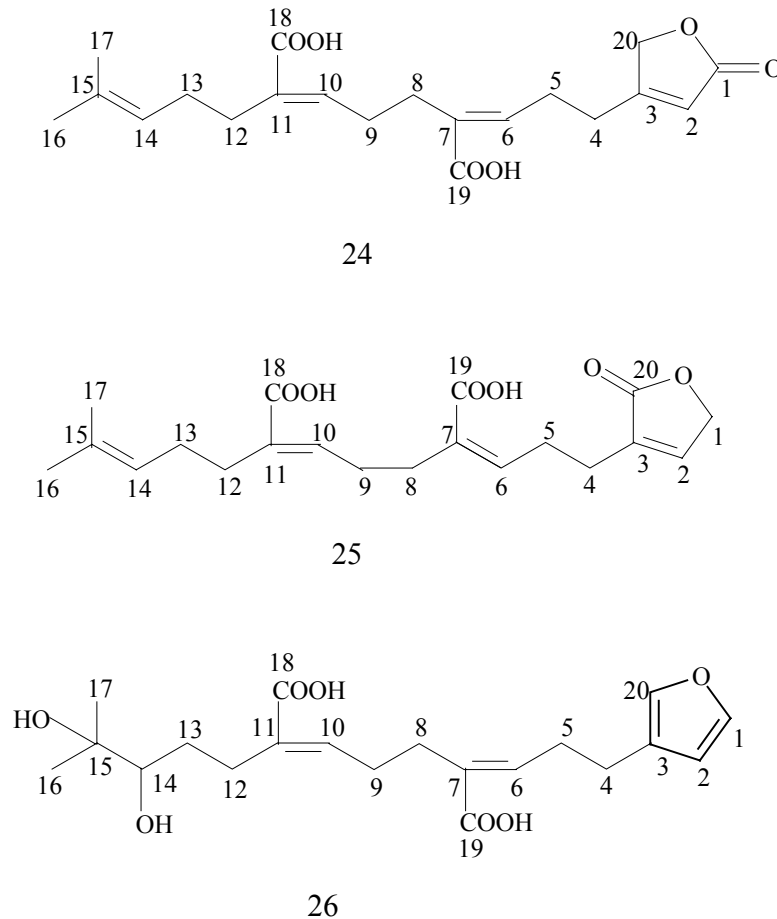


FIGURA 10- Diterpenos isolados de *Conyza incana*.

Das partes aéreas de *Conyza blinii* foram isoladas 3 novas saponinas bidesmosídicas denominadas de conyzasaponinas A, B e C e uma monodesmosídica denominada de conyzasaponinas G. Até então, não havia nenhuma referência de saponinas no gênero *Conyza* (Su et al., 2001). Das partes aéreas dessa mesma espécie foram isoladas as conyzasaponinas D, E, F e H. Esses compostos são os primeiros exemplos de saponinas triterpenóides a conter uma unidade de apiol a qual o carbono 2 é substituído por uma galactose. As conyzasaponinas D e F possuem 2 unidades de apiol, um açúcar que tem sido raramente observado na pesquisa de produtos naturais (Su et al., 2001).

Do extrato metanólico-clorofórmico (1:1) das partes aéreas de *Conyza filaginoides*, foram isolados três novos flavonóides cafeoil glicosilados, canferol 3-O-(6''-O-*E*-cafeoil) β -D-galactopiranosídeo (**27**), isoramnetina 3-O-(6''-O-*E*-cafeoil)- β -D-galactopiranosídeo (**28**), quercetina 3-O-(6''-O-*E*-cafeoil)- β -D-galactopiranosídeo (**29**), entre outros compostos já conhecidos como eritrodiool (**30**), óxido de β -cariofileno-4-5 α , astragalina, isoquercitrina (**31**), nicotiflorina (**32**), narcissina (**33**), e rutina, demonstrados na Figura 11 (Calzada et al. , 2001).

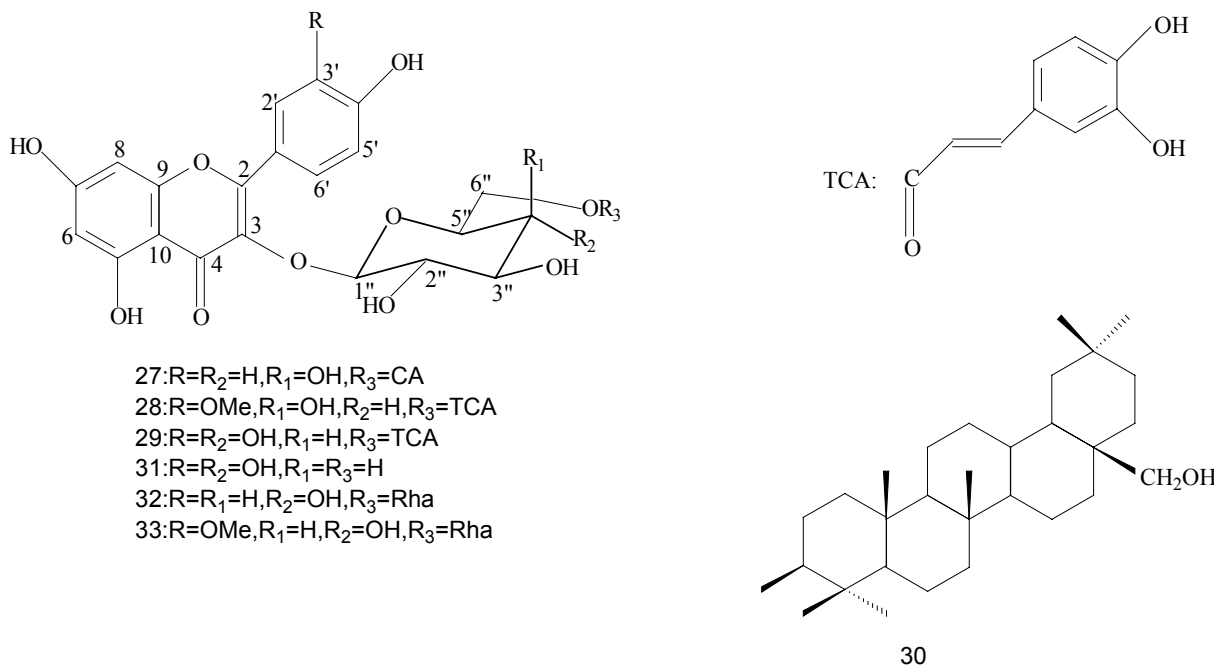
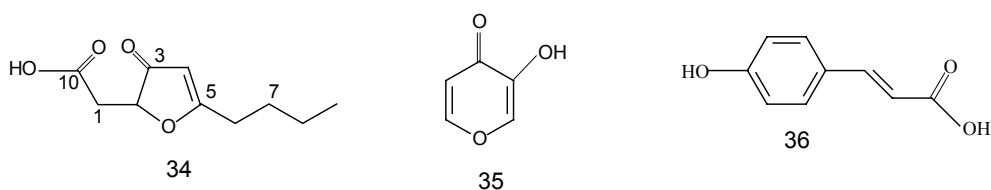


FIGURA 11- Metabólitos isolados de *Conyza filaginoides*.

Oh e colaboradores (2002), isolaram das flores de *Erigeron annuus* (L.) os seguintes compostos, o ácido acético 5-butyl-3-oxo-2,3-dihidrofurano-2-il (**34**), 3-hidroxi-pirano-4-ona (**35**), ácido 4-hidroxicinâmico (**36**), ácido 3,4-dihidroxicinâmico metil éster (**37**), ácido 3,5-di-O-cafeoilquinico (**38**), metil 3,5-di-O-cafeoilquinato (**39**) (Figura 12).



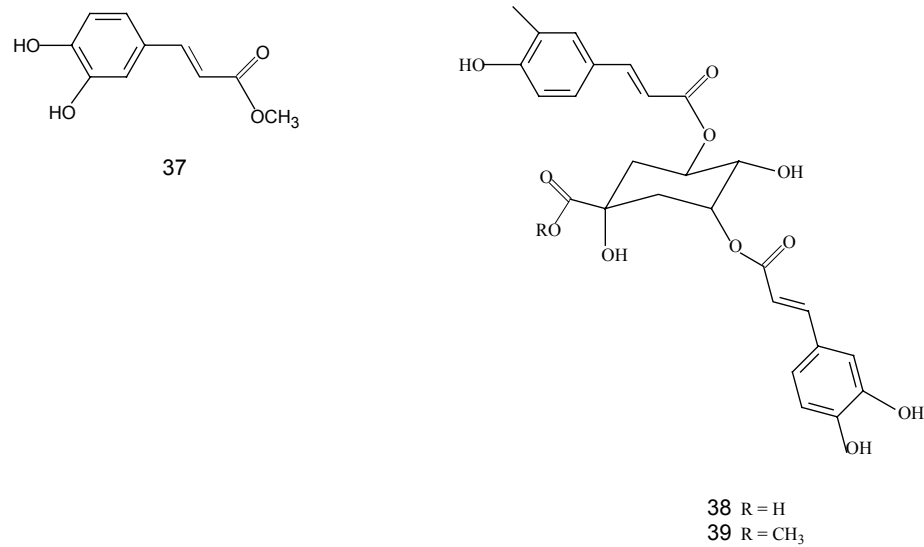


FIGURA 12- Compostos isolados de *Erigeron annuus*

Mukhtar e colaboradores (2002), pesquisando as partes aéreas e raízes de *Conyza canadensis* isolaram da fração acetato de etila, um novo esfingolípídeo (**40**) e seu derivado correspondente β-D-glicopiranosídeo (**41**), conforme Figura 13.

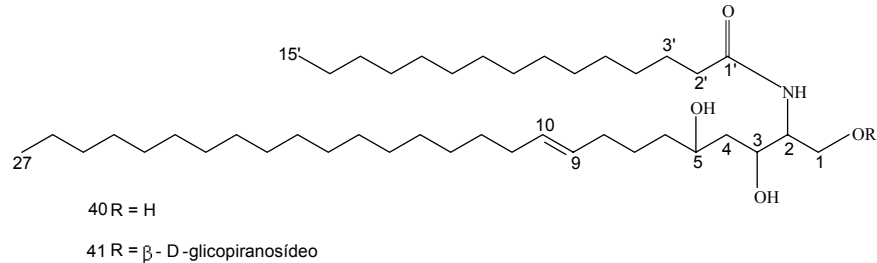
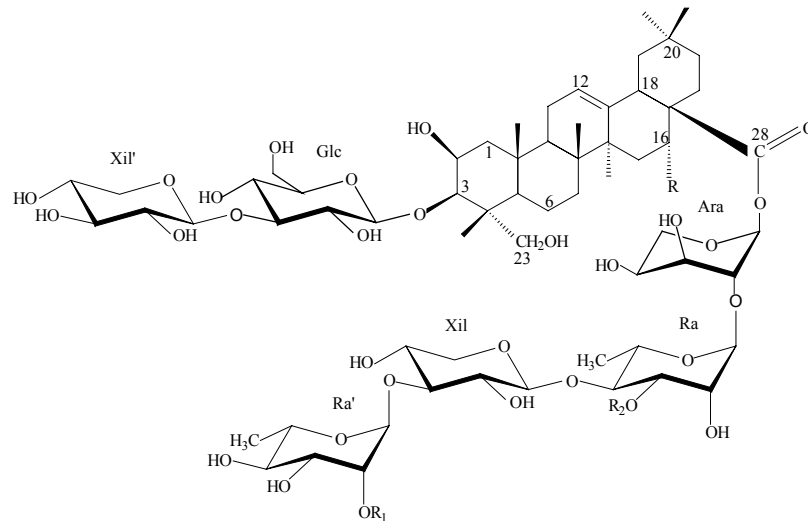
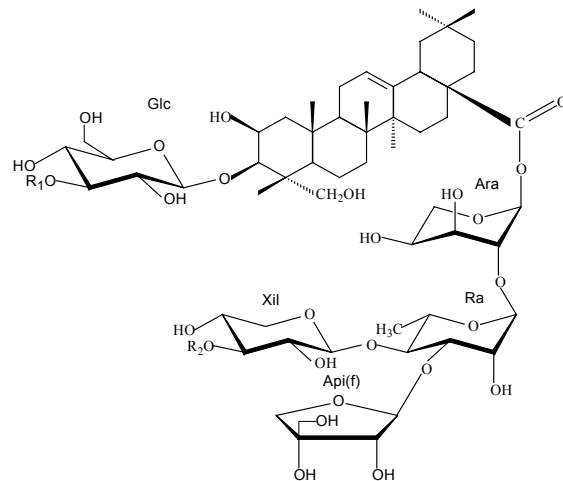


FIGURA 13- Esfingolípídeos isolados de *Conyza canadensis*.

Em 2003, Su e colaboradores pesquisando a *Conyza blinii*, isolou das partes aéreas 9 saponinas triterpênicas, denominadas de conyzasaponinas I-Q, sendo que as conyzasaponinas M-O demonstraram ser incomuns por apresentarem uma unidade pentassacarídica ligada ao carbono 28 da aglicona, conforme demonstrado na Figura 14.



	R	R ₁	R ₂
1	H	H	H
2	OH	H	H
3	OH	H	Api(f)
4	OH	Gal	H



	R ₁	R ₂
5	Xil'	Api(f)'
6	H	Api(f)'
7	Glc'	Api(f)'
8	Xil''	H
9	Xil''	Xil''

FIGURA 14- Saponinas triterpênicas de *Conyza blinii* .

O óleo das partes aéreas de *Conyza albida* foi analisado por CG/EM, e foram identificados sesquiterpenos (39,1%), e compostos acetilênicos (37,0%), monoterpenos (23,2%). Dos 55 componentes identificados, o *cis*-lachnophyllum éster (29,98%) foi o composto majoritário, seguido de germacreno D (12,89%), (*E*)- β -farneseno (12,45%), limoneno (11,19%), (*E*)- β -ocimeno (8,44%), lachnophyllum lactona (7,06%) (Tzakou et al., 2004).

Em pesquisa com *Erigeron breviscapus*, Chu e colaboradores (2005) identificaram a presença de 9 compostos, sendo eles baicaleína, naringenina, escopoletina, canferol, apigenina, escutelarina, luteolina, ácido cafeico e ácido protocatéuico. Esses compostos foram separados, utilizando eletroforese capilar de alta resolução com detector eletroquímico utilizando a planta seca e também de preparações fitoterápicas.

O óleo das partes aéreas de *Conyza canadensis* (L.), foi analisado por CG/EM e os constituintes majoritários foram limoneno (12,3%), (*E*)- β -farneseno (14,6%), espatulenol (14,1%), mirceno (8,9%), ar-curcumeno (7,8%), isoespatulenol (7,7%), fitol (7,3%), (*E*)- β -ocimeno (4,7%) (Rustaiyan et al., 2004).

Outro trabalho realizado por Kuate e colaboradores (2005), utilizando o óleo volátil de *Erigeron floribundus* (H.B. et K) identificaram das folhas os compostos (*E*)-2-lachnophyllum éster (23,7-26,2%), β -cariofileno (14,7-16,6%), (*E*)- β -farneseno (14,6-16,4%) e limoneno (8,5-11,4%), e das flores os seguintes compostos, (*E*)- β -farneseno (22,3-21,1%), β -cariofileno (17,3-20,1%) e germacreno D (10,1-11,0%).

Nazaruk e colaboradores (2006) analisaram o óleo volátil de *Erigeron acris* por CG/EM e identificaram 60 componentes entre os grupos de monoterpenos, sesquiterpenos e poliacetilênicos. O monoterpeno limoneno (38,8%) foi o composto majoritário, seguido do β -pineno e do sabineno (15,6%) e (*E*)- β -ocimeno (13,5%). Detectaram também a presença dos sesquiterpenos α -muroлено, germacreno D e (*Z*)- β -farneseno. Entre os compostos poliacetilênicos foram identificados o matricaria éster e o lachnophyllum éster.

Wu e colaboradores (2006) isolaram das partes aéreas e raízes de *Erigeron acer*, 2 novos butenólídeos do extrato acetônico, os compostos denominados erigeracin A (4R, 7S ou 7R) (**42**) e o erigeracin B (4R, 7S ou 7R), conforme mostra a Figura 15.

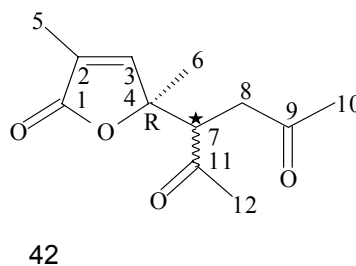


FIGURA 15- Butenólídeos isolados de *Erigeron acer*

3.3 Atividades Biológicas do Gênero *Conyza*

No gênero *Conyza*, foram encontrados vários trabalhos na literatura, referente às atividades biológicas, entre eles, destacam-se a ação nematicida, antifúngica, antibacteriana, fibrinolítica, antinoceptiva e antidiarreica.

Kimura e colaboradores (1981) em estudo com as raízes de *Erigeron philadelphicus* (L.), a partir do extrato metanólico isolou e testou compostos acetilênicos e foram avaliados quanto à atividade nematicida frente ao nematoda *Pratylenchus coffeae*. O composto 1,4-difenil-1,3-butadieno demonstrou forte atividade, bem como os compostos *trans* e *cis*-dehidromatricaria éster, *trans* e *cis*-lachnophyllum éster.

Em pesquisa com as partes aéreas de *Conyza odontophylla*, Ahmad e colaboradores (1994) obtiveram alta atividade antibacteriana frente *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, a partir de sesquiterpenos isolados dessa espécie.

Um experimento com ratos diabéticos, que foram tratados com extrato de *Erigeron breviscapus* na concentração de 0,5%, demonstrou efeitos inibitórios à disfunção endotelial na aorta de ratos diabéticos. Estudos relataram que *Erigeron breviscapus*, por apresentar em sua constituição química o flavonóide escutelareína, inibia a enzima proteinoquinase. O aumento dessa enzima é a causa de muitas complicações diabéticas. Clinicamente, o flavonóide escutelareína é utilizado em pacientes acometidos de acidente vascular cerebral (Zhu et al., 1999).

Zeng e colaboradores (2004), trabalhando com essa mesma espécie, relataram que o composto 4',5,6-trihidroxi flavona-7-glicuronídeo, isolado das partes aéreas da planta, determinou um aumento do fluxo sanguíneo cerebral, fazendo assim, diminuir a resistência cérebro vascular, minimizando as seqüelas de acidente vascular cerebral, angina pectoris e doenças coronarianas.

A *Conyza filaginoides* (DC) Hieron, é utilizada popularmente no México, no tratamento de indisposição gastrointestinal. Calzada e colaboradores (2001) avaliaram a atividade antiprotozoária de *Conyza filaginoides* frente à *Entamoeba histolítica* e *Giardia lamblia*. Os compostos eritrodioleína e nicotiflorina foram ativos contra os dois protozoários. O composto isoramnetina 3-O-(6"-O-E-cafeoil)- β -D-galactopiranosídeo foi o mais ativo contra *G.lamblia*. Os compostos quercetina 3-O-

(6"-O-*E*-cafeoil) β -*D*-galactopiranosídeo, eritrodiol e isoquercitrina foram os mais ativos contra os trofozoítos de *Entamoeba histolytica*. Este trabalho foi o primeiro relato sobre propriedades antiameba e anti-giardia com os compostos isolados das partes aéreas de *Conyza filaginoides*.

No reino vegetal, a sobrevivência de uma espécie não está restrita apenas na defesa contra predadores ou na sua reprodução. Ocorre também uma competição entre os vegetais de espécies diferentes, em grande parte pela utilização de água, luz e nutrientes, denominada de alelopatia (Simões, 2004). Nesse aspecto, Economou e colaboradores (2002) estudaram os efeitos alelopáticos no extrato etanólico das partes aéreas de *Conyza albida* no crescimento de *Avena sativa*. O crescimento da *Avena sativa* foi inibido pela atividade fitotóxica encontrada nas folhas e inflorescências da espécie em estudo.

Em estudo com a espécie *Erigeron speciosus*, Meepagla e colaboradores (2002), observaram atividade antifúngica frente a *C. fragariae* por bioautografia, atribuída aos isômeros 2Z, 8Z matricaria metil éster e 2E, 8E.

Oh e colaboradores (2002), relataram a primeira pesquisa sobre atividade biológica anti-germinativa utilizando o composto ácido acético 5-butil-3-oxo-2,3-dihidrofurano-2-il isolado das flores de *Erigeron annuus* (L.). Esse composto foi o mais ativo de todos outros isolados, demonstrando forte capacidade inibitória da germinação da semente de alface, IC₅₀ de 2,13 mM, quando comparado ao padrão, o ácido 4-hidroxibenzoico que apresentou IC₅₀ de 4,02mM.

A atividade antibacteriana do óleo volátil de *Erigeron canadensis*, foi avaliada nas doses de 100, 400, 800, 1600 ppm, utilizando o método de difusão em disco e, demonstrou inibição o crescimento dos seguintes fungos fitopatogênicos: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* e *Colletotichum lindemuthianum*. Nessa pesquisa, o fungo *Colletotichum lindemuthianum* demonstrou ser o mais suscetível ao óleo volátil, inibindo o seu crescimento, bem como produziu alterações na morfologia de suas hifas (Curini et al., 2003).

Liu e colaboradores (2003) realizaram um estudo sobre as propriedades antibacterianas e antifúngicas do extrato etanólico de *Erigeron breviscapus*, utilizando o método de difusão em disco, frente às bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae* e Gram-negativas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas cepacia*,

Pseudomonas putrefaciens, e constatou uma moderada atividade antibacteriana frente às bactérias testadas. Nesse experimento, verificou-se uma alta atividade antifúngica contra os fungos leveduriformes, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosi* e os fungos filamentosos, *Aspergillus penicilloides*, *Aspergillus candidus*.

Segundo a literatura, a espécie *Erigeron breviscapus* também apresenta atividade anticoagulante com inibição do fator III plaquetário, protrombina e também atividade fibrinolítica (Wang et al., 2003).

Em pesquisa realizada com a planta inteira da espécie *Erigeron annuus* a partir do extrato hidroetanólico (50%, v/v), Kim e Kim (2003) testaram a inibição da glicação protéica *in vitro* utilizando o modelo de sistema bovino de albumina sérica e frutose, que foi correlacionada com a atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e peroxidação lipídica. O extrato de *Erigeron annuus* foi considerado bioativo por apresentar IC₅₀ inferior a 60 µg/mL, quando comparados a aminoguanidina com IC₅₀ 27,7 µg/mL. Os resultados referentes à atividade antioxidante não foram significativos, quando comparados ao ácido ascórbico ou trolox.

O estudo farmacológico realizado com o extrato aquoso das partes aéreas de *Erigeron floribundus* (*Conyza sumatrensis*) demonstrou propriedades analgésica central e periférica, bem como antiinflamatória utilizando o modelo de pata de rato induzido pela carragenina (Asongalem et al., 2004).

Em 2004, Atta e El-Sooud, testaram o efeito antinoceptivo realizado com camundongos, utilizando o extrato metanólico das folhas de *Conyza dioscoridis* na concentração de 400 mg/kg⁻¹, foi administrado por via oral, resultando no efeito antinoceptivo induzido pelo ácido acético, resultando uma proteção de 61,3% nas contorções. Nessa mesma concentração, também produziu um significativo aumento na resposta da latência, no teste da imersão da calda. Além disso, demonstrou não apresentar toxicidade aguda nas dosagens de 0,4, 1 e 2g/kg⁻¹ de peso, por via oral, em camundongos.

Em estudo com a *Conyza dioscoridis*, Atta e Mouneir (2004) observaram um significativo efeito antidiarreico em ratos, reduzindo o número de evacuações diarreicas após 4hs da administração oral na dose de 200 mg/kg⁻¹, do extrato metanólico.

Em 2005, Liu e colaboradores, testaram a atividade antioxidante no extrato etanólico de *Erigeron breviscapus*, utilizando o modelo de lipoperoxidação neuronal,

induzida pelo radical superóxido. Nesse trabalho, sugere-se que o extrato apresenta ação neuroprotetora, possivelmente uma ação antioxidante ou captura de radicais livres.

Em estudo com o óleo volátil das flores e folhas de *Erigeron floribundus*, Kuate e colaboradores (2005), determinaram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente aos fungos *Cryptococcus neoformans* (8,5 e 12,5 µg/ml, respectivamente), *Trichophyton mentagrophytes* (12,5 µg/ml para ambos os óleos), *Trichophyton rubrum* (12,25 e 12,5 µg/ml respectivamente), *Candida albicans* (2,25 para ambos os óleos). Considerando os 4 fungos testados, o mais sensível foi a *Candida albicans* e o mais resistente foi o *Trichophyton rubrum* para ambos os óleos.

Os óleos voláteis de um grande número de plantas apresentam efeitos tóxicos e/ou repelentes contra insetos. Esse fato foi evidenciado por Omolo e colaboradores (2005) que em estudo com o óleo volátil das partes aéreas de *Conyza newii*, testaram a toxicidade fumegante contra o mosquito *Anopheles gambiae*, a partir de compostos isolados dessa planta, o perilaldeído e o perillil álcool que apresentou nos valores da DL₅₀ de 19 e 8 vezes respectivamente, superiores ao óleo “in natura”, sugerindo um sinergismo negativo dos outros componentes presentes nesse óleo, capazes de inibir a toxicidade fumegante dos compostos ativos.

3.4 A *Conyza bonariensis* (L.)

Na literatura foram encontrados alguns trabalhos sobre a espécie *Conyza bonariensis* (L.), entre eles o estudo de Silva e colaboradores (1985) que trabalhando com as folhas de *Erigeron bonariensis* (L.), identificaram os compostos majoritários β-pineno (41,0%) e limoneno (12,0%).

Em 1991, Sanz e Marco, isolaram das partes aéreas um novo butenolídeo (**44**), compostos acetilênicos *trans*-lachnophyllum lactona (**45**) e *cis*-lachnophyllum metil éster (**46**) e o álcool germacreno (**47**), cumuleno lactona (**48**), matricaria lactona (**49**) conforme Figura 16.

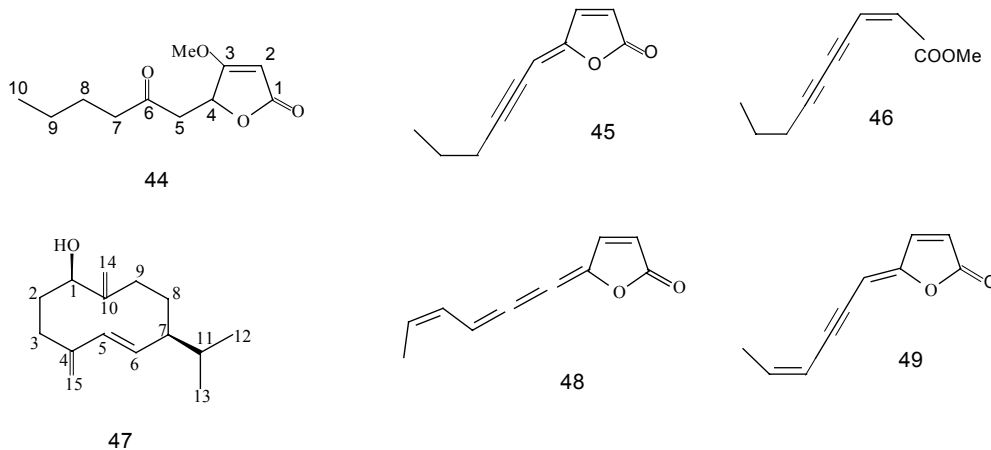


FIGURA 16- Metabólitos isolados de *Conyza bonariensis*

Em estudo com as folhas de *Erigeron linifolius* (sin.), Ragasa e colaboradores (1997), observaram fraca atividade antimicrobiana, com substâncias isoladas do extrato clorofórmio.

Em outra pesquisa realizada com a espécie cultivada de *Conyza bonariensis* (L.) Azevedo (1999), analisou o óleo volátil das raízes, caule, folhas e inflorescências por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Nesse trabalho, foram obtidos os seguintes constituintes: 11 monoterpenos (limoneno, 1,8-cineol, linalol, p-menta-1,3,8-trieno, p-menta-1,5,8-trieno, 1-terpinen-4-ol, terpineol, *cis*-carveol, acetato de *trans*-crisantenila, carvona), dois sesquiterpenos (α -copaen-4-ol, α -*trans*-bergamoteno), um hidrocarboneto (tetradecano), um diterpeno (manol) e três compostos acetilênicos (lachnophyllum metil éster, matricaria metil éster, matricaria lactona). Nessa planta foi determinada a presença de compostos majoritários, como limoneno (25,97%) no óleo das folhas, carvona (21,11%) no óleo das inflorescências e manol (25,28%) no óleo do caule, demonstrados na Figura 17.

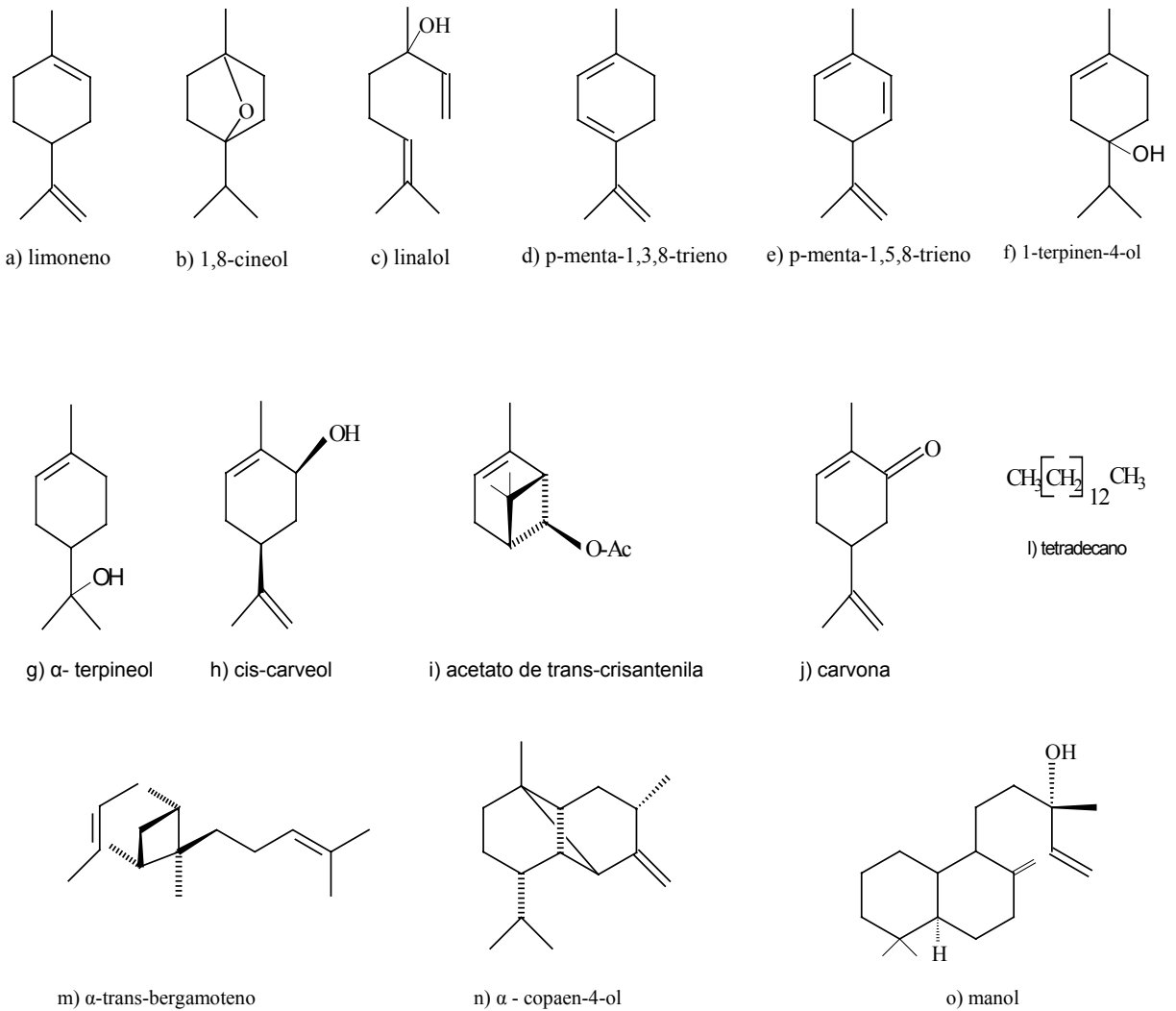


FIGURA 17- Estruturas dos compostos presentes no óleo volátil de *Conyza bonariensis* (L.)

O fracionamento do extrato metanólico da *Conyza bonariensis* (L.), foi biomonitorado pelo ensaio da inibição da xantina oxidase; deste fracionamento foram isoladas as substâncias já descritas na literatura como amirina, β-sitosterol, daucosterol, ácido siríngico, eugenol, apigenina, luteolina, e um novo glicosídeo denominado bonarosídeo (Kong et al., 2001) demonstrado na Figura 18.

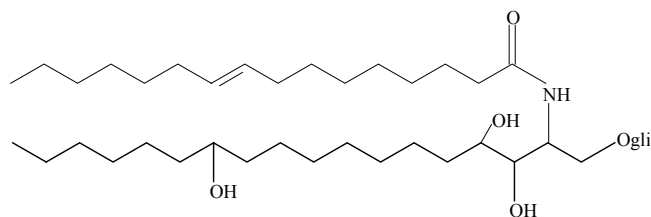


FIGURA 18- Glicosídeo denominado de Bonarosídeo

Em estudo com as partes aéreas de *Conyza bonariensis* (L.) Chaudhry e colaboradores (2001), avaliaram a atividade antibacteriana do extrato metanólico e diclorometânico na concentração de 10mg/ml, utilizando o método de difusão em ágar frente à *Sarcina lutea* e *Escherichia coli*. Os extratos de *Conyza bonariensis* (L.) apresentaram atividade para os microrganismos testados. Utilizando esses mesmos extratos, avaliaram a atividade antifúngica, por bioautografia, frente ao *Cladosporium cucumerinum*, inibindo o crescimento na concentração de 100µg.

Os compostos β -mirceno e limoneno isolados do óleo volátil de *Conyza bonariensis* (L.), foram avaliados quanto a atividade antiinflamatória pelo modelo de inflamação induzida por lipossacarídeos em camundongos, demonstrando atividade antiinflamatória por via oral(Souza et al., 2003).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Equipamentos e Acessórios

- Aparelho de Clevenger
- Autoclave
- Banho ultra-sônico
- Capela de fluxo laminar horizontal
- Centrífuga
- Cromatofolha de sílica gel G 60 F₂₅₄
- Espectrofotômetro UltraVioleta/Visível - Varian 634-S
- Estufa bacteriológica a 25 °C
- Estufa bacteriológica a 35 °C
- Estufa de ar seco circulante
- Estufa de secagem e esterilização
- Extrator tipo Soxhlet
- Evaporador Rotatório acoplado a banho d'água –Buchi
- Funil de Büchner
- Lâmpada de ultravioleta $\lambda=254\text{nm}$ e 366 nm
- Microscópio ótico acoplado a câmera digital
- Moinho de facas com tamis malha 0,86 μm - Willey
- Placas de Petri
- Seringa com cânula
- Tubos plásticos para centrífuga

4.2 Solventes e Reagentes

- 1,1 difenil- 2 -picrilhidrazila (DPPH) - Sigma
- Acetato de etila P. A - Vetec
- Ácido Clorídrico
- Ácido Linoléico - Sigma
- Água Oxigenada
- Butanol P. A -Vetec

- Carbonato de Sódio 1N
- Clorofórmio P. A - Vetec
- Cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazóleo
- Cloreto Férrico
- Dimetilsulfóxido - Merck
- Éter Etílico P. A -Vetec
- Hexano P. A -Vetec
- Lugol
- Metanol P. A -Vetec
- Polioxietileno sorbitan monopalmitato (Tween -20)
- Reagente de Folin-Ciocalteu
- SUDAM III
- β -caroteno - Sigma

4.3 Substâncias de Referências

- Amoxicilina
- Nistatina
- Ácido Gálico
- Quercetina - Sigma
- Timol- Sigma
- Cloridrato de Berberina – Sigma
- Ácido Ascórbico

4.4 Meios de Cultura

4.4.1 Ágar Müller-Hinton

1) Infuso de carne.....	300g
2) Caseína hidrolisada.....	17,5g
3) Amido.....	1,5g
4) Agar-ágar.....	17g
5) Água destilada.....	1000,0 mL

4.4.2 Meio Sabouroud

1) Peptona.....	10,0g
2) Dextrose.....	40,0g
4) Ágar-ágar.....	15,0g
5) Água destilada.....	1000,0 mL

4.4.3 Modo de Preparação dos Meios de Cultura para Atividade Antimicrobiana por Bioautografia

Os meios foram rehidratados em água destilada, e transferidos para erlenmeyer, onde foram tampados com algodão, em seguida esterilizados em autoclave a temperatura de 120°C por 15 min. A seguir foram mantidos em banho-maria até o momento do uso.

4.4.4 Caldo de Caseína-Soja

1) Caseína tratada por suco pancreática.....	17,0g
2) Farinha de soja por digestão papaínica	3,0g
4) Dextrose.....	2,5g
5) Cloreto de Sódio.....	5,0g
6) Água destilada.....	1000,0 mL

4.4.5 Modo de preparação do meio para o inóculo

O caldo foi rehidratado em água destilada e transferido para tubos de ensaio rosqueados, onde foram esterilizados em autoclave a temperatura de 120 °C por 15 min e mantidos sob refrigeração até o momento do uso.

4.5 Microrganismo

Na avaliação da atividade antimicrobiana, utilizaram-se cepas de referência da American Type Culture Collection (ATCC), constituída de microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos leveduriformes, conforme Tabela 1. Os microrganismos estão disponíveis no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico de Medicamentos do Departamento de Farmácia Industrial da UFSM.

TABELA 1. Microrganismos utilizados no ensaio microbiológico.

Microrganismo	ATCC
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11103
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 10031
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 1600
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538 P
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Salmonella choleraesuis</i>	ATCC 10708

4.6 Animais

Na avaliação da toxicidade aguda, utilizou-se 90 camundongos albinos adultos, machos e fêmeas, com peso médio em torno de 25g, mantidos a uma temperatura controlada de 25°C, provenientes do Biotério Central da UFSM.

4.7 Preparação dos Padrões

Como padrões de referência utilizaram-se o antibiótico Amoxicilina (993 µg/mg), para bactérias padrão primário USP e o antifúngico Nistatina (2464,38 UI/mg), ambos preparados conforme FDA (1992). O Cloridrato de Berberina foi utilizado nas concentrações de (500, 50,25 µg/mL), o Timol em (250, 125, 62, 31, 16, 10, 8, 5,1 µg/mL), o Ácido Ascórbico (250, 125, 62, 31, 16, 8 µg/mL), a Quercetina (250, 125, 62, 31, 16, 8 µg/mL) e o ácido gálico (0,004%).

4.8 Material Vegetal

O material vegetal constituiu-se do caule, folhas e flores frescas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*, coletados na cidade de Santa Maria-RS, no mês de outubro de 2004. A espécie foi identificada pela Prof^ª. Thais Scotti do Canto Dorow do Departamento de Botânica da UFSM, e a exsicata SMDB 9685 encontra-se registrada, junto ao Herbário do Departamento de Botânica do CCNE da UFSM.

A espécie vegetal *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala* (Cabr.) foi coletada na região de Santa Maria-RS, no mês de janeiro de 2006. A espécie foi identificada pela Prof^ª. Sônia Maria Eisinger do Departamento de Botânica da UFSM, e a exsicata SMDB 10.032, encontra-se registrada, junto ao Herbário do Departamento de Botânica do CCNE da UFSM.

4.8.1 Obtenção dos Extratos

Na obtenção dos extratos, as partes aéreas da planta foram secas em estufa, à temperatura controlada de 40°C. Em seguida, o material vegetal seco foi reduzido a pó em macromoinho tipo Willey e armazenado em frasco âmbar até o momento do uso.

A droga vegetal reduzida a pó (2,635 Kg) foi submetida a extração a frio por percolação, utilizando metanol (16 L) como líquido extrator durante 35 dias, objetivando esgotar a matéria-prima vegetal e, extrair o máximo de suas substâncias ativas. O extrato metanólico foi concentrado em evaporador rotatório à pressão reduzida, obtendo-se assim, um resíduo escuro, denominado de extrato bruto.

Os extratos vegetais hidroalcolóico (280 mL) e aquoso (150 mL) a 20%, foram obtidos a frio por maceração, durante sete dias e filtrado a vácuo e utilizado para avaliação qualitativa seguindo a metodologia de Moreira (1979), conforme Figura 19.

O extrato aquoso 25% e hidroalcolóico 70% foram obtidos a frio por maceração, durante 7 dias e filtrado a vácuo. Em seguida, foram concentrados em evaporador rotatório à pressão reduzida, obtendo-se assim, um resíduo escuro, utilizado para determinação da toxicidade aguda, conforme a metodologia de Heuvel et al. (1990), conforme Figura 19.

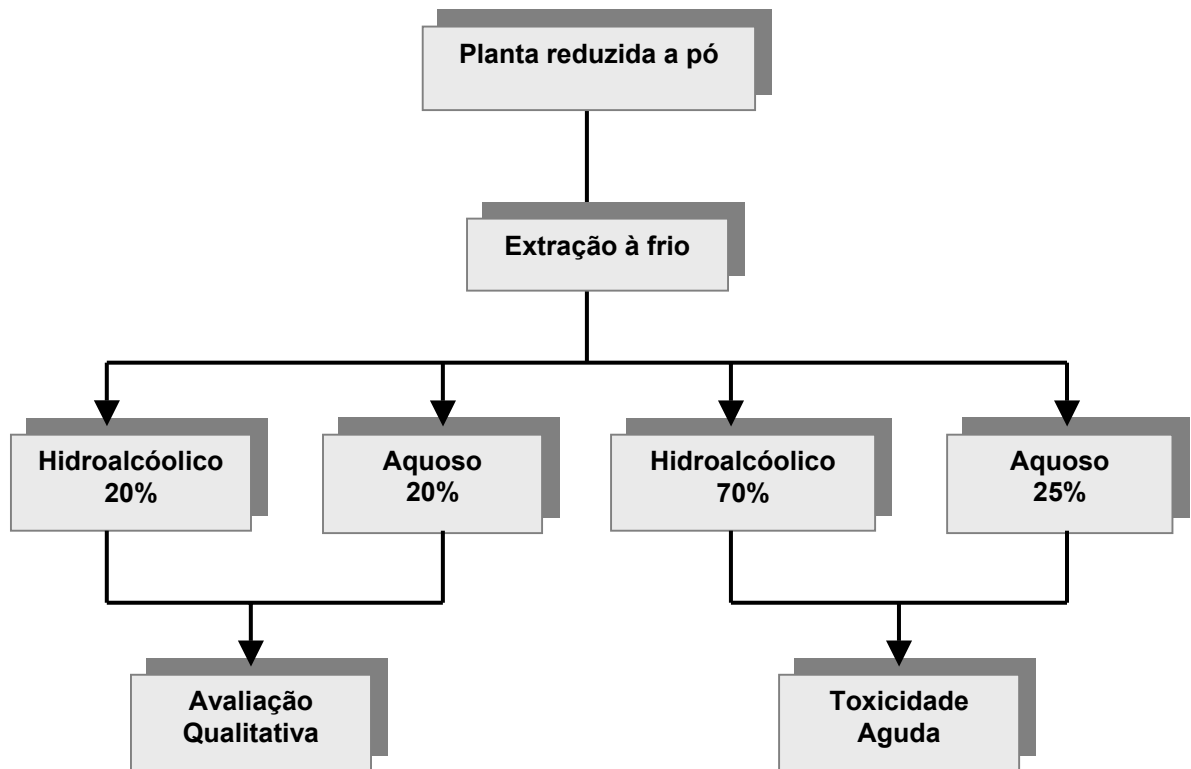


FIGURA 19 - Obtenção dos extratos para Avaliação Qualitativa e Toxicidade Aguda

4.8.2 Fracionamento

O extrato bruto (426,6g) foi ressuspenso em uma mistura metanol/água a 10% (v/v), e transferido para um funil de separação, no qual foi fracionado com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridades (Hexano, Clorofórmio, Acetato de Etila e Butanol). A fase orgânica, após sucessivas extrações, foi seca em sulfato de sódio anidro, filtrada e em seguida o solvente foi evaporado em evaporador rotatório à pressão reduzida, obtendo-se assim as frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol, conforme Figura 20.

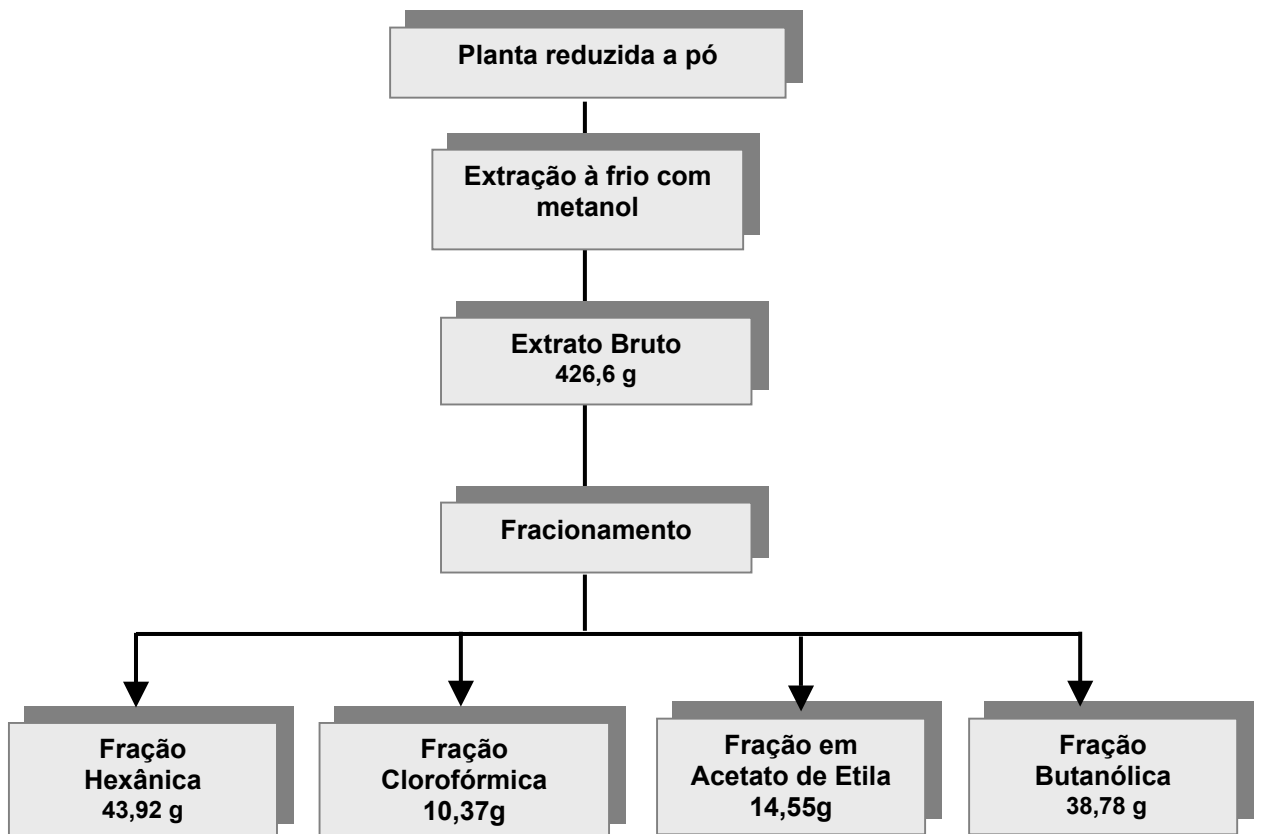


FIGURA 20 - Obtenção dos extratos e frações de *Conyza bonariensis* (L.)

4.8.3 Extração dos Óleos Voláteis de *Conyza bonariensis* (L.)

A extração dos óleos voláteis foram realizadas por destilação por arraste de vapor d'água, por 3hs, em aparelho de Clevenger modificado por Wasicky (1963), a partir de 186 g de folhas e 107 g de raiz de *Conyza bonariensis* variedade *bonariensis* e 130 g de folhas e 87 g de raízes de *C. bonariensis* variedade *microcephala*. O óleo extraído foi coletado em funil de separação, utilizando-se éter etílico P.A. na separação das fases etérea e aquosa. Secou-se a fase etérea com Na_2SO_4 anidro e evaporou-se o solvente a frio. Os óleos voláteis assim obtidos foram mantidos sob o abrigo da luz e refrigeração até o momento do uso.

4.8.3.1 Análise Cromatográfica por CG/EM

Os óleos das raízes e folhas de *C.bonariensis* variedade *bonariensis* e *microcephala* foram preparadas com alíquotas com 10 mg de óleo bruto, dissolvidas em 100µl de hexano (grau cromatográfico), e para cada análise foram injetados 2µl dessa solução com seringas Hamilton com capacidade de 10µl; utilizando as seguintes condições: coluna capilar de sílica fundida DB-5 (25 m x 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,25 µm). A temperatura programada de 60 °C a 300 °C a 3 °C/min, energia de ionização de 70 eV; temperatura do injetor de 220 °C, temperatura de interface de 250°C. O gás de arraste utilizado foi o hélio como gás carreador a 80 kPa e fluxo de 1 mL/min. Os dados obtidos foram comparados com o banco de dados do aparelho e com a literatura e também pelo índice de retenção relativo de acordo com Adams (1995).

4.8.3.2 Cálculo para determinação do índice de Kovats

O índice de retenção de kovats foi determinado pela injeção de uma mistura de n-alcanos com tempos de retenção e ordem de eluição conhecidos, ao mesmo tempo em que o analito teve seu índice calculado. Os índices de retenção de Kovats (IK) dos constituintes dos óleos foram determinados através de cálculos dos componentes do óleo e comparação destes, com os padrões de igual índice de retenção, encontrados na literatura (Adams, 1995) Em condições de variação linear de temperatura a fórmula utilizada segundo Adams (1995), é:

$$I_{r_i} = 100n + 100 \frac{\Delta n \text{ tr}_i - \text{tr}_n}{\text{tr}_m - \text{tr}_n}$$

Onde:

I_{r_i} = índice de retenção de i ;

n = número de carbonos do alcano que elui antes de i ;

m = número de carbonos que elui depois de i ,

Δn = número de alcanos que elui depois de i menos o numero de alcanos que elui antes de i ;

t_{r_i} = tempo de retenção de i ;

t_{r_n} = tempo de retenção do alcano que elui antes de i ;

t_{r_m} = tempo de retenção do alcano que elui depois de i .

4.8.4 Análise Cromatográfica por Cromatografia em Camada Delgada - CCD

A análise cromatográfica foi realizada em cromatofolha de sílica gel G 60 F₂₅₄ medindo 6 x 10cm de altura, aplicando 5 toques com capilar de vidro, a partir de 1 cm da base. O extrato bruto e as frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e n-butanólica, foram eluídas em cubetas de vidro com os seguintes eluentes, clorofórmio:metanol (95:5, v/v), butanol:acetato de etila:água (50:12:38, v/v/v), acetato de etila:metanol:água (88:6:6, v/v/v) até atingirem a linha de chegada "front". Após a eluição com os sistemas eluentes, os cromatogramas foram visualizados sob luz UV ($\lambda=254\text{nm}$ e 366 nm). Em seguida foram reveladas com o reagente cromogênico a vanilina sulfúrica, seguida de aquecimento a $100\text{ }^\circ\text{C}$.

4.8.5 Análise Histoquímica

Para análise histoquímica foram feitos cortes a fresco das secções *transversais* das raízes e folhas, em lâminas semi-permanentes, tratadas com reagentes indicativos de compostos específicos para óleos voláteis e fixos, amido e polifenóis.

Todas as lâminas foram registradas através de fotografias obtidas em microscópio acoplado com câmera digital.

4.8.6 Determinação do Total de Fenólicos

O ensaio foi determinado conforme Swain e Hillis (1959), com a preparação do extrato bruto e as frações na concentração de 0,004% em metanol (m/v), diluindo 1 alíquota de 0,5mL em 8mL de água destilada. Um branco com 0,5 mL de metanol foi preparado nas mesmas condições das amostras. Adicionaram-se 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteau 0,25 N, deixando reagir por 3 min. A seguir, adicionou-se 1 mL de Carbonato de Sódio 1N deixando reagir por 10 min. As leituras das absorbâncias foram efetuadas em 725 nm. Uma curva padrão de ácido gálico nas mesmas condições acima, foi desenvolvida para estimar o percentual de fenólicos.

4.9 Determinação das Atividades Biológicas

4.9.1 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método DPPH do extrato bruto e frações de *Conyza bonariensis* (L.)

Para atividade antioxidante foi utilizada a metodologia seguida por Choi e colaboradores (2001), a partir do extrato bruto metanólico e das frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e butanólica, bem como dos óleos voláteis das raízes e folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*. Todas as amostras foram testadas nas concentrações de 250, 125, 62, 31, 16, 8 µg/mL em etanol (2,5 mL). Utilizou-se 1 mL de uma solução controle de DPPH 0,3 mM em etanol. Os padrões utilizados foram o ácido ascórbico e o timol nas mesmas concentrações das amostras. Foi preparado um branco (1mL) em etanol para cada concentração das amostras (2,5mL), sem DPPH. Após 30 minutos foram realizadas às leituras das absorbâncias em 518 nm. O ensaio foi realizado em triplicata e calculado a atividade antioxidante (% de inibição), conforme a seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = 100 - \frac{[\text{Abs da amostra} - \text{Abs do branco}] \times 100}{\text{Abs do controle}}$$

4.9.2 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método β -caroteno

A atividade antioxidante foi determinada utilizando os óleos voláteis das raízes, folhas e para o extrato bruto metanólico e suas frações, pelo método do β -caroteno qualitativamente utilizando Cromatografia em Camada Delgada - CCD, conforme Hammerschmidt e colaboradores (1978) e quantitativamente por espectrofotometria UV/visível conforme a metodologia de Mokbel (2006).

Os cromatogramas foram desenvolvidos em sílica gel G60 F₂₅₄ e nebulizados com solução de β -caroteno (60 mL de etanol, 2 gotas de ácido linoleico, 6 mg de β -caroteno e 30 mL de clorofórmio), sendo expostos à luz solar por 3 hs, e os Rfs das manchas foram calculados.

Pelo método quantitativo obteve-se uma emulsão contendo 3,34 mg de β -caroteno diluído em 1mL de clorofórmio, 40 mg de ácido linolêico e 400 mg de Tween-20, bem homogeneizados. O clorofórmio foi removido em evaporador rotatório à pressão reduzida à 40°C. A emulsão resultante foi, completada para 100mL com Peróxido de Hidrogênio 0,01M. Alíquotas de 2mL da emulsão foram transferidas para diferentes tubos de ensaio contendo 0,1mL de cada amostra solubilizada em metanol. O padrão utilizado foi a quercetina nas mesmas concentrações das amostras. As leituras foram efetuadas em espectrofotômetro UV/visível a 470 nm, de 15 a 120 minutos em intervalos de 15 minutos. As amostras foram preparadas em duplicata e mantidas em banho-maria a 50°C até o momento da leitura. Os resultados foram expressos em percentual de inibição, conforme a seguinte equação:

$$\% \text{ de inibição} = (A-B/A) \times 100$$

Sendo: A= absorbância inicial - absorbância final do controle

B= absorbância inicial-absorbância final da amostra

4.9.3 Determinação da Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi determinada por bioautografia, conforme Hamburger e Cordell (1987) e Rahalison e colaboradores (1991), com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e como padrão de antibiótico amoxicilina (978,9 µg/mg) o antifúngico Nistatina (2464,38 UI/mg), ambos preparados conforme FDA (1996). As cepas dos microrganismos foram repicadas a cada 15 dias, em tubos de ensaio com ágar simples, inclinados e incubados a 37°C por 24hs, e mantidos em temperatura ambiente.

Para obtenção dos inóculos as culturas de microrganismos indicadores foram transferidas, com auxílio de alça descartável, para tubos de ensaio contendo 5,0 mL de caldo triptona soja, padronizados pela escala de MacFarland (0,5 mL de cloreto de bário 0,048 M e ácido sulfúrico 1%). Este inóculo contém aproximadamente 10⁶ UFC/mL, equivalente a metade da escala 1 de MacFarland, utilizada na proporção de 0,5% ao meio de ágar Müller-Hinton.

Os ensaios foram realizados em placas de Petri (20 x 100 mm de diâmetro). Em cada placa de Petri foi depositada uma cromatoplaça de sílica gel G60 F₂₅₄ de 50 x 60 mm com os cromatogramas desenvolvidos. Sobre a cromatoplaça foi adicionado 10 mL do meio de cultura liquefeito e inoculado com o microrganismo indicador. Com a solidificação do meio, levou-se para incubação a 35°C, por 18 h, e nebulizou-se com solução aquosa de cloreto 2,3,5 trifenil de tetrazólio (20 mg/100mL) para detecção de halos de inibição, incubou-se a 35°C por mais 1 h, quando o experimento pode ser registrado por fotografias.

4.9.4 Determinação da Atividade Citotóxica

A atividade citotóxica foi determinada utilizando-se o bioensaio de *Artemia salina*, conforme McLaughlin et al. (1982). Os ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em uma solução de sal marinho (35g/L), em recipiente retangular coberto, com iluminação e aeração. Após, 48 horas os ovos eclodiram em larvas do tipo náuplios e foram coletados com auxílio de pipeta de pasteur. As frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila, butanólica e extrato bruto de *Conyza*

bonariensis e o padrão cloridrato de berberina foram aplicados nas concentrações de 500, 50 e 25µg/mL na proporção de 1:5 mL de extrato/solução salina (35g/L) e 10 náuplios. Os óleos voláteis das raízes e folhas e do timol foram utilizados nas concentrações de 10, 5 e 1µg/mL na mesma proporção acima. As amostras foram solubilizadas em DMSO 1%. Os ensaios foram realizados em triplicata e para controle positivo foi utilizada água em solução salina. Após 24 h foram realizadas as leituras, observando-se o número de sobreviventes, para determinar a CL₅₀ através do teste de Finney (1971).

4.9.5 Determinação da Toxicidade Aguda.

Para os estudos referentes à toxicidade aguda de *Conyza bonariensis* (L.), seguiu-se a metodologia de Heuvel et al (1990). Os testes de toxicidade aguda foram realizados com 90 camundongos albinos adultos (com 90 dias), de ambos os sexos.

Os camundongos foram separados em três grupos: grupo controle - com 10 camundongos; recebeu apenas água destilada. Grupo extrato aquoso e grupo extrato etanólico - os dois grupos foram subdivididos em quatro subgrupos, cada um com 10 camundongos. As doses dos diferentes extratos administradas para cada subgrupo foram 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg de peso, respectivamente.

Os animais ficaram em jejum por um período de 12hs antes da administração dos extratos, recebendo somente solução aquosa de glicose a 10%. A administração dos extratos foi realizada por via oral, com auxílio de sonda gástrica, considerando-se o volume de 0,1 mL/10g peso corporal.

Posteriormente, os camundongos permaneceram em observação no biotério do Departamento de Farmácia Industrial, CCS, UFSM, por 14 dias, onde receberam água e alimento *ad libitum*. A temperatura ambiente foi mantida em torno de 25 °C. Os parâmetros avaliados diariamente foram números de mortes, atipias e estado geral de comportamento (depressão, excitação motora, convulsão, piloereção e diarreia). Os resultados foram analisados segundo Heuvel et al (1990).

4.10 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. A curva padrão foi ajustada pelo método dos mínimos quadrados e a adequação ao modelo empregado ($y = a + bx$) foi de 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimentos dos Extratos de *Conyza bonariensis* (L.)

Na determinação da toxicidade aguda, calculou-se o rendimento do extrato aquoso e hidroalcólico. No extrato aquoso obteve-se um resíduo seco de coloração marrom-escuro com rendimento de 2,82g% e no hidroalcólico um resíduo escuro com rendimento de 2,36g%.

Na análise qualitativa, os rendimentos obtidos foram 3,135g% para o extrato aquoso e 3,326 g% para o extrato etanólico.

Esses resultados foram expressos em g%, evidenciando um valor bem inferior ao encontrado por Atta e El-Sooud (2004), que obtiveram um rendimento de 48,5 g em 200g de folhas secas do extrato metanólico de *Conyza dioscoridis*.

5.2 Análise Qualitativa de *Conyza bonariensis* (L.)

Com a finalidade de verificar os principais grupos constituintes da espécie em estudo, realizou-se uma abordagem fitoquímica preliminar. Os resultados dessa investigação sistemática serviram, também, como indicativo na determinação das atividades biológicas que foram testadas na espécie *Conyza bonariensis* (L.). Os resultados da análise qualitativa estão demonstrados na Tabela 2.

TABELA 2 - Análise química qualitativa dos extratos de *Conyza bonariensis* (L.)

Ensaio	A frio 20%	
	Extrato aquoso	Extrato hidroetanólico 70%
Ácidos Orgânicos	-	+++
Antocianinas	++	-
Alcalóides	-	-
Saponinas	+++	-
Saponinas Hemolíticas	-	-
Cianogênicos	-	-
Cumarinas	-	-
Fenóis	-	+++
Fenóis com posição orto e meta livres	-	+++
Fenóis com posição para livre	-	-
Flavonóides	-	++
Hidroxiantraquinonas	-	-
Mucilagens	++	-
Taninos Condensados	-	-
Taninos Hidrolisáveis	-	-
Amino-grupos	+	+
Ácidos orgânicos voláteis	+++	-
Ácidos orgânicos fixos	-	-
Ésteróides triterpenos	-	+++
Cardiotônicos	Liebermann-Burchard	+++
	Baljet	++
	Keller- Kiliani	++
Oses	+++	+++
Osídeos	-	-
pH	6,0	-
cor	castanho-escuro	castanho-esverdeado
odor	moderado	forte
sabor	chá verde	-

Legenda: +++ resultados fortemente positivos; ++ resultados positivos; + resultados fracamente positivos, - resultados negativos.

A análise qualitativa preliminar foi realizada com o extrato aquoso e etanólico de *Conyza bonariensis* (L.), conforme a Tabela 2, e evidenciou-se a presença de vários metabólitos secundários.

Não foi constatada a presença de ácidos orgânicos no extrato aquoso, entretanto, no extrato hidroetanólico detectou-se uma forte presença desses ácidos, que foram extraídos com éter etílico e ressuspensos em água, para determinar o pH. Esse dado justifica o elevado número de ácidos orgânicos encontrados no gênero

Conyza relatados na literatura, entre eles o ácido siríngico (Kong et al., 2001), ácido estríctico (Pandey et al., 1984), ácido daniélico (Zdero et al., 1990), ácido conízico (Mahato et al., 1981), ácido farnesílico e butenolídeos (Ahmed et al., 1990), ácido caféico e ácido protocatéquico (Chu et al., 2005).

No extrato aquoso, foi verificada a presença de antocianidinas, que são pigmentos solúveis em água e responsáveis pela cor dos vegetais, além de possuírem propriedades antiinflamatórias e antiedematogênicas. A literatura relata a presença do ácido caféico que é um derivado das antocianinas.

Não se evidenciou a presença de alcalóides no extrato hidroetanólico, quando se utilizou às reações de caracterização de Mayer, Dragendorff, Bouchard e Bertrand.

No extrato aquoso de *C. bonariensis* (L.) foi observada a presença de uma espuma persistente, até 30 minutos após forte agitação da solução, indicando presença de saponinas e no extrato hidroetanólico não foi verificada a ocorrência de halos de hemólise, comprovando a inexistência de saponinas hemolíticas. Entretanto, no extrato hidroetanólico, constatou-se a forte presença de esteróides triterpênicos, também confirmado por Rizk e colaboradores (1986), que investigando a espécie *Conyza bonariensis* (L.) confirmaram a presença de ésteróis e/ou terpenos. Esse resultado, também foi constatado por Su e colaboradores (2003) que confirmaram a presença de saponinas triterpênicas isoladas de *Conyza blinii*, denominadas de conyzasaponinas.

No extrato hidroetanólico, foi evidenciada a forte presença de fenóis, que possuem propriedade redutora, onde foram evidenciadas por reação de coloração utilizando o cloreto férrico como reagente. Asongalem e colaboradores (2004) também evidenciaram a presença de fenóis no extrato aquoso de *Erigeron floribundus*. Também se constataram a forte presença de fenóis, apenas com a posição orto e meta livre, utilizando o reativo de Liebermann em solução alcalina.

Também no extrato hidroetanólico ficou evidenciada a presença de flavonóides, pela reação com magnésio em meio ácido, caracterizando aqueles flavonóides que contém o núcleo α -benzopirona. Esse fato também foi observado por Rizk e colaboradores (1986) que detectaram a presença de flavonóides, utilizando as partes aéreas dessa mesma espécie. Em outro trabalho relatado na literatura, El-Karemy e colaboradores (1987) demonstraram a presença de flavonóides na *Conyza bonariensis* (L.), sendo o composto escutelareína 7-

glicoronídeo o seu constituinte majoritário e, em menor proporção os seguintes compostos, a espidulina 7-diglicosídeo, quercetina 3-glicosídeo, 3'-glicosídeo, 3,3'-diglicosídeo e traços de luteolina 7-glicosídeo e quercetina 3-rutinosídeo.

No extrato aquoso e hidroetanólico ficou evidenciada a forte presença de oses na forma de compostos glicosilados, justificado por, El-Karemy e colaboradores (1987), que também relataram a presença de gliconas ligadas às estruturas agliconas dos flavonóides e das saponinas triterpênicas.

Foi verificada a presença de heterosídeos cardiotônicos no extrato hidroetanólico, confirmado por Chu e colaboradores (2005), que estudando a espécie *Erigeron breviscapus* detectaram a presença dos seguintes ácidos orgânicos, ácido cafeico e ácido protocatéquico.

A partir desses resultados, pode-se observar que os principais compostos presentes na espécie *Conyza bonariensis* (L.) foram flavonóides, saponinas, ácidos orgânicos, cardiotônicos e fenóis.

5.3 Perfil Cromatográfico

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) é uma técnica amplamente utilizada para fins de análise pelo seu baixo custo e rapidez, tanto de extratos vegetais brutos quanto para avaliar o resultado de um processo de separação (Simões, 2004).

Na análise do perfil cromatográfico, testaram-se os seguintes sistemas eluentes em diversas polaridades e concentrações, sendo que os eluentes que melhor expressaram as substâncias presentes no extrato bruto e nas frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e butanólica de *Conyza bonariensis* (L.), por cromatografia em camada delgada foram: clorofórmio:metanol (97:3, v/v), para as frações mais apolares e butanol:acetato de etila:água (45:35:20, v/v/v), para as frações polares, conforme demonstrado na Figura 21. O sistema eluente clorofórmio:metanol (97:3, v/v) apresentou melhor separação das manchas das amostras menos polares e o eluente mais polar butanol:acetato de etila: água (45:35:20, v/v/v) expressou melhor separação das amostras polares. Os cromatogramas foram revelados com vanilina sulfúrica que é utilizada para identificar óleos voláteis e saponinas.

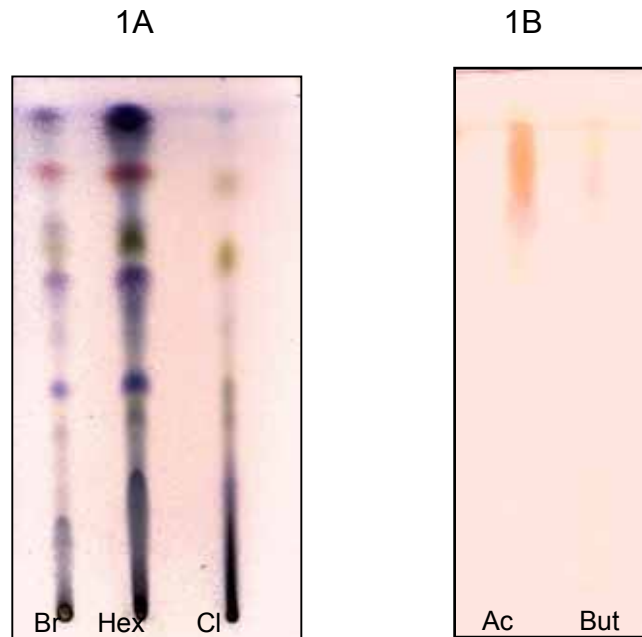


FIGURA 21 - Perfil cromatográfico do extrato bruto e das frações de *Conyza bonariensis* (L.) em CCD, com vanilina sulfúrica como revelador. 1.A Fase Móvel: clorofórmio:metanol (97:3, v/v); 1.B Fase Móvel: butanol:acetato de etila:água (45:35:20, v/v/v), (Br= Extrato Bruto; Hex= Hexânica; Cl= Clorofórmica; Ac=Acetato de Etila; But= Butanólica).

5.4 Análise Histoquímica de *Conyza bonariensis* (L.)

Ficou evidenciada a presença de óleos fixos e voláteis conforme Figura 22 nas folhas (A) e raízes (B) de *Conyza bonariensis* (L.) visualizados pela coloração laranja, desenvolvida na presença do reativo de SUDAM III. Isso confirma o que Oliveira (1998) relata a presença de óleos voláteis no interior das células, ou em estruturas especializadas como glândulas e canais secretores.

As cavidades secretoras dos óleos das raízes de *Conyza bonariensis* (L.), estão dispostas em fileiras externas ao floema e localizadas externamente à endoderme, com estruturas histológicas mais rígidas e compactadas do que nas folhas, justifica-se o menor rendimento nos óleos das raízes.

Em relação às folhas, o óleo volátil ou fixo está distribuído nas cavidades secretoras em fileiras simples, podendo estar acima ou abaixo dos feixes vasculares ou no mesófilo (Azevedo,1999).

Na Figura (22-A) observa-se uma quantidade expressiva dessas cavidades, e cujos tecidos se apresentam com aspectos morfo-histológicos mais externos, obteve-se um rendimento maior do que nas raízes.

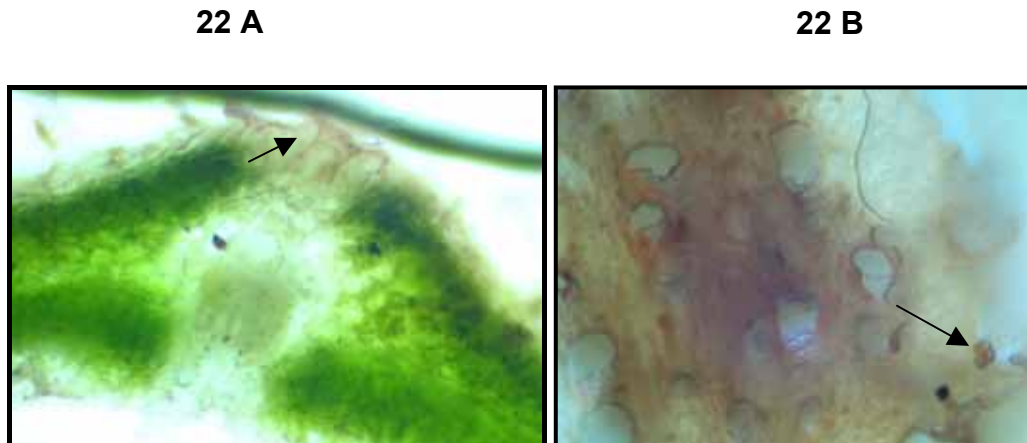


FIGURA 22- Solubilização de SUDAM III evidenciando óleos voláteis e óleos fixos nas folhas (A) e raízes (B) de *Conyza bonariensis* (L.)

Foi observada maior expressão de amido (Figura 23-A), corado pelo lugol nas raízes do que nas folhas (Figura 23-B), isso se deve provavelmente, ao metabolismo primário da planta, que o contém como substância de reserva e nutriente para o seu desenvolvimento.

Na Figura (23-C) evidenciou-se a presença de tricomas glandulares nas folhas com características multicelulares e bisseriadas, com cinco pares de células, localizadas na face abaxial, em menor quantidade e mais esparsos do que no caule que também foi observado por Azevedo (1999).

Também se observou a presença de polifenóis nas raízes, utilizando o reativo Cloreto Férrico, demonstrado pela coloração enegrecida (Figura 23-D). Sugere-se que a maior atividade antioxidante, pelo método de DPPH, ocorrido nas raízes, seja devido a maior presença de polifenóis.

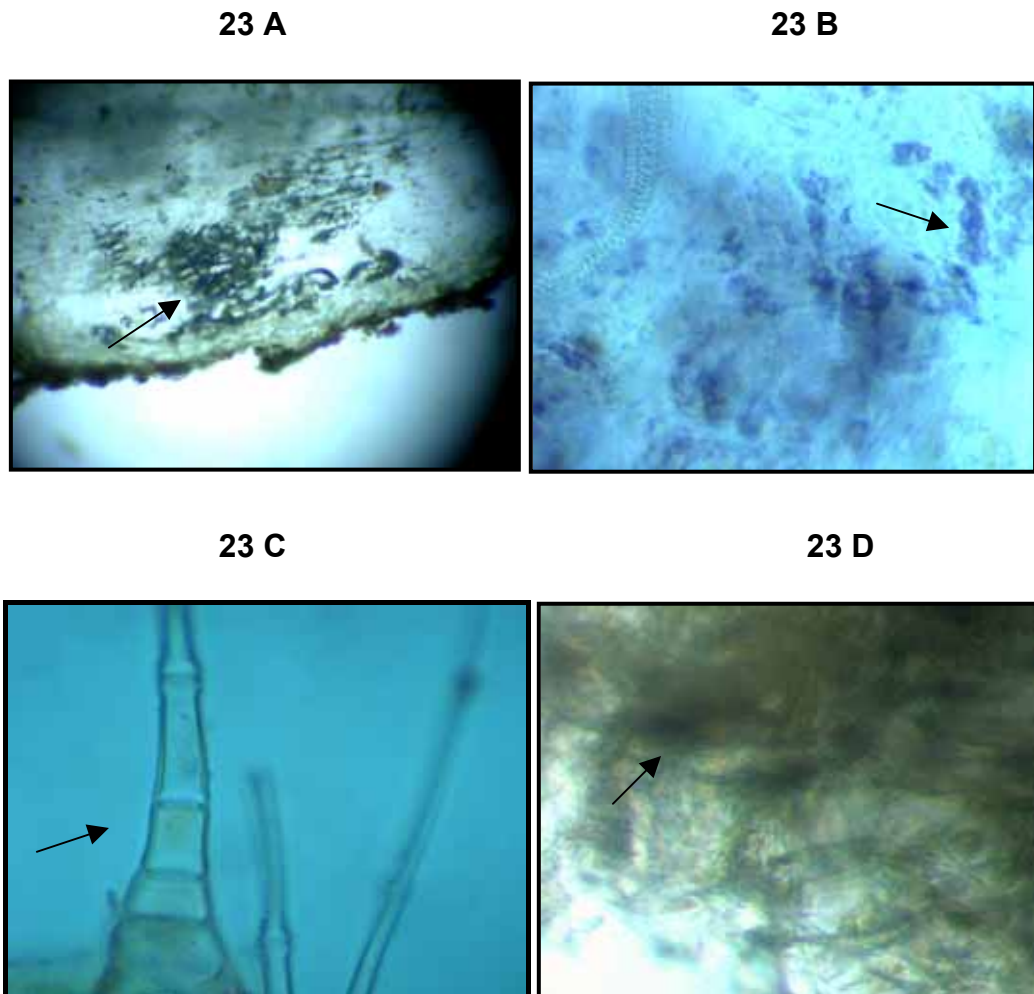


FIGURA 23- Presença de amido nas raízes (A) e folhas (B), tricomas nas folhas (C), polifenóis nas raízes (D) de *Conyza bonariensis* (L.)

5.5 Determinação do Teor de Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos presentes nas plantas são muito estudados por apresentarem atividades farmacológicas comprovadas, além de serem responsáveis pela cor, adstringência e aroma de vários alimentos (Soares, 2002). Englobam uma grande quantidade de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas) (King e Young, 1999).

Na literatura são apresentadas correlações entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante, devido a essa capacidade de seqüestro de radicais que os

compostos fenólicos apresentam, por atuarem também no processo oxidativo e na oxidação lipídica (Soares, 2002).

A determinação do teor de fenólicos totais no extrato bruto e frações de *Conyza bonariensis* (L.) foram determinadas pelo método de Folin-Ciocalteu, de acordo com Swain e Hillis (1959). As substâncias fenólicas totais foram determinadas através da curva padrão com o ácido gálico e expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/mg). Utilizou-se a concentração de 0,004% (Figura 24), porque melhor representou os resultados dos compostos fenólicos.

Na Figura 25, observa-se que os resultados obtidos para os fenólicos totais no extrato bruto (52,55 EAG/mg), hexano (33,34 EAG/mg), clorofórmio (97 EAG/mg), acetato de etila (232 EAG/mg) e butanol (162 EAG/mg). A fração acetato de etila foi mais significativa (valor superior a 200 EAG/mg), seguida da fração butanólica 162 (EAG/mg).

Em relação à fração hexânica, foi a que apresentou o menor valor de compostos fenólicos. Portanto, as frações acetato de etila e butanólica apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos expressos equivalentes de ácido gálico, isso pode ser explicado pelo princípio da seletividade, onde as substâncias mais polares possuem afinidade pelos solventes de igual polaridade, concentrando-se em maior quantidade nessas frações mais polares.

Esses resultados também foram observados por Kim e Kim (2003), que determinaram o teor de fenólicos totais do extrato hidroetanólico das partes aéreas e raízes de *Erigeron annuus*, evidenciando um valor de 187,12 EAG/mg, a partir do resíduo seco

Parejo e colaboradores (2003), investigando algumas das seguintes espécies da família Asteraceae (*Baccharis pentlandii*, *Baccharis platipoda*, *Chromolaena tunariense*, *Erechtites hieraciifolius*, *Mikania psilostachya*, *Pluchea sagitalis*, *Tagetes máxim* e *Tessaria fastigiata*), relatou que o conteúdo de compostos fenólicos foram maiores nas frações acetato de etila (valor maior que 200 EAG/mg), e constatou que a fração hexânica apresenta menor concentração de fenólicos para essas espécies pertencentes a família Asteraceae.

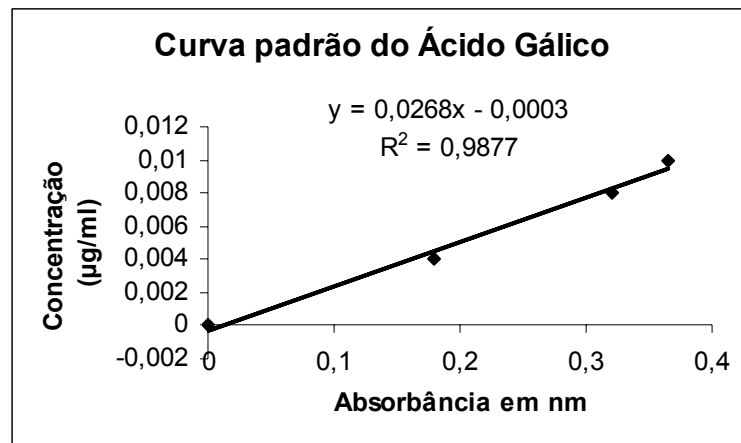


FIGURA 24 - Curva padrão do ácido gálico

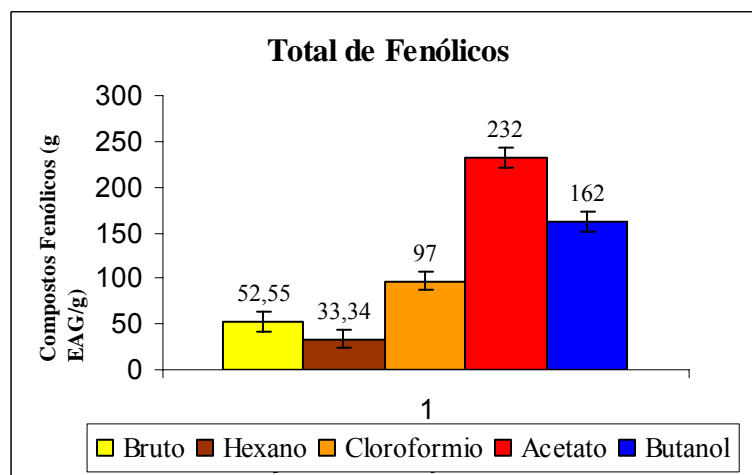


FIGURA 25 - Conteúdo de fenólicos totais no extrato bruto e frações de *Conyza bonariensis* (L.) pelo método Folin-Ciocalteu

5.6 Constituintes Químicos do Óleo Volátil de *Conyza bonariensis* (L.).

Nesse estudo, foram utilizadas duas variedades da espécie de *Conyza bonariensis* (L.), que ocorrem na região de Santa Maria (RS). Segundo Cabrera (1963), existe a variedade *bonariensis* e a variedade *microcephala*, cuja diferença entre essas duas variedades é o tamanho dos capítulos florais (4-5 mm), que são menores para a variedade *microcephala*.

A partir desses dados da literatura, resolveu-se realizar o estudo químico dos óleos voláteis dessas duas variedades, com objetivo de comparar os constituintes voláteis das duas variedades.

5.6.1 Constituintes Voláteis de *Conyza bonariensis* (L.) var. *bonariensis*

5.6.1.1 Rendimento do Óleo Volátil das Raízes e Folhas de *Conyza bonariensis* (L.) var. *bonariensis*.

O óleo volátil foi obtido a partir de 186g de folhas da variedade *bonariensis*, extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger, que apresentou coloração levemente amarelada, com rendimento de 0,148% e o óleo das raízes também apresentou coloração amarelo intenso, com um rendimento de 0,125%, a partir de 107g de material fresco.

Com esses resultados, pode-se observar que o rendimento não apresentou diferença significativa entre os óleos obtidos das folhas e dos óleos obtidos das raízes var. *bonariensis*.

Silva e colaboradores (1985), estudando os componentes voláteis da mesma espécie, obtiveram das partes aéreas um rendimento de 0,26%. Em estudo posterior realizado por Azevedo (1999), com a espécie cultivada, obteve o rendimento do óleo volátil das folhas de 0,32% e das raízes de 0,28%. Esses resultados estão de acordo com Kuate e colaboradores (2005), que estudando outra espécie do gênero, a *Conyza floribundus*, obtiveram um rendimento de 0,2% para as folhas. Tzakou e colaboradores (2004), também encontraram resultado semelhante no rendimento do óleo das folhas de *Conyza albida* (0,25%). Entretanto, Rustaiyan e colaboradores (2004), encontraram um maior rendimento de 0,53% para o óleo das folhas de *Conyza canadensis*.

5.6.1.2 Análise Cromatográfica por CG/EM da var. *bonariensis*.

A análise do óleo das folhas e raízes foi realizada mediante cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Os componentes majoritários foram determinados mediante o cálculo do índice de Kovats (IK) e por comparação com os espectros do banco de dados do aparelho (Adams, 1995).

Os cromatogramas do óleo das raízes estão apresentados nas Figuras 26 e 27, e das folhas nas Figuras 31 e 32.

Os espectros de massa fornecidos pelo aparelho para cada composto identificado no óleo da raiz, estão apresentados nas Figuras 28 e 29.

O cromatograma do óleo das raízes var. *bonariensis*, apresentou um pico de grande intensidade com tempo de retenção superior a 30 min (Fig. 26).

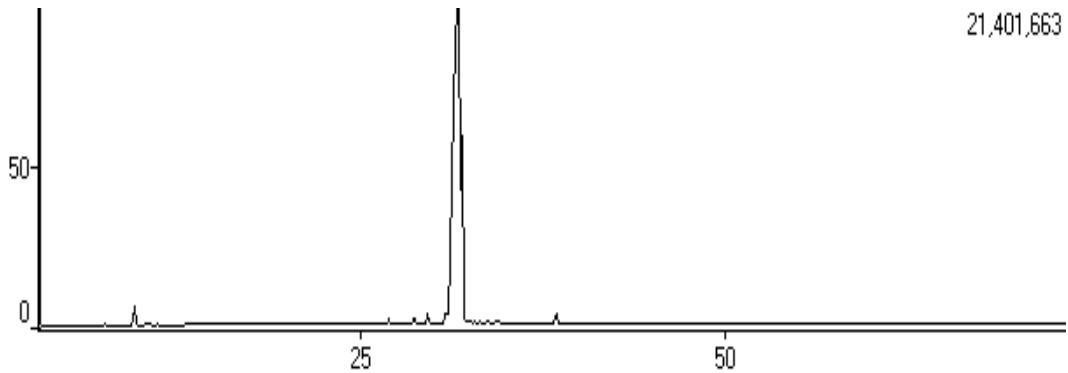


FIGURA 26- Cromatograma do óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*.

Esse cromatograma foi ampliado para melhor evidenciar o tempo de retenção dos constituintes e observou-se a presença de um outro pico com tempo de retenção também superior a 30 min. e de grande intensidade, conforme mostra a Figura 27.

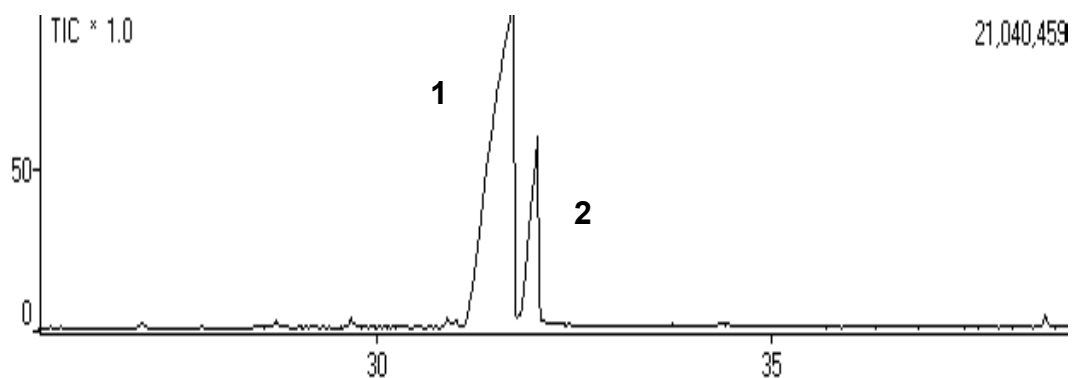


FIGURA 27- Cromatograma ampliado do óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*

O espectro de massa fornecido pelo aparelho (Fig. 28) do composto **1**, foi comparados com espectros obtidos da literatura e pode-se evidenciar a presença dos principais picos, m/z 176, 147 e 62. O pico $[M^+]$ com m/z 176 u.m.a, que corresponde ao íon molecular do composto **1**. O pico m/z 161 é característico de um composto com função éster na cadeia carbônica, e o pico 147 corresponde ao fragmento m/z 29 indicativo de C_2H_5 e o pico 105 ao fragmento m/z 71, indicativo da

função éster. Em compostos com função éster ocorre a quebra da ligação β em relação ao grupo $C=O$, que é devido ao rearranjo de McLafferty (Silverstein; Webster 2000).

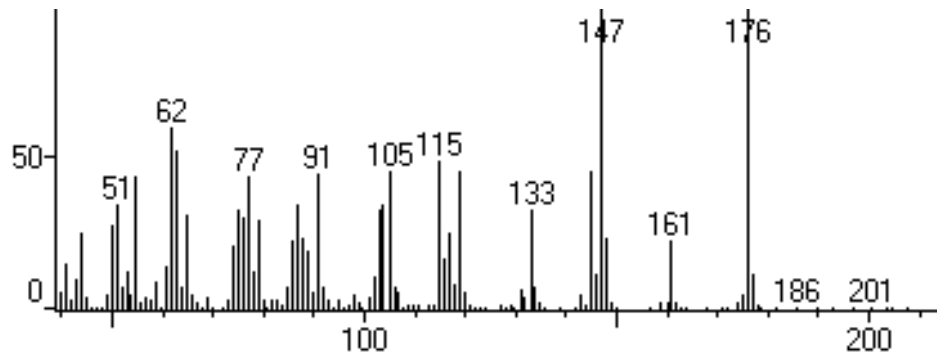


FIGURA 28- Espectro de massa do composto 1.

No espectro de massa do composto 2 (Fig. 29), pode-se evidenciar os picos principais com m/z 174, 159 e 103, indicando a presença de um composto com função éster na cadeia carbônica, sendo o pico do íon molecular $[M^+]$ com m/z 174. O pico com m/z 159 corresponde ao fragmento $m/z=15$ indicativo de CH_3 , o pico 103 ao fragmento $m/z=71$ indicando também a função éster e o pico m/z 77 corresponde ao fragmento m/z 97(C_7H_{13}).

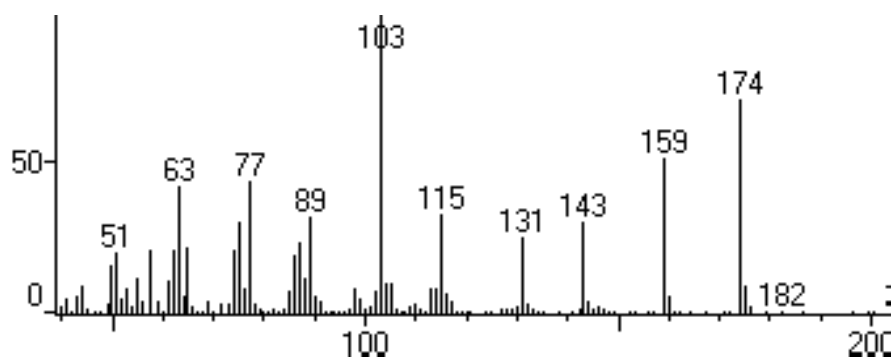


FIGURA 29- Espectro de massa do composto 2

Os cromatogramas fornecidos pelo aparelho e o índice de Kovats, juntamente com dados da literatura sobre o gênero *Conyza* foram úteis para identificar a presença de compostos acetilênicos no óleo das raízes da var. *bonariensis*.

O composto **1** majoritário (78,69%), foi identificado como (2 *E*)-dec-2-en-4,6 diinoato de metila, denominado de *cis*-lachynophyllum metil éster, e o composto **2** (17,67%), identificado como sendo (2*Z*,8*Z*)-deca-2,8-dien-4,6-diinoato de metila, denominado de matricaria metil éster (Fig. 30).

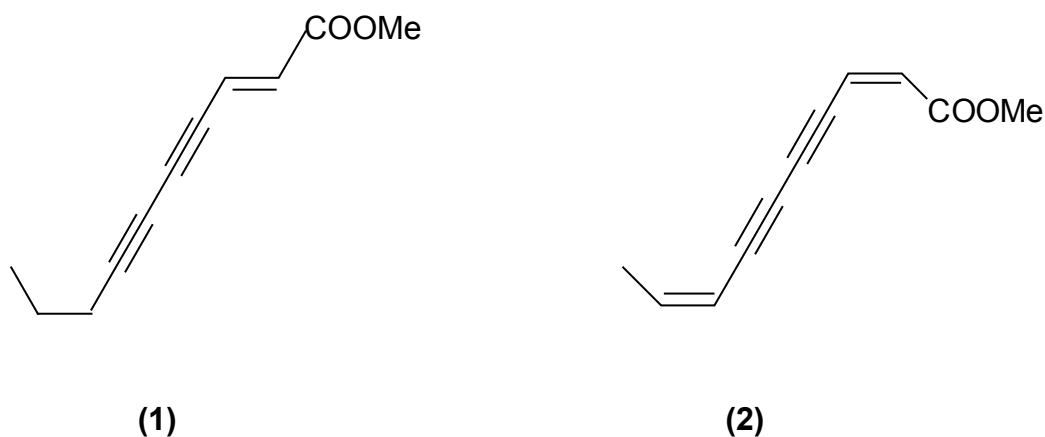


FIGURA 30- Compostos acetilênicos isolados de *Conyza bonariensis* (L.)

Na análise do óleo da raiz foram identificados 14 compostos, sendo 6 monoterpenos, entre eles o β -pineno (0,13%), limoneno (0,74%), 6 sesquiterpenos, entre eles o biciclogermacreno (0,08%), espatulenol (0,12%), β -cariofileno (0,28%) (*E*)- β -farneseno (0,31%) e 2 compostos acetilênicos. Dos compostos acetilênicos identificados, *cis*-lachynophyllum metil éster foi o componente majoritário (78,69%) seguido de matricaria metil éster (17,67%), sendo que entre os sesquiterpenos, o germacreno D (0,55%) esteve em maior proporção, conforme mostra a Tabela 3.

TABELA 3 – Principais constituintes químicos do óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*.

N.	Componentes	Índice de Kovats -DB5	% no óleo	Método de Identificação
1	α -pineno	927	tr	CG-EM
2	sabineno	965	tr	CG-EM
3	β -pineno	969	0,13	CG-EM
4	β -mirceno	985	tr	CG-EM
5	limoneno	1022	0,74	CG-EM
6	(<i>Z</i>) β -ocimeno	1042	tr	CG-EM
7	β -cariofileno	1407	0,28	CG-EM
8	(<i>E</i>)- β -farneseno	1445	0,31	CG-EM
9	γ -muuroleno	1455	tr	CG-EM
10	germacreno D	1466	0,55	CG-EM
11	biciclogermacreno	1481	0,08	CG-EM
12	<i>cis</i> -lachnophyllum metil éster	1505	78,69	CG-EM
13	matricaria metil éster	1524	17,67	CG-EM
14	espatulenol	1572	0,12	CG-EM
	Total	-	99,1	

Esses resultados colaboram com o estudo realizado por Azevedo (1999) que estudou o óleo volátil das raízes dessa mesma espécie, com a espécie cultivada em estufa. O composto *cis*-lachnophyllum metil éster (21,27%) foi encontrado em menor proporção em relação à mesma espécie nativa (78,69%), enquanto que o composto matricaria metil éster (76,44%) da espécie cultivada, apresentou-se em maior proporção em relação à espécie nativa (17,67%). Essa variação da mesma espécie cultivada e nativa demonstra a influência de fatores externos como solo, clima, latitude e estação sazonal para cada planta. Tzakou et al. (2004) trabalhando com a mesma espécie na Grécia identificaram 55 componentes das partes aéreas de *Conyza albida*, sendo o *cis*-lachynofillum metil éster o composto majoritário (29,98%), e os compostos germacreno D (12,89%), (*E*)- β -farneseno (12,45%), β -cariofileno (1,03%) em menor proporção. Os constituintes químicos encontrados assemelham-se com os compostos, referendados na literatura de outras regiões e países.

Na análise dos constituintes dos óleos voláteis, tanto das raízes e das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) observa-se alta concentração dos compostos poliacetilênicos, sendo eles o *cis*-lachynofillum metil éster (78,69%) para as raízes e (44,31%) para as folhas bem como o composto matricaria metil éster (17,67%) para as raízes. A presença desses compostos nessa concentração é de grande relevância, pois, na literatura as concentrações desses compostos no gênero

Conyza encontram-se na faixa de 20 a 30%, como demonstrado na *Conyza albida* e na espécie cultivada de *Conyza bonariensis* (L.). Ressalta-se ainda que as coletas foram realizadas na época de floração do vegetal, quando a planta apresenta seus elevados índices de seus metabólitos secundários.

Durante as análises dos óleos, observou-se que o óleo das raízes apresentou uma coloração marrom à medida que era armazenado sob refrigeração. A esse fato atribui-se à presença do composto acetilênico *cis*-lachnophyllum metil éster, estar em maior proporção no óleo das raízes. Segundo Schrader e colaboradores (2005), os compostos acetilênicos são facilmente oxidados pela presença da luz e calor, além de alguns desses compostos apresentarem propriedades fototóxicas.

No cromatograma do óleo das folhas, foram observados vários picos de menor intensidade e dois picos de maior intensidade com tempo de retenção superior a 30 min. de acordo com a Figura 31 e o mesmo encontra-se ampliado na Figura 32.

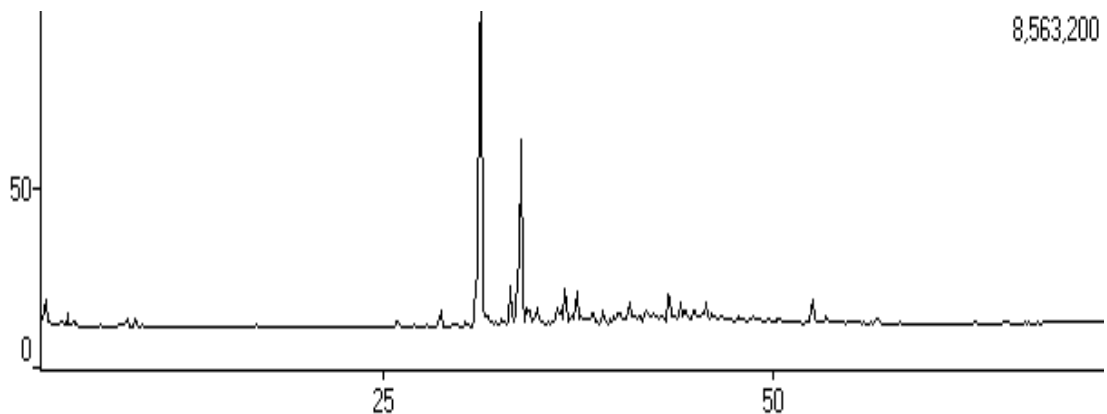


FIGURA 31- Cromatograma do óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.)

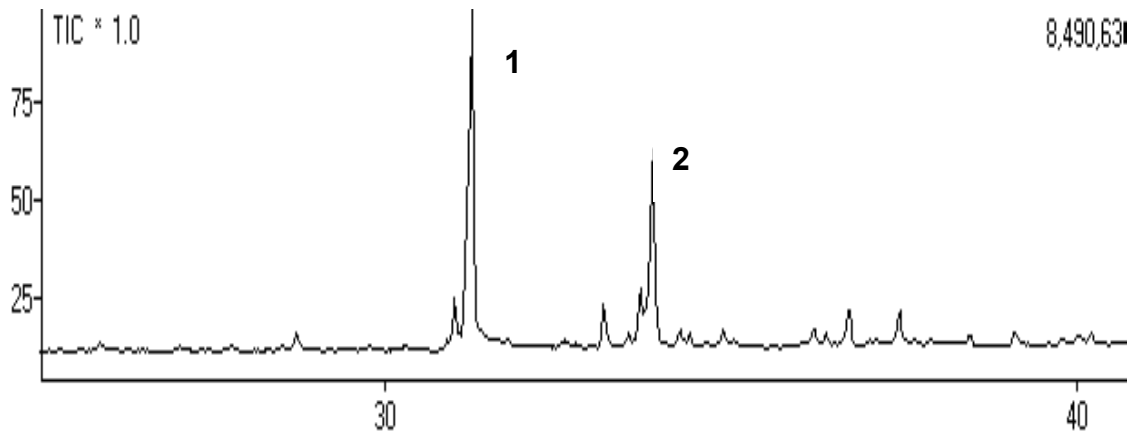


FIGURA 32- Cromatograma ampliado do óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*

No óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) foram identificados 25 compostos. Os compostos majoritários obtidos da planta nativa foram o *cis*-lachnophyllum metil éster (44,31%), óxido de cariofileno (22,0%), (*E*)-espatulenol (5,14%), β -farneseno (1,45 %) entre outros, conforme Tabela 4. Esse resultado também está de acordo com o relato de Harbola e colaboradores (1985) que encontraram o *cis*-lachnophyllum metil éster (64,04%) como composto majoritário na espécie *Erigeron linifolius*.

Segundo Azevedo (1999) em pesquisa com a mesma espécie, só que cultivada, o limoneno (25,97%) foi um dos principais constituintes presentes nas folhas, seguido dos compostos manol (12,14%), α -*trans*-bergamoteno (9,01%), matricaria metil éster (7,31%), α -copaenol (6,46%).

TABELA 4 - Principais constituintes químicos do óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *bonariensis*

N.	Componentes	Índice de Kovats DB5	% no óleo	Método de Identificação
1	dietilpropional	-	0,86	CG/EM
2	2-pentanona	-	0,44	CG/EM
3	1-(1-metil-(2-ciclopenten-1-il)-etanona	-	0,6	CG/EM
4	etanoato de n-propila	998	0,062	CG/EM
5	limoneno	1020	tr	CG/EM
6	β -elemeno	1381	tr	CG/EM

7	β -cariofileno	1407	tr	CG/EM
8	α - <i>trans</i> -bergamoteno	1424	tr	CG/EM
9	(<i>E</i>)- β -farneseno	1445	1,45	CG/EM
10	(<i>Z</i>)- β -farneseno	1454	tr	CG/EM
11	germacreno D	1462	tr	CG/EM
12	α -curcumeno	1468	tr	CG/EM
13	valenceno	1480	tr	CG/EM
14	α -muuroleno	1485	tr	CG/EM
15	<i>trans</i> -lachnophyllum metil éster	1494	0,9	CG/EM
16	butil-hidróxi tolueno	1496	4,01	CG/EM
17	<i>cis</i> -lachnophyllum metil éster	1502	44,31	CG/EM
18	(<i>E</i>)-nerolidol	1555	4,01	CG/EM
19	espatulenol	1570	5,14	CG/EM
20	óxido de cariofileno	1575	22,0	CG/EM
21	óxido de humuleno I	1586	1,83	CG/EM
22	óxido de humuleno II	1603	1,47	CG/EM
23	γ -cadinol	1638	1,61	CG/EM
24	cubenol	1643	0,89	CG/EM
25	α -cadinol	1651	3,16	CG/EM
	Total	-	92,602	CG/EM

Em relação aos sesquiterpenos presentes na espécie, observou-se que o germacreno D, cariofileno e β -pineno estão em maior concentração nas raízes do que nas folhas, o β -farneseno está presente em maior concentração nas folhas, e os outros sesquiterpenos das folhas aparecem apenas como traços. Essa variação na composição e concentração dos constituintes voláteis se deve, provavelmente, a época de coleta da planta, bem como o estágio de desenvolvimento do vegetal e o ambiente onde se desenvolve.

Um outro dado importante no óleo das folhas de *Conyza bonariensis* foi à relativa proporção entre os sesquiterpenos (48,25%) em relação aos de compostos acetilênicos (44,31%), entretanto, o mesmo não pode ser observado no óleo das raízes onde se observou uma proporção de (1,35%) de sesquiterpenos em relação aos compostos acetilênicos que apresentou um percentual de (96,36%). Esses dados corroboram com os resultados de Miyazawa e colaboradores (1992) que evidenciaram maior proporção dos compostos acetilênicos (83,3%) em relação aos sesquiterpenos (4%), nas folhas de *Erigeron canadensis*.

Outra observação relevante nesse estudo foi em relação ao limoneno que apresenta apenas 0,74 % nas raízes e apenas traços nas folhas. O estudo realizado por Azevedo (1999) com a mesma espécie de *Conyza*, porém cultivada, observou-se a presença de limoneno como composto majoritário. Esse resultado também foi observado no óleo volátil de *Conyza canadensis* realizado por Hrutfiord e colaboradores (1987).

Em estudos com outras espécies do gênero *Conyza*, salienta-se o trabalho realizado por Rustaiyan e colaboradores (2004) que analisaram por CG/EM o óleo das folhas da espécie *Conyza canadensis* (L.), coletada no Iran, tendo como compostos majoritários o espatulenol (14,1%), (*E*)- β -farneseno (14,6%) e limoneno (12,3%). Outro trabalho com essa mesma espécie coletada na Índia apresentou o β -cariofileno e germacreno D, como compostos majoritários (Jirovetz et al.1999 apud Rustaiyan, 2004).

Segundo a literatura, ainda não está bem determinada a função dos compostos poliacetilênicos nos vegetais, entretanto, acredita-se que está relacionado com as interações que ocorrem entre planta/planta e planta/inseto. Esse fato foi confirmado por Economou e colaboradores (2002), que estudaram os efeitos alelopáticos de *Conyza albida* sob o crescimento de *Avena sativa*. Foi constatada a diminuição do crescimento de *Avena sativa* pela ação fitotóxica das folhas e

inflorescências dos compostos presentes na *Conyza albida*, que foi atribuído à presença de compostos poliacetilênicos.

Outro aspecto importante verificado nas raízes do óleo volátil de *Conyza bonariensis* (L.) foi a presença de 5 sesquiterpenos hidrogenados e apenas 1 oxigenado, já nas folhas ocorreu a presença de 5 sesquiterpenos oxigenados em relação a 12 sesquiterpenos hidrogenados, evidenciando que os compostos oxigenados estão em menor proporção do que os hidrogenados, e esses em maior proporção nos óleos das folhas do que nas raízes, fato também evidenciado por Kuate e colaboradores (2005) na espécie *Erigeron floribundus*, que apresentou 23 sesquiterpenos hidrogenados em relação a 12 oxigenados.

Esses resultados justificam que a composição dos óleos está relacionada com a região da coleta da planta, que é influenciada por diversos fatores extrínsecos como a latitude, características do solo, temperatura, época sazonal.

5.6.2 Constituintes Voláteis de *Conyza bonariensis* (L.) var. *microcephala*

O óleo volátil obtido a partir de 130g das folhas frescas, apresentou um rendimento de 0,088% e o óleo volátil obtido de 87g das raízes var. *microcephala* obteve um rendimento de 0,06%. Os componentes foram identificados pela determinação do índice de Kovats e apresentados na Tabela 5.

No óleo volátil das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala* verificou-se a maior proporção de sesquiterpenos (46,53%) em relação aos compostos acetilênicos (43,05%), e aos monoterpenos hidrogenados (1,27%). Entre os sesquiterpenos predominou os hidrogenados (12) em relação aos oxigenados (6), destacando-se os compostos β -cariofileno e germacreno D, como compostos majoritários dessa classe predominante. Nas folhas verificou-se a presença do composto acetilênico *trans*-lachnophyllum metil éster como composto majoritário (43,05%).

TABELA 5 - Principais constituintes químicos do óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*

N.	Componentes	Índice de Kovats DB5	% no óleo	Método de Identificação
1	β -pineno	964	0,89	CG/EM
2	limoneno	1017	0,38	CG/EM
3	β -elemeno	1378	1,09	CG/EM
4	β -cariofileno	1404	9,53	CG/EM
5	<i>trans</i> - α -bergamoteno	1421	0,55	CG/EM
6	α -humuleno	1438	1,56	CG/EM
7				CG/EM
8	(<i>E</i>)- β -farneseno	1442	3,48	CG/EM
9	germacreno D	1466	10,88	CG/EM
10	biciclogermacreno	1481	3,4	CG/EM
11	α -muuroleno	-	tr	CG/EM
12	germacreno A	-	tr	CG/EM
13	β -bisaboleno	1494	0,41	CG/EM
14	<i>trans</i> -lachnophyllum metil ester	1502	43,05	CG/EM
15	delta-cadineno+ β -sesquifelandreno	1509	1,61	CG/EM
16	germacreno B	1544	0,34	CG/EM
17	(<i>E</i>)-nerolidol	1552	3,38	CG/EM
18	espatulenol	1567	4,62	CG/EM
19	óxido de cariofileno	1572	3,92	CG/EM
20	globulol	1582	0,51	CG/EM
21	cariofiladienol II	1628	0,21	CG/EM
22	isoespatulenol	1628	0,27	CG/EM
	α -cadinol	1647	0,77	CG/EM
	Total		90,85	

Os cromatogramas apresentados nas Figuras 33 e 34 mostram vários picos, sendo que o pico 12 representa o composto *trans*-lachnophyllum metil éster (43,05%), e o pico 9 representa o garmacreno D (10,88%), ambos com tempo de retenção superior a 25 minutos.

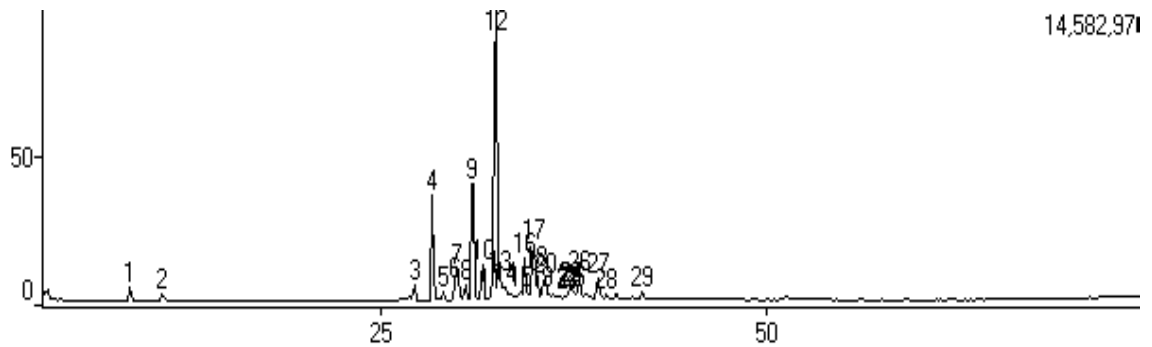


FIGURA 33 - Cromatograma do óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*.

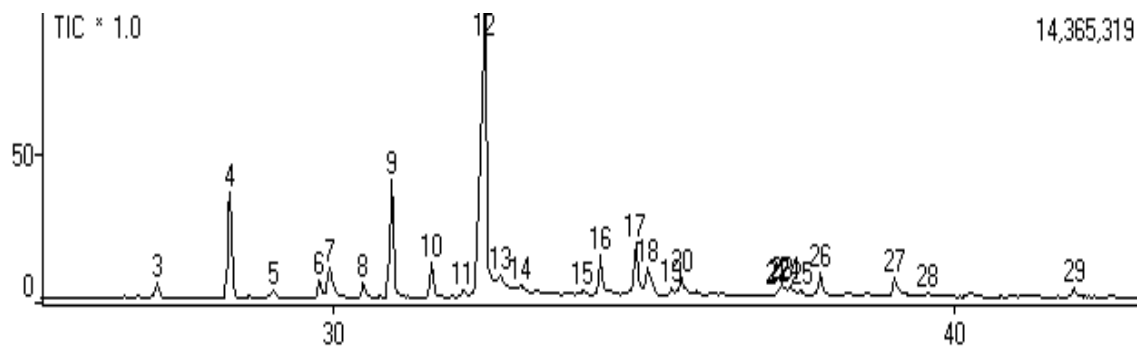


FIGURA 34- Cromatograma ampliado do óleo das folhas de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*.

No óleo volátil das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*, verificou-se a predominância de compostos acetilênicos (99,37%) conforme mostra a Tabela 6, entre os quais se identificou como compostos majoritários o *cis*-lachnophyllum metil éster (88,87%), representado pelo pico 5, e o matricaria metil éster (10,05%), representado pelo pico 6, ambos com tempo de retenção superior a 25 minutos, de acordo com a Figura 35. O mesmo cromatograma encontra-se ampliado na Figura 36.

TABELA 6- Principais constituintes químicos do óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*.

N.	Componentes	Índice de Kovats DB5	% no óleo	Método de Identificação
1	β -pineno	964	0,09	CG/EM
2	<i>trans</i> lachnophyllum metil éster	1493	0,45	CG/EM
3	<i>cis</i> lachnophyllum metil éster	1512	88,87	CG/EM
4	matricaria metil éster	1519	10,05	CG/EM
5	n-hexadecano	1589	0,1	CG/EM
6	n-ocatadecano	1794	tr	CG/EM
7	n-eicosano	1998	tr	CG/EM
	Total		99,56	

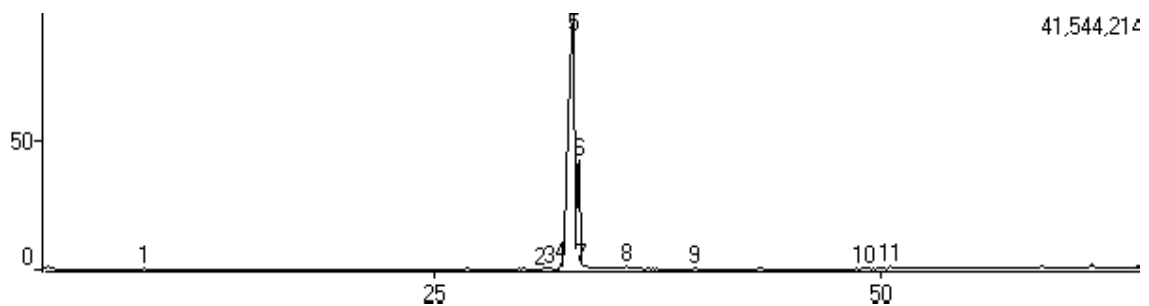


FIGURA 35- Cromatograma do óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*

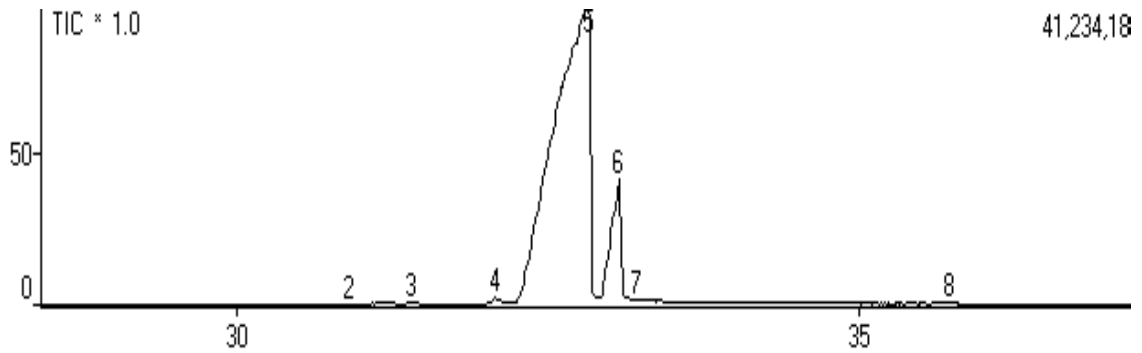


FIGURA 36- Cromatograma ampliado do óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.) variedade *microcephala*

No espectro de massa (Figura 37), pode-se evidenciar que os picos principais observados no espectro, indicam a presença de um composto de função éster na cadeia carbônica, onde o pico 161 representa o fragmento m/z 15 indicando CH_3 , o pico 147 corresponde ao fragmento m/z 29 indicativo de C_2H_5 e o pico 105 ao fragmento $m/z = 71$ que indica a função éster. O pico do íon molécula $[\text{M}^+]$ com m/z 176 é o mais estável. A quebra da ligação β em relação ao grupo $\text{C}=\text{O}$ é devido ao rearranjo de McLafferty.

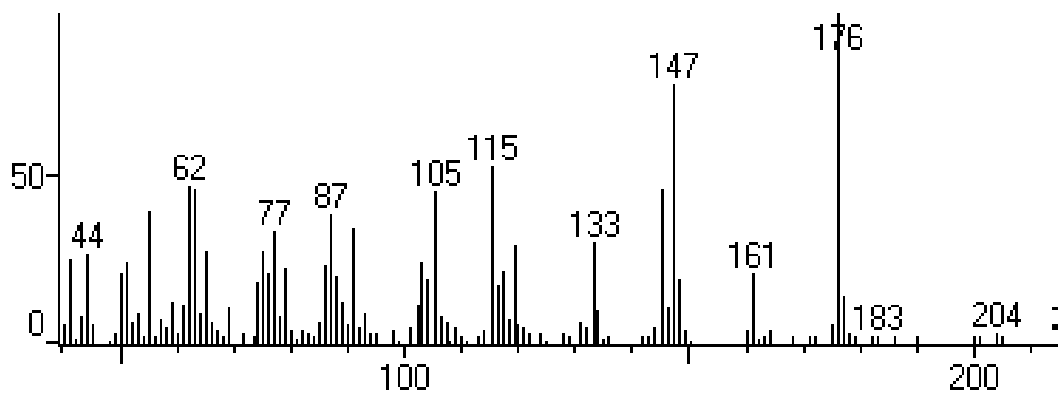


FIGURA 37- Espectro de massa do composto *trans*-lachnophyllum metil éster

Comparando os constituintes químicos das duas variedades em estudo, conforme mostra a Tabela 7, observou-se menor proporção e percentagem dos constituintes da classe dos monoterpenos em relação aos sesquiterpenos. Na *microcephala*, o limoneno esteve presente nas folhas, enquanto que na var. *bonariensis* nas raízes. Já o β -pineno esteve presente em pequena proporção nas folhas e raízes da var. *microcephala*, entretanto, fez-se ausente nas folhas da *bonariensis*. Esse fato coincide com os resultados encontrados por Silva e colaboradores (1985), que identificaram o limoneno (12%) e β -pineno (41%) apenas nas folhas de *Erigeron bonariensis* (L.).

Os compostos pertencentes à classe dos sesquiterpenos da série acíclica estiveram em proporções aproximadas nas folhas da var. *bonariensis* e *microcephala* (5,46% e 6,86%), respectivamente. Já os do grupo bisaboleno apresentaram-se apenas como traços nas folhas da var. *bonariensis* e 0,96% na var. *microcephala*. Os constituintes do grupo cadinano expressaram o dobro nas folhas da var. *bonariensis* em relação a var. *microcephala*. Os do grupo cariofilano esteve presente em maior proporção nas folhas da var. *bonariensis* (25,3%), em relação às folhas da var. *microcephala* (15,01%). O composto do grupo germacreno esteve em maior presença nas folhas da var. *microcephala* e em pequena proporção na raiz da *bonariensis*.

Os compostos acetilênicos estão em maior proporção nas raízes da var. *bonariensis* e *microcephala* (96,36% e 99,37%), respectivamente em relação às folhas dessas variedades. O composto *trans*-lachnophyllum metil éster (43,05%) foi o composto majoritário nas folhas e o *cis*-lachnophyllum metil éster (88,87%) nas raízes da var. *microcephala*. O composto matricária metil éster foi apenas evidenciado nas raízes de ambas as variedades.

TABELA 7- Estudo comparativo dos constituintes químicos das variedades *bonariensis* e *microcephala*.

Constituintes químicos	<i>var. bonariensis</i>		<i>var. microcephala</i>	
	Folha (%)	Raiz (%)	Folha (%)	Raiz (%)
Monoterpeno				
Série Labdano				
α - pineno	-	tr	-	-
β - pineno	-	0,13	0,89	0,09
Série p-Mentano				
limoneno	-	0,74	0,38	-
Sesquiterpenos				
Série Acíclica				
(<i>E</i>) β -farneseno	1,45	0,31	3,48	-
(<i>Z</i>) β - farneseno	tr	-	-	-
(<i>E</i>)-nerolidol	4,01	-	3,38	-
Total	5,46	0,31	6,86	-
Grupo Bisaboleno				
<i>trans</i> - α -bergamoteno	tr	-	0,55	-
α -curcumeno	tr	-	-	-
β -bisaboleno	-	-	0,41	-
Total	-	-	0,96	-
Grupo Cadinano				
cubenol	0,89	-	-	-
α - muuroleno	tr	-	tr	-
γ -muuroleno	-	tr	-	-
τ -cadinol	1,61	-	-	-
germacreno D	tr	0,55	-	-
δ -cadineno	-	-	1,61	-
α -cadinol	3,16	-	0,77	-
Total	4,05	0,55	2,38	-
Grupo Cariofilano				
β -cariofileno	tr	0,28	9,53	-
óxido de cariofileno	22	-	3,92	-
α -humuleno	-	-	1,56	-
óxido humuleno I	1,83	-	-	-
óxido humuleno II	1,47	-	-	-
Total	25,3	-	15,01	-
Grupo Germacrano				
β -elemeno	tr	-	-	-
espatulenol	5,14	0,12	4,62	-
germacreno B	-	-	0,34	-
biciclogermacreno	-	0,08	3,40	-
isoespatulenol	-	-	0,27	-
globulol	-	-	0,51	-
Total	-	0,08	4,52	-
Compostos Acetilênicos				
<i>cis</i> -lachnophyllum metil éster	44,31	78,69	-	88,87
<i>trans</i> - lachnophyllum metil éster	0,9	-	43,05	0,45
matricaria metil éster	-	17,67	-	10,05
Total	45,21	96,36	43,05	99,37

5.7 Determinação da Atividade Antioxidante de *Conyza bonariensis* (L.)

A atividade antioxidante foi determinada quantitativamente do extrato bruto, das frações e dos óleos voláteis de *Conyza bonariensis* (L.) pelos métodos do DPPH e β -caroteno.

5.7.1 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método DPPH do Extrato Bruto e das frações de *Conyza bonariensis* (L.)

Os resultados da atividade antioxidante estão representados nas Figuras 38 e 39. A partir da análise das absorbâncias, pode-se observar que na concentração 62,5 $\mu\text{g/mL}$, foi a fração mais ativa capaz de inibir 50% a absorbância de DPPH (IC_{50}) foi acetato de etila 2,34 $\mu\text{g/mL}$, seguida das frações butanólica 3,23 $\mu\text{g/mL}$, clorofórmio 9,07 $\mu\text{g/mL}$, extrato bruto 15,57 $\mu\text{g/mL}$ e do padrão ácido ascórbico 0,77 $\mu\text{g/mL}$. As frações acetato de etila e butanólica foram as que apresentaram melhor atividade antioxidante. Os resultados foram calculados sobre a percentagem de inibição versus concentração do extrato.

A fração acetato de etila exibiu alta atividade antioxidante quando comparada ao padrão ácido ascórbico, e coincide com os resultados apresentados por Parejo e colaboradores (2003), no estudo de 9 espécies da família Asteraceae, sendo que 8 delas demonstraram significativa atividade antioxidante nessa fração, como foi evidenciado na espécie *Mikania psilostachya* DC, que apresentou IC_{50} de 8,3 $\mu\text{g/mL}$ e a espécie *Tagetes máxima* apresentou IC_{50} de 9,4 $\mu\text{g/mL}$. Na fração hexano não foi evidenciada atividade antioxidante, e isso se deve provavelmente, a pequena concentração de compostos fenólicos nessa fração mais apolar. Esse dado, também foi observado por Parejo e colaboradores (2003), onde todas as frações hexânicas das 9 espécies testadas foram inativas quanto a atividade antioxidante, comprovando que os compostos fenólicos são os responsáveis pela atividade antioxidante nos vegetais.

Em estudo com outra espécie de *Conyza*, Kim e Kim (2003) também determinou a atividade antioxidante pelo método de DPPH, a partir do extrato hidroetanólico das partes aéreas e raízes de *Erigeron annuus*, obtendo IC_{50} de 146 $\mu\text{g/mL}$, exibindo pouca atividade antioxidante.

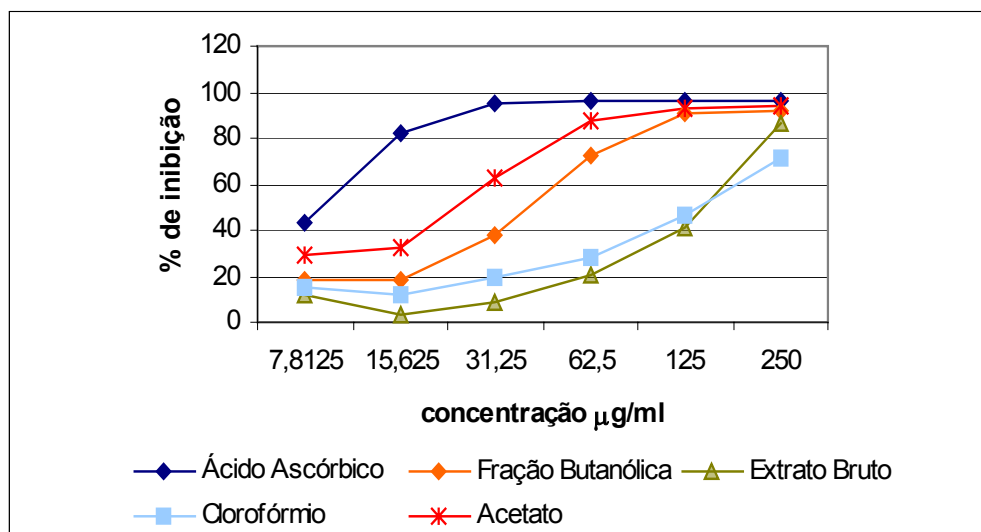


FIGURA 38- Atividade Antioxidante pelo método DPPH expressos em % de inibição do extrato bruto e frações de *C. bonariensis* (L.)

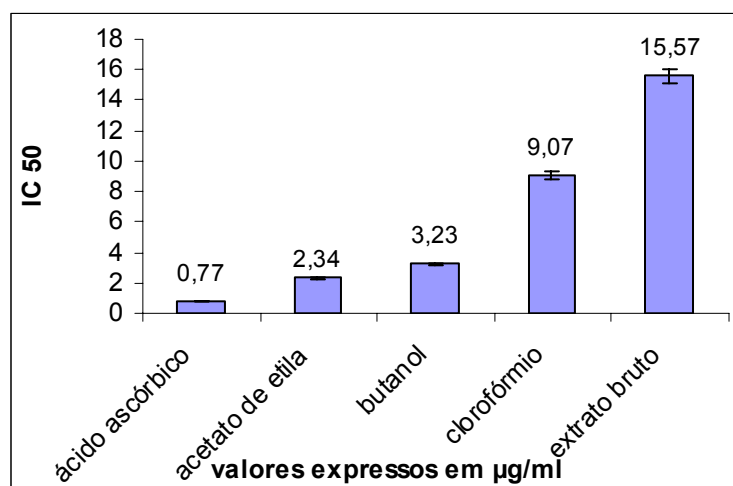


FIGURA 39- Atividade Antioxidante pelo método DPPH expressos em IC₅₀ do extrato bruto e frações de *C. bonariensis* (L.)

Na Figura 40, pode-se comparar a atividade antioxidante com o teor de fenólicos totais demonstrados pela *C. bonariensis* (L.), onde as frações com maior conteúdo de compostos fenólicos apresentaram maior atividade antioxidante como é evidenciado nas frações acetato de etila e butanólica.

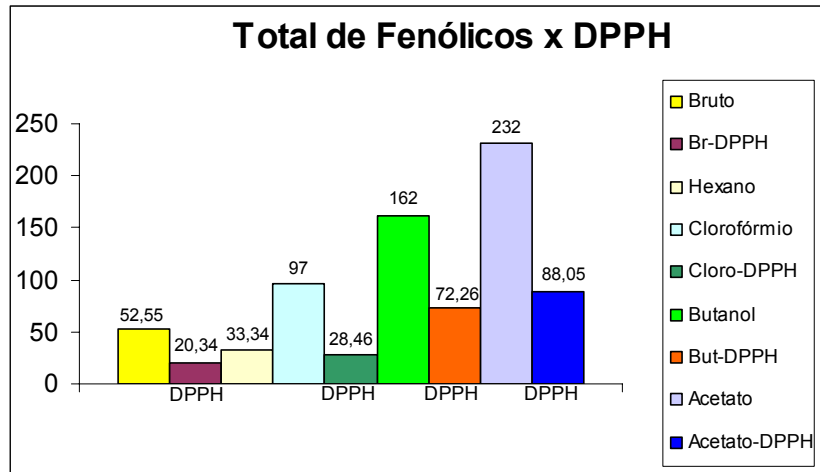


FIGURA 40- Comparação dos compostos fenólicos com a atividade antioxidante por DPPH

Em relação à fração hexânica, foi a que apresentou o menor valor de compostos fenólicos, em razão disso, não foi detectada sua presença, quantitativamente, pelo método de DPPH. Já na fração clorofórmica e extrato bruto, podem-se correlacionar linearmente a maior quantidade de compostos fenólicos com a maior atividade antioxidante. No gráfico acima, observou-se que os extratos mais polares (partições com acetato de etila e n-butanol) possuem maior quantidade de compostos fenólicos expressos em equivalentes de ácido gálico. Esses resultados justificam que as frações acetato de etila e butanólica apresentam maior atividade antioxidante, devido à presença de desses compostos em maior quantidade, ocorrendo um maior seqüestro de radicais livres (Amim, 2006).

Assim, as substâncias mais polares apresentam maior capacidade em seqüestrar os radicais livres. Segundo Barreiros (2003), esta atividade avalia a capacidade da amostra em seqüestrar o radical livre estável DPPH. Assim ao reagir com os compostos antioxidantes, ou seja, que podem doar hidrogênio, o DPPH se reduz, implicando na diminuição do valor da absorbância no comprimento de onda de 517 nm (Mathew e Abraham, 2006). Conforme Silva (2005), observa que a

reação do DPPH com a amostra origina a forma reduzida com a diminuição da cor violeta, sobressaindo à cor amarela.

Para Kulisic e colaboradores (2004), o método do DPPH é baseado na redução do DPPH em solução alcoólica na presença de um antioxidante doador de hidrogênio. A solução demonstra uma forte absorção na banda de 517 nm de coloração violeta escuro. A absorção diminui e a descoloração resultante é estequiométrica com o respectivo grau de redução. O DPPH restante, medido depois de certo tempo corresponde inversamente à atividade antioxidante de seqüestro de radical livre.

5.7.2 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método DPPH dos óleos voláteis de *Conyza bonariensis* (L.)

Os resultados da atividade antioxidante dos óleos estão representados na Figura 42 e a equação da reta obtida por regressão linear encontra-se na Figura 41.

Os óleos essenciais das raízes e folhas apresentaram um alto valor de IC₅₀ em relação ao padrão timol, demonstrando baixa atividade antioxidante dos óleos, conforme Figura 42. O óleo volátil das raízes apresentou IC₅₀ de 14,21 µg/ml e das folhas um IC₅₀ de 51,62 µg/ml. A espécie estudada apresentou como componente majoritário o composto acetilênico *cis*-lachynophillum éster e matricaria metil éster que não possuem estudos na literatura como substâncias antioxidantes. Já para Kusilic e colaboradores (2004), trabalhando com o óleo volátil de *Origanum vulgare* (L.) conhecida popularmente como Orégano, foi identificado o timol (35%) como componente majoritário e obtiveram resultados significativos quanto à atividade antioxidante. As plantas que apresentam o timol ou carvacrol, monoterpene oxigenado, na sua constituição obtiveram resultados significativos em relação à atividade antioxidante, já que o composto isolado é utilizado como substância padrão na determinação da atividade antioxidante (Tepe et al., 2005). No nosso estudo, os monoterpenos estão em baixas concentrações, portanto, não apresentam uma atividade antioxidante significativa, quando comparados com o padrão timol.

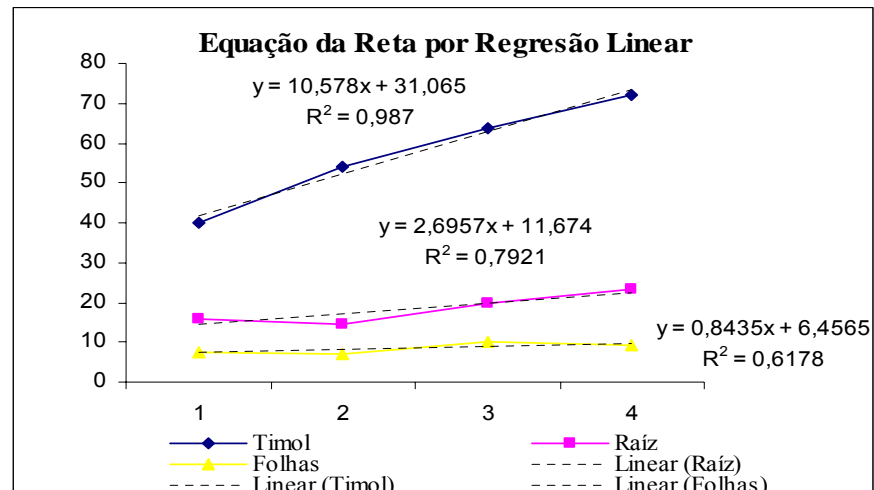


FIGURA 41- Determinação da equação da retas

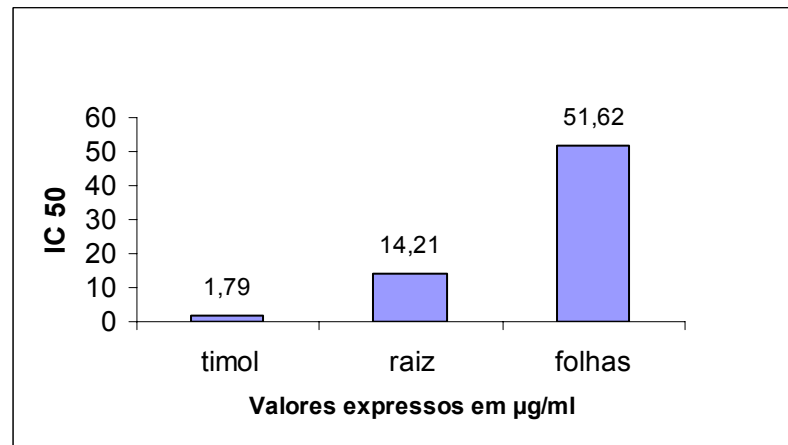


FIGURA 42- Atividade Antioxidante pelo método do DPPH dos óleos voláteis de *C. bonariensis* (L.)

5.7.3 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método β -caroteno do extrato bruto e das frações de *Conyza bonariensis* (L.)

A atividade antioxidante de *Conyza bonariensis* (L.) está expressa em percentual de inibição e encontra-se demonstrada na Figura 43. A fração acetato de etila apresentou um percentual de inibição de 95,18%, maior que o padrão quercetina que foi de 86,74 %, conforme Figura 43. Estudos realizados com outras espécies de Asteraceae resultaram em altos valores na fração acetato de etila com 60,7% para *Tagetes maxima* e 55,5% para *Tessaria fastigiata*. Isso se deve aos extratos mais polares exibirem uma forte atividade antioxidante em relação aos

extratos menos polares, evidenciando os compostos fenólicos tais como: flavonas e flavonóides podem ser os responsáveis por esta atividade (Tepe et al., 2005). A fração butanólica e extrato bruto apresentaram menor percentual de inibição de 62,65% e 59% respectivamente, quando comparados ao padrão quercetina. Assim, os antioxidantes polares permanecem na fase aquosa da emulsão e ficam mais diluídos na fase lipídica, fazendo com que sejam menos efetivos na proteção do ácido linoléico (Kulisic et al, 2004). O método do β -caroteno, está baseado na perda da coloração amarela, devido sua reação com os radicais, os quais são formados pela oxidação do ácido linoléico na emulsão. A quantidade de β -caroteno clareado, pode ser lentamente diminuída pela presença de compostos antioxidantes (Kulisic et al., 2004). As substâncias com ação antioxidante minimizam a oxidação lipídica em nível de membrana celular inibindo os compostos orgânicos voláteis e os hidroperóxidos de dienos conjugados, que provêm da oxidação do ácido linoléico, e que possuem ação carcinogênica.

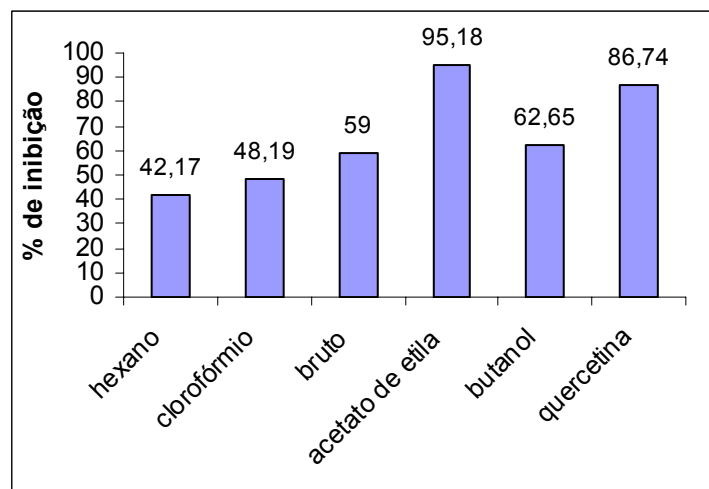


FIGURA 43- Atividade Antioxidante pelo método do β -caroteno do extrato bruto e das frações de *C. bonariensis* (L.)

Comparando-se os dois métodos utilizados na determinação da atividade antioxidante de *Conyza bonariensis* (L.), conforme Figura 44, pode-se observar que a fração acetato de etila apresentou um percentual de inibição menor (88,05%) pelo método do DPPH, do que pelo método do β -caroteno (95,18%) e a fração butanólica apresentou um percentual de inibição maior pelo método do DPPH (72,26%) do que pelo método do β -caroteno (62,65%). Assim, a fração butanólica que é mais polar

que a fração acetato de etila, expressou maior percentagem de inibição pelo método do DPPH do que pelo β -caroteno, e a fração acetato de etila que é menos polar que a butanólica apresentou maior percentagem de inibição pelo método do β -caroteno do que pelo DPPH. Para se avaliar a atividade antioxidante é necessário utilizar pelo menos 2 métodos diferentes. Se os compostos polares são apenas testados pelo método do β -caroteno, são considerados como antioxidantes fracos, devido a menor proteção ao ácido linolêico na emulsão, ainda que o método é mais específico para antioxidantes lipofílicos. Já o método por DPPH é mais rápido e mais sensível que o β -caroteno na investigação de novos antioxidantes, sendo utilizado para ambas as substâncias lipofílicas e hidrofílicas.

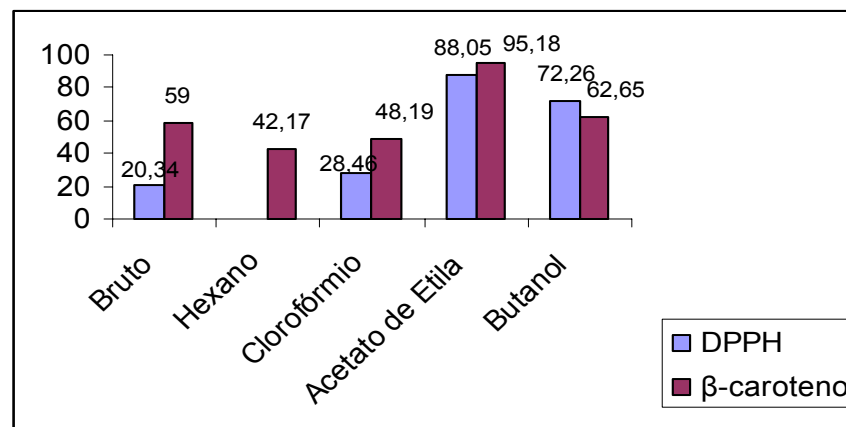


FIGURA 44- Comparação entre os métodos DPPH e β - caroteno.

5.7.4 Determinação da Atividade Antioxidante pelo método β -caroteno dos óleos voláteis de *Conyza bonariensis* (L.)

A atividade antioxidante demonstrada pelos óleos voláteis das raízes e folhas apresentaram baixo percentual de inibição, em relação ao padrão quercetina, quando avaliados pelo β -caroteno, conforme Figura 45. O óleo das folhas mesmo apresentando o BHT em menor percentagem (4,01%) em relação aos compostos acetilênicos (45,21%), apresentou menor atividade do que o óleo das raízes. Os compostos acetilênicos presentes nos óleos das raízes não são citados na literatura, em relação à atividade antioxidante, entretanto, esses compostos estão em maior concentração no óleo das raízes (96,36%) do que nas folhas (45,21%), como

mostrado na Tabela 7 da página 81. Portanto, essa atividade observada no óleo volátil das raízes, se deve, provavelmente, a presença desses compostos que estão em maior concentração no óleo das raízes.

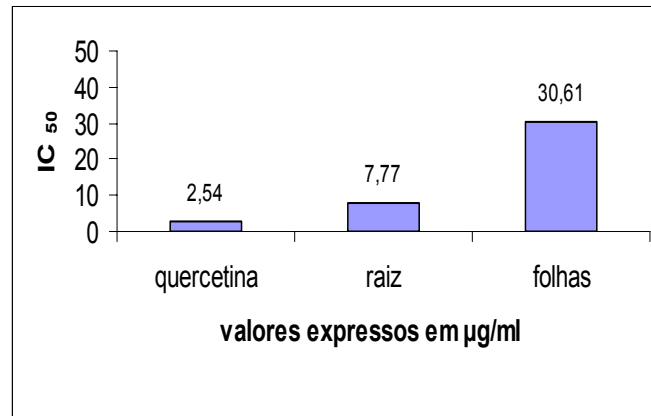


FIGURA 45- Atividade Antioxidante pelo método β -caroteno dos óleos voláteis de *Conyza bonariensis* (L.)

5.8 Determinação da Atividade Citotóxica

Os resultados referentes à atividade citotóxica do extrato bruto, frações e óleos voláteis de *Conyza bonariensis* (L.) estão representados no Tabela 8.

TABELA 8- Citotoxicidade frente *Artemia salina* de *C. bonariensis* (L.).

Amostra	CL ₅₀ (µg/mL)	Concentrações (µg/mL)
Extrato Bruto	27,35	500,50,25
Hexano	-	500,50,25
Clorofórmio	36,1	500,50,25
Acetato de Etila	56,55	500,50,25
Butanol	27,35	500,50,25
Cloridrato de Berberina	39,75	500,50,25
Óleos das Folhas	1,57	10,5,1
Óleos das Raízes	0,48	10,5,1
Timol	0,75	10,5,1

Utilizou-se o método de Finney (1971) para determinar a CL₅₀, com intervalos de confiança de (95%). A amostra foi considerada ativa quando TAS < 1000 µg/mL. Em relação aos óleos voláteis, os resultados encontrados com a espécie nativa de *C. bonariensis* (L.) colaboram com os estudos anteriores de Pacciaroni e colaboradores (2000) que determinaram a CL₅₀ dos compostos isolados, espatulenol e lachnophyllum lactona das folhas de *Conyza albida*, que obtiveram CL₅₀ 19,4 µM e CL₅₀ 32,1 µM respectivamente. Os óleos voláteis das raízes e folhas de *Conyza bonariensis* (L.) apresentam compostos acetilênicos, que também são conhecidos pela ação inseticida, já que a toxicidade com *Artemia salina* demonstra essa correlação com a atividade antitumoral ou inseticida (Ruiz, 2005 apud Meyer et al., 1982, McLaughlin et al. 1993).

O extrato bruto de *Conyza bonariensis* e suas frações clorofórmica, acetato de etila, butanólica demonstraram um alto índice de citotoxicidade frente à *Artemia salina*, uma vez que a CL₅₀ foi menor que 1000 µg/mL e próxima ao padrão Cloridrato de Berberina. Já para a fração hexânica não foi possível determinar estatisticamente a CL₅₀ na concentração de 500,50, 25, devido à média da triplicata ter sido inferior a 1. Entretanto, nas concentrações 1000,100,10 obteve-se uma CL₅₀ de 6,61 µg/mL, indicando que foi possível determinar a CL₅₀ da fração hexânica em concentrações menores, devido essa fração apresentar maior citotoxicidade. Ragasa e colaboradores (1997) relataram que o glicosídeo isolado do extrato clorofórmico das folhas de *Erigeron linifolius* demonstrou alta atividade antimutagênica. Na literatura, Pacciaroni e colaboradores (2000 apud Gutierrez et al., 1996) relatou que o extrato metanólico de *Conyza filaginoides* apresentou efeitos inibitórios ao adenocarcinoma de cólon. Em trabalho com a espécie *Conyza dioscoridis*, Pacciaroni et al. (2000 apud Al-Yahya et al., 1991) reportou que essa espécie também apresenta atividade citotóxica. O ensaio com *Artemia salina* representa uma proposta de baixo custo com boa reprodutibilidade nos resultados (Hamburger, 1991) e indica atividade antitumoral. O emprego dessa técnica pode fornecer informações valiosas ao trabalho de químicos de produtos naturais e farmacólogos, indicando fontes vegetais com importantes atividades biológicas na busca de novas moléculas bioativas (Trotter et al., 1983 apud Zuque et al., 2004; Solis et al., 1993 apud Zuque et al., 2004; Fontenele et al., 1998 apud Zuque et al., 2004).

5.9 Avaliação da Atividade Antimicrobiana por Bioautografia

5.9.1 Avaliação da Atividade Antimicrobiana do extrato bruto e das frações de *Conyza bonariensis* (L.)

Nesse estudo, pode-se inferir que o extrato bruto e suas frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e butanólica, eluídas em clorofórmio-metanol 5% (v/v) não inibiram significativamente o crescimento das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas e os fungos testados. Assim, nesse método não foi detectada essa atividade, pelo pressuposto que as substâncias estão separadas em CCD, com suas substâncias bioativas separadas uma das outras, resultando em pequena ou nenhuma atividade. Entretanto, a bioautografia é um método qualitativo eficaz, sendo largamente utilizado preliminarmente na procura de novas substâncias com propriedades antimicrobianas, na areas de produtos naturais (Hamburger e Hostettman, 1991). Nesse sentido pode-se sugerir que por outra metodologia, como por exemplo, a difusão em disco, resultasse em resultados moderados quanto a essa atividade, pelo sinergismo que pode ocorrer entre as substâncias.

Neste estudo por bioautografia não ocorreu atividade antimicrobiana, entretanto, por difusão em ágar, com o extrato metanólico e diclorometânico na concentração de 10 mg/ml, das partes aéreas de *Conyza bonariensis* (L.) Chaudhry e colaboradores (2001) observaram que os extratos obtiveram atividade antibacteriana frente *Sarcina leutea* e *Escherichia coli*. Utilizando esses mesmos extratos, avaliaram a atividade antifúngica por bioautografia, frente ao *Cladosporium cucumerinum*, inibindo o crescimento na concentração de 100µg .

Em pesquisa com as partes aéreas de *Conyza odontophylla*, Ahmad e colaboradores (1994) obtiveram alta atividade antibacteriana frente *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, a partir de sesquiterpenos isolados dessa espécie.

Estudo realizado com a espécie *Erigeron breviscapus*, utilizando o extrato etanólico, pelo método de difusão em disco, frente às bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae* e Gram-negativas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas putrefaciens*, Liu e colaboradores (2003) observaram uma moderada

atividade antibacteriana, e uma alta atividade antifúngica contra os fungos leveduriformes, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosi* e os fungos filamentosos, *Aspergillus penicilloides*, *Aspergillus candidus*.

Outro estudo, que demonstrou fraca atividade antimicrobiana com as folhas de *Erigeron linifolius*, foi realizado por Ragasa e colaboradores (1997) que utilizaram substâncias isoladas do extrato clorofórmico.

A presença da atividade antimicrobiana referendada na literatura, no gênero *Conyza*, indica que há a necessidade de mais pesquisa com outras cepas de microrganismos e/ou metodologias não testadas no atual estudo, para se obter resultados mais conclusivos.

5.9.2 Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos óleos voláteis das raízes e folhas

Os resultados da atividade antimicrobiana dos óleos voláteis das raízes e folhas são apresentados nas Figuras 46 e 47. Os óleos voláteis das raízes foram ativos apenas para as bactérias Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Também apresentou halo de inibição para os fungos *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Não foi evidenciada, portanto, ação antimicrobiana para as bactérias Gram-positivas utilizadas neste estudo.

A partir dos resultados obtidos pode-se inferir que os compostos acetilênicos presentes em maior concentração no óleo das raízes de *Conyza bonariensis* (L.), são os prováveis indicadores da atividade antimicrobiana.

Em estudo com a espécie *Erigeron speciosus*, Meepagla e colaboradores (2002), também detectaram atividade antifúngica contra *C. fragariae* por bioautografia, atribuída aos isômeros 2Z, 8Z matricaria metil éster e 2E, 8E. Neste estudo, a substância matricaria metil éster encontra-se na proporção de 17,67% no óleo das raízes.

Esse fato, também foi confirmado por Harbola e colaboradores, (1985) que atribuíram à ação antimicrobiana de *Erigeron linifolius*, à presença majoritária do composto acetilênico lachnophyllum éster (64,04%).

Schrader e colaboradores (2005) constataram que os compostos poliacetilênicos demonstraram atividade antifúngica. Assim como, Azevedo (1999 apud Bohlmann, 1973 e Lam, 1998) evidenciou que vários compostos acetilênicos possuem alta atividade antibiótica, além de nematicida, fungicida e larvicida,

entretanto, sua aplicação na terapêutica como antibiótico é restringido pela sua toxicidade.

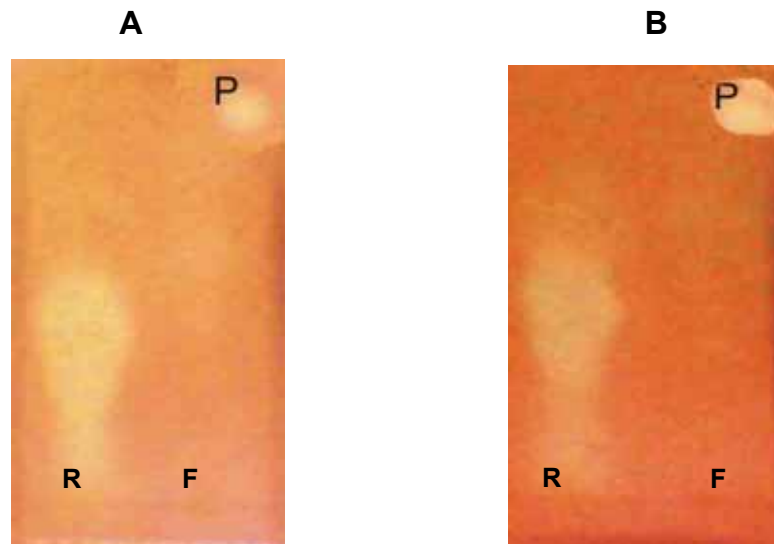


FIGURA 46 - Bioautogramas dos óleos voláteis das raízes e folhas de *Conyza bonariensis* (L.) frente *Candida albicans* (A) e *Saccharomyces cerevisiae* (B), (R=Raiz; F=Folhas; P=Padrão).

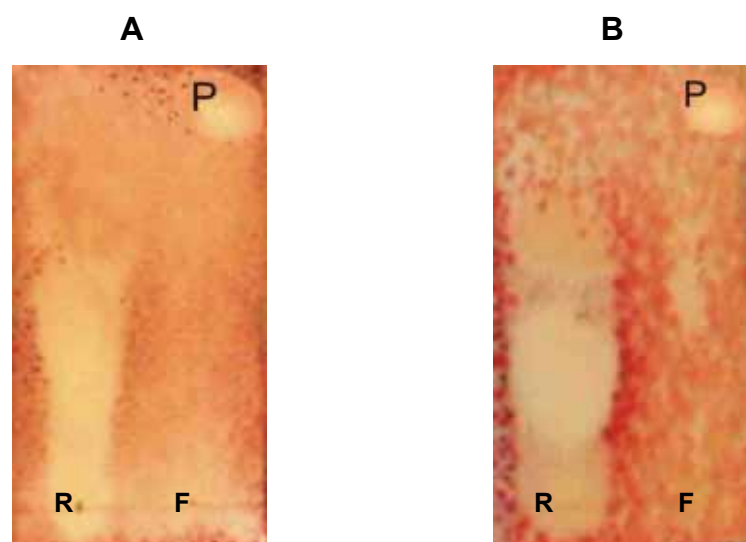


FIGURA 47 - Bioautogramas dos óleos essenciais das raízes e folhas de *Conyza bonariensis* (L.) frente *Klebsiella pneumoniae* (A), *Escherichia coli* (B), (R=Raiz; F=Folhas; P=Padrão).

5.10 Determinação da Toxicidade Aguda

As doses dos extratos aquoso e hidroetanólico de *Conyza bonariensis* (L.) foram administradas por via oral nas concentrações de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg de peso. Da análise dos resultados pôde-se inferir que o ensaio de toxicidade aguda, não demonstrou nenhum sinal de toxicidade pela metodologia utilizada. Nesse ensaio, não foi possível determinar a DL₅₀ da espécie em estudo, isto é, a dose necessária para provocar a morte de 50% de um lote de 10 camundongos, porque não ocorreram mortes nos 14 dias de experimento. Larini (1997) também observa que é necessário o período de até 14 dias, entre a administração das doses e a verificação das mortes, para determinar a DL₅₀ aguda por via oral. Nesse ensaio não foram verificados sinais de toxicidade tais como: tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma.

Em estudo com outra espécie do gênero *Conyza*, Atta e El-Sooud (2004) constataram que a espécie *Conyza dioscoridis* não apresentou sinais de toxicidade aguda, nas dosagens de 0, 4, 1 e 2g/kg de peso, quando administrada por via oral em camundongos. Esse relato coincide com os resultados obtidos de *C. bonariensis*, na determinação da toxicidade aguda por via oral em camundongos. Entretanto, Stefanon e colaboradores (2003) constataram que *Conyza bonariensis* (L.) apresentou toxicidade pela administração do extrato aquoso por via intra-peritonal em camundongos, ocorrendo sinais tóxicos de caráter geral tais como tremores, convulsões, micção, contorções abdominais, efeitos sobre a respiração, bem como a morte de 10% dos machos e 70% das fêmeas na dosagem de 1000 mg/kg no terceiro dia de observação.

Nesse estudo toxicológico, verificou-se também que os efeitos tóxicos dos extratos administrados nos camundongos, estão diretamente relacionados com a via de administração e concentração das doses para uma mesma espécie vegetal. A princípio, isso indica que os camundongos de laboratório são sensíveis às substâncias tóxicas que porventura constituem a composição química das plantas, desde que sejam observados alguns fatores na seleção deles tais como: idade, sexo, peso, espécie, dieta e condições do ambiente (Cárceres, 1996 *apud* Parra, 2001).

6 CONCLUSÕES

Do estudo químico e biológico realizado com a espécie *Conyza bonariensis* (L.) podemos concluir que:

- O óleo volátil da raiz da variedade *bonariensis*, apresentou como composto majoritário os compostos acetilênicos *cis*-lachnophyllum metil éster (78,69%); e nas folhas o *cis*-lachnophyllum metil éster (44,31%);
- O óleo volátil da raiz da variedade *microcephala*, apresentou como composto majoritário, os compostos acetilênicos *cis*-lachnophyllum metil éster (88,87%); e nas folhas o *trans*-lachnophyllum metil éster (43,05%);
- Os óleos voláteis das raízes e folhas da variedade *bonariensis* apresentaram ação antimicrobiana frente a microrganismos Gram-negativos *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e os fungos *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*. Provavelmente, devido à presença dos acetilênicos presentes no óleo das raízes;
- As frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila, butanólica e extrato bruto não apresentaram ação antimicrobiana frente aos microrganismos Gram-negativos *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e os fungos *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*;
- O estudo da toxicidade aguda demonstrou que os extratos aquosos e etanólicos 70% não ocasionaram toxicidade, por via oral, em camundongos;
- A citotoxicidade do extrato bruto e das frações clorofórmica, butanólica, e dos óleos voláteis das raízes da variedade *bonariensis* expressaram valores significativos, indicando uma ação antitumoral e/ou inseticida;

- As frações acetato de etila e butanólica apresentaram maior atividade antioxidante pelos métodos DPPH e β -caroteno, devido a maior quantidade de compostos fenólicos nessas frações;
- O óleo das raízes apresentou maior atividade antioxidante, do que os óleos das folhas de *C. bonariensis* (L.).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil by ion trap mass spectrometry**. New York: Academic Press, 1995. 469p.

AHMED, M.; AHMED. A. A. Terpenoids from *Conyza stricta*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 8, p. 2715-2716, 1990.

AHMED, V. U; et al. New natural products from terrestrial medicinal plants and marine algae. **Pure & Appl.Chemistry**, v. 66, n.10, p. 2311-2314, 1994.

AMIM, I. et al. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus species*. **Food Chemistry**, v. 94, p. 47-52, 2006.

ASONGALEM, E. A. et al. Analgesic and antiinflammatory activities of *Erigeron floribundus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 301- 308, 2004.

ATTA, A. H.; MOUNEIR, S.M. Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 303-309, 2004.

ATTA, A. H; EL-SOUD, K. A. The antinoceptive effect of some Egyptian medicinal plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 235-238, 2004.

AZEVEDO, A. S. **Caracterização Anatômica e Análise do Óleo Essencial de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (ASTERACEAE)** 1999. 67f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

BARREIROS, A. L. B. S. et al. Atividade antioxidante de substâncias presentes em *Dioclea violacea* e *Erythroxyllum nummularia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 8-11, 2003.

BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v. 3. Viçosa: Imprensa Universitária, 377p, 1991.

BIN YE, Z. F. et al. Correlation of Glutathione Peroxidase to Paraquat/Oxidative Stress Resistance in *Conyza* determined by Direct Fluorometric Assay. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 66, p.182-194, 2000.

BISHOP, C. D. Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maide and Betche) Cheel (tea tree) against *Tobacco mosaic virus*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, p. 641-644, 1995.

BOHLMANN, F., WEGNER, P. Three Diterpenes from *Conyza Podocephala*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 7, p.1693-1695, 1982.

BORTOLUZZI, M. et al. Estudo Fitoquímico de *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) e Aspectos Anatômicos da Raiz. **Lecta-USF**, Brag. Pta, v.12, n. 1, p. 81-97, 1994.

BROUSSEAU, B. A. Saint Mary's College of California.1995. Disponível em: <<http://www.calflora.org> >Acesso em: 29 mai. 2004.

BURKART, A. **Flora Ilustrada de Entre Rio (Argentina) Parte VI**: Dicotiledoneas Metaclamídeas (Gamopétalas), B: Rubiales, Cucurbitales, Campanulales (incluso Compuestas). Buenos Aires, 1974, 554 p.

CABRERA, A. L. **Flora de la Provincia de Buenos Aires – Compositae. Parte IV-Compuestas**. Coleccion Cientifica de I.N.T.A., Buenos Aires, 1963. p. 139-140.

CALZADA, F. et al. Antiprotozoal Activity of the Constituents of *Conyza filaginoides*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 5, p. 671-673, 2001.

CAHOON, E. B. et al., Fungal responsive fatty acid acetylenases occur widely in evolutionarily distant plant families. **Plant Journal**, v. 34, p. 671-683, 2003.

CHAUDHRY, B.A. et al. Biological studies of *Conyza* and *Euphorbia* species . **Journal of Research Science**, v.12, n.1, p. 85-88, 2001.

CHOI, C. W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparison. **Plant Science**, v.163, p.1161-1168, 2002.

CHU, Q. et al. Simultaneous determination of active ingredients in *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, p. 565-541, 2005.

CRAGG, G. C. *et al.* Natural products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 52-60, 1997.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. Boston: Houghton Mifflin, 1968. 555p.

CURINI, M. et al. Composition and in Vitro Antifungal Activity of Essential Oils of *Erigeron canadensis* and *Myrtus communis* from France. **Chemistry of Natural Compounds**, v.39, n.2, p.191-194, 2003.

DOMINGUEZ, X. A. et al.. Triterpenoids and triacontane from *Conyza filaginoides*. **Phytochemistry**, v. 11, n. 5, p. 1855-1856, 1972.

ECONOMOU, G. et al. Allelopathic Effect of *Conyza albida* on *Avena stiva* and *Spirodela polyrhiza*. **Journal of Agronomy & Crop Science**, v. 188, p. 248-253, 2002.

EL-KAREMY, Z.A. R. et al. The Flavonoids of local Members of Astereae (Compositae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 15, n. 1, p. 53-55, 1987.

FINNEY, D. J. **Probit analysis. A statistical treatment of the sigmoid response curve**. UK: Cambridge University Press, 3. ed., 1971, 333 p.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**. 7 ed. Arlington: AOAC International, 1992. 529 p.

FUNARI, C. S, FERRO.V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p.178-182, 2005.

GALAL, A. M. et al. Diterpene acids from *Conyza incana*. **Phytochemistry**, v. 48, n.1, p. 159-163,1998.

HAMBURGER, A. O. ; CORDELL G. A. A direct bioautographic tlc assay for compounds possessing antibacterial activity. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 1, p. 19-22, 1987.

HAMBURGER, M; HOSTETTMAN, K. Bioactivity in Plants: The link between phytochemistry and Medicine. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3864-3874, 1991.

HAMMERSCHMIDT, P. A.; PRATT, D. E. Phenolic Antioxidants of Dried Soybeans. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 556-559, 1978.

HARBOLA, A. K. et al. Terpenoids and Polyacetylenes from *Erigeron Linifolius*. **Fitoterapia**, v. LVII, n. 4, p. 272, 1985.

HERAS, B. de las. et al. Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 2, p. 161-166, 1998.

HEUVEL, M. J. Van Den. et al. The international validation of a fixed dose procedure as alternative to the classical LD₅₀ test. **Chem. Test.**, v. 7, p. 469-481, 1990.

HRUTFIORD, B. F. et al. Essential Oil of *Conyza canadensis*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 6, p.1858-1860, 1988.

JACOBS, J.J. et al. Isolation and characterization of mutants of thiophene synthesis in *Tagetes erecta*. **Plant Physiol.**, v. 107, p. 807-814, 1995.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 10. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1991. 777p.

KARPOUHTSIS, I. et al. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p.1111-1115, 1998.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KIM, Y. H.; KIM, K. Protein Glycation Inhibitory and Antioxidative Activities of Some Plant Extratscs in Vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p.1586-1591, 2003.

KIMURA, Y. et al. Isolation and Identification of Two Nematicidal Substances from Roots of *Erigeron philadelphicus* L. and Nematicidal Activities of Their related Compounds. **Agric.Biol.Chem**, v. 45, n.12, p. 2915-2917, 1981.

KISSMAN, K. G. ; GROTH, D. **Plantas Infestantes e Nocivas – Tomo II**, v. 2, 2. ed. São Paulo: BASF, 1997.

KOHN, G. et al. Biosynthesis of acetylenic fatty acids in the moss *Ceratodon purpureus*. **Journal. Plant Physiol.**, v. 144, p. 265-271, 1994.

KONG, D. et al. Glycosides and Xanthenes oxidases inhibitors from *Conyza bonariensis*. **Phytochemistry**, v. 58, n. 4, p. 645-651, 2001.

KOROLKOVAS, A. Matérias-Primas da Indústria Farmacêutica. **Jornal Brasileiro de Farmacognosia**, v. 2, 3 e 4 , p. 97-101,1987-1989.

KUIATE, J. R. et al. Chemical Composition and in vitro Antifungal Properties of Essential Oils from Leaves and Flowers of *Erigeron floribundus* (H.B. et K) Sch. Bip. from Cameroon. **Journal of Essential Oil Research**, v.17, n. 3, p. 261-264, 2005.

KUSILIC, T. et al. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, v. 85, p. 633-640, 2004.

LARINI, L. **Toxicologia**, 3. ed. São Paulo: Ed. Manole Ltda., 1997. 301p.

LEE, M. et al. Identification of non-heme diiron proteins that catalyze triple bond and epoxy group formation. **Science**, v. 280, p. 915-918, 1998.

LEITÃO FILHO, F. H. **Plantas Invasoras de Culturas**. São Paulo, v. 2, HUCITEC: Ministério da Agricultura, Agiplan, Banco Interamericano de Desenvolvimento, 1972. 362p.

LIU, H. et al. Antibacterial and antifungal activity of *Erigeron breviscapus*. **Fitoterapia**, v. 74, p. 387-387, 2003.

LIU, H. et al. Effects of *Erigeron breviscapus* ethanol extract on neuronal oxidative injury induced by superoxide radical. **Fitoterapia**, v. 76, p. 666-670, 2005.

LOPES, Amélia M. V.; ÁLVARES, F. A. **EXE: Plantas Medicinais. Nossas Farmácias Vivas**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, O Museu Gama D'Eça está com a planta que você procura, 1996. 2 disquetes 5 1/4 pol.

LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3. ed. São Paulo: Nova Odessa, Ed. Instituto Plantarum, 2000. 608 p.

MACEDO, J. F., BRANDÃO, M; LARA, J. F. R. **Plantas daninhas na pós-colheita de milho nas várzeas do rio São Francisco em Minas Gerais, Brazil**. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em 20. jun. 2004.

MAHATO, S. B. et al. Diterpenos of *Conyza stricta*, identification of conyzic acid, seconidoresedasaure and strict acid. **Phytochemistry**, v. 20, n. 4, p. 850-851, 1981.

MATHEW, S.; ABRAHAM, T. E. Invitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 198-206, 2006.

MAZLIAK, P. Desaturation processes in fatty acid and acyl lipid biosynthesis. **Journal Plant Physiol.**, v. 143, p. 399-406, 1994.

Mc LAUGHLIN, J. L., CHANG, C. J., SMITH, D. L. **Simple bench-top bioassay (BS & PD) for discovery of plant antitumor compounds – Review of recent progress in human medicinal agents from plants**, ed. Kinghorn & Balandrini, Nova Iorque, p. 112-137, 1993.

MEEPAGALA, K. M. et al. Molluscicidal and antifungal activity of *Erigeron speciosus* steam distillate. **Pest Management Science**, v. 58, p. 1043-1047, 2002.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons. Level, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon Press, 1957, v. 2, 1500 p.

MIYAZAWA, M. ; YAMAMOTO, K. ; KAMEOK, H. The essential oil of *Erigeron canadensis* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 4, p. 227-230, 1992.

MOKBEL, M. S.; HASHINAGA, F. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (*Citrus grandis* Osbeck) fruit tissues. **Food Chemistry**, v. 94, p. 529-534, 2006.

MOUREY, A. ; CANILLAC, N. Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. **Food Control**, v. 13, p. 289-292, 2002.

MOREIRA, E. A. Contribuição para o estudo fitoquímico de *Lobelia hassler*, A. Zahlb & L. stellfeldii R. Braga. Campanulaceae. **Tribuna Farmacêutica**, v. 47, n.1, p.13-39, 1979.

MUKHTAR, N. et al. Sphingolipids from *Conyza Canadensis*. **Phytochemistry**, v. 61, p.1005-1008, 2002.

NAZARUK, J et al. Investigation of the Oil of *Erigeron acris* L. Herb. **Journal of Essential Oil Research**. v. 18, n.1, p. 88-90, 2006.

NEVES, Mary. C. M. Plantas Medicinais: diagnóstico e gestão. 2. ed., Brasília: IBAMA, 2001. 52p.

OECD, 2001. Guidelines for testing of chemicals **Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method**. Method 423.

OH, H. et al. Germination inhibitory constituents from *Erigeron annuus*. **Phytochemistry**, v. 61, p. 175-179, 2002.

OLIVEIRA, F. ; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 178p.

OMOLO, M. O. et al. Fumigant toxicity of the essential oils of some Africans plants against *Anopheles gambiae* sensu stricto. **Phytomedicine**, v. 12, p. 241-246, 2005.

OMOLO, M.O. et al. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2797-2802, 2004.

PACCIARONI, A. D. V. et al. Bioactive Constituents of *Conyza albida*. **Planta Médica**, n. 66, p. 720-723, 2000.

PANDEY, U.C. et al.. Stereochemistry of strictic acid and related furano-diterpenes from *Conyza japonica* and *Grangea Maderaspatana*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 391-397, 1984.

PAREJO, I. et al. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. **Life Sciences**, v. 73, p.1667-1681, 2003.

PARRA, A. L. et al. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.

PYON, J.Y. et al. Differential levels of antioxidants in paraquat – resistant and – susceptible *Erigeron canadensis* biotypes in Korea. **Weed Biology and Management**, v. 4, p. 75-80, 2004.

PROCÓPIO, S. O, FERREIRA, E. A. et al. **Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III – *Galinsopa parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica***. <http://www.scielo.br> Acesso em 21. jun. 2004.

RAGASA, C.Y. et al. Bioactive Monoterpene Glycosides from *Erigeron Linifolius*. **Phytochemistry**, v. 46, n.1, p.151-154, 1997.

RAHALISON, L. et al. A bioautographic agar overlay method for the detection of fungal compounds from higher plants. **Phytochemical analysis**, v. 2, p. 199-203, 1991.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

REED, D. W. Mechanism of 1,4-dehydrogenation catalyzed by a fatty acid (1,4)-desaturase of *Calendula officinalis* Eur. **Journal. Biochem.**, v. 269, p. 5024-5029, 2002.

RIZK, A. M. et al. Constituents of plants growing in Qatar. **Fitoterapia**, v.LVII, n. 1, p. 3-9, 1986.

RUIZ, A. L.T. G. et al. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomohalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (*Cyperaceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 98-102, 2005.

RUSTAIYAN, A. et al. Volatil Constituents of three Compositae Herbs: *Anthemis altíssima* L. var. *altíssima*, *Conyza canadensis* (L.) Cronq. and *Grantina aucheri* Boiss. Growing Wild in Iran. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, n. 6, p. 579-581, 2004.

SALINAS, M. H. R. **Famílias de Dicotiledoneas Venezolanas II. Subclases Rosidae y Asteridae – Evolucion, Filogenia, Generos**. Centro Jardín Botánico: Venezulea, 1992. p. 108-109 e 173-180.

SANZ, J. F; MARCO, J. A. Ein neues Butenolid aus *Conyza bonariensis*. **Liebigs Annalen Chemie**, v. 4, p. 399-400,1991.

SATTAR, A. E. Minor Alicyclic Diterpene Acids from *Conyza incana*. **Monatshefte für Chemie**, v. 132, p.1095-1099, 2001.

SCHRADER, B. et al. Non-destructive Reman analyses-polyacetylenes in plants. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 61, p.1395-1401, 2005.

SILVA, C. P. **Poieretia latifolia e Poieretia tetraphylla**: Estudo de Óleos Voláteis e Atividades Biológicas Preliminares 2005,102 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

SILVA, G. A. de A. B. et al. Constituintes do Óleo Essencial de *Erigeron bonariensis* L. (Compositae). **Tribuna Farmacêutica**, v. 53, p. 37-39, 1985.

SILVERSTEIN, R. M; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000. 460p.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2004. 1102p.

SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 15, n.1, 2002.

SOUZA M. C. et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential Oils from two Asteraceae species. **Pharmazie**, v. 54, n. 8, 2003.

SU, Y. et al. Conyzasaponins I-Q, Nine New Triterpenoid Saponins from *Conyza blinii*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n.12, p.1593-1599, 2003.

SU, Y. et al. Four New triterpenoid Saponins from *Conyza blinii*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n.1, p. 32-36, 2001.

SU, Y. et al. New apiose-containing triterpenoid saponins from *Conyza blinii*. **Tetrahedron**, v. 57, p. 6721-6726, 2001.

SWAIN, T. ;HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* 1. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.

STEFANON, E.B. et al. Avaliação da Toxicidade Aguda do extrato aquoso da *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE TOXICOLOGIA. **Anais**. Revista Brasileira de Toxicologia, v.16, n.1, suplemento, 2003, p.180.

TEPE, B. et al. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden & Scheng. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 335-342, 2005.

TEPE, B. et al. Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *rosulans*. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p. 447-454, 2005.

TZAKOU, O. et al. Chemical Composition and Allelopathic of Oil and Volatil Fractions of *Conyza albida* Willd.ex Sprengel from Greece. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, n. 5, p. 425-428, 2004.

URZUA, A.; MENDONZA, L. Diterpene Acetyxylosides from the exudate of *Conyza Linearis*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 6, p.1489-1491, 1994.

WANG et al. Study on effects of *Erigeron breviscapus* extract on anticoagulation. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, v. 26. n. 9, p. 656-658, 2003.

WU, G. et al. Two New Derivatives from *Erigeron acer*. **Chem. Res. Chinese**, v. 22, n. 1, p. 33-35, 2006.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL, V. F. Fármacos e Fitoterápicos: A Necessidade do Desenvolvimento da Indústria de Fitoterápicos e Fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p.147-152, 2001.

ZDERO, C. et al. Seco-Clerodanes and other diterpenoes from *Conyza Welwitschii*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2247-2252, 1990.

ZENG, et al. Breviscapinum and extracting process thereof from *Erigeron breviscapus* Disponível em: < [http:// www.netacgi.com/](http://www.netacgi.com/)>. Acesso em 2 set. 2004.

ZHU , Lizhi. **Investigating the Biosynthesis of Polyacetylenes**: Synthesis of Deuterated Linoleic Acids & Mechanism Studies of Dmds Addition to 1,4-Enynes.2003, 93 p.(Doutorado em Química) University Oxford, Ohio, EUA, 2003.

ZHU, B. H. et al. *Erigeron breviscapus* prevents defective endothelium-dependent relaxation in Diabetic Rat Aorta. **Life Sciences**, v. 65, n.15, p. 1553-1559,1999.

ZUQUE, A. L. F. et al. Avaliação das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de *Cooouepa grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p.129-136, 2004.

