

## ESTUDO FITOQUÍMICO DE ACESSOS DE MENTRASTO (*AGERATUM CONYZOIDES* L.) PREVIAMENTE SELECIONADOS COM BASE EM CARACTERES AGRONÔMICOS

**Anderson Tiara Santos Moscoso De Oliveira<sup>1</sup>; Juan Tomás Ayala Osuna<sup>2</sup>; Hugo Neves Brandão<sup>3</sup>; Adriana Rodrigues Passos<sup>4</sup>;**

1. Bolsista FAPESB/UEFS, Universidade Estadual de Feira de Santana, Graduando em Biologia, e-mail: [anderson\\_moscoso@yahoo.com.br](mailto:anderson_moscoso@yahoo.com.br)
2. Orientador, Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, e-mail: [juanayala@uol.com.br](mailto:juanayala@uol.com.br)
3. Co-Orientador, Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Saúde e-mail: [hugohnb@gmail.com](mailto:hugohnb@gmail.com)
4. Colaboradora, Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas e-mail: [adrianarpassos@yahoo.com.br](mailto:adrianarpassos@yahoo.com.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** Fitoquímica, Progênes, *Ageratum conyzoides* L.

### INTRODUÇÃO

A planta *Ageratum conyzoides* L. é uma erva típica de ambientes tropicais sendo comum em muitas regiões da Ásia, América do Sul e África Oriental, nascendo de forma espontânea em diversas localidades. Pertence a família asteraceae tem cerca de 1 metro de altura, possui tricomas revestindo suas folhas e caule, possui flores que podem apresentar a coloração arroxeada ou esbranquiçada é utilizada a séculos para tratamento de enfermidades tanto em seres humanos quanto em animais domésticos das mais variadas espécies, sendo conhecidas suas propriedades antipiréticas, anti-inflamatórias e analgésicas, também existem trabalhos sobre o seu uso na cura de doenças psicológicas como a depressão.

A primeira forma de uso de medicamentos efetuada pelo homem foi feita mediante o consumo de plantas medicinais, que, desde os primórdios, são fundamentais tanto na alimentação quanto na cura de enfermidades. Talvez muitas descobertas tenham sido feitas durante a procura de novas fontes de alimento, mas provavelmente um número significativo foi devido à curiosidade e ao desejo natural de investigação de todo ser humano Niero et al., (2003) Apoud Escobar B.T, (2007).

As plantas medicinais durante muitos momentos na história da humanidade tem sido a principal forma de combate a doenças, porém a partir do século XX começaram a perder espaço para os medicamentos artificiais e para as substâncias isoladas, porém boa parte dos seres humanos, principalmente em países subdesenvolvidos utilizam de plantas para curar-se, pois além da cultura esta é uma alternativa mais barata em comparação com o valor de determinados medicamentos industriais. Contudo atualmente está ocorrendo um aumento de pesquisas com plantas de interesse biotecnológico, pois essas tem sido fontes de descobertas de novas moléculas para os pesquisadores tanto para produção de medicamentos, quanto inseticidas e uma série de substâncias de interesse industrial. A indústria farmacêutica tem investido em pesquisas com plantas medicinais em busca de fármacos com atividades mais contundentes e com menos efeitos colaterais, é interessante observar que os pesquisadores costumam recorrer ao conhecimento popular de comunidades tradicionais para escolha de qual espécie pesquisar.

O presente trabalho tem como objetivo realizar estudos fitoquímicos de acessos de mentraсто previamente selecionados com base em caracteres agronômicos, com o intuito de obter algum composto molecular que venha a demonstrar algum interesse biotecnológico

### MATERIAIS E MÉTODOS.

As 24 progênes mais interessantes, selecionadas devido as suas características agronômicas por Araújo (2010) que durante os anos de 2008 e 2009, iniciou e deu continuidade ao programa de

melhoramento do *Ageratum conyzoides* L. na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) foram doadas para realização desse experimento.

A colocação dos substratos e a semeadura foram realizadas durante o mês de Maio de 2011, em recipientes de polietileno com capacidade 2L composto por substrato de terra vegetal e solo na proporção 2:1, alocados no interior de uma estufa tipo túnel alto com 30% de sombreamento. As plantas eram regadas diariamente e, sempre que necessário foi feita a capina manual para retirar plantas infestantes.

Cada um dos 24 progênies tiveram quatro repetições, sendo que cada repetição era composta de quatro plantas, resultando em um total de 384 indivíduos, semeados a distancia 0,20 (m) entre as plantas e 0,35 (m) entre as linhas.

Após 50% das plantas apresentarem flores foram realizadas as seguintes medidas, adaptado de Araújo (2010):

- Diâmetro do caule (mm) com auxílio do paquímetro digital 0-150mm modelo Digital Caliper (Digimess) a partir do terceiro internódio
- Altura das plantas, do solo até o início do pedúnculo floral (cm).
- Contagem do numero de ramos.
- Matéria seca (g).

Os dados coletados foram analisados para o teste de Scot Knott no programa Sisvar.

As plantas depois de medidas foram coletadas cortando-as na altura da superfície do solo, sendo em seguida posta para secar em estufa a 60°C durante 72h. Após a secagem retirou-se as folhas e flores, permanecendo apenas com o caule e, este foi moído em moinho de facas e armazenado em erlenmayer para a extração. Foram realizadas 6 extrações com metanol como solvente, por maceração, e os extratos adquiridos foram então concentrados no rota-evaporador a 60°C com pressão reduzida. Posteriormente, esse extrato foi deixado em capela para secar a temperatura ambiente, dando origem ao extrato bruto.

O extrato bruto foi submetido à partição com hexano, clorofórmio e acetato de etila para obtenção de frações de diferentes polaridades. Após a secagem no rota evaporador com pressão, as frações foram levadas à capela de exaustão para secagem a temperatura ambiente, até obter massa constante e dar origem aos extratos hexânico, clorofórmico e acetato de etila Matos (2009). O extrato clorofórmico foi que apresentou maior massa (2g), sendo assim este foi escolhido para a realização da cromatografia em coluna (CC) com gel de sílica. Para tal foi usado 37g de sílica.

Após colocar o eluente e o extrato na coluna, deu-se inicio ao processo de coleta das frações em erlenmeyers. Após a coleta das diferentes subfrações do extrato clorofórmio, foi realizada cromatografia em camada delgada (CCD) com placas de vidro revestida por sílica com o objetivo de reunir as frações que apresentassem o mesmo perfil cromatográfico. Durante a realização da CCD foi constatado que a fração 2 (F2) apresentava cristais em forma de agulha, o que poderia ser a indicação de uma substância pura isolada ou esta em maior proporção em relação às outras que possivelmente estavam em mistura. Okunade (2002) encontrou na composição química do *Ageratum conyzoides* L. substâncias com polaridades relativamente baixas, como triterpenoides e esteróides. Portanto, levando em consideração essa informação e devido ao fato da fração que apresentou cristais ter sido uma das primeiras a eluirm da coluna, pensou-se que esta provavelmente seria de baixa polaridade. Dessa forma, foi realizado o teste com o reagente de Liebermann-Burchard, borrifando o reagente sobre a placa de sílica contendo a fração numero 2. A eluição foi realizada em cuba cromatográfica com mistura de hexano e acetato de etila proporção 9:1. Depois de borrifado a placa cromatográfica foi levado a uma placa de aquecimento a temperatura de 100°C por 4 minutos.

Observou-se necessidade de uma melhor pureza da amostra. Para purificação da F2, usou-se cromatografia em coluna com Sephadex® LH-20 usando como eluente diclorometano e metanol na proporção (1:1). Por último foi usado metanol puro para retirar o material que por ventura continuasse retido na coluna. Após esse processo, foi realizada novamente CCD para poder unir as frações de mesmo perfil

## RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

O material vegetal seco apresentou 583,8g de massa. Após a moagem restaram 553,4g indicando que foi perdido 30,4g durante o processo. Esse material passou por maceração com metanol e, o macerado resultante após secagem apresentou 33,31g, indicando rendimento de 6,01% de droga vegetal em relação à massa seca total do caule.

Dos 24 progênies semeados 11 foram capinados por um funcionário de campo, antes que fosse possível a conclusão das medidas. Pelo fato do *Ageratum conizoides* L. ser uma erva daninha, o funcionário concluiu que essas eram plantas invasoras e capinou o canteiro onde estas estavam plantadas, ignorando a placa de identificação do material plantado. Dessa forma foi possível apenas fazer a análise de 13 genótipos.

Com o teste do Skot Knott obteve-se a seguinte tabela:

Tabela 1. Comparação de médias das características Diâmetro do caule (DIAM), altura da planta (ALT), número de ramificações (NRAM) e Massa seca da parte aérea da planta (MSP). Feira de Santana-BA, 2012.

Progênies	Características			
	DIAM	ALT	NRAM	MSP
1	4,89 B	57,98 B	11,25 B	20,94 A
2	4,90 B	56,47 B	13,81 A	24,56 A
3	5,30 A	56,06 B	13,75 A	28,37 A
4	5,17 A	61,76 A	13,31 A	33,87 A
5	5,22 A	68,54 A	13,87 A	35,62 A
6	5,61 A	68,71 A	13,12 A	30,56 A
7	5,32 A	69,61 A	11,62 B	35,94 A
8	5,53 A	49,98 B	14,25 A	33,44 A
9	5,05 B	56,48 B	13,87 A	23,44 A
10	4,99 B	64,71 A	12,87 A	35,56 A
11	4,78 B	59,58 B	12,87 A	25,94 A
12	4,56 B	58,88 B	13,25 A	26,37 A
13	4,50 B	48,89 B	12,12 B	21,69 A

Ao observar a tabela temos que ter em mente que o programa Sisvar ao fazer as análises pelo método de Skot Kontt gera grupos. Esses grupos na tabela são representados pelas letras A e B. O grupo A desperta interesse, pois o progénie apresentou um maior DIAM, ALT e NRAM sendo interessante para nosso estudo, já o grupo B não nos provoca tanto interesse pois suas características foram inferiores ao grupo A. A característica MSP não apresentou divergência entre os genótipos, sendo assim todos foram classificados no grupo A. Ao analisar a tabela é possível concluir que os genótipos mais interessantes são o 4,5,6.

Do extrato metanólico foram obtidas as frações de hexano (1,6g), clorofórmio(2g) e acetato de etila(0,4g) com rendimento de 4,8% para a fração hexano, 6% para a fração clorofórmio e 1,2% para a fração acetato de etila.

Foi feito um teste para saber qual o melhor sistema de eluente para passar na coluna e concluiu-se que o sistema clorofórmio:metanol era o melhor sistema de eluente para a fração. Com a CC foram obtidas 26 frações.

Uma amostra foi coletada da fração 2 e usada na técnica de CCD para estimar a quantidade de substâncias na F2, após ser revelada em luz ultravioleta (UV) 365 nm e em seguida pelo reagente de Liebermann-Burchard, essas técnicas indicaram a presença de aproximadamente oito compostos, sendo um majoritário. Foi possível observar a presença de manchas azuladas e manchas avermelhadas, sugerindo a presença de esteróis e/ou triterpenóides na fração segundo Matos (2009). Na tentativa de purificação por Sephadex® LH 20, foram coletadas 33 frações que foram analisadas em CCD para que pudesse observar quais tinham características químicas próximas para poderem ser unidas no mesmo recipiente. Obteve-se duas sub frações, essas foram identificadas como F2-12 e F2-33. A amostra da F2-12 apresentou massa de 0,0016g e da F2-33 tem 0,0187g, sendo que esta última será enviada para obtenção de dados espectroscópicos que ajudarão na identificação.

Através do presente estudo foi possível concluir que quanto maiores os valores das características DIAM, ALT, NRAM maior será a massa.

Os genótipos mais interessantes seriam os de número 4,5,6 visto que apresentaram maiores valores para as características DIAM, ALT, NRAM o que influenciou em uma MSP maior.

Foi encontrado esteróis e triterpenóides na composição química do *Ageratum conyzoides* L. concordando com os resultados de Okunade (2002).

Todos os resultados ainda não foram completamente obtidos, pois a F2-32 ainda será enviada para análise com técnicas espectroscópicas que possibilitem uma identificação de suas moléculas.

Para a completa caracterização química seria necessário mais tempo e uma maior quantidade de material vegetal, para purificação das outras frações e realização de testes para outras classes de moléculas como alcaloides, fenóis, etc.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ESCOBAR B.T. **Avaliação psicofarmacológica de *Ageratum conyzoides* L.( ASTERACEAE)**, Dissertação de mestrado 2007.
- 2 ARAÚJO, G. da S **Seleção de progênies e estimativas de parâmetros genéticos em *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) para caracteres morfo-agronômicos**, Dissertação de mestrado, 2010.
3. OKUNADE L. A. **Review *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae)**. Fitoterapia, v. 73, 2002.
4. MATOS, F. J .A. **Introdução a fitoquímica experimental**, 3ed. EUFC, 2009.