

## **Avaliação do perfil químico e dos potenciais antioxidante e toxicológico dos óleos essenciais de amostras de *Baccharis trimera* comercializadas em sachês**

**Evaluation of the chemical profile and antioxidant and toxicological potential of essential oils from *Baccharis trimera* samples sold in sachets**

**Evaluación del perfil químico y potencial antioxidante y toxicológico de aceites esenciales de muestras de *Baccharis trimera* vendido en bolsitas**

Recebido: 22/07/2022 | Revisado: 30/07/2022 | Aceito: 02/08/2022 | Publicado: 11/08/2022

**Iara Elizabeth Abi-Zaid Teixeira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7820-4255>  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [iara.abizaid@gmail.com](mailto:iara.abizaid@gmail.com)

**Ana Luísa de Souza Gomes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4758-343X>  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [analog07@gmail.com](mailto:analog07@gmail.com)

**Luiz Fernando Rodrigues Júnior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7007-7431>  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [luiz.junior@unirio.br](mailto:luiz.junior@unirio.br)

**Cristiane Barbosa Rocha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1322-3353>  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [krirocha@yahoo.com.br](mailto:krirocha@yahoo.com.br)

**Ricardo Felipe Alves Moreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7823-9615>  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [ricardo.moreira@unirio.br](mailto:ricardo.moreira@unirio.br)

### **Resumo**

A carqueja amarga (*Baccharis trimera*) possui amplo uso na medicina alternativa e na fitoterapia. Os componentes do óleo essencial de suas folhas têm potencial para figurarem entre os princípios ativos mais importantes dessa erva e alguns deles também podem funcionar como marcadores químicos da espécie. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é estabelecer a composição química e avaliar o potencial toxicológico e a capacidade antioxidante dos óleos essenciais de amostras de carqueja comercializadas na cidade do Rio de Janeiro na forma de sachês, comparando os resultados com os obtidos para óleos essenciais de referência para essa espécie. Os óleos essenciais dessas amostras em sachês foram isolados por hidrodestilação e analisados através de técnicas cromatográficas (CG/DIC e CG/EM), espectrofotométricas (DPPH) e pelo teste com *Artemia salina*. Nesse estudo, 41 compostos foram identificados nos óleos essenciais analisados. Os compostos terpênicos foram os majoritários e apenas o acetato de carquejila, o palustrol, o espatulenol e o  $\beta$ -eudesmol foram detectados em todas as amostras avaliadas. A variabilidade química dos óleos essenciais das amostras de sachês dificultou a avaliação de sua autenticidade. Os potenciais antioxidantes de todos os óleos essenciais avaliados mostraram-se bem inferiores às capacidades antioxidantes medidas para os controles positivos de rutina e ácido gálico ( $CI_{50} = 0,093 \text{ mg mL}^{-1}$  e  $0,0085 \text{ mg mL}^{-1}$ , respectivamente). Todos os óleos essenciais analisados podem ser classificados como citotóxicos com base no teste de toxicidade com *Artemia salina*.

**Palavras-chave:** *Baccharis trimera*; Sachês; Óleos essenciais; Toxicidade; Bioatividade.

### **Abstract**

The bitter carqueja (*Baccharis trimera*) is widely used in alternative and herbal medicine. The essential oil components of its leaves could be included among the most important active principles of this herb and some of them can also be used as chemical markers of the species. Therefore, the aim of the present study is to establish the chemical composition and evaluate the toxicological potential and antioxidant capacity of essential oils from carqueja samples commercialized in Rio de Janeiro city as sachets, comparing these results with those obtained for essential oils classified as reference for this species. The essential oils from these sachet samples were isolated by hydrodistillation and analyzed by chromatographic techniques (GC/FID and GC/MS), spectrophotometric techniques (DPPH) and by the *Artemia salina* test. In the present study, 41 compounds were identified in the essential oils

analyzed. Terpenic compounds were the majority and only carquejil acetate, palustrol, spathulenol and  $\beta$ -eudesmol were detected in all the samples evaluated. The chemical variability of the essential oils in the sachet samples turned difficult to assess their authenticity. The antioxidant potentials of all essential oils evaluated were much lower than the antioxidant capacities measured for the positive controls of rutin and gallic acid ( $IC_{50} = 0.093 \text{ mg mL}^{-1}$  and  $0.0085 \text{ mg mL}^{-1}$ , respectively). All essential oils analyzed can be classified as cytotoxic agents according to the *Artemia salina* toxicity test.

**Keywords:** *Baccharis trimera*; Sachets; Essential oils; Toxicity; Bioactivity.

### Resumen

La carqueja amarga (*Baccharis trimera*) es muy utilizada en la medicina alternativa y fitoterapia. Los componentes del aceite esencial de sus hojas podrían incluirse entre los principios activos más importantes de esta hierba y algunos de ellos también pueden usarse como marcadores químicos de la especie. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es establecer la composición química y evaluar el potencial toxicológico y la capacidad antioxidante de los aceites esenciales de muestras de carqueja comercializados en la ciudad de Río de Janeiro en forma de sobres, comparando estos resultados con los obtenidos para los aceites esenciales clasificados como referencias para esta especie. Los aceites esenciales de estas muestras de sobres fueron aislados por hidrodestilación y analizados por técnicas cromatográficas (CG/DII y CG/EM), técnicas espectrofotométricas (DPPH) y por la prueba de *Artemia salina*. En el presente estudio, se identificaron 41 compuestos en los aceites esenciales analizados. Los compuestos terpénicos fueron mayoritarios y solo se detectaron acetato de carquejila, palustrol, espatulenol y  $\beta$ -eudesmol en todas las muestras evaluadas. La variabilidad química de los aceites esenciales en las muestras de los sobres hizo difícil evaluar su autenticidad. Los potenciales antioxidantes de todos los aceites esenciales evaluados fueron mucho más bajos que las capacidades antioxidantes medidas para los controles positivos de rutina y ácido gálico ( $IC_{50} = 0,093 \text{ mg mL}^{-1}$  y  $0,0085 \text{ mg mL}^{-1}$ , respectivamente). Todos los aceites esenciales analizados pueden clasificarse como agentes citotóxicos según la prueba de toxicidad de *Artemia salina*.

**Palabras clave:** *Baccharis trimera*; Bolsitas; Aceites esenciales; Toxicidad; Bioactividad.

## 1. Introdução

As ervas são muito usadas pelo povo brasileiro para aliviar ou curar várias doenças, como por exemplo, enfermidades renais, reumatismo e diabetes (Rodrigues et al., 2001). Como exemplo de tais ervas podemos destacar as carquejas (gênero *Baccharis*). Esse gênero pertencente à família Asteraceae e contém aproximadamente 500 espécies distribuídas principalmente no Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México (Verdi et al., 2005). No território brasileiro estão descritas 120 espécies desse gênero distribuídas majoritariamente na Região Sul (Barroso, 1976; Verdi et al., 2005).

Das espécies de carqueja conhecidas, somente 30 foram avaliadas quanto as suas propriedades biológicas (por exemplo, potencial analgésico, antidiabético, anti-inflamatório, antioxidante, citotóxico e inseticida) (Karam et al., 2013). Dessas espécies, a *Baccharis trimera* (Less.) DC, também conhecida como *Baccharis genistelloides* var. *trimera* (Less.) Baker, merece destaque pelo grande potencial medicinal que apresenta (Borella et al., 2006). Essa erva é conhecida popularmente como carqueja amarga e faz parte da lista RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS), na qual figuram as espécies vegetais com potencial para o desenvolvimento de cadeia produtiva a fim de gerar produtos de interesse ao SUS (Sistema Único de Saúde) (Brasil, 2008).

As diferentes espécies de ervas, entre elas a carqueja amarga, são normalmente comercializadas secas e inteiras pelo produtor. Elas são adquiridas por firmas atacadistas ou por laboratórios. A partir destas espécies são produzidos remédios ou complementos alimentares. Comercialmente, a apresentação mais simples desses produtos naturais é a forma de sachês, na qual a erva seca e moída é utilizada para a preparação de infusões.

O controle de qualidade exercido pela maioria das empresas brasileiras que trabalham com plantas medicinais considera apenas as características visuais das drogas que comercializam, assim, os critérios que compõem o controle de qualidade são: intensidade da cor, grau de fragmentação e porcentagem de material estranho. No caso das plantas aromáticas, também o aroma é considerado. Os critérios utilizados atualmente não costumam ser suficientes para garantir a qualidade e a autenticidade dos produtos finais que são comercializados (De Souza, Lionzo, & Petrovick, 2006). A avaliação da composição

química de frações específicas dessas ervas, tal como seu óleo essencial (fração volátil), pode ser um instrumento interessante para garantir a identificação inequívoca das espécies e evitar fraudes.

Os óleos essenciais são conhecidos desde a antiguidade, época em que eram utilizados como essências. Atualmente encontram aplicação em diferentes seguimentos industriais, como o farmacêutico, de alimentos e de cosméticos. Esses óleos essenciais correspondem a misturas complexas de compostos voláteis (principalmente compostos terpênicos) extraídos das glândulas secretoras de diferentes partes dessas plantas, como folhas e flores. Muitos desses compostos possuem ação farmacológica cientificamente comprovada e, também, potencial tóxico (Borges, & Amorim, 2020).

A carqueja amarga (*Baccharis trimera*) possui vários compostos terpênicos bioativos em seu óleo essencial:  $\beta$ -pineno, palustrol, ledol, espatulenol, carquejol, acetato de carquejila, dentre outros (Amaral et al., 2010). O espatulenol, por exemplo, possui ação citotóxica e bactericida (Limberger et al., 2004). O  $\beta$ -pineno também possui ação bactericida (Mariano et al., 2019). O carquejol, administrado em ratos de forma intraperitoneal, foi capaz de reduzir os níveis de colesterol sanguíneo de 5 – 10% (Abreu, 2002). Além disso, esse composto (carquejol) e seu éster (acetato de carquejila) também são considerados marcadores químicos importantes da *Baccharis trimera* (Silva et al., 2013).

Com tudo que foi exposto acima, fica fácil entender a importância de caracterizar as ervas medicinais comercializadas no Brasil através da realização de análises químicas em algumas de suas frações. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo caracterizar quimicamente os óleos essenciais de amostras comerciais de carqueja amarga vendidas na forma de sachês, avaliando seu potencial antioxidante e toxicológico.

## 2. Metodologia

### Amostras

Foram obtidas cinco amostras comercializadas na forma de sachês sob a designação de *Baccharis trimera*, provenientes das principais marcas disponíveis em supermercados, lojas de produtos naturais e farmácias na cidade do Rio de Janeiro. As amostras de cada uma dessas marcas foram coletadas em três diferentes pontos de comercialização. Para cada marca, as amostras obtidas nos diferentes pontos de comercialização foram reunidas e homogeneizadas através do método do quarteamento (Viana; Avelar, 2010) para a obtenção do material a ser analisado. Todas as cinco marcas com as quais o trabalho foi desenvolvido (S1, S2, S3, S4 e S5) eram comercializadas dentro de caixas com dez a quinze sachês contendo cada um cerca de 1,0 g da erva. Dentro desses sachês, o material se apresentava seco e finamente moído.

Também foram obtidos dois frascos de óleo essencial de carqueja amarga, ambos do lote 0814, da empresa Lazlo Aromaterapia Ltda, Brasil. Os óleos essenciais contidos nesses frascos foram utilizados como referência para fins de comparação com os óleos essenciais que foram obtidos das cinco amostras de carqueja amarga comercializadas na forma de sachês.

### Materiais

O solvente acetato de etila (99,9% de pureza) e os padrões externos dos compostos voláteis [ácido hexadecanóico (99%),  $\beta$ -cariofileno (98,5%), limoneno (97%) e metil-eugenol (98%)] foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA). A mistura de alcanos saturados de C<sub>9</sub>-C<sub>26</sub>, usada como marcadora de índice de retenção, foi adquirida da Supelco (Bellefonte, PA, EUA).

### Isolamento dos Óleos Essenciais das Amostras de Carqueja

A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger em um balão de dois litros, contendo 70 g de amostra comercial e 700 mL de água destilada, por duas horas a uma temperatura de 100°C. Depois que a

água foi eluída do aparelho de Clevenger, o óleo essencial foi captado através de lavagem com 10 mL de acetato de etila. Após eliminação da água residual com sulfato de sódio anidro, esse solvente foi eliminado por arraste com nitrogênio industrial. Os óleos essenciais foram armazenados em temperatura de cerca de - 4°C até a realização das análises (Souza et al., 2019).

#### **Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama (CG/DIC)**

As análises de CG/DIC foram realizadas em um cromatógrafo GC-2010Plus (Shimadzu, Japão). Os compostos voláteis contidos nos óleos essenciais foram separados em uma coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm d.i.) revestida de dimetil-poli-siloxano (100%), com espessura de filme de 0,25 µm (SPB-1, Supelco, EUA). A temperatura do forno cromatográfico foi programada inicialmente para permanecer a 60°C por cinco minutos. Depois, a temperatura aumentou de 60°C para 120°C a uma taxa constante de 2°C/minuto, sendo mantida por dez minutos nessa última temperatura. Finalmente, a temperatura foi programada para subir novamente a uma taxa de 5°C/minuto até a temperatura final de 230°C, na qual o forno foi mantido por 30 minutos. A temperatura do injetor foi fixada em 230°C, enquanto a temperatura do detector foi mantida em 240°C. O gás hélio foi usado como gás carreador em um fluxo de 1,0 mL minuto<sup>-1</sup>. As injeções dos óleos essenciais foram realizadas em *split* de 1:20. Os índices de retenção dos compostos na coluna foram estimados pelo método de Kovats modificado (Van Den Dool; Kratz, 1963), com o auxílio da mistura de alcanos saturados mencionada anteriormente (1.000 µg mL<sup>-1</sup> de cada componente em hexano). As concentrações dos compostos voláteis dos óleos essenciais foram estimadas com base na área percentual relativa de seus picos cromatográficos em relação à área total do cromatograma (método de normalização de área).

#### **Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)**

As análises de espectrometria de massas por impacto de elétrons foram desenvolvidas em um sistema de cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas do tipo GC-2010Plus/GCMS-QP2010 da Shimadzu (Japão). A coluna e as condições cromatográficas foram as mesmas descritas para as análises de CG/DIC. O espectrômetro de massas operou em uma voltagem de ionização de 70 eV, realizando varreduras nos fragmentos na faixa de 30 a 400 *m/z*, em ciclos de 3 décimos de segundo. As temperaturas da fonte de íons e da interface com o CG foram mantidas em 240°C. A identificação dos espectros de massas dos compostos em análise baseou-se na comparação com os dados disponíveis nas bibliotecas NIST12.lib e NIST62.lib, disponíveis no software gerenciador desse sistema de CG/EM. A identificação foi complementada com a coeluição com padrões externos disponíveis no laboratório e pela comparação dos índices de Kovats calculados com aqueles disponíveis na literatura.

#### **Análise da Capacidade Antioxidante (CI<sub>50</sub>)**

A metodologia usada para a análise do potencial antioxidante dos óleos essenciais foi a descrita por Miranda et al., (2016). Os óleos essenciais foram diluídos em metanol nas seguintes concentrações: 10, 50, 100 e 200 µg mL<sup>-1</sup>. A atividade antioxidante foi determinada após a mistura de 167µL de cada solução com 1333 µL de solução de trabalho de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil, Sigma, EUA), com absorvância de 0,750 ± 0,15 (volume total de 1,5 mL). A absorvância foi mensurada em espectrofotômetro digital (EDUTEQ EEQ-9023, Brasil) no comprimento de onda de 515 nm, após 60 minutos de reação. A CI<sub>50</sub> (concentração de óleo essencial que reduz o conteúdo de radicais DPPH• em 50%) foi calculada através de uma curva de regressão linear. A solução de trabalho de DPPH foi feita a partir de uma solução estoque de DPPH (0,4 mg mL<sup>-1</sup>). Ácido gálico e rutina foram utilizados como controles positivos.

### Teste de Toxicidade Aguda em *Artemia Salina*

O teste de toxicidade aguda em *Artemia salina* foi realizado através da metodologia adaptada de Nascimento et al. (2015). Uma solução salina (água do mar) foi filtrada e usada como meio para a eclosão dos ovos de *A. salina*. Os ovos foram colocados para eclosão na solução salina filtrada por 48 horas, com aeração constante, temperatura ambiente e com iluminação artificial (lâmpada do tipo LED branca). Para a execução do teste, foram separadas 10 larvas de *A. salina* para cada tubo de ensaio. Em seguida, foram transferidas alíquotas de 100µL das soluções (microemulsões) de cada óleo essencial em metanol para tubos de ensaio que foram avolumados para 5 mL, com água do mar filtrada. Os óleos essenciais foram testados em diferentes concentrações: 5, 50, 100, 150, 200 e 300 µg mL<sup>-1</sup>. Cada uma dessas concentrações foi testada em triplicata, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 horas. O teste foi acompanhado de dois controles negativos, (1) somente água salina e (2) água salina adicionada de 100 µL de metanol, e de um controle positivo, com dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). Foi feita uma curva de regressão linear para o cálculo da DL<sub>50</sub> (dose letal capaz de provocar a morte de 50% da população em estudo).

### Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Graph Pad Prism 6.0. A existência de diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos, com relação às concentrações de alguns dos compostos voláteis analisados, foi avaliada pelo emprego do teste t paramétrico não pareado com correção de Welch. Os dados de toxicidade e de atividade antioxidante também foram avaliados da mesma forma para verificação da existência de diferenças estatísticas entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

## 3. Resultados e Discussão

Os compostos voláteis constituintes dos óleos essenciais comerciais usados como referência (grupo 1) e dos óleos essenciais obtidos das amostras comerciais de carqueja vendidas na forma de sachês (grupo 2) estão listados na Tabela 1. O rendimento de extração dos óleos essenciais do grupo 2 variou de (0,13 ± 0,02) g por 100 g de amostra.

Dos 41 compostos listados na Tabela 1 como componentes dos óleos essenciais das amostras analisadas, cinco (5) apareceram exclusivamente nas amostras do grupo 1 e vinte e cinco (25) exclusivamente em uma ou mais amostras do grupo 2. Apenas quatro compostos (4) foram detectados em todas as amostras analisadas de ambos os grupos (acetato de carquejila, palustrol, espatulenol e β-eudesmol). A análise estatística de variância mostrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos 1 e 2 com relação apenas às concentrações dos compostos acetato de carquejila e espatulenol. O acetato de carquejila apresentou-se em maior concentração no grupo 1, enquanto que a concentração do espatulenol mostrou-se superior no grupo 2.

Os compostos químicos encontrados no grupo 1 foram classificados como monoterpenos (4), monoterpenos oxigenados (2), sesquiterpenos (4) e sesquiterpenos oxigenados (6). Já os compostos do grupo 2 foram classificados como monoterpenos (2), monoterpenos oxigenados (3), sesquiterpenos (8), sesquiterpenos oxigenados (18), derivados de fenil propeno (2), cetona (1) e ácidos graxos (2). Os compostos terpênicos representaram a classe química de maior ocorrência nos dois grupos, com dezesseis componentes no grupo 1 (100,00%) e trinta e um componentes no grupo 2 (86,11%).

**Tabela 1.** Compostos voláteis identificados nos óleos essenciais usados como referência (grupo 1 - OR) e nos óleos essenciais provenientes das amostras de *B. trimera* vendidas na cidade do Rio de Janeiro na forma de sachês (grupo 2 - S).

Compostos	IK	IKL	Óleos essenciais de referência			Óleos essenciais obtidos das amostras contidas nos sachês					
			OR1 (%)	OR2 (%)	(M ± DP) %	S1 (%)	S2 (%)	S3 (%)	S4 (%)	S5 (%)	(M ± DP) %
β-Pineno <sup>M,b,c</sup>	965	980 <sup>1</sup>	3,55	3,53	3,54 ± 0,01	---	0,061	---	0,18	---	0,05 ± 0,08
3-Careno <sup>M,b,c</sup>	1014	1014 <sup>2</sup>	1,98	1,78	1,88 ± 0,14	---	---	---	---	---	---
Limoneno <sup>M,a,b,c</sup>	1015	1015 <sup>2</sup>	2,06	1,92	1,99 ± 0,10	---	---	---	0,46	---	0,09 ± 0,21
cis-β-Ocimeno <sup>M,b,c</sup>	1034	1040 <sup>1</sup>	2,82	2,64	2,73 ± 0,13	---	---	---	---	---	---
Carquejol <sup>MO,b,c</sup>	1134	1151 <sup>3</sup>	0,17	0,19	0,18 ± 0,01	0,48	1,34	1,03	0,85	---	0,74 ± 0,52
DL-Mentol <sup>MO,b,c</sup>	1151	1151 <sup>3</sup>	---	---	---	2,56	---	---	---	---	0,51 ± 1,14
4-Fenil-2-butanona <sup>CE,CA,b,c</sup>	1152	1199 <sup>3</sup>	---	---	---	0,50	---	1,01	---	---	0,30 ± 0,45
Anetol <sup>DFP,b,c</sup>	1220	1247 <sup>2</sup>	---	---	---	---	11,18	---	0,07	---	2,25 ± 4,99
Acetato de carquejila <sup>MO,b,c</sup>	1277	1293 <sup>4</sup>	47,7	51,09	49,40 ± 2,40 <sup>α</sup>	3,80	4,82	3,64	2,84	0,42	3,10 ± 1,66 <sup>β</sup>
Metil-eugenol <sup>DFP,CA,a,b,c</sup>	1363	1360 <sup>1</sup>	---	---	---	---	2,03	---	0,09	0,13	0,45 ± 0,88
β-Elemeno <sup>S,b,c</sup>	1375	1384 <sup>1</sup>	4,61	4,66	4,64 ± 0,04	---	0,33	---	0,33	0,10	0,15 ± 0,17
Cariofileno <sup>S,a,b,c</sup>	1400	1409 <sup>3</sup>	---	---	---	---	0,63	1,42	1,23	0,48	0,75 ± 0,58
Desidroaromadendreno <sup>S,b,c</sup>	1429	1434 <sup>3</sup>	---	---	---	1,14	---	---	0,80	---	0,39 ± 0,54
β-Copaeno <sup>S,b,c</sup>	1459	1460 <sup>2</sup>	4,24	3,58	3,91 ± 0,47	---	---	---	---	---	---
(+)-Ledeno <sup>S,b,c</sup>	1463	1478 <sup>2</sup>	---	---	---	1,24	1,29	---	0,56	0,37	0,69 ± 0,56
Elixeno <sup>S,b,c</sup>	1488	1488 <sup>3</sup>	2,50	2,13	2,32 ± 0,26	---	---	---	---	---	---
β-Bisaboleno <sup>S,b,c</sup>	1492	1492 <sup>3</sup>	---	---	---	1,04	0,48	---	---	0,96	0,50 ± 0,50
(-)-β-Cadineno <sup>S,b,c</sup>	1502	1509 <sup>2</sup>	1,05	0,87	0,96 ± 0,13	1,54	1,06	1,17	1,02	---	0,96 ± 0,57
α-Calacoreno <sup>S,b,c</sup>	1514	1517 <sup>1</sup>	---	---	---	1,05	0,27	---	0,41	0,19	0,38 ± 0,40
Elemol <sup>SO,b,c</sup>	1530	1534 <sup>5</sup>	0,68	0,62	0,65 ± 0,04	---	---	---	---	---	---
Palustrol <sup>SO,b,c</sup>	1551	1550 <sup>3</sup>	8,17	7,89	8,03 ± 0,20 <sup>α</sup>	13,15	8,39	6,09	4,54	5,20	7,47 ± 3,49 <sup>α</sup>
Espatuleno <sup>SO,b,c</sup>	1561	1572 <sup>2</sup>	0,3	0,32	0,31 ± 0,01 <sup>α</sup>	1,65	10,64	16,49	12,70	23,39	12,97 ± 7,98 <sup>β</sup>
Epiglobulol <sup>SO,b,c</sup>	1571	1578 <sup>3</sup>	3,03	2,83	2,93 ± 0,14	---	---	---	2,27	---	0,45 ± 1,02
Viridiflorol <sup>SO,b,c</sup>	1575	1578 <sup>2</sup>	---	---	---	---	12,16	---	0,49	0,81	2,69 ± 5,30
Óxido de Cariofileno <sup>SO,b,c</sup>	1578	1579 <sup>2</sup>	---	---	---	11,14	0,46	2,62	1,21	2,39	3,56 ± 4,32
Globulol <sup>SO,b,c</sup>	1579	1581 <sup>2</sup>	---	---	---	3,72	0,21	4,10	0,23	24,10	6,47 ± 10,03
Ledol <sup>SO,b,c</sup>	1580	1582 <sup>2</sup>	2,14	1,95	2,05 ± 0,13	4,69	4,45	6,62	3,10	---	3,77 ± 2,45
4,5,9,10-desidro Isolongifoleno <sup>S,b,c</sup>	1590	1544 <sup>1</sup>	---	---	---	---	---	---	1,10	---	0,22 ± 0,49
Cubeno <sup>SO,b,c</sup>	1600	1604 <sup>3</sup>	---	---	---	---	0,59	1,94	2,10	0,80	1,09 ± 0,90
Óxido de aloaromadendreno <sup>SO,b,c</sup>	1602	1595 <sup>2</sup>	---	---	---	1,13	---	1,46	---	---	0,52 ± 0,72

Cedrenol <sup>SO,b,c</sup>	1603	1604 <sup>1</sup>	---	---	---	1,23	---	1,94	---	---	0,63 ± 0,90
Epóxido de isoaromadendreno <sup>SO,b,c</sup>	1606	1512 <sup>2</sup>	---	---	---	1,19	---	1,18	1,65	0,59	0,92 ± 0,64
Widrol <sup>SO,b,c</sup>	1610	1597 <sup>3</sup>	---	---	---	---	---	---	2,10	---	0,42 ± 0,94
tau-Cadinol <sup>SO,b,c</sup>	1612	1614 <sup>2</sup>	---	---	---	---	---	1,26	---	---	0,25 ± 0,56
α-Acoreno <sup>SO,b,c</sup>	1617	1616 <sup>2</sup>	---	---	---	---	0,47	---	---	1,69	0,43 ± 0,73
β-Eudesmol <sup>SO,b,c</sup>	1622	1622 <sup>3</sup>	3,67	3,93	3,8 ± 0,18 <sup>a</sup>	4,01	3,96	4,15	2,85	2,98	3,59 ± 0,62 <sup>a</sup>
τ-Muurolo <sup>SO,b,c</sup>	1629	1628 <sup>3</sup>	---	---	---	---	---	2,26	1,81	---	0,81 ± 1,13
Longifolenaldeído <sup>SO,b,c</sup>	1646	1631 <sup>1</sup>	---	---	---	2,41	1,06	1,97	---	---	1,09 ± 1,11
trans-Longipinocarveol <sup>SO,b,c</sup>	1656	1634 <sup>3</sup>	---	---	---	---	---	2,21	---	0,35	0,51 ± 0,96
Ácido hexadecanoico <sup>AG,a,b,c</sup>	1968	1968 <sup>3</sup>	---	---	---	5,19	6,94	3,92	5,85	4,73	5,33 ± 1,14
Ácido Linoleico <sup>AG,b,c</sup>	2119	2115 <sup>3</sup>	---	---	---	---	2,03	0,99	2,27	1,10	1,28 ± 0,91

a - identificado por coeluição com compostos voláteis padrões; b - identificado pelos dados de espectrometria de massas; c - identificado pela comparação do índice de Kovats calculado com o índice de Kovats teórico (literatura); IK – índice de Kovats modificado (Van Den Dool, & Kratz, 1963); IKL – índice de Kovats da literatura; OR1 – óleo essencial comercial 1 de referência; OR2 – óleo essencial comercial 2 de referência; S1 – óleo essencial obtido a partir da amostra 1 comercializada na forma de sachê; S2 – óleo essencial obtido a partir da amostra 2 comercializada na forma de sachê; S3 – óleo essencial obtido a partir da amostra 3 comercializada na forma de sachê; S4 – óleo essencial obtido a partir da amostra 4 comercializada na forma de sachê; S5 – óleo essencial obtido a partir da amostra 5 comercializada na forma de sachê; M – Monoterpeno; MO – Monoterpeno oxigenado; S – Sesquiterpeno; SO – Sesquiterpeno oxigenado; CE – cetona; CA – composto aromático; DFP – derivado de fenil propeno; AG – ácido graxo;. Em uma mesma linha, valores médios com letras gregas diferentes são estatisticamente distintos ( $p < 0,05$ ). Fontes de obtenção dos valores de IKL: 1 – Pherobase; 2 – NIST; 3 – PubChem; 4 – Simões-Pires et al., 2005; 5 – ChemSpider. Fonte: Autores (2022).

As Tabelas 2 e 3 mostram os cinco compostos de maior concentração em cada uma das sete amostras analisadas. Dos compostos majoritários dos óleos essenciais de referência (grupo 1), apenas o β-copaeno não foi detectado em nenhum dos óleos essenciais obtidos das amostras comercializadas na forma de sachês (grupo 2). O β-elemento também só foi detectado em três dos cinco óleos essenciais do grupo 2. Os demais compostos majoritários do grupo 1 (acetato de carquejila, palustrol e β-eudesmol) estavam presentes em todas as amostras do grupo 2, com destaque para o palustrol e o β-eudesmol. O palustrol apareceu como um dos cinco compostos majoritários de todas as amostras do grupo 2 e o β-eudesmol figurou entre os cinco majoritários de quatro das cinco amostras desse segundo grupo.

**Tabela 2.** Compostos majoritários dos óleos essenciais de carqueja amarga OR1, OR2, S1 e S2

OR1	(%)	OR2	(%)	S1	(%)	S2	(%)
Acetato de carquejila	47,7	Acetato de carquejila	51,09	Palustrol	13,15	Viridiflorol	12,16
Palustrol	8,17	Palustrol	7,89	Óxido de cariofileno	11,14	Anetol	11,18
β-Elemento	4,61	β-Elemento	4,66	Ácido Hexadecanoico	5,19	Espatuleno	10,64
β-Copaeno	4,24	β-Eudesmol	3,93	Ledol	4,69	Palustrol	8,39
β-Eudesmol	3,67	β-Copaeno	3,58	β-Eudesmol	4,01	Ácido Hexadecanoico	6,94

OR1 – óleo essencial comercial 1 de referência; OR2 – óleo essencial comercial 2 de referência; S1 – óleo essencial obtido a partir da amostra 1 comercializada na forma de sachê; S2 – óleo essencial obtido a partir da amostra 2 comercializada na forma de sachê. Fonte: Autores (2022).

**Tabela 3.** Compostos majoritários dos óleos essenciais de carqueja amarga S3, S4 e S5

S3	(%)	S4	(%)	S5	(%)
Espatulenol	16,49	Espatulenol	12,70	Globulol	24,10
Ledol	6,62	Ácido Hexadecanoico	5,85	Espatulenol	23,39
Palustrol	6,09	Palustrol	4,54	Palustrol	5,20
$\beta$ -Eudesmol	4,15	Ledol	3,10	Ácido hexadecanóico	4,73
Globulol	4,10	$\beta$ -Eudesmol	2,85	$\beta$ -Eudesmol	2,98

S3 – óleo essencial obtido a partir da amostra 3 comercializada na forma de sachê; S4 – óleo essencial obtido a partir da amostra 4 comercializada na forma de sachê; S5 – óleo essencial obtido a partir da amostra 5 comercializada na forma de sachê. Fonte: Autores (2022).

O carquejol e o acetato de carquejila são considerados marcadores químicos da espécie *Baccharis trimera* (Silva et al., 2013). A presença desses dois compostos costuma ser interpretada como um forte indicativo de que as amostras de carqueja são da espécie *Baccharis trimera*. Analisando a Tabela 1, é possível perceber a presença em baixas concentrações de carquejol nos óleos essenciais do grupo 1 (referência) e, também, nos óleos essenciais de quatro das cinco amostras do grupo 2. Já o acetato de carquejila, presente em altas concentrações nos óleos essenciais de referência (grupo 1), foi encontrado nos óleos essenciais de todas as amostras do grupo 2, porém em concentrações bem menores ( $p < 0,05$ ) do que no grupo 1. Nesse contexto, seria interessante avaliar a presença de outros marcadores químicos, como por exemplo a 3-o-metil-quercitina, para concluir de forma mais precisa se as amostras comercializadas como sachês (grupo 2) são realmente autênticas, ou seja, se são *Baccharis trimera* (Beltrame et al., 2009). Essas diferenças podem estar associadas a variações nas condições edafoclimáticas as quais as plantas foram submetidas durante seu desenvolvimento, a variações de processamento e, até mesmo, à mistura dessas amostras com outras espécies de plantas. Isso poderia explicar a presença de compostos incomuns à carqueja amarga como, por exemplo, o DL-mentol na amostra S1 e o anetol nas amostras S2 e S4.

**Tabela 4.** Atividade antioxidante e potencial toxicológico dos óleos essenciais usados como referência (grupo 1) e dos óleos essenciais provenientes das amostras de *B. trimera* vendidas na cidade do Rio de Janeiro na forma de sachês (grupo 2)

Parâmetros analisados	Grupo 1	Grupo 2
CI <sub>50</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	123,07 ± 20,72 <sup>a</sup>	31,34 ± 9,82 <sup>a</sup>
DL <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )	22,80 ± 0,28 <sup>a</sup>	12,74 ± 0,05 <sup>b</sup>

CI<sub>50</sub> – concentração de solução metanólica de óleo essencial capaz de reduzir o radical livre DPPH· em 50%; DL<sub>50</sub> – dose letal de solução metanólica de óleo essencial capaz de matar 50% da população testada; em uma mesma linha, valores marcados com letras diferentes são estatisticamente distintos ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores (2022).

Os valores médios de CI<sub>50</sub> (concentração de óleo essencial capaz de reduzir o radical livre DPPH· em 50%) dos óleos essenciais estão listados na Tabela 4. Não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre o potencial antioxidante dos óleos essenciais de referência (grupo 1) e o potencial antioxidantes dos óleos essenciais obtidos das amostras comercializadas na forma de sachês (grupo 2). Os resultados de CI<sub>50</sub> obtidos para os padrões de rutina e ácido gálico foram 0,093 mg mL<sup>-1</sup> e 0,0085 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Comparando os potenciais antioxidantes desses padrões com os potenciais antioxidantes dos óleos essenciais em estudo, foi possível classificar os óleos essenciais de ambos os grupos como antioxidantes relativamente fracos. Paroul et al. (2016) encontrou um valor de CI<sub>50</sub> de 6,19 mg mL<sup>-1</sup> ao avaliar o que consideraram ser um óleo essencial de



*B. trimera*. Entretanto, nesse artigo específico não foram encontrados os marcadores químicos carquejol e acetato de carquejila nas amostras, o que sugere que esse artigo deve ter sido conduzido com uma planta de outra espécie (Budel et al., 2005). Comparando os resultados obtidos no presente estudo com os valores de  $CI_{50}$  de outra espécie do gênero *Baccharis* (*B. dracunculifolia*) ( $CI_{50} = 3,52 \text{ mg mL}^{-1}$ ) (PAROUL et al., 2016), percebe-se que os óleos essenciais analisados no presente estudo possuem baixa capacidade antioxidante.

Com relação aos valores de toxicidade aguda em *A. salina*, todas as amostras analisadas nesse estudo apresentaram valores bem inferiores aos que são preconizados por Meyer et al. (1982) para substâncias atóxicas e seguras ( $DL_{50} > 1.000$  ppm). Na verdade, esses óleos essenciais podem ser classificados como citotóxicos de acordo com o teste empregado, pois apresentaram  $DL_{50}$  inferior a 200 ppm (Lima et al., 2014). Os óleos essenciais obtidos a partir das amostras comercializadas na forma de sachês (grupo 2) são mais tóxicos ( $p < 0,05$ ) do que os óleos essenciais usados como referência (grupo 1). Alonso (1998) avaliou a toxicidade intraperitoneal do carquejol e encontrou uma  $DL_{50}$  de 410 ppm, o que demonstra uma certa toxicidade para esse composto. O valor mais baixo de  $DL_{50}$  encontrado para os óleos essenciais analisados no presente estudo em comparação com o carquejol pode ser explicado pelos diferentes métodos de avaliação da toxicidade utilizados e, também, por alguns efeitos aditivos e sinérgicos entre os constituintes desse tipo de óleo essencial. A citotoxicidade dos óleos essenciais de *B. trimera* é reforçada por seu efeito deletério em células neuronais e por sua capacidade de inibir a proliferação de células de glia (Losqui et al., 2009).

#### 4. Conclusão

Foram identificadas 41 substâncias nos óleos essenciais de carqueja amarga analisados. Dessas, a maioria faz parte da classe dos compostos terpênicos (monoterpenos, monoterpênicos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados). Apenas o acetato de carquejila, o palustrol, o espatulenol e o  $\beta$ -eudesmol foram detectados em todas as amostras avaliadas. Além do acetato de carquejila, o carquejol também é considerado um marcador químico dessa espécie de erva. A ausência de um deles (carquejol) em uma das amostras de sachês e a presença do outro (acetato de carquejila) em baixas concentrações nos óleos essenciais dessas amostras (grupo 2) dificultou a avaliação da autenticidade das mesmas por comparação com as amostras de referência (grupo 1). As diferenças de composição dessas amostras com relação a esses dois marcadores químicos pode ser explicada pelas variações nas condições edafoclimáticas as quais as plantas foram submetidas durante seu desenvolvimento, por variações de processamento e, até mesmo, em função da mistura dessas amostras com outras espécies de plantas.

Não houve diferença estatística significativa entre o potencial antioxidante dos óleos essenciais de referência (grupo 1) e dos óleos essenciais obtidos a partir das amostras comercializadas na forma de sachês (grupo 2). Os óleos essenciais de carqueja amarga testados possuem capacidades antioxidantes inferiores às aquelas observadas para o ácido gálico, rutina e para o óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*. Os óleos essenciais de ambos os grupos (1 e 2) mostraram-se citotóxicos de acordo com o teste de toxicidade aguda em *Artemia salina*, com valores de  $DL_{50}$  inferiores a 200 ppm.

Por fim, sugere-se que novos marcadores químicos, como a 3-o-metil-quercitina, sejam monitorados nessas amostras para que sua autenticidade possa ser avaliada de forma conclusiva. Também seria importante ampliar a quantidade de amostras comerciais analisadas e obter folhas frescas de *Baccharis trimera* representativas das diferentes estações do ano. A partir dessas amostras *in natura*, seria possível produzir um conjunto de óleos essenciais de referência que garantiria uma comparação mais robusta com os óleos essenciais das amostras comercializadas na forma de sachês.

#### Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPERJ e UNIRIO.

## Referências

- Alonso J. R. (1998). *Tratado de Fitomedicina - bases clínicas y farmacológicas*. ISIS Ediciones S. R. L., Buenos Aires, Argentina. págs. 350-354.
- Amaral, A. S., Radünz, L. L., Mossi, A. J., Santi, A., Da Rosa, N. M. F. F., & Feiten, F. (2010). Rendimento de matéria seca e de óleo essencial de *Baccharis trimera* com adubação química e orgânica. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 9(1), 20-28.
- Barroso, G. M. (1976). Compositae – Subtribo Baccharidinae Hoffmann – Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguésia*, 28, 1-273.
- Beltrame, F. L., Ferroni, D. C., Alves, B. R. V., Pereira, A. V., & Esmerino, L. A. (2009). Avaliação da qualidade das amostras comerciais de *Baccharis trimera* L. (Carqueja) vendidas no Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, 31(1), 37-43.
- Borella, J. C., Donata, P. D., Novaretti, A. A. G., Menezes Junior, A., França, S. C., Rufalo, C. B., Santos, P. A. S., Veneziani, R. C. S., & Lopes, N. P. (2006). Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(4), 557-561.
- Borges, L. P., & Amorim, V. A. (2020). Metabólitos secundários de plantas. *Revista Agrotecnologia*, 11(1), 54-67.
- BRASIL, Política Nacional de Fitoterápicos e o Impacto nas Farmácia (Ministério da Saúde). (2008). Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/palestras/cancer/politica\\_nacional\\_fititerapicos.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/palestras/cancer/politica_nacional_fititerapicos.pdf). Acesso em 15 de junho de 2022.
- Budel, J. M., Duarte, M. R., Santos, C. A. M., Farago, P. V., & Matzenbacher, N. I. (2005). O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I - Estudos botânicos. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 15(3), 268-271.
- De Souza, T. P., Lionzo, M. I. Z., Petrovick, P. R. (2006). Avaliação da redução da carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16, 94-98.
- Karam, T. K., Dalposso, L. M., Casa, D. M., & De Freitas, G. B. L. (2013). Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 15(2), 280-286.
- Lima, C. M. P., Soares, R. P. F., Bastos, I. V. G. A., Grangeiro, A. R. S., Gurgel, A. P. A. D., Silva, A. C. P., Silva, J. G., Oliveira, R. A. G., & Souza, I. A. (2014). Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16(4), 832-838.
- Limberger, R.P, Sobral, M., & Henriques, A.T. (2004). Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. *Química Nova*, 27(6), 916-919.
- Losqui, Y. R., Rozete, F. S. S., Almeida, M. B., Bittencourt, A. H. C., & Pereira, S. P. F. (2009). Atividade de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) sobre cultura de células in vitro. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(4), 931-936.
- Mariano, X. M., de Souza, W. F. M., Rocha, C. B., Moreira, R. F. A. (2019). Bioactive volatile fraction of Chilean boldo (*Peumus boldus* Molina) – an overview. *Journal of Essential Oil Research*, 31(6), 474 – 486.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnan, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & Aughlin, J. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(5), 31-34.
- Miranda, C. A. S. F., Cardoso, M. G., Batista, L. R., Rodrigues, L. M. A., & Figueiredo, A. C. S. (2016). Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. *Revista Ciência Agronômica*, 47(1), 213-220.
- Nascimento, E. M. G. C., Carvalho, C. W. P., Ascheri, J. L. R., Galdeano, M. C., Fontoura, L., & Souza, W. F. (2015). Bioensaio pelo teste da *Artemia salina* (T.A.S.) para determinação da toxicidade de cascas de maracujá (*Passiflora edulis*). *Journal of Fruits and Vegetables*, 1(2), 216-220.
- Paroul, N., Rosa, R. L. D., Piazza, S. P., Bertella, T., Puton, B. M. S., Falcão, L., Backes, G. T., & Cansian, R. L. (2016). Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Baccharis trimera* Pers and *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Perspectiva*, 151(40), 55-64.
- Rodrigues, V. E. G., & De Carvalho, D. A. (2001). Etnobotanical survey of medicinal plants in the dominion of meadows in the region of the Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, 25, 102-123.
- Silva, F., Park, K. J., Magalhães, P. M., Martins, G. N., & Gama, E. V. S. (2013). Avaliação do teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em diferentes embalagens durante o armazenamento. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 15(1), 54-58.
- Simões-Pires, C. A., Debenedetti, S., Spegazzini, S., Mentz, L. A., Matzenbacher, N. I., Limberger, R. P., & Henriques, A. T. (2005). Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. *Plant Systematics And Evolution*, 253 (1-4), 23-32.
- Souza, W. F. M., Mariano, X. M., Isnard, J. L., Souza, G. S., Souza Gomes, A. L., Carvalho, R. J. T., Rocha, C. B., Junior, C. L. S., & Moreira, R. F. A. (2019). Evaluation of the volatile composition, toxicological and antioxidant potentials of the essential oils and teas of commercial Chilean boldo samples. *Food Research International*, 124, 27-33.
- Van Den Dool, H., & Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463-471.
- Verdi, L. G., Brighente, I. M. C., & Pizzolatti, M. G. (2005). Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química Nova*, 28, 85-94.
- Viana, M. P., & Avelar, W. E. P. (2010). Ocorrência da espécie invasora *Corbicula fluminea* (Bi-903 valvia, Corbiculidae) no rio Sapucaí (São Paulo, Brasil). *Revista Biotemas*, 23(3), 59-66.