

[*In vitro* activity of *Erigeron bonariensis* L. essential oil and its main polyacetylenic compound as neutralizers of bothropic venoms]

Atividade *in vitro* do óleo essencial da *Erigeron bonariensis*
L. e o seu principal composto poliacetilênico como
neutralizante de venenos botrópicos

Manuel Minteguiaga; Ana María Torres; Noelia Umpiérrez; César Catalán;
Eduardo Dellacassa



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



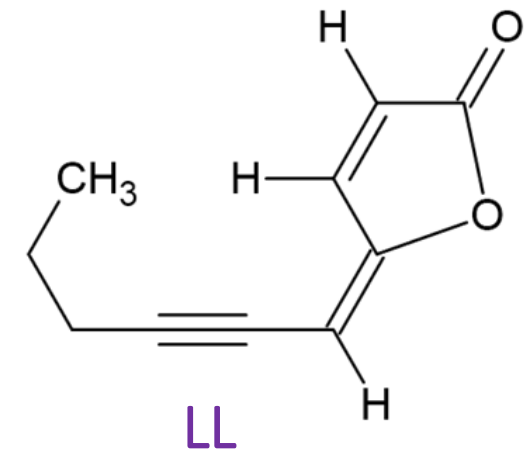
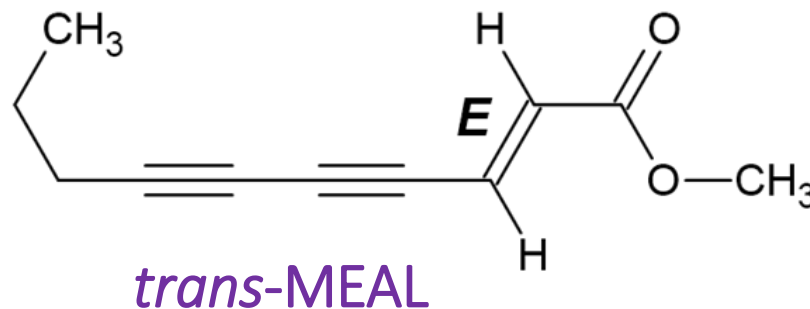
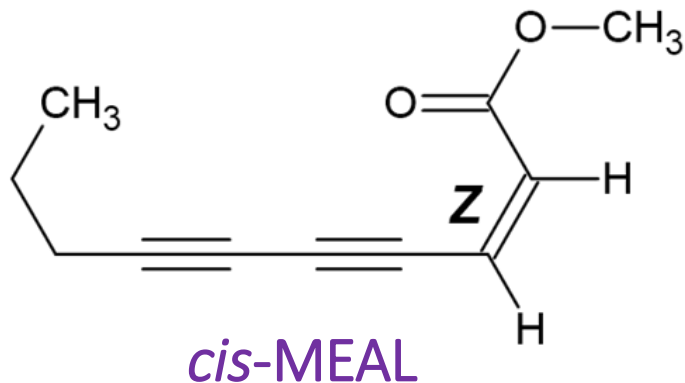
UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE TUCUMÁN



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DEL NORDESTE

Erigeron bonariensis L. (sinônimo *Conyza bonariensis* Cronquist)-Asteraceae

- **Espécie aromática e medicinal**, nativa da América do Sul, mas atualmente distribuída em todo o mundo como **erva-daninha** (Thabit *et al.*, 2014).
- O **óleo essencial (OEEB)** tem sido muito estudado, composto de mono- e sesquiterpenos, e poliacetilenos (Barbosa *et al.*, 2005).
- O poliacetileno **cis-metil éster do ácido de lachnophyllum (cis-MEAL)** atinge até **mais de 30% de abundância** (Barbosa *et al.*, 2005; Tzakou *et al.*, 2005); em alguns quimiotipos não é detectado (Araujo *et al.*, 2013).
- **cis-MEAL** costuma ser acompanhado pelo isômero *trans*- (**trans-MEAL**) e a correspondente lactona (**LL**) (Barbosa *et al.*, 2005; Tzakou *et al.*, 2005).



Venenos botrópicos

- *Bothrops* (Viperidae) é representado por **mais de 48 espécies peçonhentas (víboras)** na América do Sul (**Carrasco et al., 2012**).
- As *Bothrops* causam **mais de 90% dos acidentes ofídicos** na região: aprox. **150.000 casos e 5.000 mortes anuais** (**Torres et al., 2015**).
- Pessoas mais afetadas: **trabalhadores rurais e crianças** (**Pach et al., 2020**).
- O veneno é **proteolítico e pro-coagulante**, e promove **efeitos locais severos** (edema, hemorragia, necrose) e **sistêmicos graves** (pode levar a óbito; **Torres et al., 2015**).
- Tratamento antiofídico não é sempre efetivo, e, é ineficaz em efeitos locais.
- As plantas produzem compostos neutralizantes dos efeitos locais: **atividade alexitera**. Mais de 850 plantas descritas no mundo todo exibem bioatividade (**Torres et al., 2015**).
- Argentina: **97% dos casos são produzidos por *B. diporus* e *B. alternatus***, sendo a que a primeira ocasiona mais de 80% (**Torres et al., 2015**).
- *Nota: imagens próprias.*



Bothrops diporus
Cope



Bothrops alternatus
Duméril, Bibron & Duméril

Esquema de trabalho

E. bonariensis

origem uruguaia

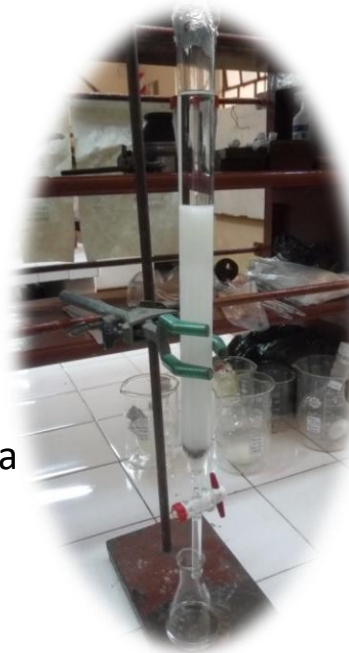


Óleo Essencial (OEEB)
(hidrodestilação)

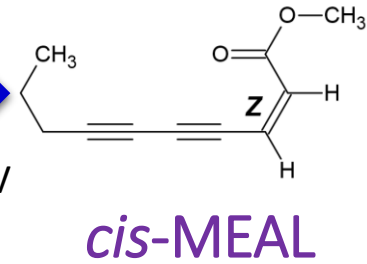
Análise CG-EM
(convencional e quiral)



Cromatografia líquida
em coluna (CC)



RMN, EM, UV



Bothrops diporus



Bothrops alternatus



Venenos

Metodologias alexiteras *in vitro* (Torres *et al.*, 2015, 2023).

Cualitativas: 1. Modificação do perfil proteico dos venenos (SDS-PAGE).

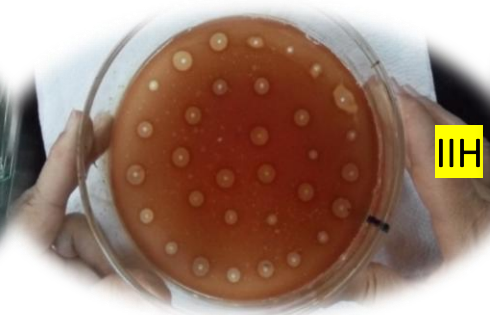
2. Inibição da atividade proteolítica (SDS-PAGE).

Cuantitativas: 3. Inibição indireta da hemólise (IIH).

4. Inibição da atividade pro-coagulante (IAPC).



SDS-PAGE



IIH

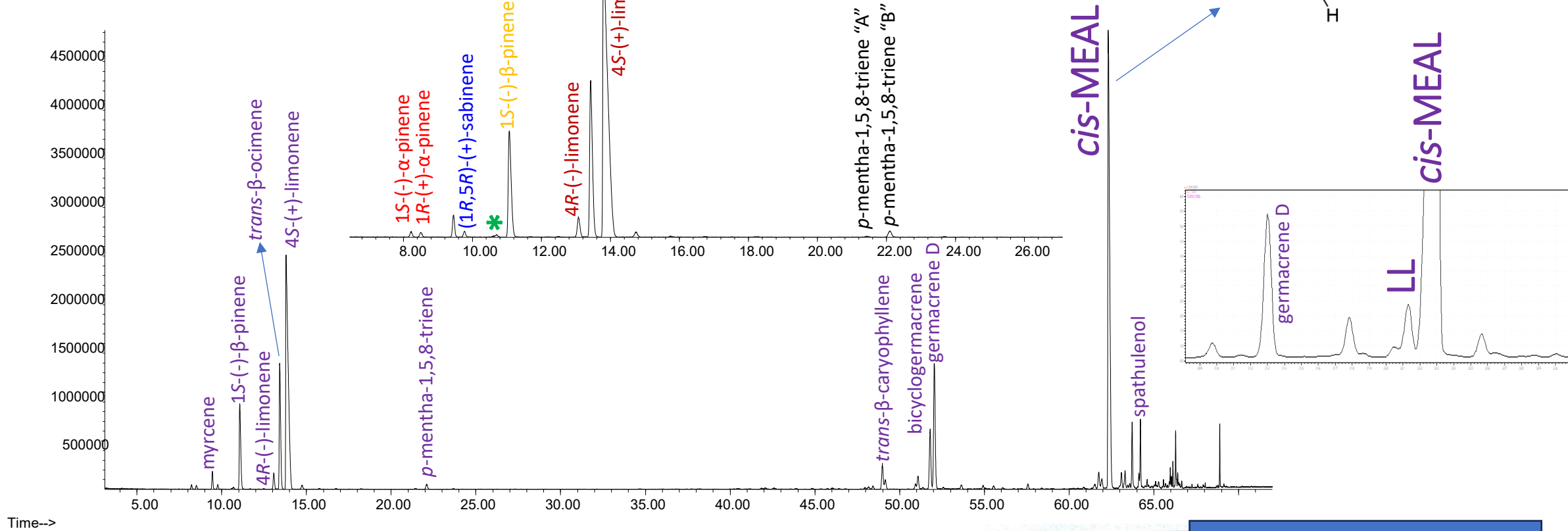


IAPC

Resultados (I)

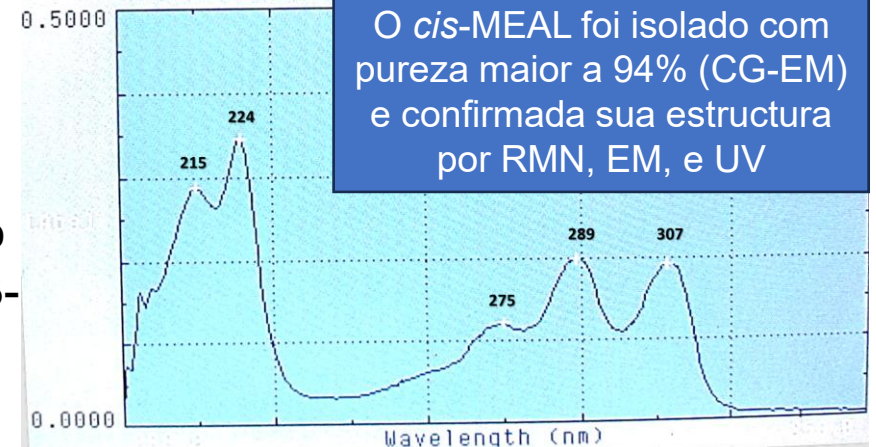
- OEEB:** composição por CG-EM (quiral)[#]

* (1S,5S)-(-)-sabinene + 1R-(+)-β-pinene



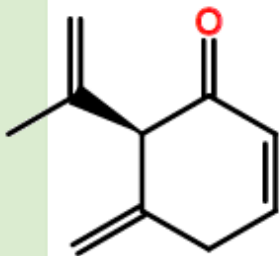
Fase estacionária: 30%-heptakis-(2,3-di-O-metil-6-O-tert-butil-dimetilsilil)-β-ciclodextrina em DB-1701 (14%-cianopropil-fenil)-metilpolisiloxano].

Abundâncias: MEAL (32,8%), limoneno (23,4%), germacreno D (8,1%), *trans*-β-ocimeno (6,9%), β-pineno (5,0%), biciclogermacreno (3,7%), lactona de lachnophyllum (2,3%), espatulenol (2,0%), *trans*-β-cariofileno (1,6%), mirceno (0,7%), etc...
(# Ordem de eluição: **Liberto et al., 2008**)



Resultados (II)

- O **OEEB** neutralizou parcialmente o veneno de *B. diporus*, mas o **cis-MEAL** foi mais ativo.





Tipo de amostra	Modificação do perfil proteico, SDS-PAGE (n=3)	Inibição da Proteólise, SDS-PAGE (n=3)	Inibição indireta da Hemólise (n=4)	Inibição da atividade pro-coagulante (n=3)
OEEB	Sim	Sim (+++)	26,3 ± 1,0%	0
cis-MEAL	Sim	Sim (+++)	57,9 ± 1,0%	60,6 ± 1,0%
Carquejona (C+)	Sim	Sim (+++)	50 ± 10 %	20,4 ± 4.4%
EtOH (C-)	Não	Não	0	0



Bothrops diporus

NATURAL PRODUCT RESEARCH
<https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2463694>

 Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

 Check for updates

In vitro alexiteric activity of irregular monoterpenes derived from *ortho*-menthane against *Bothrops diporus* Cope (Serpentes: Viperidae) venom

Manuel Minteguiaga^{a,b}, Ana M. Torres^c, Bárbara Ricciardi Verrastro^c, Gabriela A. Ricciardi^c, César A. N. Catalán^d and Eduardo Dellacassa^b

Revista Brasileira de Farmacognosia

Neutralization of *Bothrops diporus* Venom by Volatile and Non-Volatile Extracts of *Baccharis* spp.
--Manuscript Draft--

Manuscript Number: RBFA-D-25-00202R2

Neutralization of *Bothrops diporus* Venom by Volatile and Non-Volatile Extracts of *Baccharis* spp.

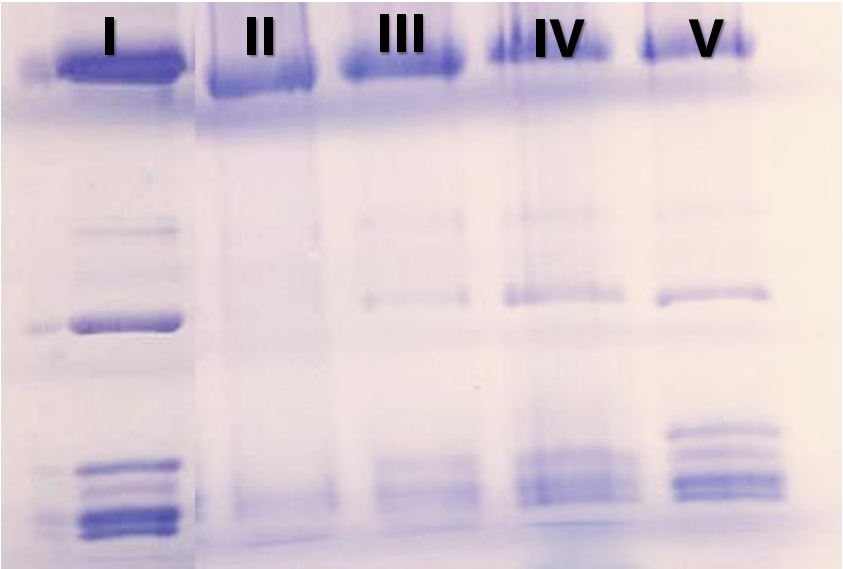
Manuel Minteguiaga^{1,2*#}, Ana M Torres^{3#}, Bárbara Ricciardi-Verrastro³, Ariel Tijman², Tatiana Carreras², Gabriela A Ricciardi³, César A.N. Catalán⁴, Eduardo Dellacassa²

ACCEPTED



Bothrops alternatus

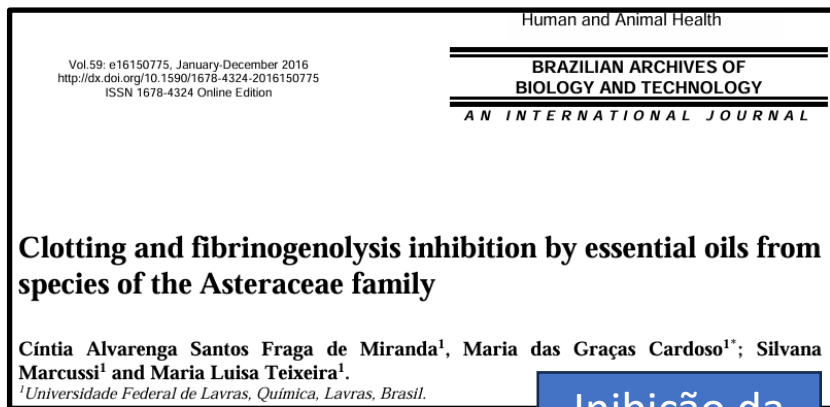
Modificação do perfil proteico, SDS-PAGE



I. Veneno puro (V); II. carquejona + V (control +); III. **cis-MEAL** + V; IV. e V. extratos em AcOEt de *B. articulata* e *B. trimera* + V (controles +).

Discussão e Conclusões

- Se confirmou o potencial alexitero do **OEEB** para venenos botrópicos em condições *in vitro*, corroborando resultados prévios.



Inibição da
coagulação

Essential oil (μL)	Clotting time (s)		
	<i>L. muta</i> (10 μg)	<i>B. moojeni</i> (10 μg)	<i>B. atrox</i> (10 μg)
Control	52.2 ± 0.5 Ab	108.3 ± 0.4 Aa	100.8 ± 2.0 Ab
<i>B. dracunculifolia</i> (0.6)	82.8 ± 2.6 Ca	184.8 ± 2.4 Ba	143.5 ± 1.7 Ca
<i>B. dracunculifolia</i> (1.2)	87.0 ± 2.0 Ca	234.9 ± 1.9 Ba	154.5 ± 4.5 Da
<i>C. bonariensis</i> (0.6)	110.1 ± 1.1 Aa	1977.9 ± 50.6 Ab	191.1 ± 0.6 Bb
<i>C. bonariensis</i> (1.2)	115.2 ± 1.0 Aa	2340.0 ± 52.9 Aa	264.0 ± 2.4 Aa
<i>T. diversifolia</i> (0.6)	75.6 ± 1.7 Cb	283.5 ± 3.8 Ba	207.9 ± 1.9 Ab
<i>T. diversifolia</i> (1.2)	91.2 ± 1.8 Ca	315.6 ± 2.6 Ba	227.7 ± 2.7 Ba
<i>A. polystachya</i> (0.6)	96.0 ± 1.4 Ba	174.0 ± 1.8 Ba	156.9 ± 0.8 Cb

... the oil from *C. bonariensis* were limonene (56.7%), *trans*-β-ocimene (26.3%) and *cis*-verbenol (4.4%). ...

Não se reportaram
poliacetilenos

- O **cis-MEAL** demonstrou um grande potencial neutralizante dos venenos botrópicos em condições *in vitro* **inédito para poliacetilenos!**
- Esses resultados demonstram a **importância da pesquisa em compostos bioativos de plantas** (incluindo aqueles dos óleos essenciais) **para o tratamento de doenças negligenciadas**.
- Novas **pesquisas em condições *in vivo* devem ser feitas**, assim como visar formulações ativas (**óleos essenciais como adjuvantes, MEDICINA COMPLEMENTAR**).

Referências

- **Araujo L**, Moujir LM, Rojas J, Rojas L, Carmona J, Rondón M. Chemical Composition and Biological Activity of *Conyza bonariensis* Essential Oil Collected in Mérida, Venezuela. **Nat. Prod. Comm.** 2013; 8: 1-4.
- **Barbosa LCA**, Paula, VF, Azevedo AS, Silva EAM, Nascimento EA. Essential oil composition from some plant parts of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist. **Flav. Fragr. J.** 2005; 20: 39-41.
- **Carrasco PA**, Mattoni CI, Leynaud GC, Scrocchi GJ. Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). **Zool. Scr.** 2012; 109-124.
- **de Miranda CASF**, Cardoso MDG, Marcussi S, Teixeira ML. Clotting and fibrinogenolysis inhibition by essential oils from species of the Asteraceae family. **Braz. Arch. Biol. Technol.** 2016; 59: e16150775.
- **Liberto E**, Cagliero C, Sgorbini B, Bicchi C, Sciarrone D, Zellner BDA, Mondello L, Rubiolo P. Enantiomer identification in the flavour and fragrance fields by “interactive” combination of linear retention indices from enantioselective gas chromatography and mass spectrometry. **J. Chromatogr. A** 2008; 1195: 117-126.
- **Minteguiaga M**, Torres AM, Ricciardi Verrastro B, Ricciardi GA, Catalán CAN, Dellacassa E. *In vitro* alexiteric activity of irregular monoterpenes derived from *ortho*-menthane against *Bothrops diporus* Cope (Serpentes: Viperidae) venom. **Nat. Prod. Res.** 2025; *in press*.
- **Minteguiaga M**, Torres AM, Ricciardi-Verrastro B, Tijman A, Carreras T, Ricciardi GA, Catalán CAN, Dellacassa E. Neutralization of *Bothrops diporus* Venom by Volatile and Non-Volatile Extracts of *Baccharis* spp. **Braz. J. Pharmacogn.** 2025; *in press*.
- **Pach S**, Le Geyt J, Gutiérrez JM, Williams D, Maduwage KP, Habib AG, Gustin R, Avila-Agüero ML, Ya KT, Halbert J. Paediatric snakebite envenoming: the world's most neglected 'Neglected Tropical Disease'? **Arch. Dis. Child.** 2020; 105:1135-1139.
- **Thabit RAS**, Cheng XR, Al-Hajj N, Rahman MDRT, Le GW. Antioxidant and *Conyza bonariensis*: A Review. **Eur. Acad. Res.** 2014; 2: 8454-8474.
- **Torres AM**, Camargo F, Ricciardi Verrastro BV, Ricciardi G, Dellacassa E. Plantas como antivenenos: del mito al logos. Montevideo, Uruguay: **Ediciones Universitarias, Serie Biblioteca Plural, Universidad de la República** 2015. 103 pp. (disponible on-line).
- **Torres AM**, Ojeda GA, Angelina E, Bustillo S, Peruchena N., Toninandel L, Larcher R, Nardin T, Dellacassa E. The anti-snake activity of *Nectandra angustifolia* flavonoids on phospholipase A₂: *In vitro* and *in silico* evaluation. **J. Ethnopharmacol.** 2023; 302: 115889.
- **Tzakou O**, Vagias C, Gani A, Yannitsaros A. Volatile constituents of essential oils isolated at different growth stages from three *Conyza* species growing in Greece. **Flav. Fragr. J.** 2005; 20: 425-428.