

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA  
ESCOLA NORMAL SUPERIOR- ENS  
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS  
AMAZÔNICAS

Manaus/AM  
2018

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS - UEA  
ESCOLA NORMAL SUPERIOR- ENS  
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

EMILLY JULIANA SALES PEREIRA DE LIMA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS  
AMAZÔNICAS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à coordenação do curso  
Ciências Biológicas da Universidade do  
Estado do Amazonas para obtenção do título  
de licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Larissa de Souza  
Kirsch.

Co-Orientador: Prof.<sup>o</sup> Dr. Hector Henrique  
Ferreira Koolen.

Manaus/AM  
2018

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
**Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.**

L732a Lima, Emilly Juliana Sales Pereira de  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS  
ESSENCIAIS DE PLANTAS AMAZÔNICAS / Emilly  
Juliana Sales Pereira de Lima. Manaus : [s.n], 2018.  
50 f.: color.; 21 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas -  
Licenciatura - Universidade do Estado do Amazonas,  
Manaus, 2018.

Inclui bibliografia

Orientador: Larissa de Sousa Kirsch

Coorientador: Héctor Henrique Ferreira Koolen

1. Produtos naturais. 2. óleos essenciais. 3. análise  
química. 4. atividades biológicas. I. Larissa de Sousa  
Kirsch (Orient.). II. Héctor Henrique Ferreira Koolen  
(Coorient.). III. Universidade do Estado do Amazonas.  
IV. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS  
ESSENCIAIS DE PLANTAS AMAZÔNICAS

EMILLY JULIANA SALES PEREIRA DE LIMA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS  
AMAZÔNICAS

Trabalho de conclusão de curso,  
apresentado a Universidade do estado do  
Amazonas - UEA, como parte das  
exigências para a obtenção do título de  
licenciatura em Ciências Biológicas.

Data de aprovação: Manaus, 28 de novembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.Dr. (Hector Henrique Ferreira Koolen)  
Universidade do estado do Amazonas- UEA

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> (Ieda Hortêncio Batista)  
Universidade do estado do Amazonas- UEA

---

MSc. (Kamila Rangel Primo)  
Universidade federal do Amazonas- UFAM

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus orientadores Prof.<sup>a</sup> Dra. Larissa de Sousa Kirsch e Prof. Dr. Hector Henrique Ferreira Koolen, por todos os ensinamentos, pela orientação recebida e por não medirem esforços sempre buscando parcerias para que eu pudesse desenvolver o trabalho da melhor forma possível.

A minha mãe e meu padrasto por todo apoio emocional e financeiro que me deram ao longo de toda a minha graduação, sem medir esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

A doutoranda Nalláret D'ávilla pela ajuda com as coletas e identificações dos materiais vegetais utilizados.

A equipe da Central Analítica- UFAM, em especial ao mestrando André Sagat pela disposição e pela ajuda que me ofereceu durante a realização das extrações dos óleos essenciais.

A Prof.<sup>a</sup> Dra. Antônia Queiroz Lima de Souza pela ajuda com a realização dos testes antimicrobianos.

Ao Msc. Leonard Acho da FCF/UFAM pela ajuda com a realização dos testes enzimáticos.

A equipe do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, da FIOCRUZ-BA pela realização dos testes citotóxicos.

Ao grupo de pesquisa MMSRG do laboratório de Biotecnologia e Recursos Naturais da UEA por todo o apoio que me deram durante a realização deste trabalho.

A todos os amigos que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui.

**Agradeço**

“Em algum lugar, alguma coisa incrível está esperando para ser conhecida.”

*Carl Sagan*

## RESUMO

Os produtos naturais são substâncias químicas orgânicas sintetizadas por seres vivos, tais como, fungos, bactérias, algas e plantas. Esses produtos possuem uma gama de propriedades biológicas de interesse para o homem, muitos povos fazem a utilização dos mesmos desde os primórdios da humanidade, pois apresentam, diversas substâncias que são utilizadas como recursos para diversos tratamentos. Vários fármacos comerciais têm sua origem em produtos naturais, que são substâncias de interesse comercial. Estas podem ser oriundas de diversas fontes, como por exemplo, óleos essenciais, os quais são extraídos de diversas partes de plantas aromáticas. Sendo assim, o presente trabalho avaliou a composição química, bem como as atividades biológicas de óleos essenciais Amazônicos. Foram utilizados os óleos utilizados foram das seguintes espécies: São-João-Kaá (*Unxia camphorata*), Pataqueira (*Conobea scopariodes*), Ucuuba (*Virola surinamensis*), Hortelã-vick (*Mentha avensis*) e Limão- Tahiti (*Citrus aurantifolia*). A extração foi feita pela técnica de hidrodestilação por arraste a vapor, a análise dos óleos foi feita com a técnica analítica cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Adicionalmente, testes antimicrobianos frente a diversas cepas de bactérias e fungos, testes de atividade citotóxica frente a diversas linhagens de células cancerígenas e testes enzimáticos foram realizados. O óleo de São-João-Kaá apresentou efeito citotóxico e enzimático, o da Pataqueira apresentou efeito citotóxico e antimicrobiano, Ucuuba apresentou efeito antimicrobiano, citotóxico e enzimático e o óleo do Limão-Tahiti apresentou efeito antifúngico, o óleo Hortelã-vick não apresentou nenhuma atividade. Portanto, dentre todos os óleos testados o óleo da Ucuuba mostrou-se mais eficaz.

**Palavras chaves:** Produtos naturais, óleos essenciais, análise química, atividades biológicas.

## ABSTRACT

Natural products are organic compounds synthesized by living things such as fungi, bacteria, algae and plants. Those substances contain a range of biological characteristics of interest to man, and many people make use of natural products since the earliest days of mankind. Various types of commercial drugs may originate from innumerable natural products. Thus, the present work evaluated the chemical composition, as well as the some biological properties of essential oils from Amazon aromatic plants: São-João-Kaá (*Unxia camphorata*), Pataqueira (*Conobea scopariodes*), Ucuuba (*Virola surinamensis*), Hortelã-vick (*Mentha avensis*) and Limão-Tahiti (*Citrus aurantifolia*). The extraction was done by hydrodistillation by a Clevenger apparatus, and the analysis of the volatile compounds was carried out with gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Additionally, antidepressants being the antimicrobials against several strains of antimicrobial assays against bacteria and fungi, cytotoxic activity against the cancer cells and enzymatic tests. São-João-Kaá, oil received cytotoxic and enzymatic effect, and Pataqueira the antioxidant effect, Ucuuba the antimicrobial, cytotoxic and enzymatic effect and the Limão-Tahiti oil effect antifungal effect, Hortelã-vick oil was not reported. Therefore, among all tested oils the Ucuuba oil proved to be more effective

**Keywords:** Natural products, essential oil, chemical analysis, biological activities.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Biossíntese de terpenos .....	19
<b>Figura 2-</b> Cromatograma E1 .....	32
<b>Figura 3-</b> Cromatograma E2 .....	32
<b>Figura 4-</b> Cromatograma E3 .....	33
<b>Figura 5-</b> Cromatograma E4 .....	33
<b>Figura 6-</b> Cromatograma E8 .....	34
<b>Figura 7-</b> Cromatograma E24 .....	34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Locais de coleta .....	22
<b>Tabela 2-</b> Composição química dos óleos.....	28
<b>Tabela 3-</b> Microrganismos testados .....	35
<b>Tabela 4-</b> Resultados citotóxicos.....	36
<b>Tabela 5-</b> Atividade sequestrante DPPH.....	37
<b>Tabela 6-</b> Atividade antisequestrante de ABTS.....	38
<b>Tabela 7-</b> Atividade inibidora de $\alpha$ -glicosidase .....	38
<b>Tabela 8-</b> Atividade inibitória de lipase .....	39

## Sumário

<b>1.</b>	<b>Introdução</b> .....	12
1.1	Produtos naturais .....	12
1.2	Plantas como fonte de fármacos .....	14
1.3	Óleos essenciais .....	17
1.4	Terpenos .....	18
<b>2.</b>	<b>Objetivos</b> .....	21
2.1	Objetivo geral .....	21
2.2	Objetivos específicos .....	21
<b>3.</b>	<b>Metodologia</b> .....	22
3.1	Material botânico .....	22
3.2	Extração dos óleos essenciais .....	22
3.3	Análises por GC-MS .....	23
3.4	Atividade antifúngica .....	23
3.5	Atividade antibacteriana .....	24
3.6	Ensaio de citotoxicidade .....	25
3.6.1	Preparo das amostras .....	25
3.6.2	Cultura das células .....	25
3.6.3	Teste de citotoxicidade .....	25
3.7	Testes antioxidantes e enzimáticos .....	26
3.7.1	Atividade sequestrante do Radical DPPH .....	26
3.7.2	Atividade sequestrante do radical ABTS .....	27
3.7.3	Atividade inibidora $\alpha$ -glucosidase .....	27
3.7.4	Atividade inibitória da lipase .....	27
<b>4.</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	28
4.1	Análise química dos óleos .....	28

<b>4.2</b>	<b>Atividade antimicrobiana.....</b>	<b>35</b>
<b>4.3</b>	<b>Atividade citotóxica.....</b>	<b>36</b>
<b>4.4</b>	<b>Testes antioxidantes e enzimáticos.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4.1</b>	<b>Atividade sequestrante de DPPH.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Atividade sequestrante de ABTS.....</b>	<b>37</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Atividade inibidora de <math>\alpha</math>-glucosidase.....</b>	<b>38</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Atividade inibitória de lipase.....</b>	<b>39</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusões .....</b>	<b>40</b>
<b>6.</b>	<b>Referências .....</b>	<b>41</b>

# 1. Introdução

## 1.1 Produtos naturais

Os produtos naturais são substâncias químicas orgânicas sintetizadas por seres vivos, tais como, fungos, bactérias, algas e plantas. Esses produtos possuem uma gama de propriedades biológicas de interesse para o homem. A produção destas moléculas é resultado das interações dos organismos entre si e dos mesmos com o ambiente. (Araújo, 2011; Conti, 2012).

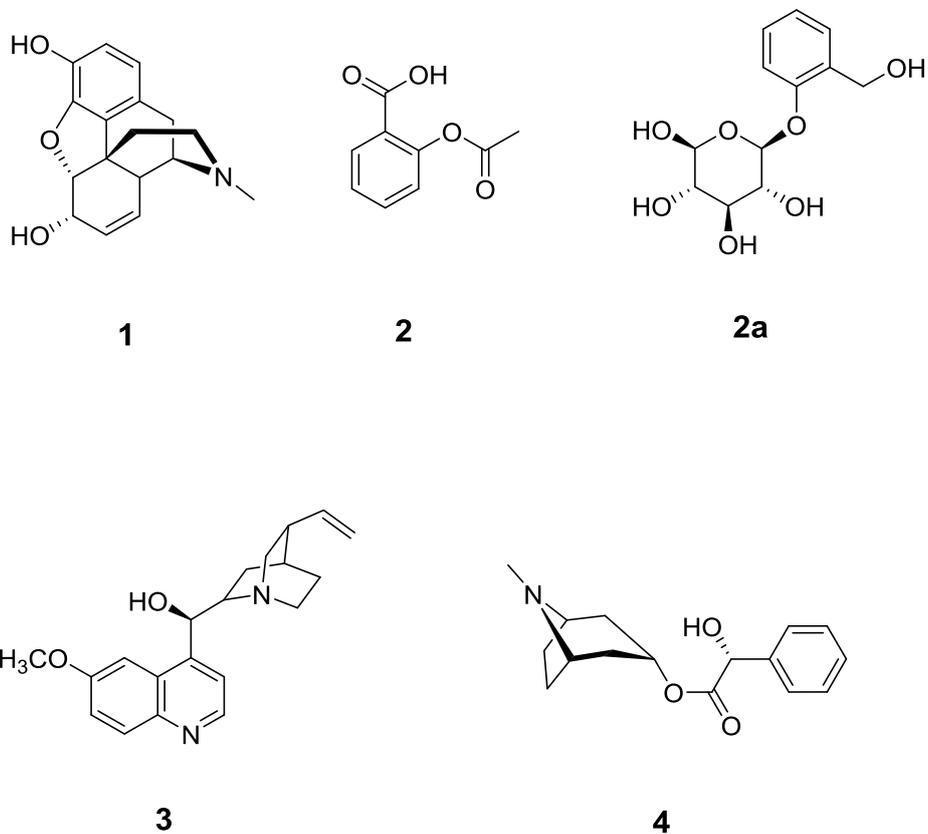
A humanidade faz uso de produtos naturais de forma indireta desde tempos muito remotos (< 2500 a.C.). Mesmo sem o conhecimento científico adequado acerca de suas propriedades, diversos povos se beneficiaram destas moléculas por meio do uso de diversas plantas e cogumelos com finalidades terapêuticas. Tal fato é evidenciado na história do desenvolvimento das civilizações orientais e ocidentais (ex. civilizações Egípcia, Greco-Romana e Chinesa) (Júnior, 2006). Além da medicina tradicional, há também exemplos de uso indireto dos produtos naturais por meio dos recursos no controle de pragas, rituais religiosos, como corantes, dentre outros usos.

Como exemplo, diversos povos indígenas das Américas utilizam corantes extraídos principalmente do urucum (*Bixa orellana*) e do jenipapo (*Genipa americana*) em suas manifestações culturais. Segundo Almeida (2017), estes povos têm na pintura corporal uma de suas formas mais características de expressão, individual e coletiva. Apesar da vasta quantidade de aplicações dos produtos naturais, seu principal destaque ainda continua sendo como um recurso terapêutico, pois, diversas substâncias isoladas de plantas medicinais são utilizadas como recursos para diversos tratamentos.

Uma das grandes descobertas destes recursos naturais se deu através dos estudos Serturmer, que demonstrou as propriedades oriundas da seiva do ópio, extraído de *Papaver somniferum*, descobrindo a morfina (**1**) que há mais de 200 anos ainda é um dos analgésicos mais utilizados na medicina (Senger, 2017).

A partir de então, diversos outros produtos naturais com propriedades farmacológicas foram isolados de plantas, o que levou à descoberta de diversos fármacos, como exemplos: aspirina® (**2**), derivada da salicina (**2a**) que é encontrada em diversas plantas do gênero *Salix* (Buttler, 2004; Strobel, 2004). A quinina (**3**)

(antimalárica) foi isolada das cascas da quina *Cinchona* sp. (Costa, 2009), bem como a atropina (**4**) utilizada até hoje no tratamento de problemas cardíacos e isolada de *Atropa beladonna* (Calixto, 2008).



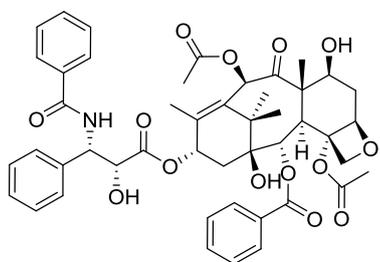
A investigação de produtos naturais, principalmente oriundos de plantas medicinais, floresceu ao longo do tempo. O século XX apresentou um grande avanço na pesquisa de produtos naturais, em especial de plantas e microrganismos, majoritariamente nos campos das pesquisas oncológicas e do tratamento de infecções (Newman, 2007). Ainda segundo este autor, isto possibilitou a descoberta de substâncias atualmente utilizadas na medicina.

Como exemplo, a maior parte (~60%) dos fármacos anticâncer introduzidos na terapêutica nas últimas duas décadas tem sua origem nos produtos naturais, e boa parte derivando de plantas.

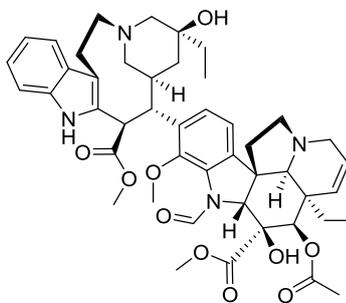
## 1.2 Plantas como fonte de fármacos

Segundo Vásquez (2014), diversos povos fazem uso das propriedades farmacológicas das plantas há milhares de anos. O que no contexto das comunidades ribeirinhas amazônicas, ainda é realidade. Isto se deve a disponibilidade desses recursos naturais, a qual está atrelada a enorme biodiversidade encontrada no Brasil, e em especial, no estado do Amazonas, que possui uma das maiores biodiversidades do mundo (Calixto, 2003). Outro fator que reforça a importância das plantas medicinais é que cerca de 25% dos medicamentos disponíveis na terapêutica, de forma geral, são oriundos de produtos naturais derivados de plantas (Calixto, 2003).

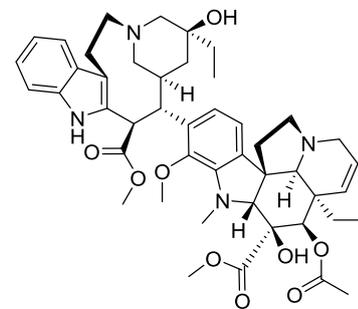
O diterpeno taxol (**5**), isolado das cascas de *Taxus brevifolia*, os alcaloides vincristina (**6**) e vimblastina (**7**) isolados de *Catharanthus roseus* e a camptotecina (**8**) isolada das cascas de *Camptotheca acuminata* (Júnior, 2006; Marques 2015; Neckel, 2005), são exemplos de produtos naturais que serviram de base para desenvolvimento dos fármacos paclitaxel®, oncovin® e topotecan®, todos utilizados no tratamento contra diversos tipos de câncer. Além destes exemplos, a lignana podofilotoxina, (**9**) isolada de plantas do gênero *Podophyllum* é comercializada em forma de creme (wartec®) para o tratamento de verrugas genitais. (Brás, 2015)



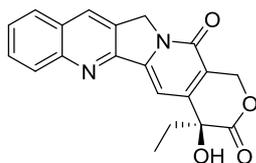
**5**



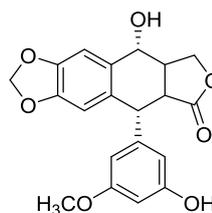
**6**



**7**

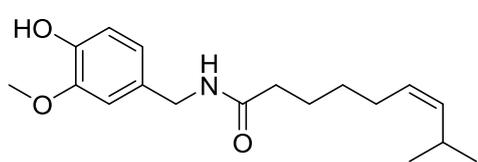


**8**

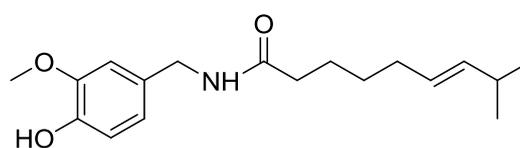


**9**

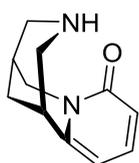
Butler et al. (2014) lista uma série de drogas derivadas de produtos naturais, com as mais diversas finalidades. Cita-se como exemplo a zucapsaicina (**10**), comercializada como zuacta® tendo sido derivada do produto natural capsaicina (**11**) comum em pimentas e utilizada no tratamento de dores. A vareniclina®, desenvolvida com base no alcaloide cytisine (**12**) comercializada como chantix® é utilizada para tratar a dependência de nicotina Além destes exemplos, pode-se citar o mebutato de ingenol (**13**) (picato®), isolado de *Euphorbia peplus* é aplicado no tratamento de queratose actínica (Butler, et al., 2014).



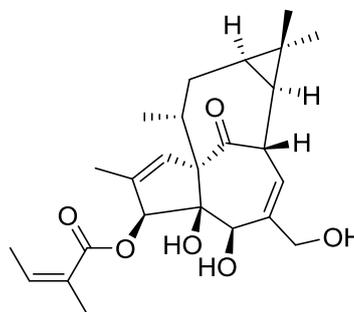
**10**



**11**



**12**

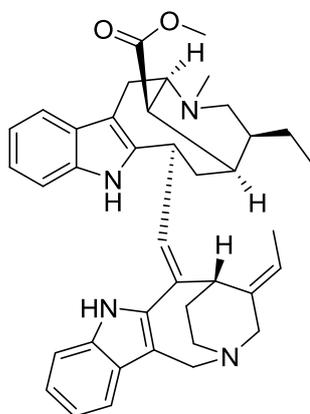


**13**

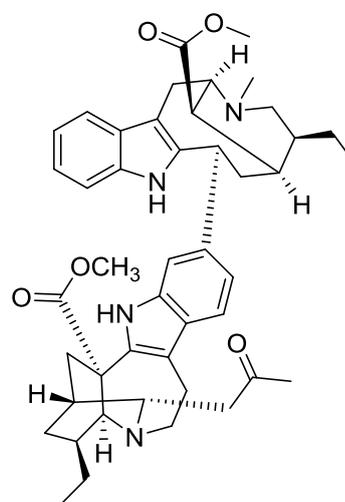
É notável que as plantas produzem uma enorme variedade de substâncias, entretanto algumas destas moléculas não apresentam funções aparentes nos processos de desenvolvimento e crescimento vegetal, sendo, portanto, classificadas como metabólitos secundários, que se dividem em três grupos principais: terpenos, compostos fenólicos, e compostos nitrogenados (Taiz, 2004).

Tendo em vista os exemplos de sucesso, destaca-se a importância da continuação de pesquisas com base nestes recursos, visando o possível aproveitamento das substâncias isoladas, o que reforça a necessidade da

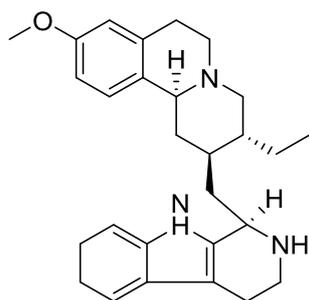
continuidade dos estudos nesta área. Como exemplo mais recente, destacam-se novos alcaloides (10-desmetoxi-19,20-di-hidrobobatsina D **14**, tabernamina **15** e deoxytubulosina **16**) isolados das hastes de *Tabernaemontana divaricata* apresentaram elevado potencial antitumoral frente às linhagens MCF-7 (câncer de mama humano) e A-549 (câncer de pulmão humano) apresentando citotoxicidade frente às linhagens testadas (Cai et al., 2018). Dentro da classe dos terpenos, o diterpeno citlalitriona (**17**) isolado de *Jatropha gossypifolia* apresentou elevada citotoxicidade frente a linhagens de células de câncer de cólon humano RKO e LOVO induzindo significativamente a apoptose das linhagens (Zhang et al., 2018).



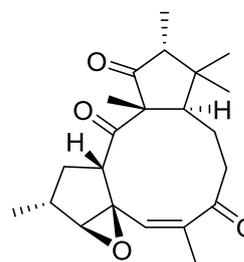
**14**



**15**



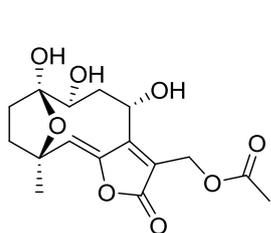
**16**



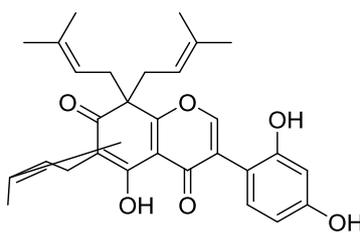
**17**

Adicionalmente, diversos compostos recém-descobertos apresentaram potenciais utilidades terapêuticas. Como exemplo cita-se piptocarфина D (**18**) (*Chresta martii*) como anti-inflamatória (Queiroz, et al., 2018) e os compostos millexatina A (**19**),

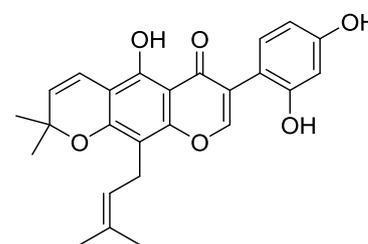
auriculatina (**20**), scandenone (**21**) e aurículasina (**22**) todos isolados de *Millettia extensa* e que apresentaram promissoras atividades antibacterianas (Raksat, 2018).



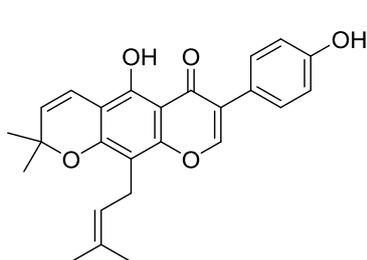
**18**



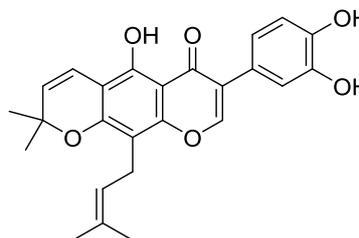
**19**



**20**



**21**



**22**

Além das substâncias isoladas, misturas de compostos aromáticos (voláteis) denominadas óleos essenciais também possuem propriedades que venham a ser úteis na terapêutica. O óleo essencial extraído dos frutos de *Kielmeyera coriacea* foi avaliado quanto a sua citotoxicidade e causou a inibição da ploriferação celular das linhagens tumorais DU-145 (tumor de próstata humano) e MDA-MB-231 1(tumor mama humano) (Lemes, 2017)

### 1.3 Óleos essenciais

Diversos óleos essenciais apresentam importância comercial. Isto se deve à presença em sua composição de substâncias relacionadas a alguma atividade biológica. Óleos essenciais figuram como importantes matérias primas para as indústrias de perfumaria, alimentícia e farmacêutica (Morais, 2009).

Diversos estudos vêm demonstrando o potencial das substâncias químicas presentes nos óleos essenciais. Scherer et al. (2009) estudaram a atividade antimicrobiana de três óleos, e verificaram que o óleo de *Caryophyllus aromaticus* apresentou atividade contra as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Outros óleos essenciais, como os de

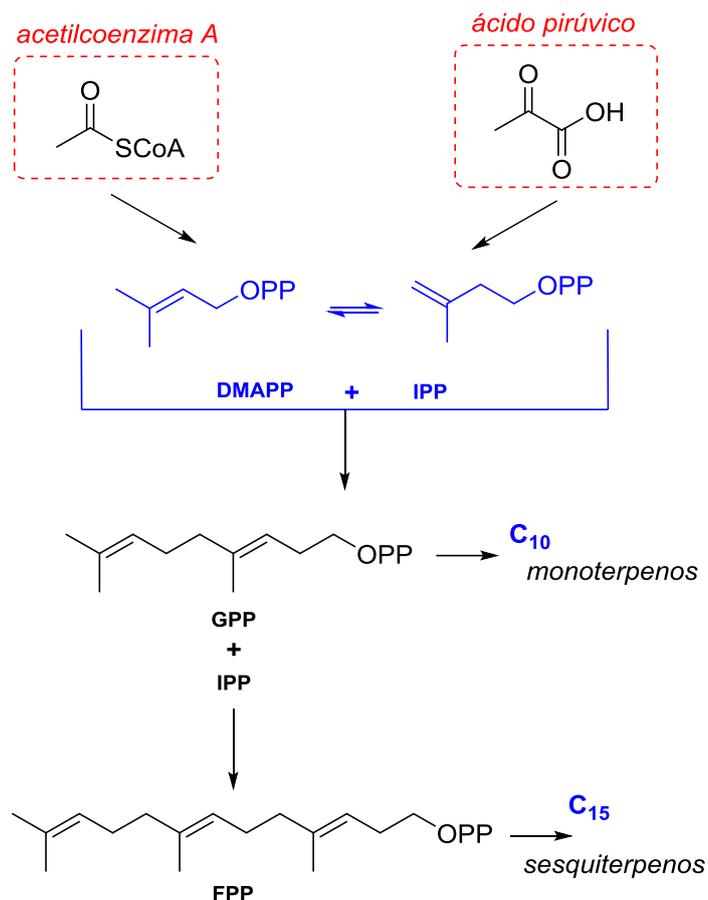
*Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon martinii* foram eficazes contra *Salmonella* sp. (Scherer et al., 2009). Diversos óleos essenciais apresentaram potencial antimicrobiano frente às bactérias gram-positivas e gram-negativas. Destacam-se neste contexto óleos de plantas como limão-cravo (*Citrus limonia*), cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*), tomilho (*Thymus vulgaris*), dentre outros (Silvestri et al., 2010; Freire et al., 2014); Millezi et al., 2014).

Quimicamente, óleos essenciais são em geral, misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular (< 400 u) e que possuem propriedades odoríferas (Morais, 2009). Dentre as classes químicas estão presentes benzenóides, pirazinas, fenilpropanóides e principalmente por moléculas de natureza terpênica (mono- e sesquiterpenos).

#### **1.4 Terpenos**

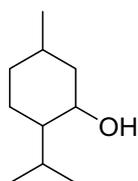
Terpenos são um grupo grande e estruturalmente diverso de produtos naturais (Dewick, 2002). Estas substâncias são sintetizadas a partir dos metabólitos primários, e no mínimo por duas rotas diferentes. A primeira é rota do ácido mevalônico, onde três moléculas de acetil-CoA após uma série de etapas se fundem, formando o ácido mevalônico que é então pirofosforilado, descarboxilado e desidratado de modo a produzir a molécula isopentenil difosfato (IPP), unidade básica na formação de terpenos (Taiz, 2004). O IPP também pode ser formado também a partir de intermediários da glicólise ou do ciclo de redução fotossintética do carbono, através de várias reações, caracterizando a segunda principal rota: metileritritol fosfato (MEP) (Taiz, 2004). O gliceraldeído-3-fosfato e dois átomos de carbono derivados do piruvato se combinam para formar um intermediário que é convertido em IPP (Figura 2).

O IPP e seu isômero, o dimetilalil difosfato (DMAPP) são as unidades pentacarbonadas ativas na biossíntese dos terpenos que se unem para formar moléculas maiores. Inicialmente, o IPP e o DMAPP reagem, e formam o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a partir da qual são formados os monoterpenos (Figura 2). O GPP pode, então, ligar-se a outra molécula de IPP, formando um composto de 15 carbonos, farnesil difosfato (FPP), precursor da maioria dos sesquiterpenos (Figura 1). A sucessiva combinação destas unidades leva a terpenos com 20 (di-), 25 (seste-), 30 (tri-) e 40 (tetraterpenos) (Taiz, 2004).



**Figura 1-** Biossíntese de terpenos

De acordo com Guimarães et al. (2013) há mais ou menos duas décadas os terpenos vêm sendo estudados quanto às suas propriedades analgésicas e muitos deles apresentam mais de um mecanismo de ação que pode estar relacionado a este efeito. Os benefícios desta classe de compostos também podem ser evidenciados através dos medicamentos comercializados para o tratamento de condições dolorosas, tais como o salonas®<sup>®</sup>, o qual possui na sua fórmula o monoterpeno mentol (**23**) e, mais recentemente o acheflan® constituído por sesquiterpenos (Oliveira, 2014).



**23**

Diversos outros terpenos encontrados em óleos essenciais apresentam uma gama de outras atividades biológicas, a exemplo, cita-se: os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllata* (cravo) e *Origanum vulgare* (orégano) que apresentaram promissora atividade frente às bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. Além disso, o óleo de orégano também se apresenta com promissor inibidor enzimático de lipase. (Pombo et. al, 2018; Quiroga et al, 2012).

Pinto et al. (2012) avaliaram o óleo essencial de *Annona vepretorum* (araticum) constando que o mesmo apresenta promissora atividade citotóxica frente a linhagens de células tumorais, sendo elas: UACC-62 (melanoma), 786-0 (rim) e NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos). Ensaio enzimáticos ( $\alpha$ -glucosidase e lipase pancreática porcina) realizados por Ruano et al. (2015) mostraram uma inibição competitiva causada por compostos presentes óleo essencial de *Clinopodium macrostemum* var. *laevigatum*.

Desta forma, é notável que a procura por substâncias naturais como fonte de terapia tem se tornado frequente ao longo dos anos, uma vez que, diversos microrganismos patogênicos têm se mostrado resistentes aos fármacos convencionais, bem como a necessidade de se tratar outras doenças. Portanto, buscou-se avaliar fontes promissoras de substâncias biologicamente ativas, dentre elas, os óleos essenciais, que vêm apresentando em sua composição compostos com as mais diversas aplicações. Por isso, nota-se a importância da identificação e estudo destas substâncias, visando seu possível aproveitamento.

Uma vez que por conta destas substâncias plantas medicinais vêm sendo utilizadas há séculos por diversos povos tradicionais, devido a suas propriedades. Além do mais, a região Amazônica apresenta uma grande diversidade de plantas que podem nos fornecer matéria prima para extração de óleos.

Sendo assim, o presente trabalho visa extrair, analisar quimicamente e analisar quanto a sua capacidade antimicrobiana, citotóxica e potencial enzimático os óleos essenciais de plantas Amazônicas pouco exploradas e desta forma, atrair a atenção para o potencial uso sustentável da floresta, bem como contribuir para o conhecimento acerca de novas fontes de substâncias biologicamente ativas.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

Analisar a composição química e o potencial biológico de óleos essenciais das plantas Amazônicas.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Coletar e extrair óleos essenciais de plantas aromáticas amazônicas;
- Caracterizar os óleos obtidos quanto à sua composição química;
- Avaliar o potencial antimicrobiano e citotóxico dos óleos essenciais obtidos;
- Realizar testes antioxidantes e enzimáticos dos óleos obtidos.

### 3. Metodologia

#### 3.1 Material botânico

A coleta dos materiais vegetais foi realizada na Reserva Adolpho Ducke, Museu da Amazônia (MUSA) e na fazenda do Prof. Dr. Hector Koolen, localizada na AM- 010, Km108. Ambas realizadas no período da manhã, de cada planta foi coletado apenas o material necessário para realização do trabalho, visando manter a integridade máxima da mesma.

Os materiais obtidos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenado em freezer, para posterior uso. A relação dos materiais coletados bem como os locais de coleta estão citados na tabela 1, os materiais coletados foram comparados às exsiccatas referentes ao material de estudo estão depositadas no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia –INPA, com a ajuda de uma botânica.

Tabela 1- Locais de coleta

Código	Nome científico	Nome popular	Parte utilizada	Local de coleta
E1	<i>Unxia camphorata</i>	São-João-kaá	Folhas	Reserva Adolpho Ducke
E2	<i>Conobea scoparioides</i>	Pataqueira	Folhas	Reserva Adolpho Ducke
E3	<i>Virola surinamensis</i>	Ucuuba (casca)	Cascas	Reserva Adolpho Ducke
E4	<i>Virola surinamensis</i>	Ucuuba (folha)	Folhas	Reserva Adolpho Ducke
E8	<i>Mentha arvensis var. Piperascens</i>	Hortelã-vick	Folhas	Reserva Adolpho Ducke
E24	<i>Citrus aurantifolia var. thaiti</i>	Limão-Tahiti	Cascas	AM-010, Km 108

#### 3.2 Extração dos óleos essenciais

Os procedimentos de hidrodestilação por arraste à vapor foram realizados em um aparelho tipo Clevenger conectado com um balão de fundo redondo de 1L contendo 500 mL água destilada e 500 g do material botânico, utilizou-se a mesma quantidade para todas as espécies trabalhadas. A extração ocorreu à 100 °C e teve duração de 4 horas. A separação do óleo essencial da água para posterior análise no GC-MS foi feita utilizando diclorometano. Para garantir a retirada da água, foi

adicionado a fase orgânica, o sal sulfato de sódio anidro. Ao fim, os óleos obtidos foram armazenados em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração.

### **3.3 Análises por GC-MS**

A determinação da composição química dos óleos extraídos foi realizada utilizando-se um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (modelo QP2010 plus, Shimadzu). Os compostos foram separados em uma coluna capilar Rtx-5MS® (5% fenil e 95% metilpolissiloxano) com 30m x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura (fase estacionária). A porta de injetor foi aquecida a 250 °C e as temperaturas de fonte de íons e de interface foram de 230° C e 220 °C, respectivamente. As amostras foram injetadas utilizando uma razão de divisão de fluxo de 1:15. O gás hélio (He) foi usado como um gás de arraste a uma vazão constante de 1,2 mL/min. A temperatura do forno foi fixada inicialmente em 60 °C durante 5 min, seguida de um aumento de 5 °C/min até atingir 250 °C, e por fim, permanecendo assim durante 17 min. Os componentes foram identificados de acordo com os seus espectros de massas, os quais foram comparados com os da base de dados NIST MS. Além do comparativo com a biblioteca, foi realizado o cálculo do índice de retenção de Kovats (Adams, 2017). Para o cálculo desse índice foi necessária à injeção de uma solução padrão de *n*-alcanos saturados de C<sub>7</sub> a C<sub>30</sub> e desta forma, os tempos de retenção foram a base dos cálculos do índice de Kovats dos componentes dos óleos essenciais.

### **3.4 Atividade antifúngica**

Os microrganismos utilizados para o teste de atividade antifúngica foram: *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Os patógenos foram reativados nos meios de cultura Sabouraud. Uma vez que os patógenos estavam liofilizados, estes foram reativados por suspensão em tubos de ensaios e cultivados em BOD por 24 h a 37 °C. Em seguida, as amostras foram preparadas na concentração inicial de 2 mg/mL e solubilizadas em 10 % de DMSO. Na sequência, para os testes foram colocados 100 µL de meio de cultura, 100 µL da solução de cada amostra teste e por fim 10 µL da suspensão de células do patógeno. Diluições seriadas foram empregadas para serem

testadas diferentes concentrações dos óleos essenciais. Como controle positivo foi utilizado o antifúngico nistatina (1 mg/mL). Com o preenchimento das placas, estas foram incubadas em BOD à 37 °C por 24 h. Após este período foi adicionado o agente revelador cloreto de tetrazólio-nitrozul (NBT) a 1 %. Após 24 h foram realizadas as análises qualitativas da formação de coloração para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

### 3.5 Atividade antibacteriana

As linhagens bacterianas utilizadas pertencem à bacterioteca da Plataforma de Bioensaios Biotecnológicos (RPT11H), do Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD) – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Manaus-AM, Brazil. Para a avaliação da atividade inibitória de bactérias Gram-negativas foram utilizadas linhagens de *Citrobacter freundii* (ATCC 43864-576), *Escherichia coli* de aderência difusa DAEC (BUTANTÃ F1845), *Escherichia coli* enterotoxigênica ETEC (BUTANTÃ LT 2871), *Escherichia coli* enteroinvasiva EIEC (ATCC 1381), *Escherichia coli* não diarreicogênica (ATCC 10536), *Hafnia alvei* (ATCC 11601-120), *Proteus mirabilis* (ATCC 15290-095), *Pseudomonas putida* (oralis) (ATCC 15175-113), *Salmonella choleraesuis* (ATCC 10708), *Salmonella typhi* (ATCC 6539), *Serratia marcescens* (ATCC 14756-131), *Shigella dysenteriae* (ATCC 13313), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) e *Yersinia enterocolitica* (ATCC 9610). As linhagens Gram-positivas testadas foram: *Bacillus subtilis* (ATCC 6051), (ATCC 15313), *Staphylococcus aureus* (ATCC80958), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (ATCC 33591), *Staphylococcus simulans* (ATCC 27851).

Para o ensaio foi escolhida a metodologia de difusão em ágar, pela técnica do poço, segundo Grove e Randall (1955), com modificações. As amostras testadas foram solubilizadas em DMSO 10% na concentração de 500 µg/mL. Utilizou-se o meio de cultura ágar Müeller Hinton (AMH). Como controle positivo foram utilizadas a droga tienam (imipenem + cilastatina sódica) na concentração de 500 µg/mL. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, e então foi adicionada às placas uma solução de corante de cloreto de trifênil tetrazólio (CTT) a 0,01% acrescido de 0,1% de ágar bacteriológico com uma incubação de 30 minutos. Após a conversão de coloração na sobrecamada foi realizada a medição dos halos de inibição.

### **3.6 Ensaios de citotoxicidade**

#### **3.6.1 Preparo das amostras**

As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril na concentração de 10 mg/mL. Após sucessivas diluições, as amostras foram testadas em concentrações que variaram de 0,19-50 µg/mL.

#### **3.6.2 Cultura das células**

Foram utilizadas células MCF7 (carcinoma de mama humano), HCT116 (carcinoma de cólon humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) e HL-60 (leucemia promielocítica humana) obtidas da ATCC (American Type Culture Collection). As células foram cultivadas em garrafas para cultura de células (75 cm<sup>3</sup>, 250 mL). Os meios utilizados foram RPMI 1640 e suplementados com 10% de soro bovino fetal. As células foram mantidas em incubadoras com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C. Diariamente acompanhava-se o crescimento celular com a utilização de microscópio de inversão. O meio foi trocado sempre que o crescimento celular atingia confluência necessária para renovação de nutrientes. Para a manutenção de células aderidas utilizou-se tripsina (0,25%) para que as células se despregassem das paredes das garrafas. As culturas de células apresentavam negativas para microplasma, conforme avaliado pela colocação com Hoechst (Mycoplasma Stain Kit, Cat. MYC1, Sigma-Aldrich).

#### **3.6.3 Teste de citotoxicidade**

Para avaliar a citotoxicidade das substâncias, o ensaio de Alamar blue foi realizado após 72 horas de exposição com as substâncias teste. O Alamar blue, identificado como resazurina (O'BRIEN et al., 2000), é um indicador fluorescente/colorimétrico com propriedades redox. A forma oxidada é azul (não fluorescente/célula não viável) e a forma reduzida é rosa (fluorescente/célula viável). A redução do corante reflete a proliferação celular. Este foi inicialmente utilizado para

indicar crescimento e/ou viabilidade celular no monitoramento de proliferação de linfócitos (AHMED et al.,1994) e atualmente apresenta várias aplicações.

Inicialmente, as células foram plaqueadas em placas de 96 cavidades (100 µL/poço de uma solução de  $0,3 \times 10^6$  células/mL para células em suspensão e  $0,7 \times 10^5$  células/mL para células aderidas). Após 24 horas de incubação, as substâncias testes dissolvidas em DMSO foram adicionadas em cada poço e incubadas por 72 horas. A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO. Quatro horas (vinte e quatro horas para o PBMC) antes do final do período de incubação, 20 µL da solução estoque (0,312 mg/mL) de resazurina foram adicionados a cada poço. As absorbâncias foram mensuradas nos comprimentos de onda de 570 nm (reduzido) e 595 nm (oxidado) utilizando uma leitora de placa (AHMED *et al.*, 1994). A porcentagem de inibição foi calculada e registrada a porcentagem de inibição x log da concentração e determinado suas IC<sub>50</sub> realizado a partir de regressão não-linear utilizando o programa Prisma versão 5.0 (GraphPad Software).

### **3.7 Testes antioxidantes e enzimáticos**

#### **3.7.1 Atividade sequestrante do Radical DPPH**

A atividade sequestrante do radical DPPH foi realizada segundo metodologia utilizada por Burits e Bucar (2000) com modificações para possibilitar que o teste fosse realizado em microplacas de 96 poços. Foi preparada uma solução de 0,05 µg/mL de DPPH em etanol, 30 µL do extrato, padrão e/ou controle (DMSO) na concentração de 1 mg/mL foram adicionados a cada um dos poços da microplaca e colocadas em contato com a solução de DPPH. A placa foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente no escuro e a leitura foi realizada em 492 nm no espectrofotômetro com leitor de microplacas.

Os cálculos de porcentual de inibição (inibição %) foram realizados baseando-se na absorbância do controle e utilizando o programa Excel. Quando o porcentual de inibição foi maior a 50%, foram realizadas até 8 diluições consecutivas para obtenção dos valores de metade da concentração inibitória máxima (CI<sub>50</sub>), calculados pelo programa GraphPad Prism versão 6.0. O padrão positivo utilizado foi o ácido gálico.

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{Absa} / \text{AbsC}] \times 100.$$

Absa=Absorbância da Amostra e Absc=Absorbância do controle

### **3.7.2 Atividade sequestrante do radical ABTS**

A fim de determinar a atividade antirradicalar do ABTS, foi preparada a solução de ABTS a 0,7 mM em 5 mL de água deionizada e 5 mL de persulfato de potássio 2,4 mM. Em seguida, incubou-se a mistura reacional em temperatura ambiente na ausência de luz por 12 horas para obtenção de uma solução oxidada de tonalidade azul esverdeada. Antes de plaquear, o ABTS oxidado foi diluído (1:5) com água deionizada. Após o plaqueamento, incubou-se todo o conteúdo por 15 minutos na ausência de luz e à temperatura ambiente. Em seguida, realizou-se a leitura no leitor de microplacas a 620 nm. Os resultados foram expressos em percentual de inibição e a  $CI_{50}$  foi calculada através do programa GraphPad Prism versão 6.0. O padrão positivo utilizado foi o ácido gálico. A metodologia utilizada seguiu Santhy & Mohanan (2017)

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{Absa} / \text{AbsC}] \times 100.$$

### **3.7.3 Atividade inibidora $\alpha$ -glucosidase**

A atividade enzimática foi determinada de acordo com Andrade-Ceto et al., (2008) com ligeiras modificações. Tanto o substrato 4-nitrofenil-D-glucopiranosídeo (4-NPGP) como a enzima foram diluídos em tampão fosfato 10 mM pH 6,9. Em seguida, colocou-se 30  $\mu$ L do extrato, padrão e/ou controle (DMSO) na concentração de 1 mg/mL nos diferentes poços da microplaca em triplicata, 170  $\mu$ L da enzima (0,08  $\mu$ g/mL) e incubou-se por 5 minutos a 37 °C no escuro. Logo após, adicionou-se 100  $\mu$ L de 4-NPGP e incubou-se por 20 minutos com posterior leitura do controle a 405 nm. Os resultados foram expressos em porcentual de inibição e o  $CI_{50}$  calculado através do programa GraphPad Prism versão 6.0. O padrão positivo utilizado foi a arcabose.

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{AbsA} / \text{AbsC}] \times 100$$

### **3.7.4 Atividade inibitória da lipase**

A atividade enzimática foi determinada de acordo com Slanc et al., (2009) com modificações. A lipase pancreática tipo II de porco foi diluída em tampão Tris-HCL 75mM e pH 8,5. Para preparar o substrato 4-nitrofenilpalmitato (PNP) diluiu-se primeiro em acetonitrila e depois em etanol na proporção de 1:4, v/v. O padrão positivo usado foi o orlistat. Em seguida, adicionou-se 30 µL do extrato, padrão e/ou controle negativo (DMSO) nos diferentes poços da microplaca em triplicata mais 250 µL da enzima (0,8 mg/mL) e incubou-se por 5 minutos a 37 °C no escuro. Logo após, adicionou-se 20 µL de PNP (4 mg/mL) e incubou-se novamente por 10 minutos. Os cálculos do percentual de inibição foram realizados e as amostras que apresentaram uma inibição maior de 50% foram diluídas em concentrações seriadas para determinação da  $CI_{50}$ .

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{AbsA} / \text{AbsC}] \times 100$$

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Análise química dos óleos

No total, foram extraídos e analisados 6 óleos essenciais, cuja as identificações constam na tabela 1, e a composição química encontra-se na tabela 2, a constituição dos óleos na sua grande maioria é de mono e sesquiterpenos.

O composto que foi identificado com maior frequência foi o limoneno, estando ausente apenas em 1 dos óleos analisados, seguido de mirceno que foi identificado em 4 óleos.

**Tabela 2-** Composição química dos óleos

RI	COMPOSTO	E1	E2	E3	E4	E8	E24
896	ciclofencheno	-	-	0,53	-	-	-
923	artemisia triene	-	-	0,62	-	-	-
924	α-tujeno	0,09	0,21	-	-	-	-
932	α-pineno	1	-	-	1,24	-	1,4
969	sabineno	0,18	1,18	-	-	-	9,89
974	β-pineno	2,38	-	0,09	0,61	-	-
977	vinil amil carbinol	-	0,87	-	-	0,18	-
984	β-mirceno	0,59	-	-	-	-	-
988	mirceno	0,59	-	-	0,11	0,25	0,97

988	octan-3-ol	0,13	-	-	-	1,04	-
995	2-careno	-	-	-	0,78	-	-
1002	$\alpha$ -felandreno	-	9,4	-	-	-	-
1014	$\alpha$ -terpineno	0,27	-	-	-	-	-
1020	p-cimeno	0,34	-	-	-	-	6,2
1024	limoneno	4,14	-	0,34	1,03	1,05	45,27
1026	1,8-cineol	7,44	-	-	-	-	-
1032	$\beta$ -ocimeno <Z>	-	0,54	-	-	-	-
1034	álcool santolina	-	-	0,67	-	-	-
1044	$\beta$ -ocimeno <E>	-	-	0,37	-	-	-
1054	$\gamma$ -terpineno	1,31	-	-	-	-	11,06
1082	m-cimeno	-	6,04	-	-	-	-
1083	fenchone	1,98	-	-	-	-	-
1086	terpinenoleno	-	-	0,65	-	-	0,6
1095	linalol	0,4	-	-	-	0,54	1,36
1098	hidrato trans-sabineno	0,2	-	-	-	-	-
1114	fenchol	9,74	-	-	-	-	-
1124	crisantenona	0,14	-	-	-	-	-
1126	etanona, 1- (1,4-dimetil-3-ciclohexen-1-il)	-	-	2,11	-	-	-
1141	cânfora	2,86	-	-	-	-	-
1158	iso-mentona	-	-	-	-	5,04	-
1165	borneol	2,19	-	-	-	-	-
1167	mentol	-	-	-	-	87,73	-
1174	Terpinen-4-ol	-	-	-	-	-	1,78
1186	$\alpha$ -terpineol	0,48	-	-	-	-	2,79
1198	terpineol	0,49	-	-	-	-	-
1223	citronelol	-	-	-	-	-	2,07
1233	metil timol	-	62,39	-	-	-	-
1235	neral	-	-	-	-	-	3,1
1249	geraniol	-	-	-	-	-	1,32
1271	formato de citronelila	-	-	-	-	-	3,84
1273	isogeraniol	-	-	0,86	-	-	-
1298	carvacrol	-	15,99	-	-	-	-
1345	$\alpha$ -cubebeno	-	-	-	0,42	-	-
1359	acetato de nerol	-	-	-	-	-	2,14

1373	$\alpha$ -ylangeno	1,17	-	-	-	-	-
1374	$\alpha$ -copaeno	-	-	4,18	5,18	-	-
1389	$\beta$ -elemeno	1,79	-	4,82	9,77	-	-
1403	aristoleno	-	-	22,95	-	-	-
1403	metil eugenol	-	-	-	0,4	-	-
1409	$\alpha$ -gurjuneno	-	-	11,77	0,91	-	-
1417	$\beta$ -cariofileno	8,48	-	-	1,75	-	1,39
1429	widreno	-	-	-	0,64	-	-
1432	$\alpha$ -bergamoteno <E>	0,92	2,56	-	-	-	1,99
1434	$\gamma$ -elemeno	-	-	-	2,8	-	-
1437	1H-Ciclopropa [a] naftaleno, 1a, 2,3,5,6,7,7a, 7b-	-	-	0,43	-	-	-
1452	$\alpha$ -humuleno	-	-	-	0,9	-	-
1458	allo-aromadendreno	8,38	-	-	1,41	-	-
1475	$\gamma$ -gurjuneno	-	-	2,02	-	-	-
1478	$\gamma$ -muuroleno	-	-	-	1,12	-	-
1483	$\alpha$ -amorfenol	-	-	1	1,53	-	-
1484	germacreno D	5,64	-	7,05	7,46	-	-
1489	$\beta$ -selineno	0,22	-	-	1,71	-	-
1465	cadina-1,4-dieno	-	-	-	0,58	-	-
1496	ledeno	-	-	0,58	0,97	-	-
1496	valenceno	-	-	12,22	-	-	-
1488	epóxido de $\beta$ -ionona	-	-	0,42	-	-	-
1500	$\alpha$ -muuroleno	-	-	0,89	1,96	-	-
1500	biciclogermacreno	22,12	-	4,57	8,39	-	-
1505	$\alpha$ -farnenseno	-	-	-	15,14	-	-
1505	$\beta$ -bisaboleno	-	-	-	-	-	2,83
1508	germacreno A	-	-	1,8	-	-	-
1509	$\alpha$ -bulneseno	-	-	5,58	1,22	-	-
1513	$\gamma$ -cadineno	1,03	-	-	0,02	-	-
1522	$\delta$ -cadineno	-	-	-	5,86	-	-
1528	$\alpha$ -buorboreno	1,17	-	-	-	-	-
1537	$\alpha$ -cadineno	-	-	0,31	-	-	-
1548	elemol	-	-	-	0,3	-	-
1555	elemecina	-	-	-	4,95	-	-
1559	germacreno B	1,67	-	1,41	0,86	-	-

1564	epiglobulol	-	-	-	2,61	-	-
1577	espatulenol	1,74	-	1,49	3,15	-	-
1582	óxido de cariofileno	1,07	-	0,29	0,95	-	-
1590	globulol	1,49	-	1,25	-	-	-
1592	viridiflorol	-	-	2,89	-	-	-
1602	ledol	2,05	-	-	-	-	-
1640	tau-muurolol	-	-	-	1,74	-	-
1644	$\alpha$ -muurolol	-	-	-	0,8	-	-
1649	$\beta$ -eudesmol	-	-	-	0,57	-	-
1652	$\alpha$ -cadinol	-	-	-	2,85	-	-
1720	<E> bergamota-2,12-dien-14-ol	0,31	-	-	-	-	-
1745	$\gamma$ -costol	-	-	0,26	-	-	-
1755	$\alpha$ -sinensal	0,41	-	-	-	-	-
1765	$\beta$ -costol	0,36	-	0,33	-	-	-
1898	rimueno	0,64	-	-	-	-	-
n.c	$\gamma$ -epoxi-elemeno	0,43	-	-	-	-	-
n.c	4-iodobis(bicyclo[2.2.1]hexano	0,46	-	-	-	-	-
n.c	1,5,9,11- tridecatrieno, 12 metil	1,21	-	-	-	-	-
n.c	-metileno-2-hidróxido-bicyclo[2.2.2]	-	0,26	-	-	-	-
n.c	copaeno	-	-	2,14	-	-	-
n.c	3,9- dodecadieno	-	-	0,6	-	-	-
n.c	1,2-diazetidina-3-ona	-	-	0,24	-	-	-
n.c	biciclo heptil	-	-	0,35	-	-	-
n.c	ledano	-	-	-	0,79	-	-
n.c	ciclo hexanol-3,4-dimetil	-	-	-	-	0,33	-
<b>Total identificado (%)</b>		<b>99,7</b>	<b>99,44</b>	<b>98,08</b>	<b>93,48</b>	<b>96,16</b>	<b>100</b>

RI: Índice de retenção de Kovats; n.c: não calculado

No óleo essencial de E1, foram identificados 43 compostos, sendo constituído majoritariamente por biciclogermacreno (22,12%), fenchol (9,74%) e 1,8 cineol (7,44%), o cromatograma encontra-se ilustrado na figura 2.

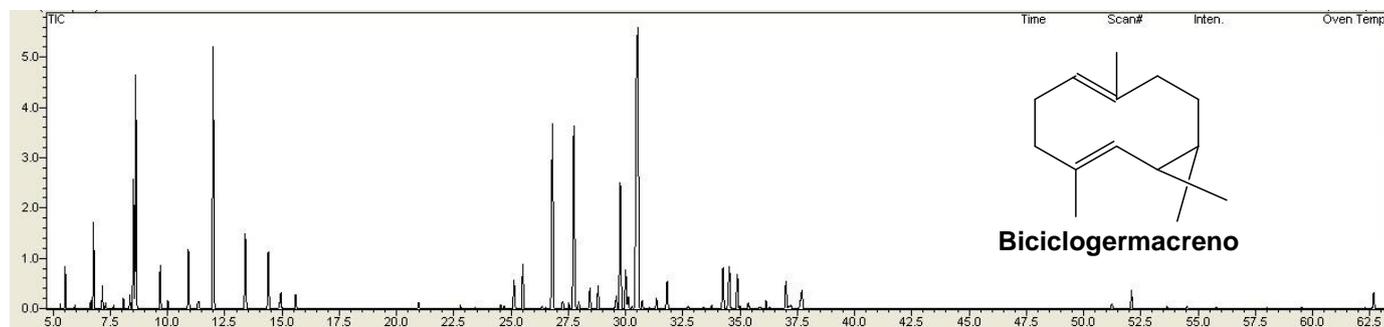


Figura 2- Cromatograma E1

Biciclogermacreno e fenchol são compostos relacionados a atividades antimicrobianas. (Silva et al., 2007; Alcântara et al., 2014). Ribeiro et al (2012) identificaram 1,8-cineol como um dos compostos majoritários do óleo de alecrim e este apresentou eficácia no controle de bactérias patogênicas.

Em E2, foram identificados 10 compostos, dentre eles os majoritários foram metil timol (62,39%), carvacrol (15,99%) e  $\alpha$ -felandreno (9,4%), Costa et al (2010) também analisaram a composição química do óleo essencial da pataqueira e identificaram entre os compostos majoritários o metil timol e  $\alpha$ -felandreno. O composto timol além de apresentar efetividade contra formas amastigotas de *Trypanossoma cruzi* também apresenta atividade anti-inflamatória (Escobar et al.,2010; Riela et al., 2012).

O carvacrol e  $\alpha$ -felandreno também apresentam atividades anti-inflamatórias, além disso carvacrol apresenta eficácia antifúngica (Lima et al., 2013; Siqueira et al., 2016; Abbaszadeh et al., 2014). O cromatograma de E2, encontra-se na figura 3.

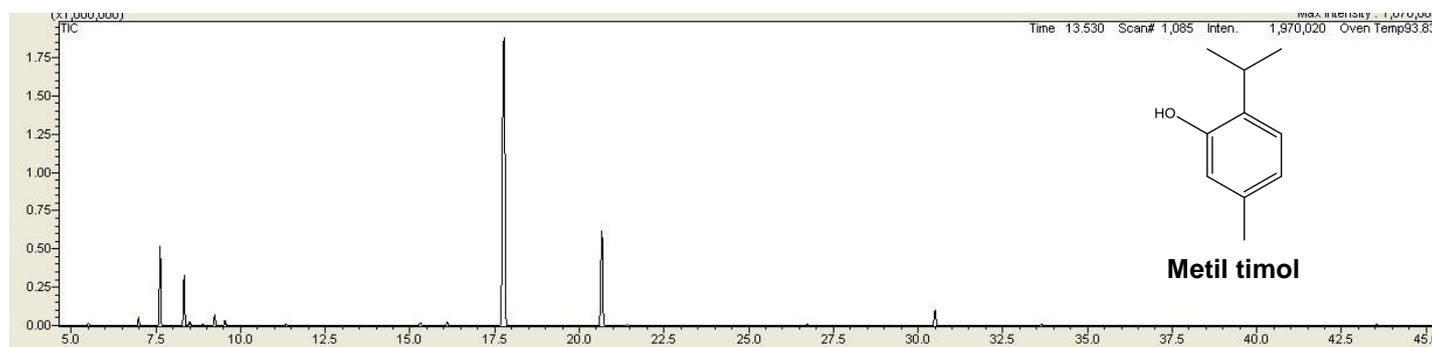


Figura 3- Cromatograma E2

Em E3 foram identificados 36 compostos, dentre os majoritários encontram-se aristoleno (22,95%), valenceno (12,22%) e  $\alpha$ -gurjuneno (11,77%). Soares e Fabri (2010) identificaram aristoleno como um dos compostos majoritários presentes em

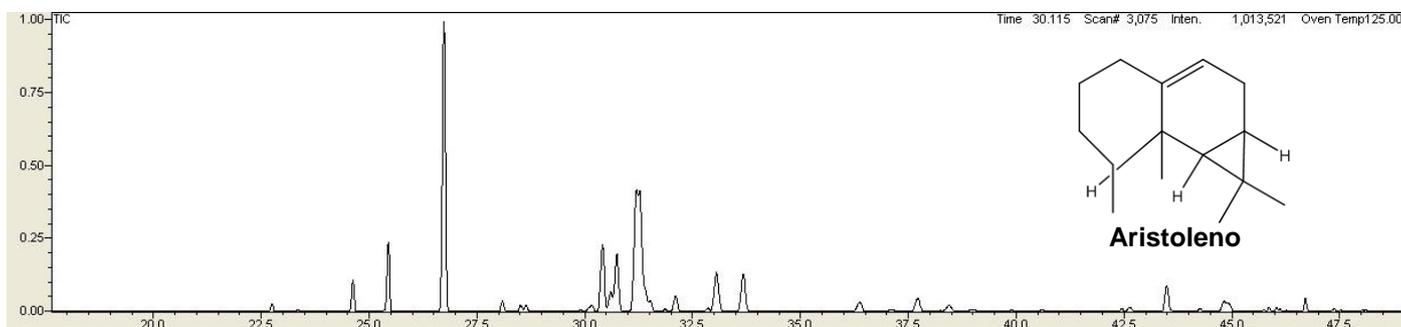


Figura 4- Cromatograma E3

*Eremanthus erythropappus* e esta apresentou significativa atividade antioxidante. O valenceno é comumente encontrado em óleos de cítricos como um dos compostos majoritários, também foi identificado em grande quantidade no óleo de *Lantana camara* que apresentou significativa atividade antibacteriana (Felipe e Bicas, 2017; Costa et al., 2009). O composto  $\alpha$ -gurjuneno foi identificado com um dos compostos majoritários do óleo de agarwood e este apresentou efeitos sedativos em camundongos (Takaemoto et al., 2008).

Em E4 foram identificados 38 compostos, entre eles, os majoritários foram  $\alpha$ -farneseno (15,14%),  $\beta$ -elemeno (9,77%) e biciclogermacreno (8,39%). O composto  $\alpha$ -farneseno tem sido identificado como um dos constituintes majoritários de óleos de outras espécies vegetais, dentre elas, *Chamomilla recutita* (Bosato et al., 2008). Rodrigues et al., (2008) identificaram o composto  $\beta$ -elemeno como um dos principais constituintes do óleo de *Hyptis suaveolens* que apresenta efeito alelopático sobre germinação de alguns vegetais. O cromatograma de E4 encontra-se ilustrado na figura 5

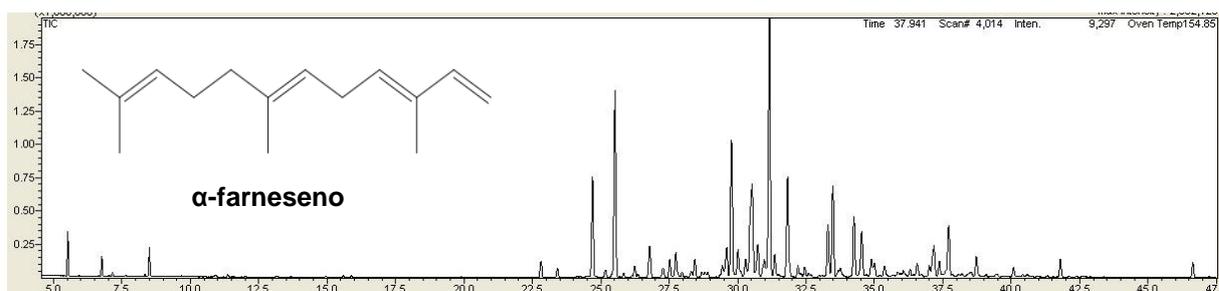
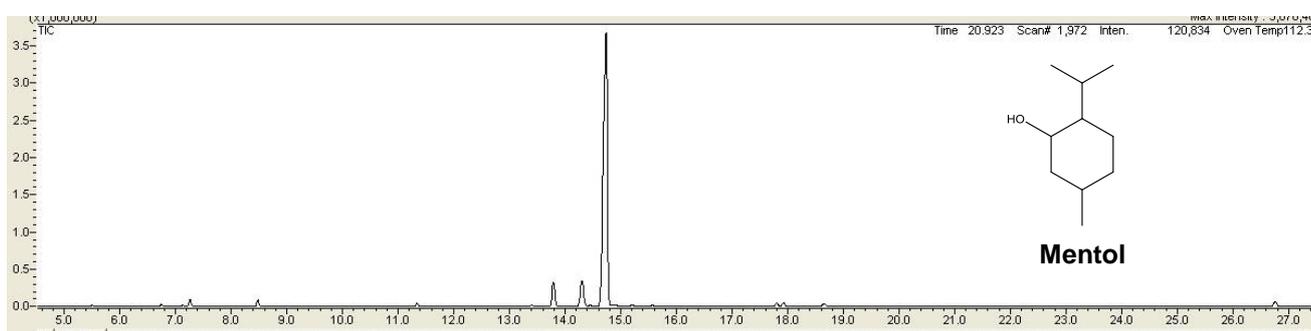


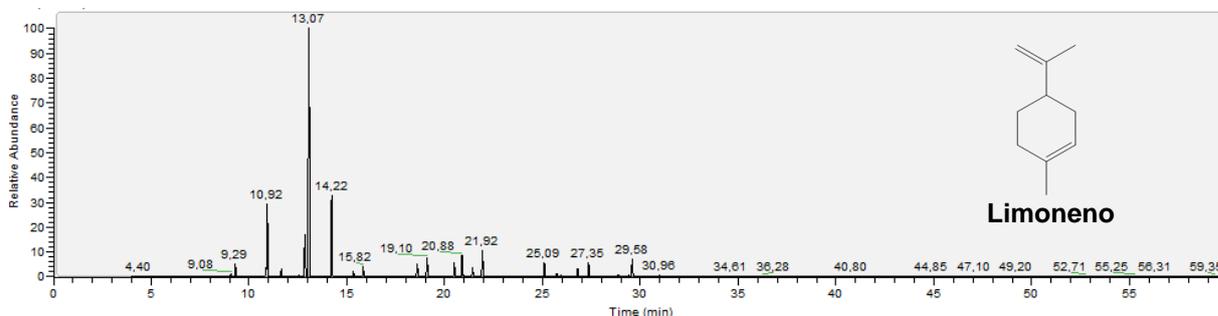
Figura 5- Cromatograma E4

Em E8 foram identificados 9 compostos, dentre eles, os majoritários foram mentol (81,52%), D-mentol (6,21%) e iso-mentona (5,04%). Estes resultados corroboram com a literatura, onde outros autores também identificaram o mentol e iso-mentona como principais constituintes do óleo de Hortelã-vick, além do mais esta espécie é bastante utilizada na medicina popular para diversos tratamentos, tais como dor de barriga gripe, tosse, febre, verme, calmante, enjoo dor de estômago, úlcera (Costa et al., 2009; Chagas et al., 2013; Mayworm e Costa, 2011). O cromatograma de E8 encontra-se ilustrado na figura 6



**Figura 6-** Cromatograma E8

Em E24, foram identificados 18 compostos, dentre eles, os majoritários foram limoneno (45,27%),  $\gamma$ -terpineno (11,06%) e sabineno (9,89%). Casanova et al (2002) também obtiveram resultados semelhantes usando a mesma espécie e mesma parte da planta, segundo Bizzo et al (2009) óleo de *Citrus aurantifolia* é um dos mais comercializados no mundo, sendo uma importante fonte de renda para os países produtores, o cromatograma de E24, encontra-se ilustrado na figura 7



**Figura 7-** Cromatograma E24

## 4.2 Atividade antimicrobiana

Os óleos obtidos foram avaliados quanto a sua atividade antimicrobiana, frente a diversas cepas de bactérias e fungo, os microrganismos testados estão listados na tabela 3

**Tabela 3-** Microrganismos testados

Microrganismo testado	C+	E1	E2	E3	E4	E8	E24
<i>Citrobacter freundii</i> (ATCC 43864-576)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Escherichia coli</i> DAEC (BUTANTÃ F1845)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Escherichia coli</i> ETEC (BUTANTÃ LT 2871)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Escherichia coli</i> EIEC (ATCC 1381)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Hafnia alvei</i> (ATCC 11601-120)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Salmonella choleraesuis</i> (ATCC 10708)	30 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Shigella dysenteriae</i> (ATCC 13313)	33 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Shigella flexneri</i> (ATCC 12022)	35 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6051, (ATCC 15313)	38 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 80958)	36 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Staphylococcus aureus</i> (SARM) (ATCC 33591)	37 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Staphylococcus simulans</i> (ATCC 27851)	38 ± 0.57	n.a	n.a	n.a	n.a	n.t	n.t
<i>Candida albicans</i> (CC 001)	2 mg/mL	n.a	(++)	(++)	(++)	n.t	(++)

**Controle positivo** (c+): tienam (bactérias) e nistatina (fungos); **n.a**= não apresentou atividade; **n.t**= não testado; **++** = fungicida

Em nenhum dos óleos foi atestada atividade antibacteriana, entretanto, E2, E3, E4 e E24 apresentaram atividade fungicida efetiva frente a *C. albicans*. A atividade de E2, pode estar relacionado ao fato dos seus componentes majoritários timol e carvacrol apresentarem atividade antifúngica comprovada. (Costa, 2017).

E3 e E4 se tratam da mesma espécie, o que as diferencia é a parte vegetal utilizada, Lopes et al (1999) avaliaram o extrato da raiz de Ucuuba demonstrando que este também apresentou significativa atividade antifúngica.

Os resultados obtidos com E24 são semelhantes aos obtidos por Castro e Lima (2011) que avaliaram atividade anti-*Candida* do óleo essencial de *Citrus aurantifolia*, utilizando a mesma parte vegetal (casca) utilizada neste trabalho e verificaram que o mesmo chegou a inibir 100% das cepas ensaiadas. Lima et al (2006) realizaram um ensaio com óleos essenciais de *Citrus* sp. e demonstraram que o óleo inibiu 42% das cepas de *C. albicans* testadas. Reforçando os resultados obtidos neste trabalho. O óleo obtido em outra espécie do mesmo gênero apresentou atividade antifúngica frente a fungos fitopatogênicos (Chutia et al., 2009)

### 4.3 Atividade citotóxica

Os resultados dos testes citotóxicos estão expressos na tabela 4, dentre os 6 óleos avaliados, 4 apresentaram atividades citotóxicas promissoras.

**Tabela 4-** Resultados citotóxicos

Amostras	MCF7	HCT116	HepG2	HL-60
E1	32,46 20,70 – 50,91	>50	14,89 11,29 – 18,29	21,61 16,33 – 28,59
E2	45,52 31,61 – 65,57	13,50 5,14 – 35,47	>50	>50
E3	15,88 11,89 – 21,20	9,41 5,63 – 15,75	16,93 8,69 – 32,99	20,64 16,00 – 26,63
E4	21,39 8,91 – 51,36	26,70 12,92 – 36,93	7,07 1,55 – 32,22	22,76 17,77 – 29,15
<b>DOX</b>	0,28 0,20 – 0,39	0,13 0,08 – 0,21	0,03 0,01 – 0,19	0,04 0,02 – 0,08

A tabela apresenta os valores de IC<sub>50</sub> (concentração inibitória média) e o respectivo intervalo de confiança de 95% obtido a partir de três experimentos independentes realizados em duplicata pelo método do Alamar blue após 72 horas de exposição com as células MCF7 (carcinoma de mama humano), HCT116 (carcinoma de cólon humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) e HL-60 (leucemia promielocítica humana) obtidos por regressão não-linear através do programa GraphPad Prisma versão 5.0. Doxorrubicina (DOX) foi usada como controle positivo.

De acordo com o programa de triagem de drogas citotóxicas do laboratório onde os testes foram realizados, extratos com valores de IC<sub>50</sub> < 30 µg/mL e compostos puros com IC<sub>50</sub> < 4 µg/mL são considerados promissores.

A citotoxicidade dos óleos pode estar relacionada aos seus constituintes majoritários, Costa et al. (2017) avaliaram o potencial carcinogênico de compostos obtidos do óleo de *C. scoparioides* e constataram que o composto  $\alpha$ -felandreno, um dos compostos majoritários do óleo apresentou alto potencial carcinogênico.

Denny (2006) avaliou o efeito citotóxico do extrato bruto de *Virola sebifera* frente a célula MCF7 e constatou que o mesmo demonstrou efeito significativo frente a linhagem testada.

#### 4.4 Testes antioxidantes e enzimáticos

##### 4.4.1 Atividade sequestrante de DPPH

Os resultados referentes ao teste de DPPH estão expressos na tabela 5, pelos resultados expressos, é possível notar que não houve atividade antioxidante em nenhuma das amostras testadas. Rebelo et al (2009) avaliaram a atividade antioxidante do óleo de E2 e este se mostrou resultados promissores. Segundo Nascimento et al (2011) este tipo de atividade está relacionado com a presença de flavonoides.

**Tabela 5-** Atividade sequestrante DPPH

<b>DPPH</b>		
<b>% inibição</b>		
<b>Amostras</b>	<b>Média</b>	<b>Desvpad</b>
<b>E1</b>	4,01	1,82
<b>E2</b>	8,47	1,19
<b>E3</b>	0,51	4,94
<b>E4</b>	1,05	2,73
<b>E8</b>	0,47	0,65
<b>E24</b>	n.t	n.t
<b>Ac Gálico</b>	86,22	0,08

n.t= não testado

##### 4.4.2 Atividade sequestrante de ABTS

Os resultados referentes ao teste antioxidante utilizando o método ABTS estão expressos na tabela 6, entretanto nenhuma das amostras apresentou atividade antioxidante com o método utilizado. De acordo com Guimarães et al (2011) o método aplicado para realização dos testes pode implicar em variância dos resultados, em seu trabalho foi utilizado dois métodos diferentes para avaliação da atividade antioxidante e em um dos métodos a amostra apresentou baixa atividade e no outro apresentou atividade significativa.

**Tabela 6-** Atividade antisequestrante de ABTS

<b>ABTS</b>		
<b>% inibição</b>		
<b>Amostras</b>	<b>Média</b>	<b>Desvpad</b>
<b>E1</b>	21,47	1,66
<b>E2</b>	49,64	1,97
<b>E3</b>	20,04	1,34
<b>E4</b>	11,10	2,06
<b>E8</b>	5,23	2,11
<b>E24</b>	n.t	n,t
<b>Controle</b>	93,74	1,46

n.t= não testado

Vale ressaltar que embora nenhuma das amostras testadas tenham apresentando atividade antioxidante, esta já foi comprovada em diversos outros estudos de espécies diferentes, tais como: *Eugenia caryophyllata*, *Cymbopogon citratus*, *Eugenia uniflora*. (Silvestri et al., 2010; Oliveira et al., 2011).

#### **4.4.3 Atividade inibidora de $\alpha$ -glucosidase**

Os resultados referentes ao teste de  $\alpha$ -glicosidase estão expressos na tabela 7, nenhuma das amostras testadas se mostrou eficaz frente a inibição da enzima testada.

**Tabela 7-** Atividade inibidora de  $\alpha$ -glicosidase

<b><math>\alpha</math>-glucosidase</b>	
<b>% inibição</b>	

<b>Amostras</b>	<b>Média</b>	<b>Desvpad</b>
<b>E1</b>	4,18	0,80
<b>E2</b>	6,10	1,33
<b>E3</b>	8,17	0,88
<b>E4</b>	8,21	2,17
<b>E8</b>	10,15	0,64
<b>E24</b>	n.t	n.t
<b>Arcabose</b>	65,30	0,61

n.t= não testado

#### 4.4.4 Atividade inibitória de lipase

Os resultados referentes ao teste de lipase estão expressos na tabela 8, as amostras E1, E3 e E4 apresentaram resultados promissores para o teste. Para as amostras que apresentaram % inibição acima de 50, foi realizado o cálculo da CI<sub>50</sub>.

**Tabela 8-** Atividade inibitória de lipase

<b>Amostras</b>	<b>Lipase</b>			
	<b>% inibição</b>		<b>CI50 ug/mL</b>	
	<b>Média</b>	<b>Desvpad</b>	<b>Média</b>	<b>Desvpad</b>
<b>E1</b>	77,96	3,25	32,11	1,09
<b>E2</b>	23,01	2,97	n.c	n.c
<b>E3</b>	79,70	5,45	55,17	1,70
<b>E4</b>	55,62	11,96	99,6	2,5
<b>E8</b>	11,69	2,35	n.c	n.c
<b>E24</b>	n.t	n.t	n.t	n.t
<b>orlistat</b>	93,24	1,14	0,028	0,001

n.t= não testado; n.c= não calculada

A atividade inibitória de lipase está relacionada a presença de moléculas de diversas classes, dentre elas, saponinas, polifenóis e terpenos, além da presença de compostos fenólicos (Birari e Bhutani, 2007; Quiroga, 2013). Tendo em vista que a classe dos terpenos é bem presente na composição química dos óleos essenciais, é provável que o resultado obtido seja em função da presença dessa classe de compostos em sua composição.

Uma das espécies que apresenta atividade anti-lipase comprovada de seu óleo essencial é a *Origanum vulgare*, que apresentou IC<sub>50</sub> de 5,09 no teste realizado. O extrato das folhas de *Cynometra cauliflora*, também apresentou efeitos significativos de atividade inibitória superior a 80% (Quiroga et al., 2013; Ado et al., 2013).

O extrato das cascas de romã e o óleo essencial das folhas *Juniperus phoenicea* apresentaram considerável redução da atividade de lipase (Hadrich et al., 2014; Keskes et al., 2014).

## 5. Conclusões

A análise química por GC-MS permitiu identificar os compostos presentes em cada amostra dos óleos avaliada, muitos dos compostos majoritários identificados nos óleos aparecem na literatura relacionados a algum tipo de atividade biológica. Das 6 amostras em que foram realizados testes citotóxicos, 4 apresentaram efeitos promissores, sendo elas: São-João-kaá, Pataqueira e Ucuuba (casca e folha), essa atividade pode estar relacionada aos compostos majoritários de cada óleo.

A análise antimicrobiana detectou atividade fungicida frente à *Candida albicans* através dos óleos essenciais da Pataqueira, Ucuuba (casca e folha) e Limão-Tahiti. De todos os testes enzimáticos realizados, foi atestada apenas a atividade anti-lipase dos óleos de São-João-kaá e Ucuuba (casca e folha).

De todos os óleos analisados, apenas o óleo de Hortelã-vick não apresentou nenhuma atividade frente aos testes realizados. Os óleos de Ucuuba tanto da casca, quanto da folha foram os que apresentaram maior número de atividades, sendo elas, fungicida, citotóxica e enzimática.

Os resultados obtidos sugerem que os óleos essenciais das amostras testadas apresentam compostos biologicamente ativos de importância e que podem servir como base para novos estudos.

## 6. Referências

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry**. 4 ed, 2017

ADO, M.; AB, F., MOHAMMED, A.; GHAZALI, H. Anti- and pro-lipase activity of selected medicinal, herbal and aquatic plants, and structure elucidation of an anti-lipase compound. **Molecules**, v.18, n.12, p. 14651-14669, 2013.

AHMED, S.A.; GOGAL, R.M.; WALSH, J.E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [3H] thymidine incorporation assay. **Journal of Immunological Methods**. v.170, p.211 - 224, 1994.

ALCÂNTARA, J.M.; CAVALCANTE, J.S.; VASCONCELOS, M.C.; LUCENA, J. M. V. M.; NASCIMENTO, C.C.; MARQUES, M. O. M; LIMAS, M.P Atividade citotóxica e antimicrobiana dos óleos essenciais dos resíduos madeireiros de *Licaria aritu* ducke I **Encontro de química do norte – sbq norte**, 2014.

ALMEIDA, M. R.; MARTINEZ, S. T.; PINTO, A. C. Química de produtos naturais: Plantas que testemunham histórias. **Revista Virtual de Química**. v. 9, n.3, p. 1117-1153, 2017.

ANDRADE, C. A.; BECERRA, J. J.; CÁRDENAS, V. R. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 1, p. 27-32, 2008.

ARAÚJO, I.S. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no estado do Pará**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2011. Disponível em:< [http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/mestrado/2009/isabella\\_santos\\_araujo-dissertacao.pdf](http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/mestrado/2009/isabella_santos_araujo-dissertacao.pdf) > Acesso em: 01 out. 2018.

BIRARI, R.B; BHUTANI, K.K. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. **Drug discovery today**, v.12, n. 19, p. 887-889, 2007.

BIZZO, Humberto R., HOVELL, Ana Maria C., REZENDE, Claudia M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Revista Química Nova**. v. 32, n.3, 2009.

BOSATO, A.V FILHO, L.D.; CÔCO, L.C.; PAGLIA, E.C.; Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] extraído por arraste de vapor d'água, em escala comercial. **Semina: Ciências Agrárias** v. 29, n. 1, p. 129-136, 2008.

BRÁS, F.; SARDINHA, R.; PACHECO, A.. Modalidades terapêuticas no tratamento dos condilomas acuminados. **Acta Obstetrica e Ginecologia Portuguesa**. v. 9, n. 5, p. 383-392, 2015.

BURITS, M.; BUCAR, F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. **Phytotherapy research**, v. 14, n. 5, p. 323-8, 2000.

BUTLER, M. S; ROBERTSON, A. B; COOPER, M. A. Natural product and natural product derived drugs in clinical trials. **Journal of Natural Products**. v. 31, n. 11, p. 1612-61, 2014.

BUTTNER, M.S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products** v. 67, n. 12, p. 2141-53.2004.

CAI, Y.S; SARROTI, A.M.; ZHOU, T.L.; HUANG, R.; QIU, G.; TIAN, C. ; MIAO, Z.H. ; MANDI, A.; KURTAN, T.; CAO, S.; YANG, S.P.. Flabelliparicine, a Flabelliformide-Apparicine-Type Bisindole Alkaloid from *Tabernaemontana divaricate*. **Journal of Natural Products** v. 81, n. 9, p. 1976-1983, 2018.

CALIXTO, J. B.; JUNIOR, J. M. Siqueira. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**. v. 1, n.1, p. 98-106, 2008.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**. v.55, n.3, p. 37-39, 2003.

CASANOVA, J.; LOTA, M.L.L; SERRA, D.M.; TOMI, F.L.; JACQUEMOND, C. Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 50, p. 796-805, 2002.

CHAGAS JH; PINTO JEBP; BERTOLUCCI SKV; COSTA AG; JESUS HCR; ALVES PB. Produção, teor e composição química do óleo essencial de hortelã-japonesa cultivada sob malhas fotoconversoras. **Horticultura Brasileira**. v. 31, p. 297-303, 2013

CHUTIA, M. P; BHUYAN, D.M,G.; SAMMA T.C. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. **Elsevier**. v.42, n. 3, p. 777-780, 2009.

CONTI, R.; GUIMARÃES, D.; PUPO, M. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**. v. 64, n.3, p. 43-47, 2012.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. G. RODRIGUES, F. G. **Efeito sinérgico de aminoglicosídeos no óleo essencial de *Mentha arvensis* e do mentol seu constituinte majoritário**. 2009.

COSTA, J.G.M.; SOUSA, E.O.; RODRIGUES, F.F. G.; LIMA, S.G.; FILHO, R.B. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 3, p. 710-714, 2009

COSTA, J.C.F.; SILVA, J.E.; OLIVEIRA, E.C.P. Óleo essencial de folhas de *Conobea scoparioides* cham. & schldl. nativa da região amazônica, Brasil. **Anais do III encontro regional sobre biodiversidade e biologia de organismos neotropicais**, 2017.

COSTA, J. G. M.; SOUSA, O.; RODRIGUES, F. G.; LIMA, G.; BRAZ-FILHO, R. COSTA, P.R.R. Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Revista Virtual de Química**. v. 1, n. 1, p. 58-66. 2009.

COSTA, R. G.; FARIA, L. J. G.; MAIA, J. G. S. Secagem de pataqueira (*Conobea scoparioides* cham. & schldl.) em leite fixo, colhida naturalmente e produzida por meio hidropônico **XVIII congresso brasileiro de engenharia química**, 2010.

COSTA, V.P.; MAYWORM, M.A.S. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade do bairro dos Tenentes - município de Extrema, MG, Brasi **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s.v.13, n.3, p.282-292, 2011.

de CASTRO, R.D.; LIMA, E.O. Screening da atividade antifúngica de óleos essenciais sobre cepas de *Candida*. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica integrada**. v. 11, n. 3, p. 341-345, 2011.

DENNY, C. Atividade anticancer de extratos e princípios ativos obtidos de *Virola sebifera* (Myristicaceae). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Campinas, SP.2006 Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/289321>>. Acesso em: 5 ago. 2018.

DEWICK, P.M. The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds. **Journal of Natural Products** v. 19, n. 2, p.181–222, 2002.

ESCOBAR, P.; LEAL, S. M.; HERRERA, L. V.; MARTINEZ, J. R.; STASHENKO, E. Chemical composition and antiprotozoal activities of *Colombian Lippia* spp essential oils and their major components. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 6, p. 184-190, 2010.

FELIPE, L.O.; BICAS, J.L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química nova**. v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FREIRE, I.C.M.1; PÉREZ, A.L.A.L.; CARDOSO, A.M.R.; MARIZ, B.A.L.A.; ALMEIDA, L.F.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 16, n. 2, p. 372-377, 2014.

GROVE, D. C.; Randall, W. A. Assay Methods of Antibiotic: a Laboratory Manual. **Medical Encyclopedia**, New York. 1955.

GUIMARÃES, A. G.; QUINTAS, J.; JÚNIOR, L. J. Q. Monoterpenes with Analgesic Activity-A Systematic Review. **Phytotherapy Research**. v. 27, n.1, p. 1-15, 2013.

GUIMARÃES, L.L.G.; CARDOSO, M.G.C.; SOUZA, P.E.; ANDRASE, J.; VIEIRA, S.S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

HADRICH, F.; YOUSSEF, S, C.; GARGOURI, T.; ADEL, S. Antioxidant and lipase inhibitory activities and essential oil composition of pomegranate peel extracts. **Journal of Oleo Science**. v.63, n. 5 p. 515-525, 2014.

JUNIOR, C.V; BOLZANI, V.S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quimica Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

KESKES, H.; MNAFGUI, K.; HAMDEN, K.; DAMAK, M.; FEKI, A.E.; ALLLOUCHE, N. In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v. 4, n.2, p. 649-655, 2014.

LEMES, R. S.; COSTA, G. C. S.; SILVA, D. C. S.; BECCENERI, A. B.; BICALHO, K. U.; MIRANDA, M. L. D.; DINIZ, V. S. S.; CAZAL, C. M. Óleos Essenciais dos Frutos e Folhas de *Kielmeyera coriácea*: Atividade Antitumoral e Estudo Químico **Revista Virtual Química**. v. 9, n.3, p. 1245-1257, 2017.

LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O. FARIAS, N.M. SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n.2, p. 197-201, 2006.

LIMA, M.S.; JUNIOR, L.J. JUNIOR, Q.; SANTANA, W.A.; SOARES, C.M.K.; SOARES M.B.P.; Milena VILLAREAL, C.F.; Anti-inflammatory effects of carvacrol: Evidence for a key role of interleukin-10. **European Journal of Pharmacology**. v. 699, p. 112–117, 2013.

LOPES, N. P.; KATO, M. J.; YOSHIDA, M. Antifungal constituents from roots of *Virola surinamensis*. **Phytochemistry. Oxford: Pergamon-Elsevier**. v. 51, n. 1, p. 29-33, 1999.

MARQUES, J.P; LOPES, G.C ALCALOIDES COMO AGENTES ANTITUMORAIS: CONSIDERAÇÕES QUÍMICAS E BIOLÓGICAS. **Revista UNINGÁ**. v.24, n.1, p.56-61, 2015.

MILLEZI A.F.; BAPTISTA N.N.; CAIXETA D.S.3; ROSSONI D.F.; CARDOSO M.G.; PICCOLI R.H. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia col*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.16, n.1, p.18-24, 2014.

MORAIS, L.A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira** v. 27, n.2, p. 4050-4063, 2009.

NECKEL, G.L.; LEMOS-SENNA, E. Preparação e Caracterização de Nanocápsulas Contendo Camptotecina a partir do Ácido poli (D,L-lático) e de Copolímeros Diblocos do Ácido Poli (D,L-lático) Polietilenoglicol. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 24, n.4, p. 504-11, 2005.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**. v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European journal of biochemistry**, v.267, p.5421 - 5426, 2000.

OLIVEIRA, L.S.; MUZITANO, M.F.; MELO, M.A.S.C.; COSTA, S.S. Plantas Medicinais como Recurso Terapêutico em Comunidade do Entorno da Reserva Biológica do Tinguá, RJ, Brasil – Metabólitos Secundários e Aspectos Farmacológicos. **Revista científica internacional**. v. 4, n.17, p. 54-74, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; B., ALISSON, A. O. I.; JÚNIOR, L. J. Q.; GUIMARÃES, A. G. Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC**. v. 4, n. 4, p. 1292-1298, 2014.

PINTO, S.B.; MENEZES, L.R.A; SALVADOR, M.J.; CARVALHO, J.E.; COSTA, E.V. Composição química e atividade citotóxica do óleo essencial das folhas de *Annona vepretorum* (Annonaceae). **52º Congresso Brasileiro de Química**, 2012.

POMBO, J. C. P.; RIBEIRO, E. R.; PINTO, R. L.; SILVA, B. J. M. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutrição**. v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

QUEIROZ, E. F.; WOLFENDER, L.L. NF- $\kappa$ B and Angiogenesis Inhibitors from the Aerial Parts of *Chresta martii*. **Journal of Natural Products**. v.81, n.8, p.1769–1776, 2018.

QUIROGA, P.R; GROSSO, N. R.; LANTE, A.G; ZYGADLO, L.J. A.; NEPOTE, V. Chemical composition, antioxidant activity and anti-lipase activity of *Origanum vulgare* and *Lippia turbinata* essential oils. **International Journal of Food, Science + Technology**. v. 48, n. 3, p. 642-649, 2012

RAKSAT, A.; MANEERAT, W.; ANDERSEN, R. J.; PYNE, S. G.; LAPHOOKHIEO, Surat. Antibacterial Prenylated Isoflavonoids from the Stems of *Millettia extensa*. **Journal of Natural Products**, v. 81, n. 8, p. 1835–1840, 2018.

REBELO, M.M.; SILVA, J.K R.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G. S. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Conocarpus scoparioides* (Cham. & Schlttdl.) Benth. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.20, n.6, p. 1031-1035, 2009.

RIBEIRO, D.S.; MELO, D.B.; GUIMARÃES, A.G.; VELOZO, E.S.; Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana **Semina: Ciências Agrárias**. v. 33, n. 2, p. 687-696, 2012.

RIELLA, K. R.; MARINHO, R. R.; SANTOS, J. S.; PEREIRA-FILHO, R. N.; CARDOSO, J. C.; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L. C.; THOMAZZI, S. M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 656-663, 2012.

RODRIGUES, A.C.; ARTIOLI, F.A; POLO, M.; BARBOSA, L.C.A.; BEIJO, L.A. Efeito alelopático de folhas de bamburral [*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.] sobre a germinação de sementes de sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**.v.14, n.3, p.487-493, 2012.

RUANO, N, V; HERNADEZ, Y.P.; DURÁN, R. C.; GLORIA, E. L. Voláteis e variação sazonal da composição do óleo essencial das folhas de *Clinopodium macrostemum* var. *laevigatum* e suas atividades biológicas. **Colheitas Industriais e Produtos**. v. 77, n. 23, p. 741-747, 2015

S. ABBASZADEH, S.; SHARIFZADEH, A.; SHOKRI, H.;KHOSRAVI, A.R. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. **Jornal de Mycologie Médicale**. v. 24, n. 2, p. 51-56, 2014

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, MCT.; GODOY, H.T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.11, n.4 ,p. 442-449 , 2009

SENGER, F.R; BEAL, A.M; DOS SANTOS, A.R; ZIN, L.C; DALLA RIVA, T. Produtos naturais de origem vegetal como fonte de medicamentos. **Anuário de pesquisa e extensão UNOESC** Xanxerê. 2017.

SHANTY, A.; MOHANAN, P. Heterocyclic Schiff bases as non toxic antioxidants: Solvent effect, structure activity relationship and mechanism of action. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 192, p. 181-187, 2017

SILVA, L.; GLAUCIA H.O.; DÉBORA G. A.; Paulo R. H. MORENO. M.C.M. YOUNG, M.A.S MAYWORM, A.M. Bicyclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae) **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n.3, p. 361-367, 2007.

SILVESTRI, J. D. F; PAROUL, N; CZYEWski, E.; LERIN, L. L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; DE OLIVEIRA, D.; Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb). **Revista Ceres**. v. 57, n.5, p. 589-594,2010.

SIQUEIRA, H.D.; NETO, B.S.; SOUSA, D.P.; GOMES, B.S.; DA SILVA, F.V.; CUNHA, F.V.; WANDERLEY, C.W.; PINHEIRO, G.; CÂNDIDO, A.G.; WONG, D.V.; RIBEIRO, R.A.; LIMA-JÚNIOR, R.C.; OLIVEIRA, F.A.  $\alpha$ -Phellandrene, a cyclic monoterpene, attenuates inflammatory response through neutrophil migration inhibition and mast cell degranulation. **Life Sciences**, v.160, p.27-33, 2016.

SLANC, P.; DOLJAK, B.; KREFT,S.; LUNDER, M.; JANES, D. STRUKELJ, B. Screening of selected food and medicinal plant extracts for pancreatic lipase inhibition. **Phytotherapy Research**. v.23, p. 874–877, 2009

SOARES, T.V.; FABRI, R.L. Composição química e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico das folhas de *Eremanthus erythropappus* (dc) mcleish (candeia). **Revista eletrônica de farmácia**. v. 8, n.3, p. 41 - 52, 2010.

STROBEL, G; DAISY B; CASTILLO, U; HARPER J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**. v. 67, n. 2, p. 257-68, 2004.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Ed., Artmed, 2004

TAKEMOTO, H.; ITO, H.; SHIRAKI, T.; YAGURA, T.; HONDA, L. Sedative effects of vapor inhalation of agarwood oil and spikenard extract and identification of their active components. **Journal of Natural Medicine**. v. 62, n. 1, p. 41-46, 2008.

VÁSQUEZ, S.P.F; MENDONÇA, M.S; NODA, S.N . Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Acta amazônica**, v. 44, n.4, p. 457-472, 2014.

ZHANG, C.Y, Zhang; Z. L.J.; LU, Z.C; MA, C.Y.; YE, Y; ZHANG, K. R.H. ; ZHU, J.Y. Antitumor Activity of Diterpenoids from *Jatropha gossypifolia*: Cell Cycle Arrest and Apoptosis-Inducing Activity in RKO Colon Cancer Cells. **Journal of Natural Products**. v.81, n.8, p. 1701–1710, 2018