

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE

**Estudo Químico de *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae) e
Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae) e Avaliação de
Atividades contra Artrópodes**

Geovany Amorim Gomes

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ESTUDO QUÍMICO DE *Myrcia ovata* CAMBESS. (MYRTACEAE) E
Lippia sidoides CHAM. (VERBENACEAE) E AVALIAÇÃO DE
ATIVIDADES CONTRA ARTRÓPODES

GEOVANY AMORIM GOMES

Sob a Orientação do Professor
Dr. Mário Geraldo de Carvalho
e Co-orientação da Professora
Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências, no Programa de Pós-
Graduação em Química, Área de
Concentração em Química Orgânica

Seropédica, RJ
Dezembro de 2013

583.96

G633e

T

Gomes, Geovany Amorim, 1969-

Estudo químico de *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) e a avaliação de atividades contra artrópodes / Geovany Amorim Gomes - 2013.

249 f. : il.

Orientador: Mário Geraldo de Carvalho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Química.

Bibliografia: f. 195-226.

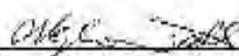
1. Verbenaceae - Teses. 2. Essências e óleos essenciais - Teses. 3. Química vegetal - Teses. 4. Bioquímica - Teses. 5. Artrópode - Teses. I. Carvalho, Mário Geraldo de, 1952-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Química. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

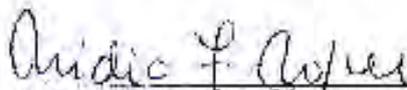
GEOVANY AMORIM GOMES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Orgânica

TESE APROVADA EM 05/12/2013



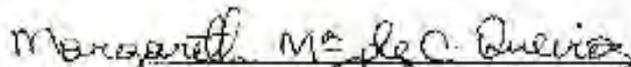
Dr. Mário Geraldo de Carvalho (DEQUIM-UFRRJ)
(Orientador e Presidente)



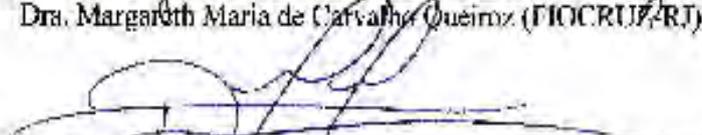
Dra. Nidia França Roque (IQ-USP, IQ-UFBA)



Dr. Erik Daemon de Souza Pinto (PPQB-UFPE)



Dra. Margaréth Maria de Carvalho Queiroz (FIOCRUZ/RJ)



Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves (DEQUIM-UFRRJ)

Dra. Márcia Cristina de Azevedo Prata (EMBRAPA Clado de Leite-MG) (Suplente)

Dr. Luciano Ramos Suzart (DEQUIM-UFRRJ) (Suplente)

“Ao Senhor Deus, pela sua misericórdia e amor que se renovam a cada dia em minha vida”

“A minha esposa Lenice, pelo seu amor, companheirismo e paciência em todos os momentos de luta que passei durante o doutorado”

“Aos meus pais, José Gerardo e Aroliza, pelo carinho e incentivo”

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter renovado as minhas forças para cada dia enfrentar novos desafios, e pelas portas abertas e fechadas, porque Ele sabe o que é melhor para mim.

À minha querida esposa, Lenice, pelo seu amor, paciência e compreensão

Aos meus pais, José Gerardo e Aroliza, por terem investido suas vidas na minha formação.

Ao meu irmão Gerardo, pelo companheirismo durante os 4 anos em que fiquei no Rio de Janeiro.

Ao Prof. Dr. Mário Geraldo, pela amizade, companheirismo e orientação que foram de grande valia para minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Gilvandete (UFC), pela orientação e realização de ensaios larvicidas com *Aedes aegypti*.

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz Filho pela amizade e pelo auxílio prestado na identificação de substâncias.

Ao casal Eliezideo e Raimunda, por terem intercedido em nosso favor para que pudéssemos enfrentar os grandes desafios em Seropédica.

Ao grande amigo Eduardo, pelos conselhos e por ter me recebido de braços abertos na UFRRJ.

Ao amigo Caio, pela realização dos ensaios com carrapatos e pelo grande auxílio na confecção dos artigos.

Aos professores Dr. Erik, Dra. Márcia e toda sua equipe (UFJF), pela consideração e pela parceria que rendeu bons frutos.

À minha amiga Dra. Marcela (FIOCRUZ), pela execução de testes com insetos.

Aos colegas Roberto Wagner e Leôncio (UFC), pelo auxílio na extração de óleos essenciais.

À Profa. Dra. Telma (UFC), pela realização do ensaio de atividade antioxidante.

À Dra. Isabel Vitorino (UFC), pela obtenção dos espectros de massa de alta resolução.

Aos colegas do LQPN (Almir, Vinicius, Rafaela, Queli, Ilzenaide, Ilda, Mirza, Débora, Renata, Ana Paula e Carlos).

Aos amigos da Síntese Orgânica, Prof. Claudio e Vinicius pelas orientações dadas para obtenção de derivados.

Aos amigos da biologia, Prof. Ermenson, Wellington e Sabrina pela amizade e por terem compartilhado seus conhecimentos.

Aos colegas do alojamento da pós-graduação, Janio, Marquinhos, Pará, Gideão, Henrique, Leandro e Juan pela convivência agradável.

Aos funcionários do ICE-UFRRJ, Fábio, Francis, Carlão e Paulo pela consideração, diligência e competência.

Ao colegiado do curso de química da UVA que aceitou meu pedido de liberação para cursar doutorado em química na UFRRJ.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos e ao CNPq e FAPERJ pelo apoio financeiro aos projetos do nosso grupo de pesquisa.

RESUMO

GOMES, Geovany Amorim; **Estudo Químico de *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae) e *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) e Avaliação de Atividades contra Artrópodes.** 2013. 226p. Tese (Doutorado em Ciências, Química Orgânica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O presente trabalho relata o estudo fitoquímico de óleos essenciais e de frações hexano e acetato de etila obtidas do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae), e da fração obtida com diclorometano do fracionamento do extrato etanólico de caule e galhos desta espécie. Além disso, realizou-se a análise da composição química de óleos essenciais de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae). O processamento cromatográfico destas frações forneceram 15 constituintes não-voláteis de *M. ovata*, destes, nove são compostos fenólicos, tectocrisina, 6-metiltectocrisina, 8-metiltectocrisina, 2,5-diidroxí-6-metil-7-metoxiflavanona, 2,5-diidroxí-8-metil-7-metoxiflavanona, astilbina (*rel-2R,3S-5,7,3',4'*-tetraidroxí-3-*O-α-L*-ramnopiranosilflavanonol), quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona); engeletina (*rel-2R,3S-5,7,4''*-triidroxí-3-*O-α-L*-ramnopiranosilflavanonol) e 4,5-di-*O*-cafeoilquinato de metila; quatro triterpenos, friedelina, lupeol, α -e β -amirina, um esteroide, β -sitosterol e um sesquiterpeno (7-hidroxicadalenal). A reação de iodação da flovona 6-metiltectocrisina forneceu o derivado 8-iodo-6-metiltectocrisina, substância inédita na literatura. As fórmulas estruturais foram identificadas através de análise dos dados espectrométricos de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D), massas, IV e DC, além de comparação com dados da literatura. Os monoterpênos oxigenados geranial e timol foram predominantes nos óleos essenciais de *M. ovata* e *L. sidoides*, respectivamente. Os óleos foram obtidos por hidrodestilação ou pelo método de arraste a vapor. A análise foi realizada através de CG/EM, CG/DIC e pela obtenção de índices de retenção dos constituintes através de co-injeção de padrões de hidrocarbonetos. A fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *M. ovata*, destacou-se entre as demais em relação à atividade antioxidante. A presença de quercetina, astilbina, engeletina e 4,5-di-*O*-cafeoilquinato de metila nesta fração, podem justificar esta atividade. O óleo essencial de *M. ovata* apresentou baixo poder antioxidante, moderada atividade larvicida frente à *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), potente ação carrapaticida frente a larvas de *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae) e controle parcial de fêmeas ingurgitadas desta espécie de carrapato. O óleo de *L. sidoides* apresentou ação ninficida contra *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera: Reduviidae), enquanto timol e carvacrol exibiram efeito biocida em ovos e ninfas deste inseto. Além disso, esse óleo exibiu atividade carrapaticida sobre larvas de *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *R. sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae), ninfas das duas últimas espécies de carrapatos e larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

Palavras-chave: *Myrcia ovata*, *Lippia sidoides*, atividades biológicas.

ABSTRACT

GOMES, Geovany Amorim; **Chemical Study of *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae) and *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) and Assessment of Activities against Arthropods.** 2013. 226p. Thesis (Doctorate in Sciences, Organic Chemistry). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The present work reports the phytochemical study of essential oils, and of the hexane and ethyl acetate fractions obtained from ethanolic extract of leaves of *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae), as well as the study of the dichloromethane fraction from the ethanolic extract of stem and branch of this species. In addition, the chemical composition analysis of essential oils from *Lippia sidoides* Cham. leaves (Verbenaceae) was done. The chromatographic processing of these fractions allowed to the isolation of fifteen non-volatile constituents of *M. ovata*, including, nine phenolic compounds tectochrysin; 6-methyltectochrysin; 8-methyltectochrysin; 2,5-dihydroxy-6-methyl-7-methoxyflavanone; 2,5-dihydroxy-8-methyl-7-methoxyflavanone; astilbin (*rel*-2*R*,3*R*-,5,7,3'',4''-tetrahydroxy-3-*O*- α -L-rhamnopyranosylflavanonol); quercetin 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone); engeletin (*rel*-2*R*,3*R*-,5,7,4''-trihydroxy-3-*O*- α -L-rhamnopyranosylflavanonol) and 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester, four triterpenes (friedelin, lupeol, α - and β -amyrin), one steroid (β -sitosterol) and one sesquiterpene (7-hydroxycadalenal). The reaction of 6-methyltectochrysin with iodine yielded new derivative. The structural formulas were identified by ¹H and ¹³C NMR (1D and 2D), masses, IR and CD spectra data analysis, as well as comparison with literature data. The oxygenated monoterpenes geranial and thymol were prevalent in the essential oils of *M. ovata* and *L. sidoides*, respectively. The oils were obtained by hydrodistillation or steam distillation method. The analysis was performed by GC/MS, GC/FID and by retention rates of the constituents by co-injection of hydrocarbon standards. The ethyl acetate fraction of ethanolic extract from leaves of *M. ovata*, stood out among the rest in relation to antioxidant activity. The presence of quercetin, astilbin, engeletin and 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid methyl ester in this fraction, can justify this activity. The essential oil of *M. ovata* presented low antioxidant activity, moderate larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), strong acaricidal action against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae) and partial control of engorged females of this species of tick. The oil of *L. sidoides* showed ninficidal action against *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera: Reduviidae), while thymol and carvacrol exhibited biocidal effect in eggs and nymphs of this insect. Furthermore, this oil presented acaricidal activity on larvae of *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) and *R. sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae), nymphs of the latter two species of ticks and larvae and engorged females of *R. microplus*.

Key words: *Myrcia ovata*, *Lippia sidoides*, biological activities.

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1. Procedimentos experimentais para obtenção de óleos essenciais de folhas de <i>Myrcia ovata</i> e de <i>Lippia sidoides</i>	23
Fluxograma 2. Obtenção e fracionamento do extrato etanólico de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (EF-MO).....	24
Fluxograma 3. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração hexânica obtida do extrato etanólico de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (FHEF-MO).....	27
Fluxograma 4. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração clorofórmica obtida do extrato etanólico de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (FCEF-MO).....	28
Fluxograma 5. Obtenção das frações diclorometano (FDAEF-MO) e acetato de etila (FAAEF-MO) resultantes da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de <i>Myrcia ovata</i>	29
Fluxograma 6. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituinte da fração diclorometano obtido da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (FDAEF-MO).....	30
Fluxograma 7. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração acetato de etila obtido da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (FAAEF-MO).....	33
Fluxograma 8. Obtenção de extrato etanólico (ECG-MO) e das frações hexânica (FHECG-MO), diclorometano (FDECG-MO), acetato de etila (FAECG-MO) e metanólica (FMECG-MO) a partir de caule e galhos de <i>Myrcia ovata</i>	34
Fluxograma 9. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração diclorometano obtido do extrato etanólico de caule e galhos de <i>Myrcia ovata</i> (FDECG-MO).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Constituintes químicos majoritários e atividades biológicas de óleos essenciais do gênero <i>Myrcia</i>	11
Tabela 2. Dados espectroscópicos de (126) (CDCl ₃) comparados com os da literatura (MAYER,1990 - CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm).....	42
Tabela 3. Dados espectroscópicos de (127) (CDCl ₃) comparados com os da literatura (CRANCHI, 1994 - CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	46
Tabela 4. Dados espectroscópicos da substância (128) (CDCl ₃) comparados com os da literatura (MUSTAFA <i>et al.</i> , 2003 - CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm).....	51
Tabela 5. Dados espectroscópicos de (129) (CDCl ₃) comparados com os da literatura (ALMEIDA <i>et al.</i> , 2011 - CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	55
Tabela 6. Dados espectroscópicos da substância (133) (C ₆ D ₆) comparados com os da literatura (FLEISCHER <i>et al.</i> , 1997, RMN ¹ H: C ₆ D ₆ , RMN ¹³ C - DEPTQ: CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.....	61
Tabela 7. Dados espectroscópicos da substância (134) (C ₆ D ₆) comparados com os da literatura (FLEISCHER <i>et al.</i> , 1997, RMN ¹ H: C ₆ D ₆ , RMN ¹³ C - DEPTQ: CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.....	62
Tabela 8. Dados espectroscópicos de (135) (CD ₃ OD) comparados com os da literatura (HUANG <i>et al.</i> , 2011 - CD ₃ OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	75
Tabela 9. Dados do espectro do dicroísmo circular obtidos para substância (135)	76
Tabela 10. Dados espectroscópicos de (136) (CD ₃ OD) comparados com os da literatura (GÜVENALP & DEMIREZER, 2005 – RMN ¹ H: acetona-d ₆ ; OLIVEIRA & CARVALHO, 1999 - RMN ¹³ C: DMSO-d ₆), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	81
Tabela 11. Dados espectroscópicos de (137) (CD ₃ OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	85
Tabela 12. Dados espectroscópicos de (137) (CD ₃ OD) comparados com os da literatura (LEE <i>et al.</i> , 2010 - CD ₃ OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	86
Tabela 13. Dados espectroscópicos de (138) (CD ₃ OD) comparados com os da literatura (HUANG <i>et al.</i> , 2011 - CD ₃ OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	103
Tabela 14. Dados do espectro do dicroísmo circular obtidos para substância (138)	104
Tabela 15. Dados espectroscópicos de (139) (CDCl ₃) comparados com os da literatura (KOJIMA <i>et al.</i> , 1990 - CDCl ₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	109
Tabela 16. Dados espectroscópicos de (140) comparados com os do ácido cadalen-15-óico (141) e do 5-metil-8-isopropopil-2-naftalenocarboxaldeido (142) descritos na literatura (FANG <i>et al.</i> , 1987; DELGADO <i>et al.</i> , 2001- CDCl ₃), CDCl ₃ como solvente, deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.....	113
Tabela 17. Dados espectroscópicos de (143) comparados com os da 6-metilteocrisina (126) e de 8-iodo-5-hidroxi-3,7,3',4'-tetrametoxi-flavona (144) (CARVALHO <i>et al.</i> , 2009), CDCl ₃ como solvente, deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (<i>J</i>) em Hz.	126

Tabela 18. Composição química, índice de retenção calculado através de regressão linear (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/EM ($TR_{CG/EM}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante da hidrodestilação da primeira porção de folhas de <i>Myrcia ovata</i> Cambess.(OEMO-1).....	139
Tabela 19. Composição química, índice de retenção calculado (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/DIC ($TR_{CG/DIC}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante da hidrodestilação de folhas frescas de <i>Myrcia ovata</i> Cambess., obtidas da segunda coleta (OEMO-2)	142
Tabela 20. Composição química, índice de retenção calculado (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/DIC ($TR_{CG/DIC}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante da hidrodestilação de folhas frescas de <i>Lippia sidoides</i> Cham.(OELS-1).....	148
Tabela 21. Composição química, índice de retenção calculado (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/DIC ($TR_{CG/DIC}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante de extração por arraste a vapor de folhas frescas de <i>Lippia sidoides</i> Cham. (OELS-2).....	154
Tabela 22. Atividade antioxidante expressa pela concentração eficiente (CE_{50}) de extratos e frações obtidas de <i>Myrcia ovata</i>	165
Tabela 23. Porcentagem média de mortalidade de ninfas de 4º estágio de <i>Rhodnius prolixus</i> tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de folhas de <i>Lippia sidoides</i> obtido por arraste a vapor (OELS-2), timol (125) e carvacrol (156), após 24 horas de exposição em condições laboratoriais ($27^\circ C \pm 2$ e $65\% \pm 5$ UR).....	180
Tabela 24. Valores de concentração letal 50 (CL_{50}) do óleo essencial de folhas de <i>Lippia sidoides</i> obtido por arraste a vapor (OELS-2), timol (125) e carvacrol (156) para o controle de ninfas de 4º estágio de <i>Rhodnius prolixus</i>	180
Tabela 25. Média de mortalidade de larvas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (OEMO-2), em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ C$ e $RH > 80 \pm 10\%$).....	185
Tabela 26. Média de mortalidade de larvas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , <i>Dermacentor nitens</i> tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de <i>Lippia sidoides</i> (OELS-1), em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ C$ e $RH > 80 \pm 10\%$).	186
Tabela 27. Média de mortalidade de larvas e ninfas não ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido por arraste vapor de folhas de <i>Lippia sidoides</i> (OELS-2), em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ C$ e $RH > 80 \pm 10\%$).....	187
Tabela 28. Média de mortalidade de larvas e ninfas não ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido por arraste vapor de folhas de <i>Lippia sidoides</i> (OELS-2), em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ C$ e $RH > 80 \pm 10\%$).....	187
Tabela 29. Valores de concentração letal 50 (CL_{50}) dos óleos essenciais OEMO-2, OELS-1 e OELS-2 frente a larvas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , <i>Dermacentor nitens</i> e larvas e ninfas não ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e <i>Amblyomma cajennense</i>	188

Tabela 30. Peso da fêmea antes da postura (mg), peso de massa de ovos (mg), índice de produção de ovos (% IPO) e percentual de eclosão de larvas (%) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratados com diferentes concentrações do óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata* (OEMO-2), sob condições de laboratório ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$). 188

Tabela 31. Peso da fêmea antes da postura (mg), peso de massa de ovos (mg), índice de produção de ovos (% IPO) e percentual de eclosão de larvas (%) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratados com diferentes concentrações do óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de *Lippia sidoides* (OELS-1), sob condições de laboratório ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e RH $> 80\pm 10\%$)..... 190

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmulas estruturais de constituintes químicos não voláteis obtidos do gênero <i>Myrcia</i>	6
Figura 2. Fórmulas estruturais de constituintes químicos majoritários de óleos essenciais do gênero <i>Myrcia</i>	13
Figura 3. <i>Myrcia ovata</i> Cambess.....	15
Figura 4. Fórmulas estruturais dos constituintes voláteis encontrados com maior frequência nos óleos essenciais do gênero <i>Lippia</i>	16
Figura 5. Arbustos de <i>Lippia sidoides</i> Cham. (FONTENELLE, 2008).....	18
Figura 6. Folhas de <i>Lippia sidoides</i> Cham. (FONTENELLE, 2008).....	18
Figura 7. Exsicata de <i>Myrcia ovata</i> Cambess.	22
Figura 8. Fórmulas estruturais de constituintes químicos não-voláteis obtidos de folhas, caule e galhos de <i>Myrcia ovata</i>	40
Figura 9. Fórmula estrutural do derivado iodado de flavona isolada de folhas de <i>Myrcia ovata</i>	41
Figura 10. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância (126).....	43
Figura 11. Espectro de massas 70 eV da substância (126).....	43
Figura 12. Propostas de fragmentação da substância (126).....	44
Figura 13. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (100 MHz, CDCl ₃) da substância (126).....	44
Figura 14. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (127).....	47
Figura 15. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (127) na região entre δ _H 6,37-6,56 ppm.....	47
Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (127) na região entre δ _H 7,45-8,15 ppm.....	48
Figura 17. Espectro de massas 70 eV da substância (127).....	48
Figura 18. Propostas de fragmentação da substância (127).....	49
Figura 19. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CDCl ₃) da substância (127).....	49
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (128).....	52
Figura 21. Espectro de massas 70 eV da substância (128).....	52
Figura 22. Propostas de fragmentação da substância (128).....	53
Figura 23. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CDCl ₃) da substância (128).....	53
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (129).....	56
Figura 25. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CDCl ₃) da substância (129).....	56
Figura 26. Cromatograma (CG) da mistura das substâncias (130), (131) e (132).....	58
Figura 27. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da mistura das substâncias (130), (131) e (132).....	58
Figura 28. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CDCl ₃) das substâncias (130), (131) e (132).....	59
Figura 29. Cromatograma (CG) da mistura das substâncias (133) e (134).....	63
Figura 30. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134).....	63
Figura 31. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ _H 2,54-2,98 ppm.....	64
Figura 32. Espectro de massas 70 eV da substância (133) (Tr = 16,05 min).....	64
Figura 33. Espectro de massas 70 eV da substância (134) (Tr = 16,26 min).....	64
Figura 34. Propostas de fragmentação da substância (133).....	65
Figura 35. Propostas de fragmentação da substância (134).....	65
Figura 36. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (100 MHz, C ₆ D ₆) das substâncias (133) e (134).....	66

Figura 37. Espectro de RMN-2D HSQC (400/100 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134)	67
Figura 38. Espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134)	68
Figura 39. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 90,0-200,0 ppm e δ_H 2,1-3,4 ppm.....	69
Figura 40. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 100,0-170,0 ppm e δ_H 5,85-6,48 ppm.....	70
Figura 41. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 110,0-150,0 ppm e δ_H 7,05-7,70 ppm.....	71
Figura 42. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C ₆ D ₆) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 85,0-170,0 ppm e δ_H 12,45-13,05 ppm.....	72
Figura 43. Espectro de massas de alta resolução da mistura das substâncias (133) e (134), modo positivo com ionização por spray de elétrons.....	73
Figura 44. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (135).....	76
Figura 45. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (135) na região entre δ_H 1,04-1,32 ppm	77
Figura 46. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (135) na região entre δ_H 3,26-3,72 ppm	77
Figura 47. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (135) na região entre δ_H 3,95-4,65 ppm	78
Figura 48. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (135) na região entre δ_H 4,75-6,00 ppm	78
Figura 49. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (135) na região entre δ_H 6,74-7,14 ppm	79
Figura 50. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CD ₃ OD) da substância (135).....	79
Figura 51. Espectro de dicroísmo circular obtido para a substância (135) (dados obtidos em MeOH, a 20 °C, na concentração de 0,023 mg/mL).....	80
Figura 52. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (136).....	82
Figura 53. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (136) na região entre δ_H 6,1-7,9 ppm	82
Figura 54. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CD ₃ OD) da substância (136).....	83
Figura 55. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (137).....	87
Figura 56. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_H 1,85-2,52 ppm	87
Figura 57. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_H 3,55-4,50 ppm	88
Figura 58. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_H 5,00-5,80 ppm	88
Figura 59. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_H 6,05-7,25 ppm	89
Figura 60. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_H 7,30-7,86 ppm	89
Figura 61. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137).....	90
Figura 62. Espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137).....	91
Figura 63. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_C 33,0-78,0 ppm e δ_H 1,0-6,0 ppm	92
Figura 64. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_C 112,0-149,0 ppm e δ_H 6,1-7,7 ppm	93

Figura 65. Espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137)	94
Figura 66. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_C 5,0-180,0 ppm e δ_H 2,1-5,2 ppm	95
Figura 67. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_C 65,0-180,0 ppm e δ_H 5,35-6,85 ppm	96
Figura 68. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137) na região entre δ_C 105,0-178,0 ppm e δ_H 6,85-7,93 ppm	97
Figura 69. Espectros de massa de (137) em modo positivo e negativo.....	98
Figura 70. Propostas de fragmentação da substância (137) com valores de m/z obtidos de EM em modo positivo.....	98
Figura 71. Propostas de fragmentação da substância (137) com valores de m/z obtidos de EM em modo negativo.....	99
Figura 72. Espectro de RMN-2D NOESY (125 MHz, CD ₃ OD) da substância (137)	100
Figura 73. Expansão do espectro de RMN-2D NOESY (500/125 MHz, CD ₃ OD) na região entre δ_H 4,2-5,7 ppm e δ_H 4,2-5,7 ppm e algumas interações espaciais observadas para a substância (137)	101
Figura 74. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (138)	104
Figura 75. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (138) na região entre δ_H 0,92-1,42 ppm	105
Figura 76. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (138) na região entre δ_H 3,20-4,10 ppm	105
Figura 77. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (138) na região entre δ_H 4,20-5,20 ppm	106
Figura 78. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância (138) na região entre δ_H 5,80-7,50 ppm	106
Figura 79. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CD ₃ OD) da substância (138)	107
Figura 80. Espectro de dicroísmo circular obtido para a substância (138) (dados obtidos em MeOH, a 20 °C, na concentração de 0,042 mg/mL).....	107
Figura 81. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (139)	110
Figura 82. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CDCl ₃) da substância (139)	110
Figura 83. Espectro no infravermelho da substância (140)	114
Figura 84. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (140)	114
Figura 85. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_H 1,34-1,51 ppm	115
Figura 86. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_H 3,62-3,89 ppm	115
Figura 87. Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_H 7,18-7,50 ppm	116
Figura 88. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (125 MHz, CDCl ₃) da substância (140)	116
Figura 89. Espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140)	117
Figura 90. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_C 16,0-31,0 ppm e δ_H 1,2-3,9 ppm	118
Figura 91. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_C 105,0-140,0 ppm e δ_H 6,9-8,8 ppm	119
Figura 92. Espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140)	120
Figura 93. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_C 15,0-150,0 ppm e δ_H 1,4-3,9 ppm	121
Figura 94. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_C 15,0-160,0 ppm e δ_H 7,16-7,51 ppm	122

Figura 95. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl ₃) da substância (140) na região entre δ_C 100,0-200,0 ppm e δ_H 8,3-10,5 ppm	123
Figura 96. Espectro de massas 70 eV da substância (140).....	124
Figura 97. Propostas de fragmentação da substância (140)	124
Figura 98. Mecanismo proposto para a formação do derivado (143).....	127
Figura 99. Espectro no infravermelho da substância (143).....	128
Figura 100. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância (143).....	128
Figura 101. Espectro de RMN ¹³ C-DEPTQ (100 MHz, CDCl ₃) da substância (143).....	129
Figura 102. Espectro de massas 70 eV da substância (143).....	129
Figura 103. Propostas de fragmentação da substância (143)	130
Figura 104. Proposta de rota biossintética para o sesquiterpeno 7-hidroxicadalenal (140) (NABETA <i>et al.</i> , 1994; DEGENHARDT <i>et al.</i> , 2009; DEWICK, 2009).....	131
Figura 105. Proposta de rota biossintética para os triterpenos freidelina (129), lupeol (130), α - (131) e β -amirina (132) (Adaptado de DEWICK, 2009; WANG <i>et al.</i> , 2010).	132
Figura 106. Proposta de rota biossintética para o fitoesterol β -sitosterol (139) (Adaptado de HE <i>et al.</i> , 2007; DEWICK, 2009).....	133
Figura 107. Proposta de rota biossintética para os flavonoides 6-metiltectocrisina (126), tectocrisina (127), 8-metiltectocrisina (128), 2,5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona (133), 2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona (134), astilbina (135), quercetina (136) e engeletina (138) (Adaptado de SCHRÖDER <i>et al.</i> , 1998; YAN <i>et al.</i> , 2005; DAVIES & SCHWINN, 2006; VELÍSEK <i>et al.</i> , 2008; DEWICK, 2009; SANTOS, 2010).....	135
Figura 108. Proposta de rota biossintética para o derivado de ácido clorogênico 4,5-di-O-cafeoilquinato de metila (137) (Adaptado de NIGGEWEG <i>et al.</i> , 2004; FARAH <i>et al.</i> , 2006; COMINO <i>et al.</i> , 2007; KOSHIRO <i>et al.</i> , 2007; DEWICK, 2009; OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2011; PLAZAS <i>et al.</i> , 2013).....	137
Figura 109. Fórmulas estruturais dos constituintes químicos voláteis identificados em óleos essenciais de folhas de <i>M. ovata</i>	138
Figura 110. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Myrcia ovata</i> OEMO-1 obtido no experimento de CG/DIC	139
Figura 111. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Myrcia ovata</i> OEMO-1 obtido no experimento de CG/EM	140
Figura 112. Espectro de massa do 1,8-cineol (145) (Tr = 11,57 min)	140
Figura 113. Espectro de massa do 4-terpineol (146) (Tr = 16,98 min).....	140
Figura 114. Espectro de massa do α -terpineol (102) (Tr = 17,48 min).....	141
Figura 115. Espectro de massa do neral (107) (Tr = 19,36 min)	141
Figura 116. Espectro de massa do geranial (106) (Tr = 20,46 min).....	141
Figura 117. Espectro de massa do óxido de cariofileno (87) (Tr = 30,82 min)	141
Figura 118. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Myrcia ovata</i> OEMO-2 obtido no experimento de CG/DIC	143
Figura 119. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Myrcia ovata</i> OEMO-2 obtido no experimento de CG/EM	143
Figura 120. Espectro de massa do linalol (78) (Tr = 16,24 min)	143
Figura 121. Espectro de massa do <i>exo</i> -isocitral (147) (Tr = 17,79 min).....	144
Figura 122. Espectro de massa do <i>p</i> -menta-1,5-dien-8-ol (148) (Tr = 19,02 min).....	144
Figura 123. Espectro de massa do neral (107) (Tr = 21,38 min)	144
Figura 124. Espectro de massa do geranial (106) (Tr = 22,45 min).....	144
Figura 125. Espectro de massa do geraniato de metila (149) (Tr = 23,92 min).....	145
Figura 126. Espectro de massa do β -cariofileno (81) (Tr = 26,90 min).....	145
Figura 127. Espectro de massa do α - <i>trans</i> -bergamoteno (150) (Tr = 27,25 min).....	145

Figura 128. Espectro de massa do (<i>Z</i>)- α -bisaboleno (117) (Tr = 29,30 min)	145
Figura 129. Espectro de massa do óxido de cariofileno (87) (Tr = 31,96 min)	146
Figura 130. Fórmulas estruturais dos constituintes químicos voláteis identificados em óleos essências de folhas de <i>Lippia sidoides</i>	147
Figura 131. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Lippia sidoides</i> OELS-1 obtido no experimento de CG/DIC	149
Figura 132. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Lippia sidoides</i> OELS-1 obtido no experimento de CG/EM	149
Figura 133. Espectro de massa do oct-1-en-3-ol (151) (Tr = 5,60 min)	150
Figura 134. Espectro de massa do <i>p</i> -cimeno (123) (Tr = 6,94 min)	150
Figura 135. Espectro de massa do 1,8-cineol (145) (Tr = 7,20 min)	150
Figura 136. Espectro de massa do γ -terpineno (152) (Tr = 8,05 min)	150
Figura 137. Espectro de massa do <i>cis</i> -hidrato de sabineno (153) (Tr = 8,50 min)	151
Figura 138. Espectro de massa do ipsdienol (154) (Tr = 11,30 min).....	151
Figura 139. Espectro de massa do 4-terpineol (146) (Tr = 12,83 min).....	151
Figura 140. Espectro de massa do α -terpineol (102) (Tr = 13,51 min).....	151
Figura 141. Espectro de massa do timol metil éter (155) (Tr = 14,91 min).....	152
Figura 142. Espectro de massa do timol (125) (Tr = 17,87 min).....	152
Figura 143. Espectro de massa do carvacrol (156) (Tr = 18,10 min).....	152
Figura 144. Espectro de massa do β -cariofileno (81) (Tr = 23,02 min).....	152
Figura 145. Espectro de massa do óxido de cariofileno (87) (Tr = 29,72 min)	153
Figura 146. Espectro de massa do 2-monopalmitina (157) (Tr = 60,28 min).....	153
Figura 147. Espectro de massa do 1-monoestearina (158) (Tr = 65,67 min).....	153
Figura 148. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Lippia sidoides</i> OELS-2 obtido no experimento de CG/DIC	155
Figura 149. Cromatograma de óleo essencial de folhas de <i>Lippia sidoides</i> OELS-2 obtido no experimento de CG/EM	155
Figura 150. Espectro de massa do α -tujeno (159) (Tr = 9,68 min)	155
Figura 151. Espectro de massa do α -pineno (89) (Tr = 9,92 min)	156
Figura 152. Espectro de massa do β -pineno (90) (Tr = 11,68 min)	156
Figura 153. Espectro de massa do mirceno (93) (Tr = 12,20 min)	156
Figura 154. Espectro de massa do δ -(3)-careno (160) (Tr = 12,94 min).....	156
Figura 155. Espectro de massa do α -terpineno (161) (Tr = 13,24 min).....	157
Figura 156. Espectro de massa do <i>o</i> -cimeno (162) (Tr = 13,62 min)	157
Figura 157. Espectro de massa do <i>E</i> - β -ocimeno (163) (Tr = 14,47 min).....	157
Figura 158. Espectro de massa do γ -terpineno (152) (Tr = 14,91 min)	157
Figura 159. Espectro de massa do 6,7-epoximirceno (164) (Tr = 16,45 min)	158
Figura 160. Espectro de massa do linalol (78) (Tr = 16,85 min)	158
Figura 161. Espectro de massa do ipsdienol (154) (Tr = 18,71 min).....	158
Figura 162. Espectro de massa do 4-terpineol (146) (Tr = 19,90 min).....	158
Figura 163. Espectro de massa do <i>p</i> -cimen-8-ol (165) (Tr = 20,49 min).....	159
Figura 164. Espectro de massa do α -terpineol (102) (Tr = 20,65 min).....	159
Figura 165. Espectro de massa do timol metil éter (155) (Tr = 21,65 min).....	159
Figura 166. Espectro de massa do timol (125) (Tr = 24,60 min).....	159
Figura 167. Espectro de massa do α -ylangeno (166) (Tr = 26,49 min)	160
Figura 168. Espectro de massa do β -cariofileno (81) (Tr = 28,02 min).....	160
Figura 169. Espectro de massa do α -humuleno (112) (Tr = 29,21 min)	160
Figura 170. Espectro de massa do viridifloreno (167) (Tr = 30,35 min)	160
Figura 171. Espectro de massa do óxido de cariofileno (87) (Tr = 33,35 min)	161

Figura 172. Compostos fenólicos obtidos de <i>Myrcia ovata</i> Cambess.....	165
Figura 173. Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos utilizados no período de 1900 até 1950	167
Figura 174. Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos utilizados no período de 1950 até 1970	168
Figura 175. Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos utilizados no período de 1980 em diante.....	169
Figura 176. Fórmulas estruturais de compostos do metabolismo secundário de plantas com atividades contra artrópodes	176
Figura 177. Percentagem de eclosão de ovos de <i>Rhodnius prolixus</i> , 15 dias após exposição ao óleo essencial e monoterpenos, Controle (1); acetona 100% (2); OELS-2 10 µg/cm ² (3); OELS-2 50 µg/cm ² (4); carvacrol (156) 10 µg/cm ² (5); carvacrol (156) 50 µg/cm ² (6); timol (125) 10 µg/cm ² (7) e timol (125) 50 µg/cm ² (8). Os valores representam as médias ± EPM; n=30 insetos.....	181
Figura 178. Fórmulas estruturais de monoterpenos com atividade inseticida.....	183
Figura 179. Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de <i>Myrcia ovata</i> (OEMO-2), sob condições de laboratório (27±1 °C e RH > 80±10%).....	189
Figura 180. Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de <i>Lippia sidoides</i> (OELS-1), sob condições de laboratório (27±1 °C e RH > 80±10%).	190

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ν	Estiramento
$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Micrograma por centímetro quadrado
$\mu\text{L}/\text{mL}$	Microlitro por mililitro
ax	Axial
C_6D_6	Benzeno deuterado
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCP	Cromatografia em Camada Preparativa
CD_3OD	Metanol deuterado
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo Dupleto
DEPTQ	Distortionless enhancement by polarization transfer quaternary centres
EM	Espectrometria de Massas
eq	Equatorial
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Homonuclear Multiple Quantum Coherence
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento em hertz
<i>m</i>	Multiplete
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
M^+	Pico do íon molecular positivo
mg/mL	Miligrama por mililitro
MHz	Mega Hertz
min	Minutos
P.F.	Ponto de fusão
ppm	Parte por milhão
<i>q</i>	Quarteto
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Singleto
<i>sl</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
TR	Tempo de Retenção
δ	Deslocamento químico
δ_{C}	Deslocamento Químico de Carbono (ppm)
δ_{H}	Deslocamento Químico de Hidrogênio (ppm)

OBS: As abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3.1. Generalidades sobre a Família Myrtaceae e o Gênero <i>Myrcia</i>	4
3.1.1. Generalidades da espécie <i>Myrcia ovata</i> Cambess.....	14
3.1.2. Aspectos botânicos da espécie <i>Myrcia ovata</i> Cambess.....	14
3.2. Generalidades sobre a Família Verbenaceae e o Gênero <i>Lippia</i>	15
3.2.1. Generalidades da espécie <i>Lippia sidoides</i> Cham.....	16
3.2.2. Aspectos botânicos da espécie <i>Lippia sidoides</i> Cham.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Equipamentos e Reagentes.....	19
4.2. Identificação da Espécie <i>Myrcia ovata</i> Cambess.....	21
4.3. Identificação da Espécie <i>Lippia sidoides</i> Cham.....	22
4.4. Obtenção de Óleos Essenciais de <i>Myrcia ovata</i> Cambess. e <i>Lippia sidoides</i> Cham.....	22
4.5. Obtenção dos Extratos Brutos de <i>Myrcia ovata</i>	23
4.6. Isolamento e Purificação de Constituintes Químicos Não-voláteis de <i>Myrcia ovata</i>	23
4.6.1. Fracionamento cromatográfico de EF-MO.....	23
4.6.1.1. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO e isolamento das substâncias (126), (127) e (128).....	24
4.6.1.1.1. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (172–183).....	25
4.6.1.1.1.1. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (172–183)/(32-38).....	25
4.6.1.1.1.1.1. Fracionamento cromatográfico de G-2 e isolamento da substância (129).....	25
4.6.1.1.2. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (203-234) e obtenção das substâncias (130), (131) e (132).....	25
4.6.1.1.3. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (271–277) e isolamento da substância (126).....	25
4.6.1.1.4. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (283–295) e isolamento da substância (126).....	26
4.6.1.1.5. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (345-360) e obtenção das substâncias (133) e (134).....	26
4.6.1.2. Fracionamento cromatográfico de FCEF-MO e obtenção das substâncias (126), (127) e (128).....	28
4.6.1.3. Partição de FAEF-MO.....	28
4.6.1.3.1. Fracionamento cromatográfico de FDAEF-MO.....	29
4.6.1.3.1.1. Fracionamento cromatográfico de FDAEF-MO (352-378) e obtenção de FDAEF-MO-A e da substância (135).....	29
4.6.1.3.2. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO.....	30
4.6.1.3.2.1. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (28-49) e obtenção da substância (136).....	30
4.6.1.3.2.2. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (53-65) e obtenção das substâncias (136) e (137).....	31
4.6.1.3.2.3. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (102-112) e obtenção da substância (138).....	31
4.6.1.3.2.4. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (120-145).....	32
4.6.1.3.2.4.1. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (120-145)/(17-19).....	32
4.6.1.3.2.4.1.1. Fracionamento cromatográfico de SPAAEF-MO-A e obtenção da substância (135).....	32

4.6.2. Fracionamento cromatográfico de ECG -MO	33
4.6.2.1. Fracionamento cromatográfico de FDECG-MO e obtenção da substância (139).....	34
4.6.2.1.1. Fracionamento cromatográfico de FDECG-MO (52-124) e obtenção da substância (140).....	34
4.7. Derivatização	35
4.7.1 Reação com iodo e obtenção de (143).....	35
4.8. Ensaio Químico e Biológicos.....	35
4.8.1. Ensaio para avaliação de atividade antioxidante	35
4.8.2. Ensaio para avaliação de atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i>	36
4.8.3. Ensaio para avaliação de atividade inseticida frente à <i>Rhodnius prolixus</i>	36
4.8.3.1. Obtenção dos insetos	36
4.8.3.2. Ensaio ninficida – ninfas em placas de Petri impregnadas.....	37
4.8.3.3. Ensaio ovidica – ovos em placas de Petri impregnadas	37
4.8.3.4. Análise estatística	37
4.8.4. Ensaio para avaliação de atividade carrapaticida frente à <i>Rhipicephalus microplus</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>Dermacentor nitens</i> e <i>Amblyomma cajennense</i>	37
4.8.4.1. Obtenção dos carrapatos	38
4.8.4.2. Bioensaio com larvas.....	38
4.8.4.3. Bioensaio com ninfas.....	38
4.8.4.4. Teste de imersão de fêmeas	38
4.8.4.5. Análise estatística	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
5.1. Identificação Estrutural de Constituintes Químicos Não-voláteis de <i>Myrcia ovata</i> Cambess. e Determinação Estrutural de Derivado Iodado de Flavona.....	40
5.1.1. Identificação estrutural da substância (126)	41
5.1.2. Identificação estrutural da substância (127)	45
5.1.3. Identificação estrutural da substância (128)	50
5.1.4. Identificação estrutural da substância (129)	54
5.1.5. Identificação estrutural das substâncias (130), (131) e (132) (mistura)	57
5.1.6. Identificação estrutural das substâncias (133) e (134) (mistura).....	59
5.1.7. Identificação estrutural da substância (135)	73
5.1.8. Identificação estrutural da substância (136)	80
5.1.9. Identificação estrutural da substância (137)	83
5.1.10. Identificação estrutural da substância (138)	102
5.1.11. Identificação estrutural da substância (139)	107
5.1.12. Identificação estrutural da substância (140)	111
5.1.13. Determinação estrutural do derivado (143).....	124
5.2. Propostas Biossintéticas para os Constituintes Químicos Não-Voláteis Obtidos de <i>Myrcia ovata</i> Cambess.	130
5.2.1. Sesquiterpeno 7-hidroxicadalenal (140).....	130
5.2.2. Triterpenos freidelina (129), lupeol (130), α - (131) e β -amirina (132).....	131
5.2.3. Fitoesterol β -sitosterol (139)	132
5.2.4. Flavonoides 6-metiltectocrisina (126), tectocrisina (127), 8-metiltectocrisina (128), 2,5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona (133), 2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona (134), astilbina (135), quercetina (136) e engeletina (138)	133
5.2.5. Derivado de ácido clorogênico 4,5-di- <i>O</i> -cafeoilquinato de metila (137).....	136
5.3. Identificação dos Constituintes Químicos Voláteis de Óleos Essenciais de Folhas de <i>Myrcia ovata</i> Cambess.....	138
5.3.1. Constituintes químicos voláteis de OEMO-1	138

5.3.2. Constituintes químicos voláteis de OEMO-2	141
5.4. Identificação dos Constituintes Químicos Voláteis de Óleos Essenciais de Folhas de <i>Lippia sidoides</i> Cham.	147
5.4.1. Constituintes químicos voláteis de OELS-1	148
5.4.2. Constituintes químicos voláteis de OELS-2	153
6. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	163
6.1. Introdução	163
6.2. Resultados e Discussão	163
7. ATIVIDADES BIOLÓGICAS	166
7.1. Considerações sobre Artrópodes Reconhecidos como Pragas da Agricultura e Vetores de Doenças	166
7.2. Breve Histórico sobre o Emprego de Pesticidas no Controle de Artrópodes	166
7.2.1. Breve histórico sobre o emprego de inseticidas orgânicos no controle de pragas e vetores de doenças	167
7.2.1.1. Inseticidas orgânicos utilizados entre 1900 a 1950	167
7.2.1.2. Inseticidas orgânicos utilizados no período de 1950 até 1970	168
7.2.1.3. Inseticidas orgânicos utilizados nos anos de 1980 em diante	169
7.3. Considerações sobre Produtos Naturais de Origem Vegetal com Atividades contra Artrópodes	170
7.3.1. Obtenção de produtos naturais de origem vegetal e métodos para avaliação de suas atividades contra artrópodes	171
7.3.2. Extratos vegetais com atividades contra artrópodes	172
7.3.3. Óleos essenciais de plantas com atividades contra artrópodes	173
7.3.4. Metabólitos secundários puros de plantas com atividades contra artrópodes	174
7.3.5. Modo de ação dos produtos naturais em artrópodes	176
7.3.6. Perspectivas de desenvolvimento de produtos naturais para o controle de artrópodes	177
7.4. Atividade Larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i>	177
7.4.1. Introdução	177
7.4.1. Resultados e discussão	178
7.5. Atividade Inseticida frente à <i>Rhodnius prolixus</i>	178
7.5.1. Introdução	178
7.5.2. Resultados	179
7.5.2.1. Atividade ninficida	179
7.5.2.2. Atividade ovicida	180
7.5.3. Discussão	181
7.6. Atividade Carrapaticida frente à <i>Rhipicephalus microplus</i> , <i>Dermacentor nitens</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e <i>Amblyomma cajennense</i>	183
7.6.1. Introdução	183
7.6.2. Resultados	185
7.6.2.1. Bioensaios com larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> tratadas com óleo essencial de <i>Myrcia ovata</i> OEMO-2	185
7.6.2.2. Bioensaios com larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> e <i>Dermacentor nitens</i> tratadas com óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> OELS-1	185
7.6.2.3. Bioensaios com larvas e ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e <i>Amblyomma cajennense</i> tratadas com óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> OELS-2	186
7.6.2.4. Bioensaios com fêmeas de <i>Rhipicephalus microplus</i> tratadas com óleo essencial de <i>Myrcia ovata</i> OEMO-2	188
7.6.2.5. Bioensaios com fêmeas de <i>Rhipicephalus microplus</i> tratadas com óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> OELS-1	189

7.6.3. Discussão	190
8. CONCLUSÃO.....	194
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	195

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais de origem vegetal e animal são utilizados pela civilização humana desde tempos imemoriais na forma de alimentos, vestuários, defensivos agrícolas, cosméticos e medicamentos. O uso de plantas como medicamentos era uma prática comum nas grandes civilizações da antiguidade como a Greco-Romana e a Egípcia (VILELA, 1977 *apud* PINTO *et al.*, 2002).

O reino vegetal, dentre os demais reinos existentes na natureza, é o que tem contribuído de forma significativa para a produção de fármacos, fitoterápicos e agroquímicos naturais, através do fornecimento dos seus metabólitos secundários, aumentando a expectativa de vida e modificando o comportamento do homem moderno. O nascimento, crescimento, reprodução, envelhecimento, doença e morte dos seres vivos dependem de transformações químicas executadas pelos seus metabolismos primário e secundário. As substâncias biofabricadas pelo metabolismo secundário, objetos de investigação da química de produtos naturais, são mais característicos de grupos taxonômicos, tais como família e gênero. Estas substâncias orgânicas são: terpenoides, alcaloides, flavanoides, xantanoïdes, carotenoides, antranquinoides, lignoides, neolignoides, cumarinoides, carotenoides, policetideos etc. (BRAZ-FILHO, 1994).

Metabólitos secundários voláteis podem ser responsáveis pelos aromas característicos de plantas e estão presentes nos seus óleos essenciais. Estes óleos são misturas de substâncias orgânicas voláteis e imiscíveis em água, e são constituídos principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos, fenil-propanóides, ésteres e outros compostos de baixo peso molecular. As utilidades destes óleos são muitas, eles são responsáveis pelos aromas e odores especiais em perfumes, cosméticos, sabonetes, desodorantes etc. Também podem ser utilizados como solventes e insumos para a indústria, medicamentos e materiais de partida em síntese orgânica nas indústrias química e farmacêutica (CRAVEIRO *et al.*, 1981).

Inúmeras doenças e enfermidades ainda assolam os seres humanos no mundo pós-moderno apesar do grande desenvolvimento dos conhecimentos científico e tecnológico.

Câncer, efisema, cirrose, arteriosclerose, artrite e envelhecimento acelerado têm sido correlacionados com o estresse oxidativo, isso acontece quando os mecanismos de proteção antioxidante se tornam ineficientes, sendo necessário o consumo de substâncias antioxidantes visando reduzir os danos oxidativos (MORAIS *et al.*, 2006). A utilização de compostos fenólicos presentes em grande parte das plantas inibem a formação de radicais livres e tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com estresse oxidativo (DROGE, 2002).

O câncer é uma terrível e antiga doença que no século 20 fora diagnosticada como uma das principais causas de mortes e vem difundindo-se de forma contínua, aumentando sua incidência no século 21 (BALANCHANDRAN & GOVINDARAJA, 2005). Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas (INCA, 2006). As descobertas de novas drogas anticâncer de origem vegetal têm incentivado as pesquisas nessa área. Uma das descobertas mais importantes nessa área foi o paclitaxel (Taxol), isolado da casca do teixo (*Taxus baccata* L. e *Taxus brevifolia* Nutt.- Taxaceae) (WANI *et al.*, 1971).

Além de combaterem estes tipos de enfermidades, os produtos naturais de origem vegetal podem apresentar poder larvicida, como nos casos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (DC) Staf (Poaceae) e *Ocimum gratissimum* L. (Labiadae) os quais

apresentaram uma boa atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), o principal inseto transmissor da dengue nos países tropicais (CAVALCANTI *et al.*, 2004).

Os inseticidas químicos atualmente utilizados no Brasil na prevenção da dengue têm uma série de desvantagens, principalmente no aspecto ambiental, provocando contaminação do solo e da água, sem contar que o aplicador pode sofrer intoxicação pelo produto. Outro problema relacionado ao uso dos inseticidas sintéticos é a seleção de formas resistentes a estas substâncias. Desta forma, extratos ou substâncias isoladas de plantas podem ser fontes alternativas de inseticidas.

Outra propriedade apresentada pelos metabólitos secundários dos vegetais superiores é a atividade antimicrobiana. Essas substâncias inibidoras são denominadas de fitocidas ou de substâncias semelhantes a antibióticos "Antibiotic Like-Substances" (GEISMANN, 1963 *apud* GONÇALVES *et al.*, 2005). Geralmente os compostos isolados de plantas apresentam estrutura química, com raras exceções, bastante diferentes das dos antibióticos derivados de microrganismos e podem agir como reguladores do metabolismo intermediário, ativando ou bloqueando reações enzimáticas, afetando diretamente uma síntese enzimática seja em nível nuclear ou ribossomal, ou mesmo alterando estruturas de membranas (SINGH & SHUKLA, 1984 *apud* GONÇALVES *et al.*, 2005).

Existe uma grande diversidade de plantas no planeta aonde a maioria não é conhecida do ponto de vista científico, são entre 250-500 mil espécies, só no Brasil são mais de 55 mil (CALIXTO, 2000). Essa diversidade na flora nacional garante uma abundante fonte de constituintes químicos variados, os quais poderão ser úteis para obtenção de fitofármacos, beneficiando, assim, a área de saúde da nação que atualmente se encontra em crise.

Myrcia DC., um dos mais importantes gêneros da família Myrtaceae, possui espécies que são empregadas na medicina popular (CRUZ & KAPLAN, 2004). A maioria das investigações realizadas com esse gênero está voltada para obtenção e análise da composição química de óleo essencial. Poucos são os estudos químicos que descrevem o isolamento de constituintes não voláteis de plantas de *Myrcia* ssp., nesses trabalhos, geralmente, os metabólitos especiais obtidos pertencem as classes dos triterpenos e flavonoides, destacando-se os flavonóides C-metilados. Além disso, estudos relatam atividades biológicas de fitoquímicos obtidos desse gênero (GOTTLIEB *et al.*, 1972; CERQUEIRA, 2002; MATSUDA *et al.*, 2002; LIMBERGER *et al.*, 2004; SILVA, 2007; TENORIO *et al.*, 2011; ANDRADE *et al.*, 2012).

Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae), a exemplo de outras plantas do gênero, tem uso popular, principalmente como antisséptico e antimicrobiano. Vários trabalhos relatam que o óleo essencial de suas folhas, rico no monoterpene timol, apresenta propriedades biocidas frente a uma grande variedade de invertebrados (LACOSTE *et al.*, 1996; COSTA *et al.*, 2005; CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007; DE MEDEIROS *et al.*, 2011).

Considerando as potencialidades apresentadas por espécies do gênero *Myrcia* e pela espécie *L. sidoides*, resolveu-se desenvolver o estudo químico de *M. ovata* Cambess. e *L. sidoides* e avaliar a atividade de óleos essenciais de folhas destas espécies e dos monoterpene timol e carvacrol no controle de artrópodes, visando, desta forma, contribuir para o conhecimento químico e biológico dos gêneros *Myrcia* e *Lippia*. Os produtos naturais investigados neste estudo que se mostrarem eficazes contra diferentes espécies de insetos e carrapatos, poderão servir como protótipos para desenvolvimento de pesticidas menos tóxicos e ecologicamente mais seguros.

2. OBJETIVOS

- Purificar, isolar e identificar estruturalmente metabólitos secundários de *Myrcia ovata* Cambess. (Myrtaceae);
- Preparar derivados de substâncias isoladas em quantidade suficiente e fazer análise de dados espectrométricos;
- Fazer a completa atribuição dos dados espectrométricos de constituintes químicos obtidos;
- Extrair os óleos essenciais de folhas de *M. ovata* e de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae), quantificar e identificar os seus constituintes;
- Avaliar a atividade antioxidante de extratos de *M. ovata* e de frações obtidas a partir destes, visando à identificação de princípios ativos da espécie estudada;
- Investigar os efeitos dos óleos essenciais obtidos no controle de artrópodes.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Generalidades sobre a Família Myrtaceae e o Gênero *Myrcia*

A família Myrtaceae compreende cerca de 130 gêneros, com aproximadamente 4.000 espécies, possui distribuição predominantemente pantropical e subtropical, concentrada na região neotropical e na Austrália (SOUZA & LORENZI, 2005). Myrtaceae constitui uma das mais importantes famílias de Angiospermae no Brasil constando de uma única tribo, Myrtae e três subtribos Myrciinae, Eugeniinae e Myrtinae com 23 gêneros e cerca de 1000 espécies (LANDRUM & KAWASAKI, 1997).

Na flora brasileira, as Myrtaceae aparecem entre as famílias mais comuns na maioria das formações vegetais, como a Mata Atlântica e a Floresta da Restinga, onde espécies de *Eugenia*, *Marlierea*, *Gomidesia* e *Myrcia* e outros gêneros são muito comuns. Do ponto de vista econômico, as espécies desta família podem ser utilizadas como ornamentais (*Melaleuca leucadendra*), especiarias (*Syzygium aromaticum*) e matéria-prima para fabricação de produtos de limpeza e aromatizantes (*Eucalyptus citriodora*) (SOUZA & LORENZI, 2005). Na medicina popular do Brasil, espécies desta família podem ser empregadas principalmente como antidiarréicas, adstringentes, antiinflamatórias e no tratamento de úlceras crônicas, hemorragias, febre, cistite e uretrite (CRUZ & KAPLAN, 2004).

As plantas da família Myrtaceae são lenhosas, arbutivas ou arbóreas, com folhas inteiras, de disposição alterna ou oposta e às vezes oposta cruzada, com estípulas muito pequenas e pontos translúcidos e opacos, os quais também podem ser identificados nos botões florais, flores, frutos, testa de sementes e até mesmo em embriões. Esses pontos são definidos pela anatomia vegetal como cavidades secretoras de óleo essencial. Suas flores são em geral brancas ou às vezes vermelhas, efêmeras, hermafroditas, de simetrias radial (JOLY, 1998; FONTENELLE *et al.*, 1994).

De acordo com Simões e Spitzer (2010), Myrtaceae é uma das famílias mais importantes de Angiospermas em termos de produção de óleos essenciais.

O gênero *Myrcia* DC. pertence à subtribo Myrciinae e é um dos maiores gêneros americanos de Myrtaceae sendo formado por mais de 300 espécies (CRONQUIST, 1981; BARROSO, 1991). Algumas plantas deste gênero são utilizadas na medicina popular, destacando-se *M. multiflora* (Lam.) DC. (pedra-ume-caá), utilizada como hipoglicemiante na forma de infuso ou decocto (BRITO & LANETTI, 1996). As espécies deste gênero apresentam panículas mircioides, constituídas de ramos apostos decussados (em forma de cruz) ou verticilados (inseridas em um só nó caulinar), sendo os inferiores geralmente mais longos, eretos ou patentes. Suas flores geralmente se dispõem em grupos de três em três, todas sésseis ou com pedicelo curto. Apresentam hispânico mais ou menos desenvolvido, formado pela parede do receptáculo floral que pode ser campanulado, afunilado, globoso, anguloso ou liso, prolongado ou não acima do ovário (BARROSO, 1991).

Espécies *Myrcia* têm sido objeto de estudos do ponto de vista químico e farmacológico. Abaixo são relatados os resultados registrados na literatura sobre pesquisas fitoquímicas e de atividades biológicas realizados com espécies desse gênero.

Estudos farmacológicos demonstraram atividade de extratos de folhas de *M. fallax* (Rich.) DC. frente a células cancerígenas tipo KB5 (HECHT, 1981, 1985).

Estudos químicos descreveram a presença do triterpeno β -amirina (1) e da flavona eucaliptina (2) em folhas de *M. citrifolia* (Aubl.) Urb. (Figura 1) (GOTTLIEB *et al.*, 1972).

Pesquisas realizadas com folhas *M. multiflora* revelaram a presença das flavononas mirciacitrinas I (3) e II (4), das acetofenonas mirciafenonas A (5) e B (6) e dos flavonóis miricitrina (7), mearnsitrina (8), quercitrina (9), desmantina-1 (10) e guaijaverina (11), e do

ácido ginkgólico (**12**), sendo verificada, também, atividade antidiabética de (**3**) e (**6**) (Figura 1) (YOSHIKAWA *et al.*, 1998). Posteriormente, foram isolados mirciacitricinas III (**13**), IV (**14**) e V (**15**) os quais também apresentaram a atividade antidiabética (Figura 1) (MATSUDA *et al.*, 2002).

A partição aquosa obtida do extrato metanólico de *M. uniflora* Barb. Rodr. e os flavonóides (**7**) e (**8**) (Figura 1) isolados a partir do mesmo extrato apresentaram *in vitro* alta inibição da tireóide peroxidase (TPO), enzima responsável pela biossíntese de hormônio da tireóide, com valores de CI_{50} de 0,0017% (m/v), 2,88 μ M e 1,97 μ M, respectivamente (FERREIRA *et al.*, 2006).

Do caule de *M. rotundifolia* Berg., foram isolados escaleno (**16**), friedelina (**17**) e o ácido arjunólico (**18**); além disso, foram identificados em mistura os triterpenos ácido betulínico (**19**) e lupenona (**20**) com os esteróides β -sitosterol (**21**) e estigmasterol (**22**); e os triterpenos lupeol (**23**) e (**1**) (Figura 1) (CERQUEIRA, 2002).

Investigação fitoquímica realizada em folhas de *M. guianensis* (Aubl.) DC., levou a obtenção de esteróides: (**21**), estigmast-4-en-3-ona (**24**), 6 β -hidroxi-estigmas-4-en-3-ona (**25**); triterpeno α -amirina (**26**); ácidos fenólicos: (**12**), protocatecuico (**27**), gálico (**28**) e o éster galato de metila (**29**); e éteres graxos: palmitato de metila (**30**), palmitato de etila (**31**), estearato de metila (**32**), estearato de etila (**33**) e miristato de etila (**34**) (Figura 1) (SANTOS, 2005).

Foram analisados os efeitos potenciais alelopáticos de extratos brutos, partições, óleo essencial e de substâncias isoladas obtidas de folhas de *M. guianensis* sobre a germinação e o desenvolvimento da radícula e do hipocótilo das plantas daninhas *Mimosa pudica* (L.) e *Senna obtusifolia* (L.) Irwin & Barneby. (Fabaceae) em pastagens. *M. pudica* mostrou-se mais sensível aos efeitos alelopáticos dos extratos brutos e das partições. O óleo inibiu a germinação de *M. pudica* e estimulou a germinação de *S. obtusifolia*. A atividade alelopática das substâncias isoladas (**27**) e (**28**), (Figura 1) esteve associada à concentração, e a atividade mais intensa foi em 60 ppm (SOUSA FILHO *et al.*, 2006).

Em outro estudo realizado com folhas de *M. guianensis*, resultou no isolamento dos sesquiterpenos 5-(6-metilheptan-2-ona)-biciclo-[3.1.0]-hexan-3-ona (**35**), 6-metil-5-(2-hidroxi-3-cloro-5-metilfenil)heptan-2-ona (**36**), 6-metil-5-(2-hidroxi-5-metilfenil)heptan-2-ona (sesquichamaenol) (**37**) e oplopanona (**38**), além da obtenção de ácido gálico (**28**) e dos flavonóides quercetina (**39**), quercitrina (**9**) e guaijaverina (**11**). Ainda neste trabalho, do caule foram isolados um sesquiterpeno aromático do tipo cadinano, 7-hidroxi-5-isopropil-3,8-dimetil-2-metóxi-1,4-naftoquinona (**40**), os esteróides β -sitosterol (**21**) e seu derivado glicosilado, o daucosterol (**41**), lignana (-)-(8*R*,8'*R*)-9,9'-di-*O*-(*E*)-feruloil-secoisolariciresinol (**42**) e sete triterpenos, sendo eles, ácido maslínico (**43**), ácido estáclico A (**44**) e seu derivado *p*-cumárico, ácido 3 β -*trans-p*-oxicumaroil-2 α ,23,29-triidroxi-olean-12-en-28-oico (**45**), ácido arjunólico (**18**) e os derivados, ácido 3 β -*trans-p*-oxicumaroil-2 α ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico (**46**), ácido 23-*trans-p*-oxicumaroil-2 α ,3 β -diidroxi-olean-12-en-28-oico (**47**) e o ácido 3 β -*trans*-feruloil-2 α ,23-diidroxi-olean-12-en-28-oico (**48**) (FEHLBERG, 2012).

Silva (2007) realizou pesquisa fitoquímica com folhas de *M. hiemalis* Cambess., resultando no isolamento de miricitrina (**7**), daucosterol (**41**), 2'',4''-diidróxi-3'',5''-dimetil-6''-metoxichalcona (**49**), 2'',6''-diidróxi-3''-metil-4''-metoxichalcona (**50**), 2'',3'',4''-triidróxi-5''-metil-6''-metoxichalcona (**51**), 7-hidroxi-6,8-dimetil-5-metoxiflavonona (**52**) e 5,7-diidroxi-6,8-dimetil flavonona (**53**) (Figura 1). Também neste trabalho foram descritos resultados de ensaios biológicos realizados os quais revelaram que a chalcona (**49**) apresentou potente atividade frente à bactéria *Micrococcus luteus* (Schroeter, 1872) Cohn, 1872 (Actinobacteria: Micrococcaceae) (12,5 μ g/mL) e também contra os parasitos *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Protozoa: Kinetoplastida) (CI_{50} = 13,12 μ M) e *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*

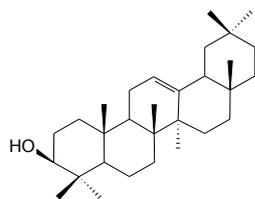
(Lainson e Shaw, 1972) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (100% de inibição a 50 μM), enquanto que **(50)** foi eficiente frente ao *T. cruzi* ($\text{CI}_{50} = 35,95 \mu\text{M}$), e **(52)** apresentou atividade contra as bactérias *M. luteus* (25 $\mu\text{g/mL}$) e *Bacillus subtilis* (Ehrenberg, 1835) Cohn, 1872 (Firmicutes: Bacillaceae) (25 $\mu\text{g/mL}$).

Saldanha (2013a) constatou que o extrato etanólico 70 % de *M. bella* Cambess. possui alta atividade ($\text{IC}_{50} = 8,23 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) no sequestro de radicais livres. Observou-se também que este extrato foi capaz de inibir 69% da germinação das sementes de *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), bem como reduzir 74% do índice de velocidade de sua germinação e diminuir 62% do comprimento médio de suas raízes. Para *Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae), Saldanha (2013a) também verificou que o mesmo extrato afetou o desenvolvimento das raízes e a velocidade da germinação, sendo reduzidos em 71% e 53%, respectivamente.

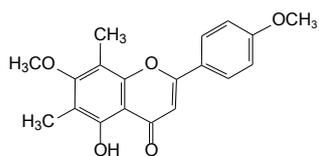
Saldanha e colaboradores (2013b) identificaram 23 compostos fenólicos a partir de extrato etanólico 70 % de folhas de *M. bella*: ácido gálico **(28)**, galato de etila **(54)**, ácido cafeico **(55)**, ácido quínico **(56)**, kaempferol-*O*-hexosídeo **(57)**, kaempferol-*O*-deoxihexosídeo **(58)**, quercetina **(39)**, quercetina-3-*O*- β -*D*-galactopiranosídeo **(59)**, quercetina-3-*O*- β -*D*-rhamnopiranosídeo **(60)**, quercetina-*O*- α -*L*-arabinofuranosídeo **(61)**, quercetina-3-*O*- β -*D*-xilofuranosídeo **(62)**, quercetina-3-*O*- β -*D*-xilopiranosídeo **(63)**, quercetina-*O*-(*O*-galoil)-pentosídeo **(64)**, quercetina-3-*O*-(6''-*O*-galoil)- β -galactopiranosídeo **(65)**, quercetina-*O*-(*O*-galoil)-hexosídeo **(66)**, miricetina **(67)**, miricetina-3-*O*- β -*D*-rhamnopiranosídeo **(7)**, miricetina-3-*O*- β -*D*-galactopiranosídeo **(68)**, miricetina-3-*O*- α -arabinofuranosídeo **(69)**, miricetina-3-*O*- α -arabinopiranosídeo **(70)**, miricetina-*O*-(*O*-galoil)-pentosídeo **(71)**, miricetina-*O*-(*O*-galoil)-hexosídeo **(72)** e miricetina-*O*-(*O*-galoil)-deoxihexosídeo **(73)** (Figura 1).

Em bioensaios de fitotóxicidade, observou-se que dentre os extratos de folhas de *M. tomentosa* Glaz. testados em três diferentes concentrações (0,2; 0,4 e 0,8 mg/mL), o extrato acetato de etila em concentrações mais baixas foi o que inibiu significativamente o alongamento do coleóptilo do trigo numa forma dose-dependente e o que apresentou maior atividade inibitória na raiz de alface, tomate e cebola e no broto de alface e tomate. Ainda neste estudo, as frações F8 e F9, obtidas por cromatografias deste extrato, inibiram significativamente o crescimento do coleóptilo (-84,3% em 0,8 mg/mL ; -73,9% em 0,4 mg/mL e -66,6% em 0,2 mg/mL para F8 e -83,2% em 0,8 mg/mL , -86,8% a 0,4 mg/mL e -68,9% a 0,2 mg/mL para F9). Os elevados efeitos fitotóxicos observados foram associados à presença dos flavonóides juglanina **(74)** e avicularina **(75)** (Figura 1) constituintes majoritários isolados de F8 e F9, respectivamente (IMATOMI *et al.*, 2013).

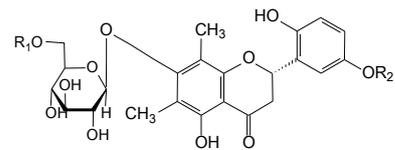
De Cerqueira e colaboradores (2013) descreveram o isolamento de myrciaine **(76)** (Figura 1) a partir de folhas e caule de *M. blanchetiana* (O. Berg) Mattos, este é o segundo alcalóide isolado a partir de uma espécie da família Myrtaceae. Além deste alcaloide, foi obtido das folhas desta espécie o ácido 3 β -acetoxi-olean-18-en-28-oico **(77)** (Figura 1).



(1)



(2)

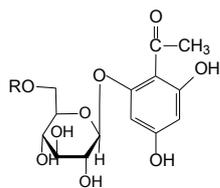


(3) R₁ = R₂ = H

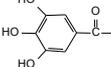
(4) R₁ = H, R₂ = CH₃

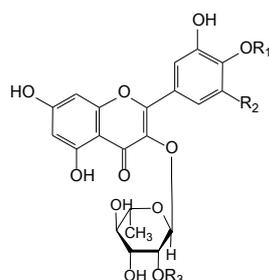
(14) R₁ = , R₂ = H

(15) R₁ = , R₂ = H



(5) R = H

(6) R = 

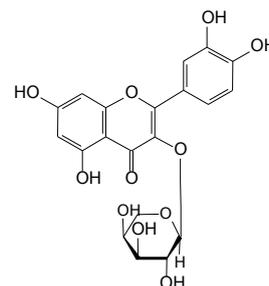


(7) R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = H

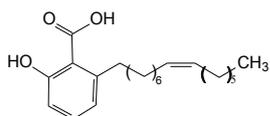
(8) R₁ = CH₃, R₂ = OH, R₃ = H

(9) R₁ = R₂ = R₃ = H

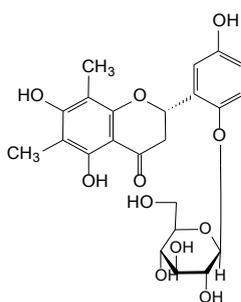
(10) R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = 



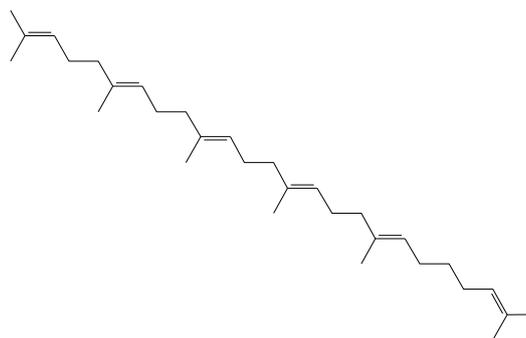
(11)



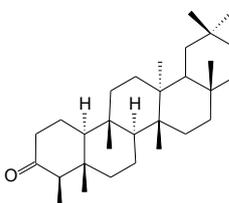
(12)



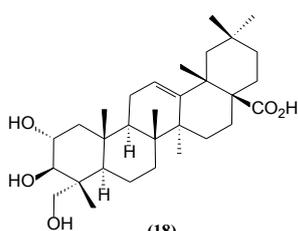
(13)



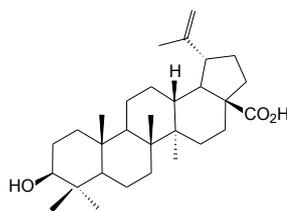
(16)



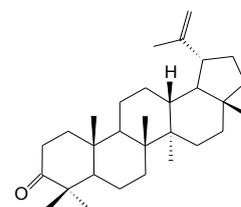
(17)



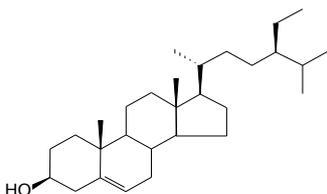
(18)



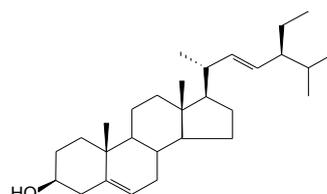
(19)



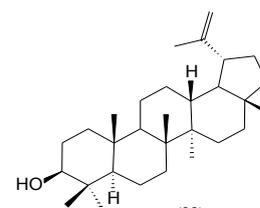
(20)



(21)



(22)



(23)

Figura 1. Fórmulas estruturais de constituintes químicos não voláteis obtidos do gênero *Myrcia*.

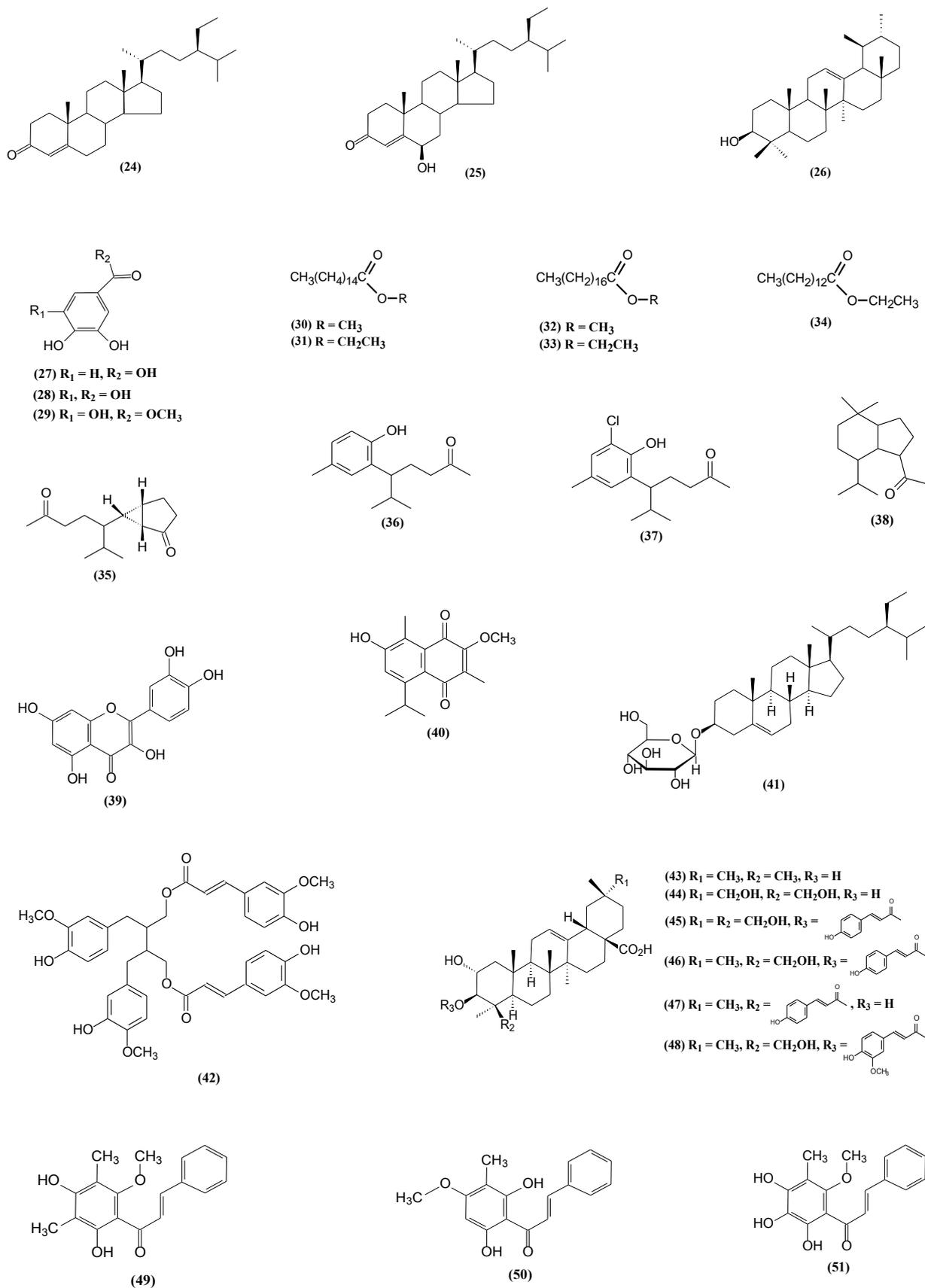


Figura 1. Fórmulas estruturais de constituintes químicos não voláteis obtidos do gênero *Myrcia* (Continuação).

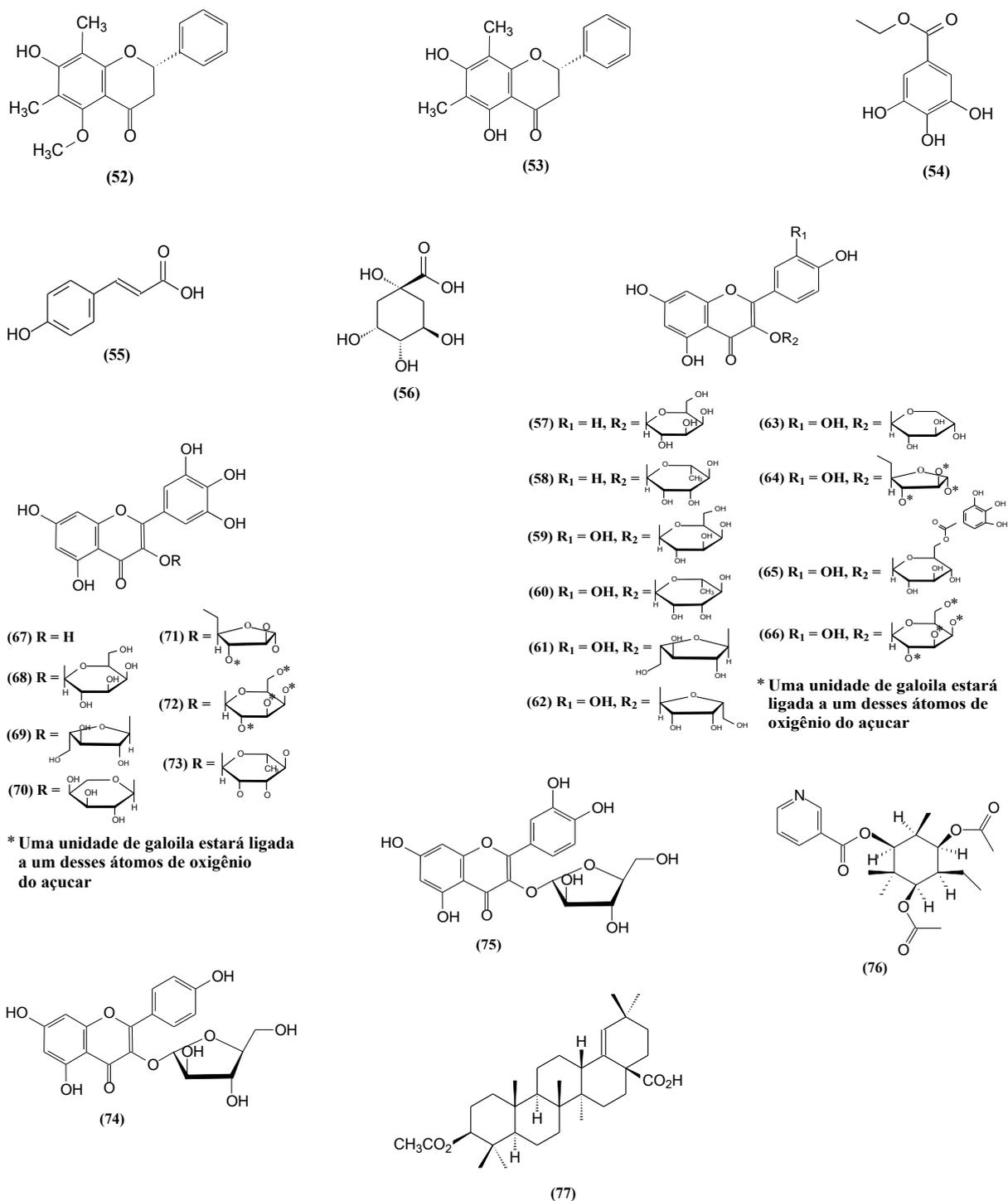


Figura 1. Fórmulas estruturais de constituintes químicos não voláteis obtidos do gênero *Myrcia* (Continuação).

A composição dos óleos essenciais de espécies *Myrcia* é muito semelhante a dos óleos de *Eugenia* ssp. que também é um importante gênero da família Myrtaceae. Ocorre à predominância de sesquiterpenos cíclicos na maior parte das espécies e as demais produzem óleos ricos em monoterpenos. A maioria das pesquisas realizadas com óleos essenciais do gênero *Myrcia* concentra-se na determinação da composição do óleo de folhas e avaliação de atividade antimicrobiana. β -Cariofileno (**81**) e germacreno D (**83**) são os sesquiterpenos mais

comuns nos óleos desse gênero, mas por outro lado, α -pineno (**89**) (Figura 2) foi encontrado em quantidades significativas somente nos óleos essenciais de *M. bombycina* O. Berg e *M. myrtifolia* DC. Compostos alifáticos e aromáticos são raros (STEFANELLO *et al.*, 2011a).

Na Tabela 1, encontram-se listados os constituintes químicos majoritários e atividades biológicas de óleos essenciais obtidos de espécies *Myrcia*, bem como a parte da planta estudada. Enquanto na Figura 2 são apresentadas as fórmulas estruturais desses constituintes.

Tabela 1. Constituintes químicos majoritários e atividades biológicas de óleos essenciais do gênero *Myrcia*.

Espécies	Material botânico estudado	Componentes majoritários	Atividades biológicas	Referência
<i>M. acuminatissima</i> O. Berg	Folhas	Linalol (78)		HENRIQUES <i>et al.</i> , 1997
<i>M. aff. fosteri</i> Croat	Folhas	α -Bisabolol (79) e óxido de bisabolol B (80)	Antibacteriana	TENORIO <i>et al.</i> , 2011
<i>M. alagoensis</i> O. Berg ^a	Folhas	β -Cariofileno (81), (<i>E</i>)- β -farneseno (82), germacreno D (83), germacreno B (84), (<i>E, Z</i>)-farnesol (85) e (<i>E, E</i>)-farnesoato de metila (86)	Antibacteriana e antifúngica	SILVA, 2010
<i>M. alagoensis</i> O. Berg	Folhas	Germacreno B (84) e germacreno D (83)	Antibacteriana	SILVA <i>et al.</i> , 2013
<i>M. arborescens</i> O. Berg	Folhas	Óxido de cariofileno (87) e globulol (88)		LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. bombycina</i> O. Berg	Folhas	α -Pino (89) e β -pino (90)		HENRIQUES <i>et al.</i> , 1997
<i>M. bracteata</i> (Rich.) DC. ^b	Folhas	(<i>E</i>)-Nerolidol (91), (<i>E</i>)- β -farneseno (82) e espatulenol (92)		ZOGHBI <i>et al.</i> , 2003
<i>M. cuprea</i> (O. Berg) Kiaersk ^b	Folhas	Germacreno D (83), β -cariofileno (81) e mirceno (93)		ZOGHBI <i>et al.</i> , 2003
	Folhas	α -Bisabolol (79)		HENRIQUES <i>et al.</i> , 1997
<i>M. fallax</i> (Rich.) DC.	Folhas	Guaiol (94)	Antibacteriana	ALARCÓN <i>et al.</i> , 2009
	Flores	Guaiol (94), aristolona (95)		
<i>M. glabra</i> (O. Berg) D. Legrand.	Folhas	Valerianol (96)		HENRIQUES <i>et al.</i> , 1997
<i>M. guianensis</i> (Aubl.) DC. ^a	Folhas	(<i>E</i>)- β -Faneseno (82), β -bisaboleno (97) e selina-3,7(11)-dieno (98)	Antibacteriana e antifúngica	SILVA, 2010
<i>M. hatschbachii</i> D. Legrand	Folhas	β -Cariofileno (81)		LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. lajeana</i> D. Legrand	Folhas	(<i>E, Z</i>)-Farnesol (85) e γ -muuroleno (99)	Antibacteriana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. laruotteana</i> Cambess.	Folhas	α -Bisabolol (79) e 14-hidroxi- α -muuroleno (100)		STEFANELLO <i>et al.</i> , 2007
	Flores			
<i>M. laruotteana</i> Cambess.	Frutos	α -Bisabolol (79) e óxido de bisabolol B (80)	Antiproliferativa	STEFANELLO <i>et al.</i> , 2011b
<i>M. multiflora</i> (Lam.) DC.	Folhas	Germacreno D (83) e β -cariofileno (84)		HENRIQUES <i>et al.</i> , 1997
	Folhas			
<i>M. myrtifolia</i> DC ^a	Flores	α -Pino (89)		CERQUEIRA <i>et al.</i> , 2007
	Frutos			
<i>M. oblecta</i> (O. Berg) Kiaersk.	Folhas	ar-Curcumeno (101)		LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. oblecta</i> (O. Berg) Kiaersk. var. <i>oblecta</i> ^a	Folhas	α -Terpineol (102) e <i>trans</i> -calameneno (103)		STEFANELLO <i>et al.</i> , 2010
	Flores	Salicilato de metila (104)		
<i>M. oligantha</i> O. Berg	Folhas	δ -Cadineno (105) e espatulenol (92)	Antibacteriana	LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
			Antibacteriana e antifúngica	CÂNDIDO <i>et al.</i> , 2010
<i>M. ovata</i> Cambess.	Folhas	Geranial (106) e neral (107)	Inseticida	LIMA <i>et al.</i> , 2011a

Tabela 1. Componentes majoritários e atividades biológicas de óleos essenciais do gênero *Myrcia* (Continuação).

Espécies	Material botânico estudado	Componentes majoritários	Atividades biológicas	Referência
<i>M. pubiflora</i> DC.	Folhas	Óxido de cariofileno (87) e mustakona (108)	Antiinflamatória e antinociceptiva	ANDRADE <i>et al.</i> , 2012
<i>M. pubipetala</i> Miq	Folhas	β -Cariofileno (81), biciclogermacreno (109), espatulenol (92) e n-heneicosano (110)		LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. richardiana</i> (O. Berg) Kiaersk.	Folhas	β -cariofileno (81) e óxido de cariofileno (87)		LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. rostrata</i> DC.	Folhas	β -Cariofileno (81) e espatulenol (92) Germacreno D (83), germacreno B (84) e carotol (111) ^a	Antibacteriana e antifúngica	LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004 SILVA, 2010
<i>M. salzmannii</i> Berg. ^b	Folhas Flores	β -Cariofileno (81) e α -humuleno (112)		CERQUEIRA <i>et al.</i> , 2009
<i>M. selloii</i> (Spreng.)	Folhas	δ -Cadineno (105), α -cadinol (113) e biciclogermacreno (109)		LIMBERGER <i>et al.</i> , 2004
<i>M. sp. "fuzzy leaf"</i>	Folhas	δ -Elemeno (114) Germacreno D (83) e valerianol (96)	Citotóxica	MORIARITY <i>et al.</i> , 2007 COLE <i>et al.</i> , 2008
<i>M. splendens</i> (Sw.) DC.	Folhas	β -Elemeno (115), α -amorfenol (116) e α -cadinol (113) ^a (<i>Z</i>)- α -Bisaboleno (117)		SOUZA, 2009 NAKAMURA <i>et al.</i> , 2010
	Folhas e talos	Germacreno D (83), β -cariofileno (81) e óxido de cariofileno (87)	Antibacteriana	JIMÉNEZ <i>et al.</i> , 2012
<i>M. sylvatica</i> (G. Mey.) DC. ^b	Folhas	β -Bisaboleno (97), <i>cis</i> -calameneno (118), α -calacoreno (119), espatulenol (92), óxido de cariofileno (87) e selin-11-en-4- α -ol (120)		ZOGHBI <i>et al.</i> , 2003
	Folhas	(<i>E, E</i>)-farnesoato de metila (86) e biciclogermacreno (114)		
<i>M. tomentosa</i> (Aubl.) DC. ^a	Casca do caule	Ácido hexadecanóico (121)		SÁ <i>et al.</i> , 2012
	Flores	(<i>E, E</i>)-farnesoato de metila (86)		

^aVarição sazanol

^bVarição intraespecífica

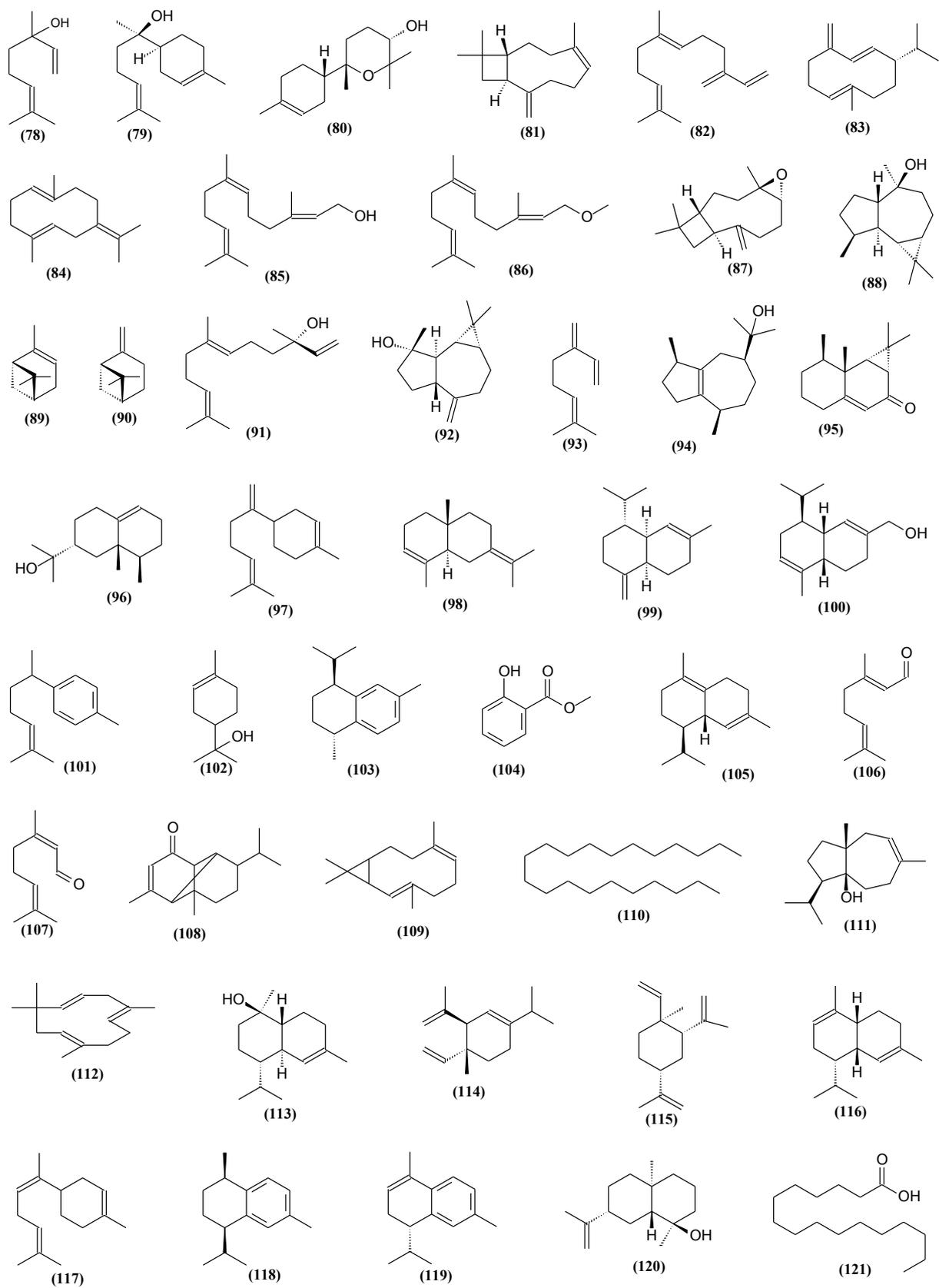


Figura 2. Fórmulas estruturais de constituintes químicos majoritários de óleos essenciais do gênero *Myrcia*.

Existem poucos estudos descritos na literatura sobre obtenção de metabólitos secundários não-voláteis de *Myrcia* ssp., a maioria das investigações estão voltadas para determinação da constituição química de óleos essenciais deste gênero.

3.1.1. Generalidades da espécie *Myrcia ovata* Cambess.

Myrcia ovata Cambess., popularmente conhecida na serra de Guaramiranga - CE como laranjinha do mato ou canelinha, tem suas folhas comumente utilizadas como infusão, na medicina popular, para o tratamento de doenças gástricas e diarreia (CÂNDIDO *et al.*, 2010).

No Brasil esta espécie possui domínio fitogeográfico na Mata Atlântica e é geralmente encontrada nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo (SOBRAL *et al.*, 2010).

3.1.2. Aspectos botânicos da espécie *Myrcia ovata* Cambess.

De acordo com a descrição botânica realizada por Berg (1857), para Flora Brasiliensis de Martius, *Myrcia ovata* Cambess. (Figura 3) é uma árvore de 1,2 -3,0 m de altura, ramos cilíndricos, glabros (sem pelos). Folha pecíolo de 0,4-0,6 cm, lâmina coriácea, glabros, de 3,75 – 7,5 x 2,5 – 3,75 cm, ovada, ápice acuminado, base arredondada, margem resolada, nervação reticulada, nervura marginal e pontuações translúcidas nítidas. Panículas axilares ou subterminais densifloras, 2 bractéolas, decíduas. Cálice coronado, sépalas ovais, ciliadas, desiguais. Pétalas obovado-rotunda, côncavas, extremamente pubérelas. Fruto imaturo esférico, puberelo. Habitat: Rio de Janeiro (restinga e capoeira), floresce em setembro.

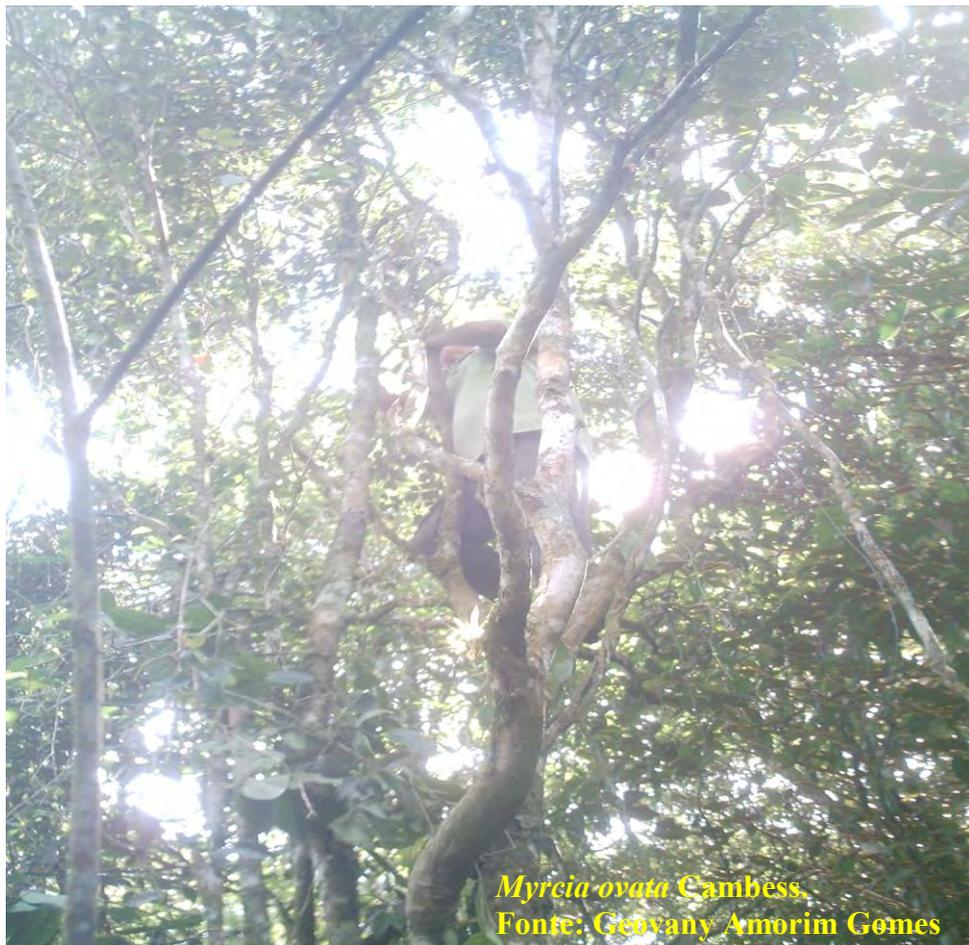


Figura 3. *Myrcia ovata* Cambess.

3.2. Generalidades sobre a Família Verbenaceae e o Gênero *Lippia*

De acordo com Melo e colaboradores (2010), a família Verbenaceae *sensu lato* A.St. Hil. é representada por cerca de 100 gêneros e 2000 espécies, sendo estimadas para o Brasil 296 espécies em 22 gêneros. É uma família cosmopolita, distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do hemisfério Sul com algumas de suas espécies nas zonas temperadas do hemisfério Norte

Verbenaceae inclui árvores, arbustos e ervas (DI STASI & HIRUMA-LIMA., 2002). Possuem folhas opostas ou verticiladas, simples ou compostas, sem estípulas. As flores são monóclinas ou díclinas por aborto, reunidas em inflorescências racemosa ou cimosas, ovário súpero. O fruto é drupáceo ou esquizocárpico, sendo esse último o tipo mais frequentemente encontrado (MELO *et al.*, 2010).

Suas espécies, entre outras aplicações, são utilizadas como ornamentais e por serem produtoras de óleos essenciais, têm uso terapêutico (SANTOS *et al.*, 2009) e são exploradas pela indústria de perfumes (DI STASI & HIRUMA-LIMA., 2002).

Segundo Di Stasi e Hiruma-Lima (2002), *Verbena*, *Stachytarpheta* e *Lippia* são os principais gêneros onde são encontradas espécies medicinais.

Lippia, é o segundo maior gênero da família Verbenaceae, possui aproximadamente 200 espécies, sendo distribuídas nos países das Américas do Sul e Central, como também em territórios da África tropical (GOMES *et al.*, 2011). Cerca de 120 espécies deste gênero são encontradas no Brasil, possuem aspecto chamativo no período da floração e aroma forte e agradável (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Neste país, os principais centros de diversidade

específica desse gênero estão localizados na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais, e na Chapada Diamantina, na Bahia (PIMENTA, 2007).

O gênero *Lippia* pode ser caracterizado por apresentar plantas arbustivas ou subarbustivas, com folhas decussadas, geralmente com indumento glandular, florescências parciais capituliformes ou espiciformes, congestas, axilares, brácteas membranáceas ou cartáceas, verdes ou coloridas, amarelas, róseas ou vináceas, ultrapassando ou não o comprimento das flores; flores sésseis, cálice comprimido, 2-alado, induplicado, membranáceo, inconspícuo, persistente no fruto; corola hipocraterimorfa, alva, rósea, magenta, lilás ou amarelas, tubo reto ou curvo, limbo 4-5 lobado, lábio superior ou adaxial 2-lobado, lábio inferior ou abaxial único, 2 lobos laterais; estames 4; ovário monocarpelar, bilocular, 2-ovulado, estigma lateral. Fruto dividido na maturidade em dois mericarpos (TRONCOSO, 1974).

A maioria das espécies *Lippia* é usada na medicina popular para tratamentos de doenças gastrointestinal e respiratória. Algumas apresentam atividades antimalárica, antiviral e citostática. Além disso, as folhas de muitas destas espécies são utilizadas como tempero para preparações de alimentos (PASCUAL *et al.*, 2001).

Geralmente, as espécies deste gênero apresentam um grande elenco de atividades farmacológicas, principalmente por acumular óleos essenciais em seus tricomas glandulares (MOTA NETO *et al.*, 2010). Isto explica o fato dos estudos químicos deste gênero estar principalmente relacionados com a constituição de óleos e de apenas uns poucos dedicados aos componentes não-voláteis. Neste último caso, a literatura científica reporta a presença de iridóides, considerados marcadores do quimiotaxonômicos de Verbenaceae; flavonoides, sendo as flavonas os mais abundantes em *Lippia*; fenilpropanoides e naftoquinonas (PASCUAL *et al.*, 2001; CATALAN & LAMPASONA, 2002).

Pascual e colaboradores (2001) afirmam que os componentes que foram encontrados com maior frequência em óleos essenciais de *Lippia* são: linalol (78), β -cariofileno (81), α -pineno (89), limoneno (122), *p*-cimeno (123), cânfora (124) e timol (125) (Figura 4). Os mesmos autores declaram ainda que estudos sobre as propriedades farmacológicas deste gênero têm focado sobre os efeitos antimicrobianos, larvicida, antifúngico e anticéptico de seus óleos essenciais.

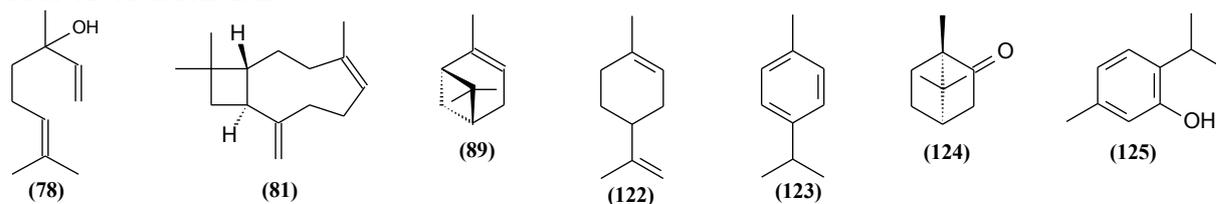


Figura 4. Fórmulas estruturais dos constituintes químicos voláteis encontrados com maior frequência nos óleos essenciais do gênero *Lippia*

3.2.1. Generalidades da espécie *Lippia sidoides* Cham.

Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae) é uma planta aromática, silvestre, encontrada na caatinga do nordeste do Brasil entre Mossoró, RN e Tabuleiro do Norte, CE, ocorrendo também nos estados de Minas Gerais e São Paulo (MATOS & OLIVEIRA, 1997; SOUSA *et al.*, 2004). É conhecida como: alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste, estrepa-cavalo, alecrim-bravo (LORENZI & MATOS, 2008).

Suas folhas são utilizadas como pastilhas para tratamento de dores de garganta e inflamação nas gengivas (SOUSA *et al.*, 2004). A tintura de suas folhas a 20% em álcool etílico é usada para o tratamento de ferimentos na pele e no couro cabeludo, para o tratamento

de acne, sarna infectada, pitíriase versicolor, dermatomicoses, caspa, mau-cheiro nos pés, axilas e virilhas (LORENZI & MATOS, 2008).

Estudos fitoquímicos realizados com esta espécie descrevem a presença de flavonoides, quinonas, triterpenos, lignanas, esteroides livres e glicosilados e ácidos orgânicos (COSTA *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2010).

Além da identificação destes constituintes não voláteis, a literatura relata, também, a obtenção do óleo essencial de folhas de *L. sidoides* que geralmente possui o monoterpene oxigenado timol (**125**) (Figura 4) como constituinte majoritário (CRAVEIRO *et al.*, 1981).

O óleo volátil de *L. sidoides* apresenta um amplo espectro de atividade antibacteriana e antifúngica (LACOSTE *et al.*, 1996; LEMOS *et al.* 1992; AGUIAR & MATOS, 1983; LEMOS *et al.* 1990). Há inclusive informações sobre outras atividades como: leishmanicida, contra *Leishmania amazonensis* (DE MEDEIROS *et al.*, 2011), larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) (Diptera: Culicidae) (COSTA *et al.*, 2005), anti-helmíntica sobre os nematoides *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (Nematoda: Trichostrongylidae), *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802) e *Aspicularis tetráptera* (Schulz, 1924) (Nematoda: Oxyuridae) (CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007), inseticida contra *Tenebrio molitor* (Linnaeus, 1785) (Coleoptera: Tenebrionidae) (LIMA *et al.*, 2011b) e *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) (MACIEL *et al.*, 2009) e, inclusive, acaricida contra *Tetranychus urticae* (Koch, 1836). (Acari: Tetranychidae) (CAVALCANTI *et al.*, 2010).

3.2.2. Aspectos botânicos da espécie *Lippia sidoides* Cham.

A descrição botânica da espécie *L. sidoides* Cham. (Figuras 5 e 6), segundo Lorenzi e Matos (2008), foi feita conforme se transcreve a seguir:

“grande arbusto caducifólio, ereto, muito ramificado e quebradiço, medindo aproximadamente 2-3 m de altura, próprio da vegetação de semiárido nordestino. Folhas muito aromáticas e picantes, simples, pecioladas de 2-3 cm de comprimento. Flores pequenas, esbranquiçadas, reunidas em espigas de eixo curto nas axilas das folhas. Frutos do tipo aquênio extremamente pequenos, cujas sementes raramente germinam.”



Figura 5. Arbustos de *Lippia sidoides* Cham. (FONTENELLE, 2008).



Figura 6. Folhas de *Lippia sidoides* Cham. (FONTENELLE, 2008).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Equipamentos e Reagentes

Foi usado gel de sílica 230 - 400 e 70 – 230 mesh (Vetec) e Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich), como fase estacionária, para cromatografia em coluna. Foram utilizadas cromatoplasmas de alumínio com gel de sílica 60 F₂₅₄ da Merck, para análise em cromatografia de camada delgada analítica (CCDA). As revelações das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foram realizadas através da exposição à irradiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de onda (254 ou 365 nm) e/ou por borrifação com solução vanilina sulfúrica e/ou por exposição a vapores de iodo.

Os solventes empregados durante todo o procedimento experimental foram de grau PA da Vetec Química Fina LTDA e da Merck[®], e foram utilizados sem purificação prévia.

Os monoterpenos carvacrol (98%) e timol (100%), utilizados em ensaio biológico, foram obtidos de empresas Sigma-Aldrich[®] e Vetec Química Fina LTDA, respectivamente.

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Mel–Temp II da Laboratory devices U.S.A., utilizando capilar sem correção dos valores.

A concentração de extratos e frações foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo, Fisatom 802.

A obtenção de óleos essenciais foi realizada no laboratório de Síntese Orgânica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica (DQOI) da Universidade Federal do Ceará (UFC) sob a coordenação da Prof^a. Dra. Gilvandete M. P. Santiago. Os óleos foram obtidos por meio de sistema de hidrodestilação constituído de balão (5 L), manta aquecedora, condensador e doseador (tipo Clevenger).

O desvio da luz polarizada foi obtido em um polarímetro Perkin-Elmer 343.

Os espectros de dicroísmo circular (DC) foram obtidos em espectropolarímetro J815 Circular Dichroism da JASCO.

Os espectros de absorção no infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro FT-IR modelo VERTEX-70 da Bruker com transformada de Fourier, em pastilhas de KBr ou em filmes sobre cela de NaCl.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono-13 (RMN ¹³C), incluindo experimentos em 2D, foram obtidos em aparelhos Brücker, modelos Advance II (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C) e (500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C) existente no Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Os solventes usados foram clorofórmio deuterado (CDCl₃), metanol deuterado (D₃COD), acetona deuterada (D₃CCOCD₃) ou dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆). Como padrão interno foi usado tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos (δ) foram obtidos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) foram medidos em Hertz (Hz).

A análise qualitativa da composição química do óleo essencial OEMO-1 foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (CG/EM Hewlett Packard GC/MS modelo 5971) equipado com coluna capilar de sílica fundida dimetilpolisiloxano (DB-5), com (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm de espessura de filme), usando fluxo de gás hélio a 1 mL/min, com temperatura programada de 4° C/min de 35° a 180 °C e de 10° C/min de 180 a 250° C. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 e 280 °C, respectivamente. Os espectros de massa foram obtidos através da técnica de impacto eletrônico a 70 eV e registrados na faixa de *m/z* 30 – 450.

A análise quantitativa da composição química de OEMO-1 foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a detector de ionização por chama (DIC) usando equipamento Shimadzu CG-17A, utilizando o mesmo tipo de coluna descrito acima, hidrogênio como gás

de arraste (1 mL/min), temperatura programada de 4 °C/min de 35° a 180 °C, e de 17 °C/min de 180 °C a 280 °C, e mantido em isoterma por 10 min, temperatura do injetor e detector de 250 °C. Os resultados da quantificação foram descritos em termos de percentuais relativos e estão condizentes com as alturas dos picos observadas nos cromatogramas obtidos no experimento de CG/EM. A quantificação foi feita correlacionando os picos nos cromatogramas obtidos em CG/EM com aqueles obtidos em CG/DIC por mera inspeção, possibilitando verificar os percentuais relativos destes constituintes através da análise das áreas dos picos fornecidas pelo experimento com DIC. Os picos detectados no experimento CG/DIC e não detectados em CG/EM, e vice-versa, foram excluídos uma vez que não puderam ter suas correlações estabelecidas.

Os componentes individuais foram identificados por comparação de seus espectros de massa EM com os do banco de dados do espectrômetro, usando a biblioteca Wiley L-built e mais outras duas do computador, pesquisas de EM com base em índices de retenção como uma rotina de pré-seleção (ALENCAR *et al.*, 1984, 1990), bem como por comparação visual dos padrões de fragmentação com os relatados na literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenções dos componentes foram calculados por regressão linear. As análises em CG/EM e CG/DIC para OEMO-1 foram executadas na Central Analítica do DQOI/UFC sob a coordenação do Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira.

O óleo essencial OELS-1 teve sua análise qualitativa da composição química efetuada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (CG/EM - Shimadzu QP-2010) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB5-MS, com (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme), usando fluxo de gás hélio a 1 mL/min, com temperatura da coluna programada de 3° C/min de 60° a 290° C. O volume de injeção da amostra foi de 1 µL (modo *split* 1:50). As temperaturas do injetor e detector foram de 260 e 240 °C, respectivamente. Os espectros de massa foram obtidos numa faixa de *m/z* 40 – 700, fornecidos através da técnica de impacto eletrônico a 70 eV.

A análise quantitativa da composição química do óleo foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a detector de ionização por chama (DIC) em equipamento Shimadzu CG-2010, utilizando coluna Optima-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme) de sílica fundida, hidrogênio como gás de arraste (54,0 mL/min), volume de injeção da amostra de 1 µL (modo *split* 1:50), temperaturas do injetor e detector foram de 240 e 300 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 60 °C, seguido de um incremento de 3 °C/min, até atingir 300 °C, sendo mantida constante por 20 min. A percentagem dos constituintes foi calculada através da área de integral de seus respectivos picos, relacionadas com a área total de todos os constituintes da amostra.

Os diversos constituintes químicos de OELS-1 foram identificados através da comparação visual de seus espectros de massas com aqueles existentes na literatura (ADAMS, 2007) e espectros fornecidos pelo banco de dados (NIST21 e NIST107) do equipamento e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles existentes na literatura (ADAMS, 2007). Uma solução padrão de n-alcenos (C9-C30) foi injetada nas mesmas condições cromatográficas da amostra, e utilizada para obter os índices de retenção conforme descrito por Van Den Dool e Kratz (1963).

A análise em CG/EM e CG/DIC para OELS-1 foi realizada no laboratório da Central Analítica do Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro (CA-IPPN-CCS-UFRJ), sob a coordenação do Prof. Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva.

Os óleos essenciais OEMO-2 e OELS-2 foram submetidos à análise quantitativa da composição química em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (CG/EM - Shimadzu QP-2010 Plus) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida Factor Four/VF-5ms, com com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 µm,

usando fluxo de gás hélio a 1 mL/min. A temperatura inicial do forno foi de 35 °C, sendo mantida constante durante 2 min, seguido de um incremento de 4 °C/min a 180 °C, em seguida, 10 °C min⁻¹ a 250 °C, finalizando com uma isoterma de 20 min a 250 °C. O volume de injeção da amostra foi de 1 µL (modo *split* 1:50). A temperatura do injetor e detector foi de 250 °C. Os espectros de massa foram obtidos numa faixa de *m/z* 10 – 300, fornecidos através da técnica de impacto eletrônico a 70 eV.

A análise quantitativa da composição química dos óleos foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a detector de ionização por chama (DIC) em equipamento HP 5890 – Series II, utilizando as mesmas condições operacionais e o mesmo tipo de coluna que foi usada para o CG/EM, com exceção das temperaturas do injetor e detector que foram de 240 e 300 °C, respectivamente. A percentagem dos constituintes foi calculada através da área de integral de seus respectivos picos, relacionadas com a área total de todos os constituintes da amostra.

O método para identificação dos constituintes químicos de OEMO-2 e OELS-2 foi o mesmo utilizado para identificar os compostos de OELS-1, sendo que seus espectros de massas foram comparados com aqueles gerados pelo banco de dados NIST08. As séries de *n*-alcanos utilizada para obter os índices de retenção dos componentes destes óleos foram C9-C20 e C21-C40.

A análise qualitativa dos constituintes não voláteis em CG/EM foi realizada com os mesmos equipamentos e coluna capilar onde foram analisados OEMO-2 e OELS-2. As análises em CG/EM e CG/DIC para OEMO-2, OELS-2 e os constituintes não voláteis foram executadas no Departamento de Química da UFRRJ.

As análises em CL-EM-IES foram realizadas na UFC, no Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste – LEMANOR, em aparelho Shimadzu CL-EM-TOF (225-07100-34) equipado com fonte de ionização de elétron-spray. O LEMANOR tem como coordenadores o Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira e a Prof(a). Dr(a). Otília Deusdênia Loiola Pessoa. Essa mesma análise foi executada na Universidade de São Paulo (USP) de Ribeirão Preto-SP, no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos (NPPNS), em aparelho Bruker Daltonics.

4.2. Identificação da Espécie *Myrcia ovata* Cambess.

O material vegetal, folhas, caule e galhos de *Myrcia ovata*, foi coletado na serra de Guaramiranga-Ce e identificada pelo Prof. Marcos Sobral (Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS). Uma exsicata desta espécie (Nº 039558) (Figua 7) está depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza-Ce.

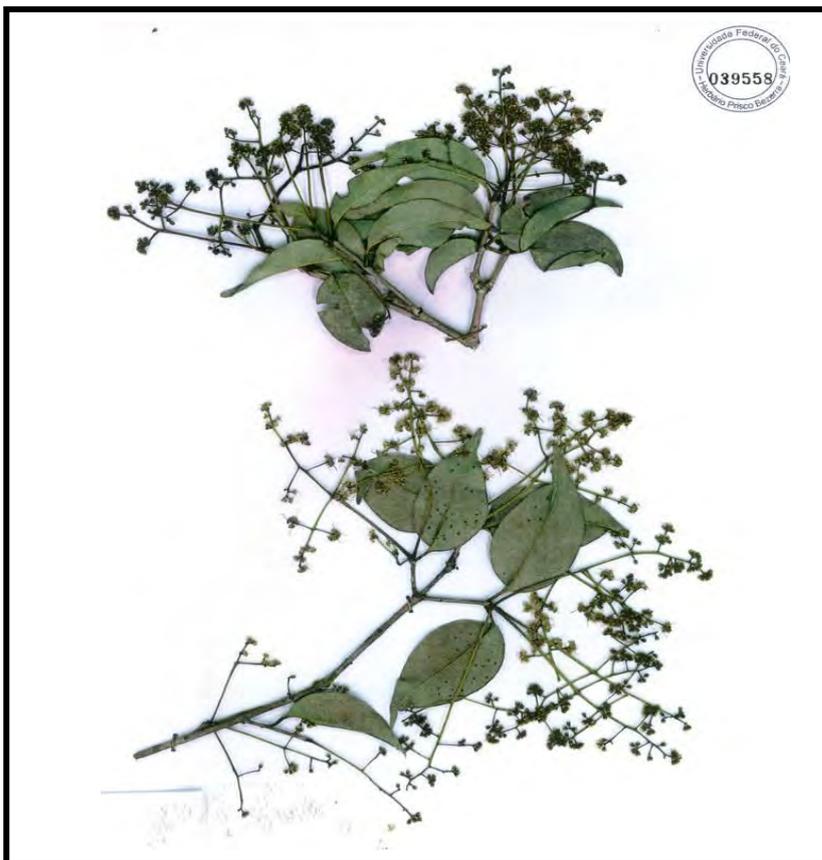


Figura 7. Exsicata de *Myrcia ovata* Cambess.

4.3. Identificação da Espécie *Lippia sidoides* Cham.

Folhas de *Lippia sidoides* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ce. O espécime estudado foi identificado pelo Prof. Edson P. Nunes, Depto. de Biologia (UFC) e a exsicata depositada no Herbário Prisco Bezerra-UFC sob o número 41823.

4.4. Obtenção de Óleos Essenciais de *Myrcia ovata* Cambess. e *Lippia sidoides* Cham.

Folhas frescas (1,0 Kg) de *M. ovata* foram cortadas em pequenos pedaços e hidrodestiladas por 2 horas em aparelho doseador do tipo Clevenger, modificado, obtendo-se óleo essencial que após ser seco com sulfato de sódio anidro e filtrado apresentou rendimento de 0,9 % (m/m). O óleo resultante recebeu a denominação de OEMO-1.

Cerca de 697 g de folhas frescas de *M. ovata*, adquiridas de uma segunda coleta, foi submetida a hidrodestilação utilizando os mesmos procedimentos para obtenção de OEMO-1. O óleo essencial, OEMO-2, foi obtido com rendimento de 0,86% (m/m).

A mesma metodologia foi empregada para obtenção de óleo de *L. sidoides* (OELS-1) a partir de 420 g de folhas frescas. OELS-1 apresentou rendimento de 1,2% (m/m).

Quantidade adicional de óleo essencial de folhas de *L. sidoides* (OELS-2) foi adquirida da empresa PRONAT (Produtos Naturais LTDA, Horizonte-CE, Brasil) que cultiva a planta e obtém o óleo pelo método de arraste a vapor.

Os óleos obtidos foram acondicionados em vidros fechados e mantidos sob refrigeração até a análise (Fluxograma 1).

A aquisição de quantidades adicionais de óleos essenciais de *M. ovata* e *L. sidoides* justifica-se pela necessidade destes materiais para realização de ensaios de atividades biológicas.



Fluxograma 1. Procedimentos experimentais para obtenção de óleos essenciais de folhas de *Myrcia ovata* e de *Lippia sidoides*.

4.5. Obtenção dos Extratos Brutos de *Myrcia ovata*

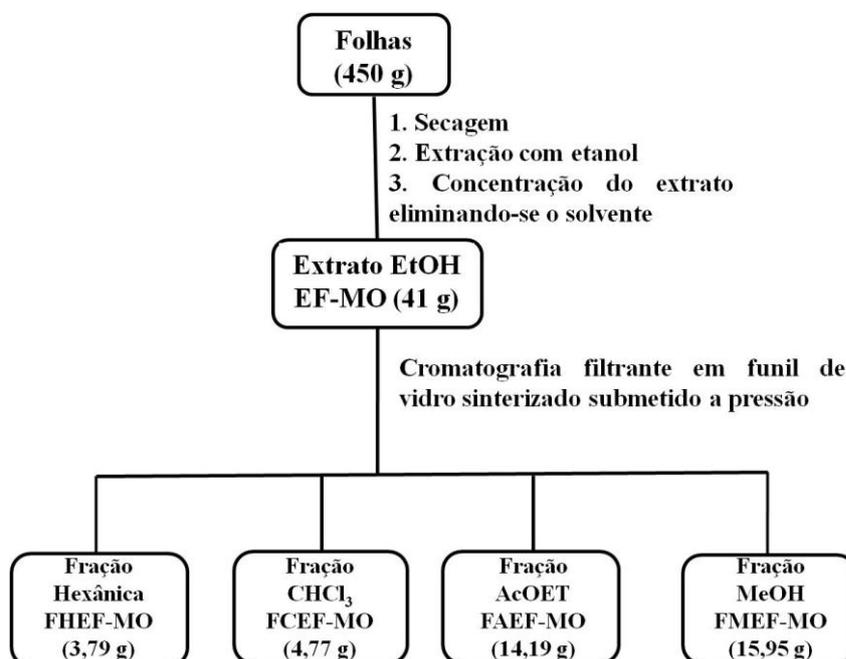
Folhas de *Myrcia ovata* (450 g), secas a temperatura ambiente, foram submetidas à extração através de maceração contínua com etanol bruto a frio. A solução resultante foi filtrada e destilada sob pressão reduzida, obtendo-se 78,10 g de extrato etanólico (EF-MO) com rendimento de 17,35 % (Fluxograma 2). O mesmo procedimento foi realizado com 1590 g de caules e galhos moídos fornecendo 35,50 g de extrato etanólico (ECG-MO) com rendimento de 2,23 % (Fluxograma 8, pág. 34).

4.6. Isolamento e Purificação de Constituintes Químicos Não-voláteis de *Myrcia ovata*

4.6.1. Fracionamento cromatográfico de EF-MO

Uma porção de extrato etanólico de folhas de *M. ovata* (EF-MO) (41 g) foi submetido a cromatografia do tipo filtrante em sílica gel com funil de vidro sinterizado. A eluição aconteceu de forma isocrática, utilizando os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade, resultando em quatro frações, denominadas FHEF-MO (fração hexânica – 3,79 g), FCEF-MO (fração clorofórmica – 4,77 g), FAEF-MO (fração acetato de etila – 14,19 g) e FMEF-MO (fração metanólica – 15,95 g), conforme apresentado no Fluxograma 2. Durante a obtenção de FHEF-MO observou-se a formação de precipitado amarelo o qual foi isolado por filtração e submetido à análise por CCDA. Nas revelações obtidas deste precipitado em cromatoplaça analítica por meio de UV e solução de

vanilina sulfúrica foi observada a formação de uma única mancha. No entanto, a análise do sólido amarelo em CG/EM revelou que o mesmo é constituído por três substâncias.



Fluxograma 2. Obtenção e fracionamento do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* (EF-MO).

4.6.1.1. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO e isolamento das substâncias (126), (127) e (128).

FHEF-MO (3,79 g) foi submetido à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica. Utilizou-se a série eluotrópica constando de hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultando em um total de 520 frações que após análises por CCDA e CG/EM foram reunidas gerando nove novas frações. Nas frações 271-352 observou-se a presença de precipitado. A comparação dos perfis cromatográficos em CCDA (eluente: tolueno/ acetato de etila 39:1 – 3x), análise dos espectros obtidos por CG/EM e purificação em metanol dos precipitados de várias destas frações, forneceram três substâncias isoladas que foram denominadas de (126), (127) e (128) (Fluxograma 3). A partir das frações 278-282 foram obtidos 131,84 mg de (126) (cristais amarelos em forma de agulhas com P.F. 176–178 °C). Das frações 296 e 297 foram isolados 40,68 mg de (127) (cristais cúbicos amarelos com P.F. 166,5-168,2 °C) e das frações 313 a 317 e 319 a 321 isolou-se 67,3 mg de (129) (cristais amarelos em forma de agulhas com P.F. 234-235 °C). Além disso, as análises em CCDA e em CG/EM permitiram detectar nas frações 298-312 as substâncias (127) e (128) em mistura, sendo obtido 232,8 mg deste material (Fluxograma 3).

As frações 271–277 e 283–295 foram selecionadas para serem submetidas a fracionamento cromatográfico, pois a análise em CG/EM mostrou a substância (126) como constituinte majoritário destas frações. Portanto, decidiu-se isolar quantidades adicionais de (126) para preparação de seus derivados.

4.6.1.1.1. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (172–183)

FHEF-MO (17–183) (56,9 mg) foi submetido à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica. Utilizou-se a série eluotrópica constando de hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultando em 85 frações que foram analisadas por CCDA e reunidas em 2 novas frações (Fluxograma 3).

4.6.1.1.1.1. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (172–183)/(32-38)

Com a finalidade do tratamento cromatográfico das frações obtidas no item anterior, realizou-se a cromatografia camada delgada preparativa (CCDP) de 41,6 mg de FHEF-MO (172 – 183)/(32-38) fornecendo três frações, G-1, G-2 e G-3. A análise em CCDA (eluente: hexano/acetato de etila 17:3) de G-2 revelou duas manchas, sendo esta fração separada para posterior fracionamento cromatográfico (Fluxograma 3).

4.6.1.1.1.1.1. Fracionamento cromatográfico de G-2 e isolamento da substância (129)

A fração G-2 (27 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano/diclorometano 1:1 e metanol puro, gerando 15 frações. Através de análise em CCDA (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) as frações de 1 a 3 foram reunidas, fornecendo um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio, que foi denominado **(129)** (17,3 mg, P.F. 240-242 °C) (Fluxograma 3).

4.6.1.1.2. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (203-234) e obtenção das substâncias (130), (131) e (132)

FHEF-MO (203-234) (123,7 mg) foi submetido à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica, sendo eluída com hexano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, fornecendo 264 frações. A comparação dos perfis cromatográficos em CCDA (eluente: hexano/acetato de etila 17:3) permitiu a reunião das frações 53 a 61, fornecendo um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio, constituída de três substâncias e que foram denominadas de **(130)**, **(131)** e **(132)** (21,7 mg) (Fluxograma 3).

4.6.1.1.3. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (271–277) e isolamento da substância (126)

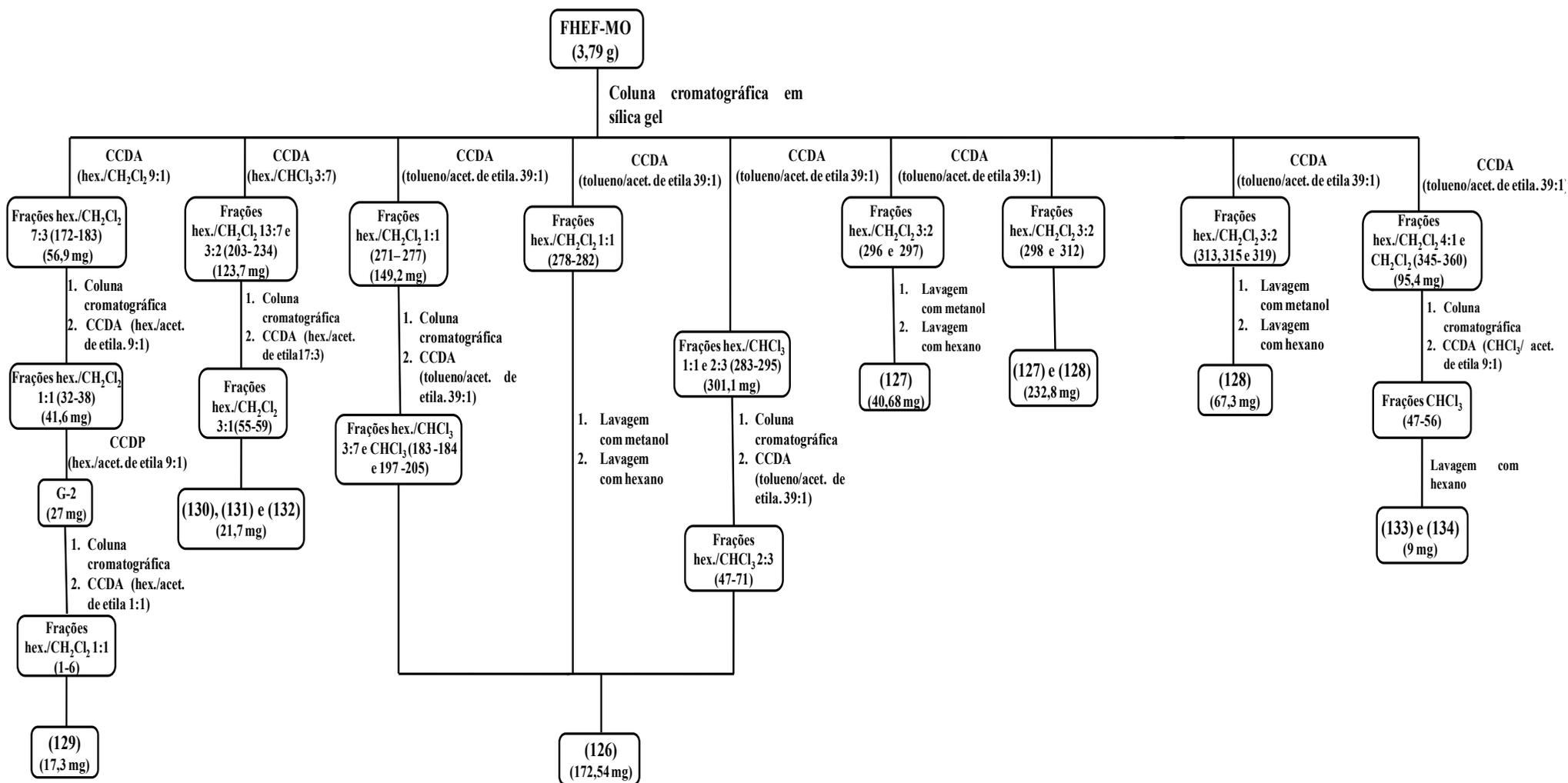
Através da análise de FHEF-MO (271–277) em CG/EM, foi constatado a presença de **(126)** como constituinte majoritário. Esta fração (149,2 mg) foi submetida à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica, com a finalidade de obter quantidades adicionais de **(126)**. Durante o fracionamento, utilizou-se a série eluotrópica hexano, clorofórmio e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultando em 208 frações. Através de análise em CCDA (eluente: tolueno/acetato de etila 39:1 – 3x) e CG/EM as frações 183 e 184, e 197 a 205 foram reunidas, fornecendo 16,5 mg de **(126)**, substância já isolada neste estudo (Fluxograma 3).

4.6.1.1.4. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (283–295) e isolamento da substância (126)

Assim como em FHEF-MO (271–277), a análise de FHEF-MO (283 - 295) em CG/EM revelou a presença da substância **(126)** como componente mais abundante. Em seguida, submeteu-se 301,1 mg desta fração a coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando a série eluotrópica hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes. O fracionamento forneceu 245 subfrações. As análises em CCDA (eluente: tolueno/ acetato de etila 39:1 – 3x) e em CG/EM permitiram a reunião das subfrações 47 a 71 que forneceram 24,2 mg de **(126)**, substância anteriormente isolada neste trabalho (Fluxograma 3).

4.6.1.1.5. Fracionamento cromatográfico de FHEF-MO (345-360) e obtenção das substâncias (133) e (134)

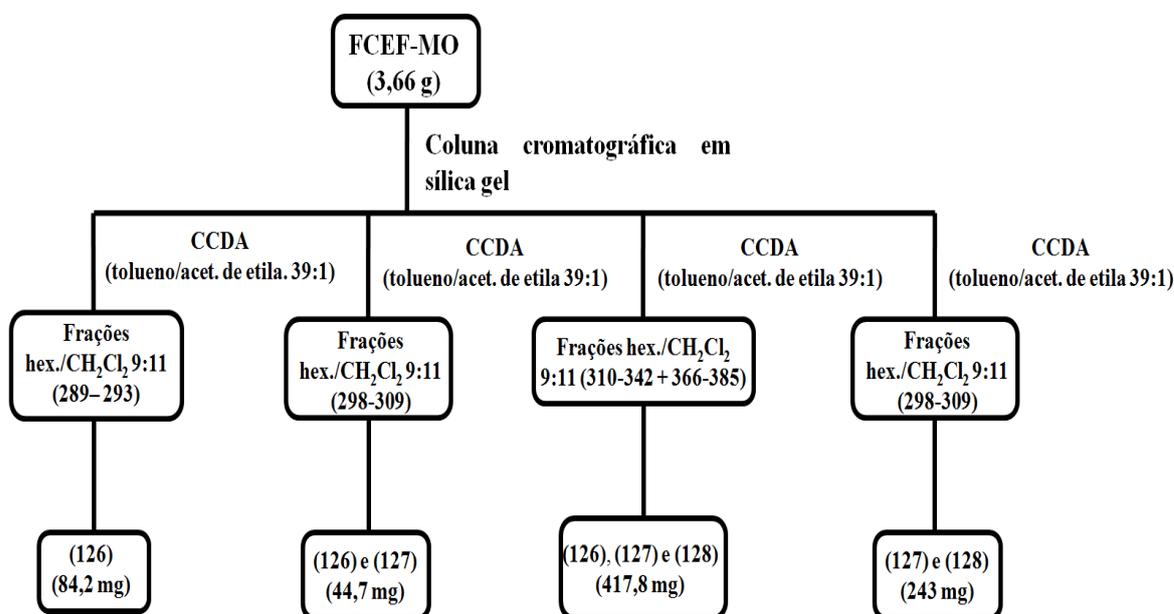
A cromatografia em coluna de sílica gel de FHEF-MO (345-360), 95,4 mg, utilizando a série eluotrópica hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultou em 82 frações. Por análise em CCDA (eluente: clorofórmio/acetato de etila 9:1) as frações 47 a 56 foram reunidas, lavadas com hexano, fornecendo 9 mg de sólido amarelo pálido amorfo, solúvel em clorofórmio, formado por duas substâncias que foram denominadas de **(133)** e **(134)**. O Fluxograma 3 apresenta a obtenção de constituintes químicos a partir de cromatografias sucessivas de FHEF-MO.



Fluxograma 3. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração hexânica obtida do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* (FHEF-MO).

4.6.1.2. Fracionamento cromatográfico de FCEF-MO e obtenção das substâncias (126), (127) e (128)

Uma alíquota de 3,66 g de FCEF-MO foi fracionada em coluna cromatográfica com gel de sílica. Neste processo, utilizou-se a série eluotrópica constando de hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultando em 665 frações. Destas frações, foram selecionadas aquelas ricas em precipitado de coloração amarela que após análise em CCDA (eluente: tolueno/acetato de etila 39:1 – 3x) e CG/EM, foram reunidas fornecendo em quatro novas frações. Da fração 289-293 foram obtidas 84,2 mg da substância (126). A fração 298-309 forneceu 44,7 mg de mistura de (126) e (127), enquanto que da fração 343-365 obteve-se 243 mg da combinação dos compostos (127) e (128). Já a fração (310-342 + 366-385) forneceu 417,9 mg de mistura das substâncias (126), (127) e (128). Todas estas substâncias foram anteriormente isoladas da fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *M. ovata* (FHEF-MO) (Fluxograma 3, pág. 27). O Fluxograma 4 mostra a obtenção de constituintes químicos a partir do fracionamento cromatográfico de FCEF-MO.

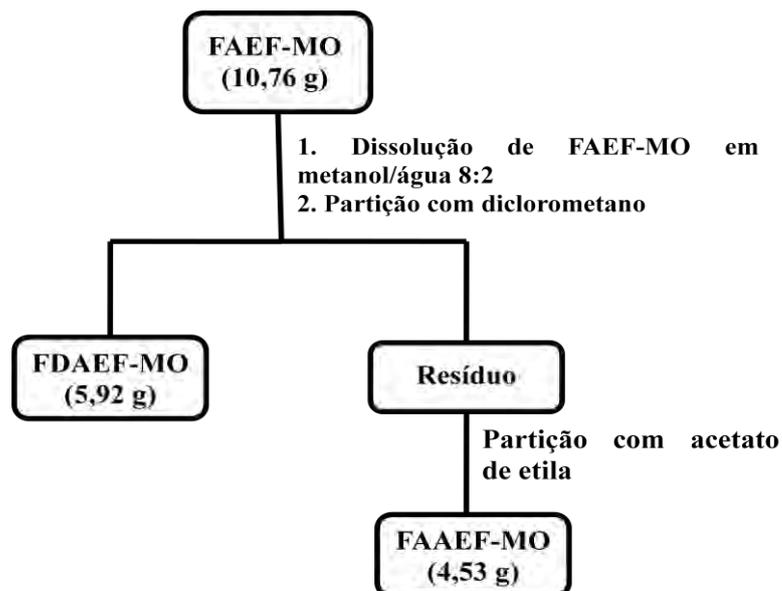


Fluxograma 4. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração clorofórmica obtida do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* (FCEF-MO).

4.6.1.3. Partição de FAEF-MO

Devido à elevada atividade antioxidante apresentada por FAEF-MO em relação aos extratos e as demais frações obtidas de *M. ovata* (Item 6, págs. 163 a 165), essa fração foi escolhida para realização de estudo fitoquímico, visando isolamento e identificação de seus constituintes.

Uma alíquota de FAEF-MO (10,76 g) foi diluída em metanol/água 8:2 e submetida à partição líquido/líquido com solventes resultando nas frações: diclorometano - FDAEF-MO (5,92 g) e acetato de etila FAEF-MO (3,5 g). A evaporação dos solventes foi realizada em evaporador rotatório a 40 °C sob pressão reduzida (Fluxograma 5).



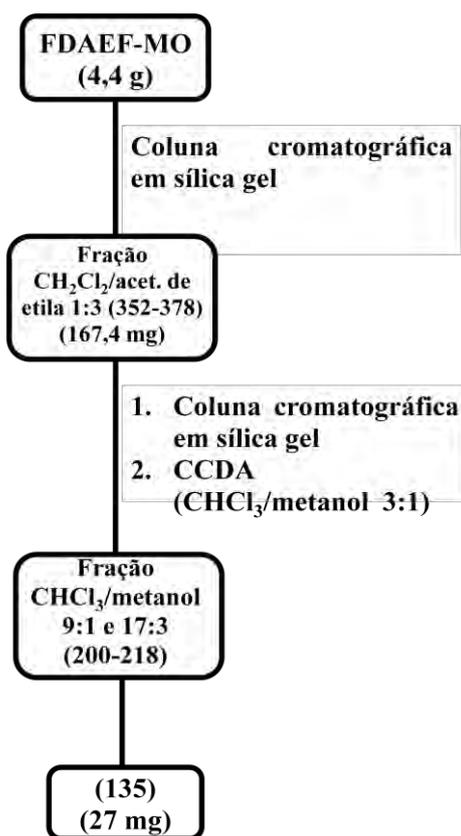
Fluxograma 5. Obtenção das frações diclorometano (FDAEF-MO) e acetato de etila (FAAEF-MO) resultantes da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*.

4.6.1.3.1. Fracionamento cromatográfico de FDAEF-MO

Uma porção de FDAEF-MO (4,4 g) foi submetida à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica. Utilizou-se a série eluotrópica constando de diclorometano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, gerando 554 frações que ao serem analisadas em CCDA e, em seguida, reunidas forneceram 11 subfrações (Fluxograma 6).

4.6.1.3.1.1. Fracionamento cromatográfico de FDAEF-MO (352-378) e obtenção de FDAEF-MO-A e da substância (135)

FDAEF-MO (352-378) (167,4 mg) foi submetido à cromatografia em coluna em gel de sílica, sendo utilizada a mesma série eluotrópica descrita no item anterior, resultando em 319 frações que ao serem analisadas por CCDA, foram reunidas gerando sete subfrações. A fração 200-218 forneceu 27 mg de um sólido amorfo de cor marrom o qual foi denominado (135). Em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 3:1), esta fração quando exposto à irradiação ultravioleta (UV), apresentou somente uma mancha escura e após revelação em solução de vanilina sulfúrica, mostrou uma única mancha de cor laranja. Estas evidências sugeriram a presença de substância fenólica (Fluxograma 6).



Fluxograma 6. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituinte da fração diclorometano obtido da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* (FDAEF-MO).

4.6.1.3.2. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO

Uma alíquota de FAAEF-MO (4,22 g) foi submetida à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica. Utilizou-se a série eluotrópica constando de clorofórmio e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultando em 395 frações que foram analisadas por CCDA e agrupadas em 20 novas subfrações (Fluxograma 7).

As subfrações 28-49, 50-52, 53-65, 95-101, 102-112, 113-119, 120-145 e 146-155 em cromatoplaça analítica forneceram manchas quando reveladas em UV e manchas de cores laranja, amarelo e violeta através de revelação em vanilina sulfúrica, evidenciando a presença de compostos fenólicos.

4.6.1.3.2.1. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (28-49) e obtenção da substância (136)

FAAEF-MO (28-49) (205,1 mg) foi dissolvida em metanol e submetida a cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando-se o mesmo solvente como fase móvel, resultando em 51 frações. As frações 4 a 7, 8 a 9, 10 a 12, 13 a 18, 25 a 26, 27 a 29, 31 a 43 e 44 a 47 foram reunidas por análise em CCDA (Fluxograma 6). Estas frações foram analisadas em CCDA, ao serem expostas à luz ultravioleta (UV) exibiram manchas escuras, e quando reveladas em solução vanilina sulfúrica, apresentaram manchas de cores violeta, amarela e laranja. Estas informações podem evidenciar a presença de substâncias fenólicas nestas frações.

As frações 44 a 47 em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 9:1) além de apresentarem o mesmo perfil cromatográfico, cada qual forneceu somente uma mancha quando expostas aos reveladores UV e vanilina sulfúrica, posteriormente, a reunião destas resultou em 15 mg de um sólido amorfo de cor laranja, solúvel metanol, com faixa de fusão 276-278 °C, denominado **(136)** (Fluxograma 7).

4.6.1.3.2.2. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (53-65) e obtenção das substâncias (136) e (137)

FAAEF-MO (53-65) (578,8 mg) foi dissolvida em metanol e submetida à cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando-se o mesmo solvente como fase móvel, resultando em 55 frações. As frações 1 a 5, 6 a 7, 12 a 15, 16 a 18, 19 a 22, 23 a 27, 28 a 31, 39 a 44 e 45 a 46 foram reunidas por análise em CCDA (Fluxograma 6). Estas frações foram analisadas em CCDA, ao serem expostas à luz UV exibiram manchas escuras, e quando reveladas em solução vanilina sulfúrica, apresentaram manchas de cores violeta, amarela e laranja. Estes dados podem evidenciar a presença de substâncias fenólicas nestas frações.

As frações 19 a 22 em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 4:1) apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, cada uma gerou uma série de manchas que foram observadas após revelação em UV e vanilina sulfúrica, sendo uma delas de maior tamanho, evidenciando um mesmo constituinte majoritário em cada fração que apresentou mancha de coloração violeta depois da aplicação do segundo revelador. Estas frações depois de reunidas forneceram 23 mg de um sólido de cor marrom claro, solúvel em metanol, denominado **(137)** (Fluxograma 6).

A fração 39-44 forneceu 7 mg de um sólido amorfo de cor laranja, por análise em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 9:1) concluiu-se que este material era a substância **(136)**, pois ambos mostraram ter o mesmo *R_f* e o mesmo aspecto quando submetidos aos reveladores. O composto **(136)** foi obtido anteriormente da fração FAAEF-MO (28-49) (Fluxograma 7).

4.6.1.3.2.3. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (102-112) e obtenção da substância (138)

FAAEF-MO (102-112) (369,8 mg) foi solubilizado em clorofórmio/metanol (1:1) e submetido à cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando-se o mesmo sistema de solventes como fase móvel, resultando em 40 frações. As frações 7 a 10, 13 a 15 e 18 a 19 foram reunidas por análise em CCDA (Fluxograma 6). Estas frações em CCDA, quando expostas à irradiação ultravioleta (UV), apresentaram manchas escuras, e quando reveladas em solução vanilina sulfúrica, apresentaram manchas de cores violeta e laranja. Estes dados podem evidenciar a presença de substâncias fenólicas nestas frações.

A fração 16 foi recristalizada em acetato de etila/metanol (9:1), a água mãe resultante forneceu 16 mg de um sólido castanho em forma de agulhas, solúvel em metanol, com faixa de fusão 164-166 °C, denominado **(138)** (Fluxograma 7). Este material foi submetido à análise em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 3:1), ao ser exposto à luz UV, apresentou somente uma mancha escura, e quando revelado em solução vanilina sulfúrica, exibiu uma única mancha de cor laranja. Estes resultados podem evidenciar a presença de substância fenólica nesta fração.

4.6.1.3.2.4. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (120-145)

FAAEF-MO (120-145) (305,4 mg) foi solubilizado em metanol e submetido à cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando-se o mesmo solvente como fase móvel, resultando em 63 frações. As frações 8 a 9, 10 a 12, 13 a 15, 17 a 19, 21 a 22, 23 a 25, 26 a 36 e 40 a 44 foram reunidas por análise em CCDA (Fluxograma 6). Estas frações em CCDA, quando submetidas aos métodos de revelação já mencionados também mostraram evidências que podem estar associadas a presença de substâncias fenólicas.

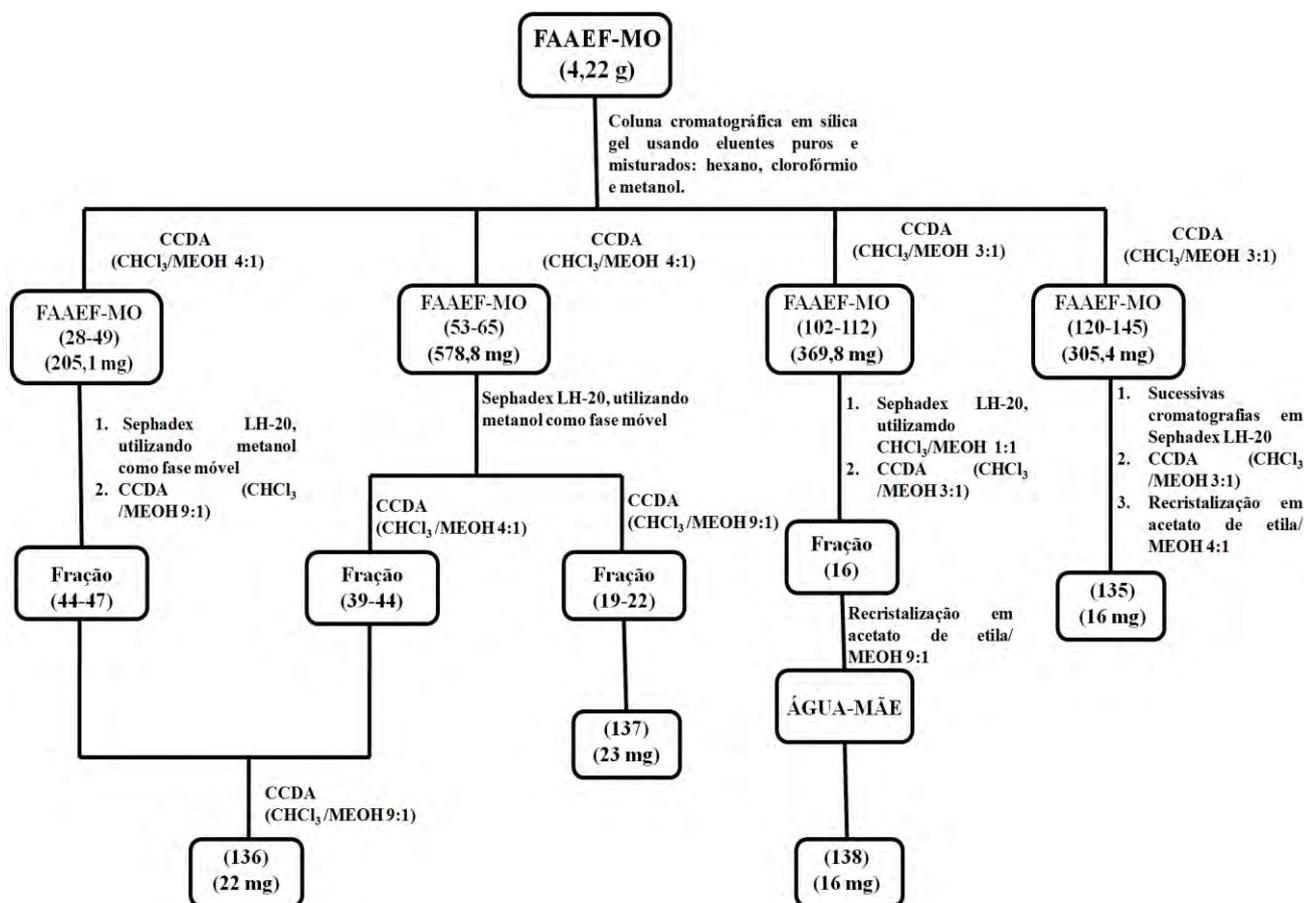
A frações 17-19 e 20 foram lavadas com acetona, em seguida, o precipitado obtido primeira fração - FAAEF-MO (120-145)/(17-19) - foi submetido a coluna cromatográfica em Sephadex. As águas-mãe resultantes das lavagens e a fração 21-22 foram reunidas após análise em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 3:1) (Fluxograma 7).

4.6.1.3.2.4.1. Fracionamento cromatográfico de FAAEF-MO (120-145)/(17-19)

FAAEF-MO (120-145)/(17-19) (32,5 mg) foi solubilizado em metanol e submetido à cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando-se o mesmo solvente como fase móvel, resultando em 18 frações. Através de análise em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 3:1) as frações 9 a 12 e o precipitado resultante da lavagem de FAAEF-MO (120-145)/(20) foram reunidos fornecendo a fração SPAAEF-MO-A (Fluxograma 7).

4.6.1.3.2.4.1.1. Fracionamento cromatográfico de SPAAEF-MO-A e obtenção da substância (135)

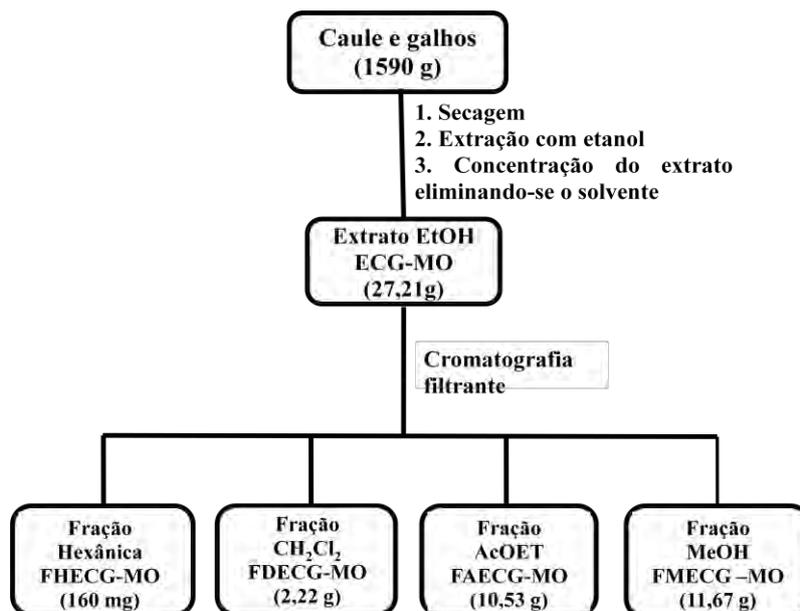
SPAAEF-MO-A (29 mg) foi solubilizado em metanol e submetido à cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando-se o mesmo solvente como fase móvel, resultando em 24 frações. As frações 8 a 10 foram reunidas por análise em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 3:1), em seguida foi recristalizada em acetato de etila/metanol 4:1 fornecendo 16 mg de um sólido amorfo de cor castanho claro (Fluxograma 7). Em CCDA (eluente: clorofórmio/metanol 3:1), frente ao UV esta substância apresentou-se como uma única mancha escura e quando submetido à revelação por vanilina sulfúrica, forneceu somente uma mancha de coloração laranja. A análise de dados espectrométricos deste composto permitiu identificá-lo como **(135)**, substância anteriormente obtida neste estudo conforme apresentado no Fluxograma 6 (pág. 30).



Fluxograma 7. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração acetato de etila obtido da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* (FAAEF-MO).

4.6.2. Fracionamento cromatográfico de ECG -MO

Uma porção de extrato etanólico de caules e galhos de *M. ovata* (ECG-MO) (27,21 g) foi submetida ao processo de desadsorção escalonada (coluna filtrante) em sílica gel, procedendo-se eluições sucessivas com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, resultando em quatro frações, denominadas FHECG-MO (fração hexânica – 160 mg), FDECG-MO (fração diclorometano – 2,22 g), FAECG-MO (fração acetato de etila – 10,53 g) e FMECG-MO (fração metanólica – 11,67 g), conforme apresentado no Fluxograma 8.



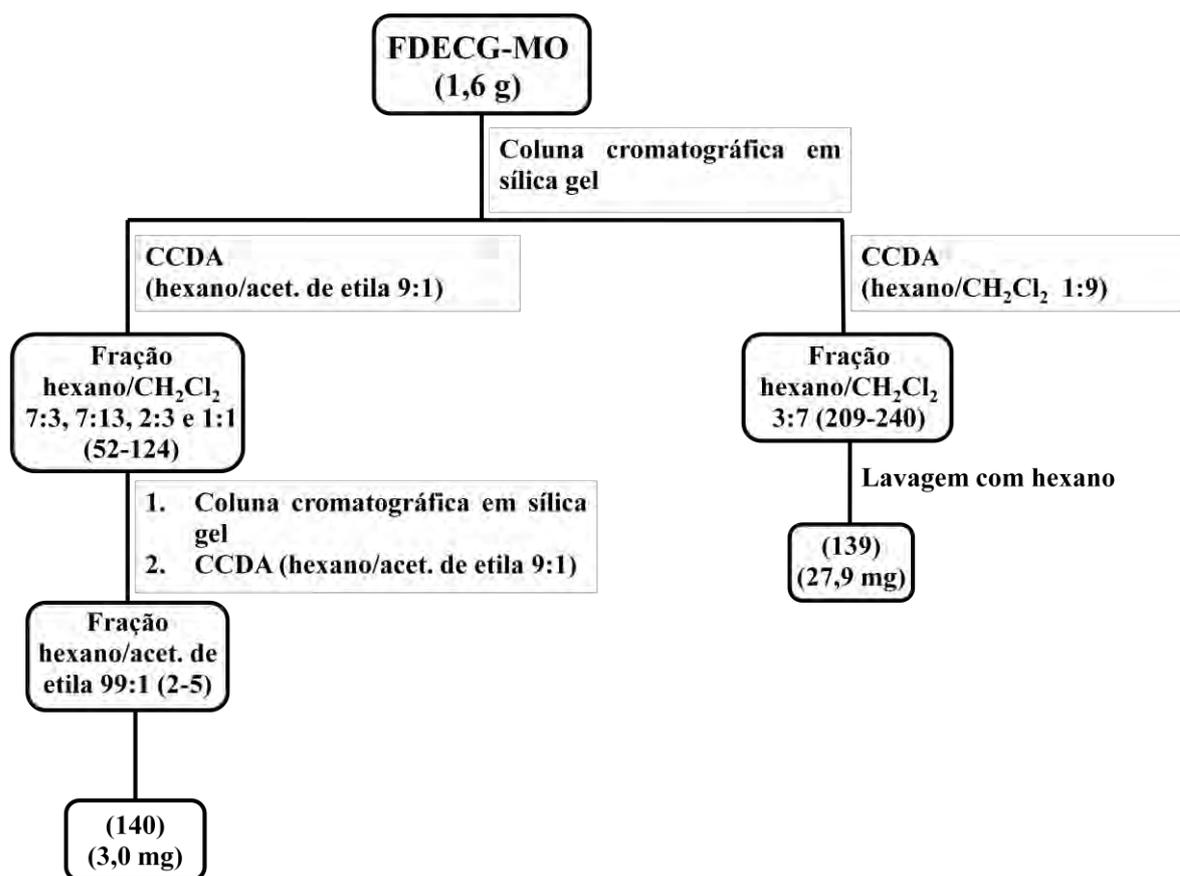
Fluxograma 8. Obtenção de extrato etanólico (ECG-MO) e das frações hexânica (FHECG-MO), diclorometano (FDECG-MO), acetato de etila (FAECG-MO) e metanólica (FMECG-MO) a partir de caule e galhos de *Myrcia ovata*.

4.6.2.1. Fracionamento cromatográfico de FDECG-MO e obtenção da substância (139)

Uma alíquota de FDECG-MO (1,6 g) foi submetida à cromatografia em coluna empacotada com gel de sílica. Utilizou-se a série eluotrópica constando de hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, fornecendo em 567 frações, sendo, posteriormente, analisadas por CCDA e reunidas em trinta e nove novas frações.. A comparação dos perfis cromatográficos em CCDA (hexano/diclorometano 1:9) permitiu a reunião das frações 209 a 240. A fração resultante foi lavada com hexano, fornecendo 27,9 mg de um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio, com faixa de fusão 136-138 °C denominado **(139)** (Fluxograma 8). As frações 52 a 125 em CCDA (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) quando submetidos à revelação em luz UV apresentaram uma mancha fluorescente intensa com os mesmos *R_f* e aspecto. Posteriormente, estas frações foram reunidas e a fração resultante selecionada para fracionamento cromatográfico.

4.6.2.1.1. Fracionamento cromatográfico de FDECG-MO (52-124) e obtenção da substância (140)

A cromatografia em coluna de sílica gel de FDECG-MO (52-124), 36,2 mg, utilizando hexano e acetato de etila puros e em misturas binárias com polaridades crescentes, resultou em 42 frações. Por análise em CCDA (eluente: hexano/acetato de etila 9:1) as frações 2 a 5 foram reunidas fornecendo 3,0 mg de óleo de cor amarela, solúvel em clorofórmio, denominado **(140)**. O Fluxograma 9 mostra a obtenção de constituintes químicos a partir de cromatografias sucessivas de FDECG-MO.



Fluxograma 9. Esquema geral de fracionamento e isolamento de constituintes da fração diclorometano obtido do extrato etanólico de caule e galhos de *Myrcia ovata* (FDECG-MO).

4.7. Derivatização

4.7.1 Reação com iodo e obtenção de (143)

O composto **(126)** (50,3 mg, 0,178 mmol), foi solubilizado em 50 mL de metanol, misturado com KOH (36,6 mg), sob agitação contínua, a esta mistura adicionou-se iodo em excesso (63,4 mg) e em pequenas porções. A solução foi mantida à temperatura ambiente sob agitação durante 3 h. Alíquotas da mistura reacional foram periodicamente analisadas por CCDA até completa reação. O solvente foi removido sob pressão reduzida e, em seguida, adicionou-se diclorometano (30 mL) e realizou-se extração com água (3 x 50 mL). A mistura obtida, após eliminação do solvente, foi analisada em CCDA e em seguida lavada com metanol fornecendo 53,5 mg de um sólido amarelo, solúvel em diclorometano, com faixa de fusão 209-212 °C, denominado **(143)**.

4.8. Ensaios Químico e Biológicos

4.8.1. Ensaio para avaliação de atividade antioxidante

A metodologia utilizada no teste de atividade antioxidante foi a do seqüestro de radicais livres, semelhante à descrita por Hegazi e Abd El Hady (2002), onde o radical utilizado foi o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) na concentração de 60 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Amostras de extratos, frações e óleo essencial (OEMO-1), obtidas de *M. ovata*, nas concentrações de

0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 e 1,0 mg/mL foram dissolvidas em metanol e 1,0 mL de cada amostra foi adicionada a uma solução metanólica de DPPH (1,0 mL), na concentração de 60 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Foram realizadas medidas de absorbância na faixa de 520 nm em espectrofotômetro de UV-VIS VARIAN Cary, após 30 min. a porcentagem de inibição foi obtida por comparação da absorção da solução contendo amostra, em relação a uma solução controle de DPPH sem amostra.

Porcentagem de inibição = $(1 - \text{Abs. da amostra}/\text{Abs. do DPPH}) \times 100$

Após o cálculo, foi construído um gráfico de porcentagem de inibição versus a concentração. Para o cálculo do CE_{50} foi utilizada a equação da reta, substituindo o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH.

O teste foi realizado em triplicatas. Como padrões positivos de referência utilizaram-se Trolox (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) e Vitamínica-C (ácido ascórbico), adquiridos da Sigma Aldrich. O teste foi realizado no Laboratório de Biotransformações e Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, coordenado pela Prof^a. Telma Leda Gomes de Lemos. Este teste foi realizado por Macia Cleane Soares de Almeida no Laboratório de Biotransformações e Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC.

4.8.2. Ensaio para avaliação de atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

O óleo essencial OEMO-1 foi submetido a ensaio frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Neste teste, alíquotas da amostra (10 a 1 mg), foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (0,3 mL), posteriormente, este volume foi completado com água para 20 mL. A estas soluções foram adicionadas 50 larvas de estágio 3 (GADELHA & TODA, 1985). Paralelamente foram executados testes em branco, utilizando água e DMSO 1,5% (v/v) (controle negativo). Como controle positivo do teste foi utilizado Temephos®, um inseticida sintético. Os bioensaios foram realizados em triplicata.

Após 24 horas, foram contadas as larvas vivas e as mortas e calculada a CL_{50} (concentração de um composto necessária para produzir um efeito letal em 50% da população da espécie testada).

O teste de atividade larvicida foi realizado em parceria com o Laboratório de Entomologia do Núcleo de Endemias da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (NUEND), Fortaleza-CE, sob a coordenação da Prof^a. Gilvandete M. P. Santiago.

4.8.3. Ensaios para avaliação de atividade inseticida frente à *Rhodnius prolixus*

4.8.3.1. Obtenção dos insetos

Para os testes de atividade ninficida foram utilizadas ninfas do quarto estágio de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae) provenientes de colônia mantida em condições controladas de temperatura e umidade ($27^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $65\% \pm 5$) (GARCIA *et al.*, 1975) e alimentadas periodicamente com sangue desfibrinado de coelho, em sistema artificial de membrana (AZAMBUJA *et al.*, 1997). As ninfas foram coletadas randomicamente após a muda e mantidas em jejum por 15 a 20 dias. Já para os testes de atividade ovicida utilizaram-se ovos de *R. prolixus* coletados cinco dias após a oviposição e selecionados de acordo com a cor vermelha característica.

4.8.3.2. Ensaio ninficida – ninfas em placas de Petri impregnadas

Para estimar a CL_{50} em ninfas do quarto estágio de *R. prolixus*, foi utilizado o método descrito por Gomes e Favero (2013) adaptado. Experimentos preliminares foram realizados usando placas de Petri com 9 cm de diâmetro diretamente tratadas com três diferentes concentrações (10, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de carvacrol, timol e do óleo essencial OELS-2, diluídas em 1 mL de acetona. Depois de permitir que o solvente evapore durante 15 minutos à temperatura ambiente, grupos de 10 ninfas foram adicionados em cada placa. Foram utilizados dois conjuntos de controles; um conjunto de placas controle foi tratado somente com acetona, enquanto no outro não se adicionou esse solvente. As placas foram cobertas com tampas de vidro e colocadas em câmara com umidade e temperatura constante ($27^\circ\text{C}\pm 2$ and $65\%\pm 5$, respectivamente). Foram realizados “screenings” iniciais dos compostos e a porcentagem de mortalidade registrada 24 horas mais tarde. Baseado neste resultado, um segundo experimento foi realizado para estimar o valor de CL_{50} . Cinco diferentes concentrações de OELS-2 (50, 52, 55, 58 e 60 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e quatro diferentes concentrações de carvacrol (20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e timol (1, 5, 8 e 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) foram testados. Os experimentos foram repetidos três vezes e cada teste foi composto por duas repetições para cada concentração. Valores de CL_{50} foram calculados usando métodos probit (FINNEY, 1971).

4.8.3.3. Ensaio ovicida – ovos em placas de Petri impregnadas

A fim de observar a atividade ovicida de carvacrol, timol e do óleo essencial OELS-2, placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram tratadas diretamente com 1 mL de solução de cada produto diluído em 1 mL de acetona em concentrações finais de 10 ou 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de cada composto. O método proposto por Laurent e colaboradores (1997) foi adaptado para este ensaio. O solvente em cada placa foi evaporado à temperatura ambiente durante 15 minutos. Dez ovos de *R. prolixus* foram introduzidos para cada placa. As placas de controle foram tratadas apenas com acetona, enquanto em outras não se adicionou o solvente. As placas foram cobertas com tampas de vidro e colocadas numa câmara com temperatura ($27^\circ\text{C}\pm 2$) e umidade ($65\% \pm 5$) constantes. A porcentagem das ninfas que eclodiram foi determinada todos os dias até a completa eclosão de ninfas do controle (15 dias após a oviposição). Este experimento foi realizado três vezes em dias diferentes com duplicata para cada concentração.

4.8.3.4. Análise estatística

Os diferentes produtos naturais foram usados como variáveis preditivas e o peso e a proporção de ovos eclodidos foram usados como variáveis respostas. O efeito dos diferentes produtos naturais foi comparado através de uma ANOVA, seguida de um teste de Tukey para comparar pares de tratamentos. Os valores da proporção de ninfas eclodidas foram transformados para o arcosseno de sua raiz quadrada anteriormente às análises. Todas as análises foram feitas com auxílio do programa Prism 5.0.

4.8.4. Ensaios para avaliação de atividade carrapaticida frente à *Rhipicephalus microplus*, *R. sanguineus*, *Dermacentor nitens* e *Amblyomma cajennense*

Os ensaios para avaliar os efeitos das amostras de óleos essenciais OEMO-2, OELS-1 e OELS-2 frente à *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888), *R. sanguineus* (Latreille, 1806), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897)

(Acari: Ixodidae) foram realizados no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sob a coordenação do Prof. Dr. Erik Daemon de Souza Pinto.

4.8.4.1. Obtenção dos carrapatos

Larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, utilizados para verificação da atividade carrapaticida, foram obtidos da cepa sensível Porto Alegre (POA) que é mantida através de infestações artificiais em bovinos na Fazenda Experimental da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil. As larvas ingurgitadas de *D. nitens* foram fornecidas a partir de postura de fêmeas ingurgitadas coletadas de animais naturalmente infestados no município de Cabo Frio, RJ, Brasil. As larvas e ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus* e *A. cajennense* foram obtidos a partir de colônias mantidas no Laboratório de Artrópodes Parasite (LAP) de Juiz de Fora, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, por meio de infestação artificial em coelhos (NEITZ *et al.*, 1971). No teste de pacote, foram utilizadas larvas das quatro espécies de carrapato citadas, com idades entre 15 e 21 dias pós-eclosão. Neste mesmo tipo de teste, foram usadas ninfas de *R. sanguineus* e *A. cajennense* com a mesma faixa etária mencionada anteriormente. No teste de imersão, foram utilizadas fêmeas de *R. microplus* recém-desprendidas do hospedeiro.

4.8.4.2. Bioensaio com larvas

O teste de pacote larval foi usado, tal como proposto por Stone e Haydoc (1962) e adaptada por Monteiro e colaboradores (2012). Nesse método aproximadamente 100 larvas foram colocadas no centro de papel filtro com dimensões de 6x6 cm e na sequência esses papéis foram dobrados ao meio e as bordas vedadas por cliques. Posteriormente, cada lado externo do papel filtro foi umedecido homoganeamente com 90 µL de soluções das amostras a serem testadas. Os controles foram estabelecidos com tween 80 (2%) para teste com *R. microplus* e *D. nitens* e Tween 80 (3%) para ensaio com *R. sanguineus* e *A. cajennense*, em cada tratamento foram feitas 10 repetições.

Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e UR>80±10%) e após 24 horas foi realizada a avaliação da mortalidade com a utilização de uma bomba de vácuo com uma ponteira adaptada na extremidade de uma mangueira de borracha, para a quantificação das larvas vivas e mortas. A mortalidade foi obtida pela seguinte fórmula: *Mortalidade* (%) = (total de larvas mortas/total de larvas) x 100.

4.8.4.3. Bioensaio com ninfas

Este teste seguiu a mesma metodologia utilizada no teste com larvas de *R. sanguineus* e *A. cajennense*, sendo colocados cinco ninfas em cada pacote.

4.8.4.4. Teste de imersão de fêmeas

Nesse procedimento foi usado o teste proposto por Drumond e colaboradores (1973) em que fêmeas ingurgitadas foram divididas em cinco grupos com pesos previamente homogeneizados ($p > 0,05$), tendo cada grupo 10 fêmeas. Na sequência, cada grupo foi imerso por cinco minutos em soluções das amostras a serem testadas. No grupo controle os carrapatos deverão foram imersos por cinco minutos em tween 80 (2%). Após a imersão dos grupos, cada fêmea foi pesada individualmente e colada em decúbito dorsal em placa de *Petri* para acompanhamento da postura (cada carrapato = unidade experimental). Os grupos

experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$) e a coleta de postura foi realizada diariamente até a morte da última fêmea. A massa de ovos coletada foi acondicionada em seringa com extremidade distal cortada, vedada com algodão hidrófilo e mantidas nas mesmas condições de temperatura e umidade mencionadas anteriormente.

Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: peso da fêmea antes da postura, peso da massa de ovos e percentual de eclosão e os valores obtidos foram utilizados para calcular o índice de produção de ovos e o percentual de controle.

O índice de produção de ovos (% IPE) foi obtido de acordo com a equação proposta por Bennett (1974). $\text{IPE} = \text{peso da massa de ovos} \times 100 / \text{peso da fêmea antes de oviposição}$. O percentual de controle dos tratamentos, através da inibição da prole foi obtido de acordo com Drummond e colaboradores (1973). Primeiro calcula-se o índice de reprodução estimada (RE): $(\text{peso da massa de ovos} / \text{peso da fêmea antes da oviposição}) \times \text{porcentagem de eclosão} \times 20000$. Em seguida, determina-se a porcentagem de controle: $(\text{RE do grupo controle} - \text{RE do grupo tratado}) / \text{RE do grupo controle} \times 100$.

4.8.4.5. Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o software Biostat 5.0. As médias dos tratamentos foram comparadas por teste de ANOVA seguido por teste de Tukey. No caso de distribuição não normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls. No teste de larvas a concentração letal 50 (CL_{50}) foi calculada utilizando o método de análise de Probit (FINNEY, 1971) gerados por Probit POLOPC (LeOra Software, 1987, Berkeley, CA, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Identificação Estrutural de Constituintes Químicos Não-voláteis de *Myrcia ovata* Cambess. e Determinação Estrutural de Derivado Iodado de Flavona

O fracionamento cromatográfico dos extratos etanólicos de folhas e de caule e galhos de *Myrcia ovata* levou a obtenção de 15 metabólitos secundários não-voláteis que por análises de seus dados espectrométricos conduziram as fórmulas estruturais representadas a seguir (Figura 8). As substâncias (126)-(129), (133)-(135), (137)-(138) e (140) estão sendo registradas pela primeira vez no gênero *Myrcia*.

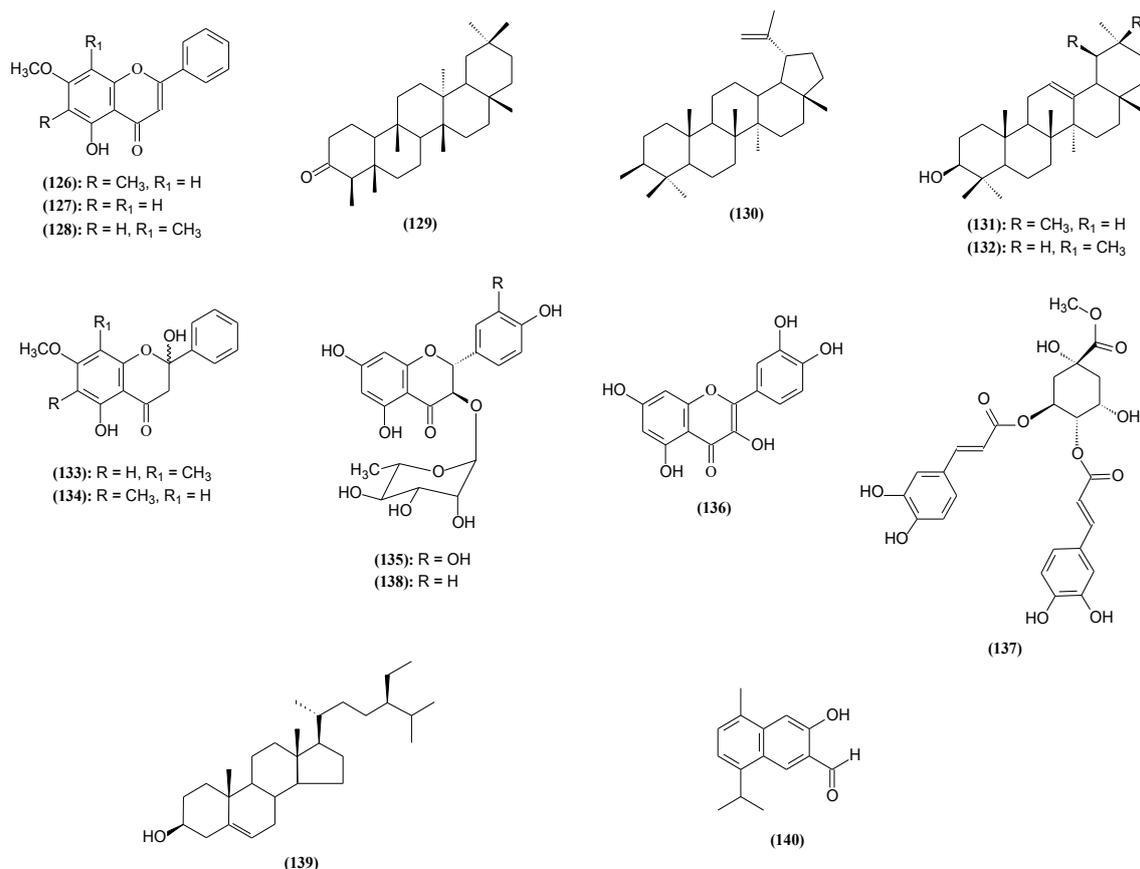


Figura 8. Fórmulas estruturais de constituintes químicos não-voláteis obtidos de folhas, caule e galhos de *Myrcia ovata*.

A reação de iodação da flavona (126), obtida de folhas de *M. ovata*, forneceu o derivado 8-iodo-5-hidroxi-3,7,3'',4''-tetrametoxi-flavona (141), substância ainda não registrada na literatura. A análise de seus dados espectrométricos levou a fórmula estrutural representada abaixo (Figura 9).

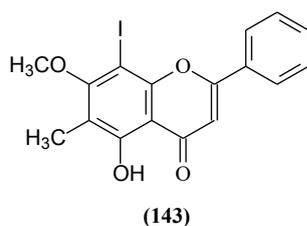


Figura 9. Fórmula estrutural do derivado iodado de flavona isolada de folhas de *Myrcia ovata*.

5.1.1. Identificação estrutural da substância (126)

Sucessivos fracionamentos cromatográficos em sílica gel da fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* forneceu a substância (126) que foi isolada como cristais amarelos em forma de agulhas, solúvel em clorofórmio, apresentando faixa de fusão de 176 – 178 °C (Fluxograma 3, pág. 27). Quantidade adicional de (126) foi isolada a partir de coluna cromatográfica da fração clorofórmica obtida do mesmo extrato que forneceu a fração hexânica, totalizando a massa de 256,74 mg para esta substância (Fluxograma 4, pág. 28). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

O espectro de RMN ^1H (Figura 10) apresenta sinais típicos de substituição para o padrão de flavona. O anel A da fórmula estrutural da substância (126) apresenta singlete em δ_{H} 6,54 referente à H-8, indicando a presença de três substituintes no anel A do flavonoide, sinal em δ_{C} 12,83 (s), em região mais desblindada, podendo ser atribuído a uma hidroxila quelatogênica em C-5 e singletos em 2,14 e 3,96 ppm, integrando para três hidrogênios cada, sugerindo um grupo metílico e um grupo metoxílico, respectivamente. O singlete em δ_{H} 6,71, de um hidrogênio olefínico pode representar o H-3, característico de flavona (FOSSSEN & ANDERSEN, 2006). Os sinais observados em δ_{H} 7,90 (2H, m) e 7,58 (3H, m) juntamente com os picos do espectro de massas (Figuras 11) em m/z 105 (45,38 %) e 77 (30,30 %) (Figuras 12) apontaram para a presença de um anel B monossustituído de flavonoide.

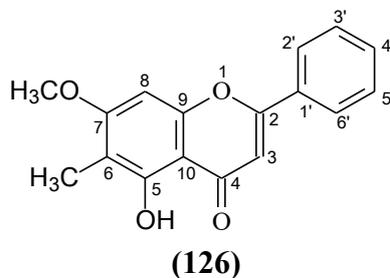
O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ de (126) (Figura 13) mostrou quinze linhas espectrais, das quais cada uma das absorções em δ_{CH} 126,21 e 129,05 foi atribuída a dois carbonos. De acordo com os seus deslocamentos químicos, dos dezessete carbonos, quinze são referentes a carbonos insaturados e dois a saturados. Os sinais em δ_{CH} 131,70; 129,05; 126,21 e 89,51 foram atribuídos a carbonos metínicos de sistemas aromáticos; além da presença de carbono carbonílico α,β -insaturado em δ_{C} 182,66 e de valores em δ_{CH} 105,83 e δ_{C} 163,54 que foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos olefínicos α e β do sistema cromônico (Anel C). Observaram-se ainda absorções em δ_{CH_3} 55,93 e 7,31 evidenciando a presença dos respectivos carbonos dos grupos metoxila e metila ligados ao anel A e o sinal em δ_{C} 158,72 que foi atribuído ao carbono hidroxilado do referido anel.

A análise dos dados espectrométricos de (126) e a comparação destes dados com os da 6-metillectocrisina (5-hidroxi-6-metil-7-metoxiflavona) descritos na literatura (MAYER, 1990) apontaram para a identidade entre as duas substâncias (Tabela 2). Esta identificação pôde ser confirmada pelo sinal observado no espectro de massas em m/z 282 (100%) (Figura 11), compatível com fórmula molecular da referida flavona ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4$).

6-metillectocrisina (126) é inédita no gênero e foi anteriormente obtida da casca do caule de *Friesodielsia enghiana* (Diels) Verdc. (Annonaceae) (FLEISCHER *et al.*, 1997), de partes aéreas de *Leptospermum scoparium* J.R. & G. Forst. (MAYER, 1990) e de folhas de: *Marliera shootti* Legrand (AMARAL *et al.*, 2001), de *Leptospermum recurvum* Hook. f. (MUSTAFA, 2003a) *Leptospermum polygalifolium* subsp. *polygalifolium* Salisb (Myrtaceae)

(MUSTAFA, 2003b). Em ensaio biológico *in vitro* apresentou elevada afinidade a receptor benzodiazepínico, alvo molecular para as benzodiazepinas, uma classe de drogas tranquilizadoras (HÄBERLEIN *et al.*, 1994).

Tabela 2. Dados espectroscópicos de **(126)** (CDCl₃) comparados com os da literatura (MAYER,1990 - CDCl₃), deslocamento químico em δ (ppm).



	(126)		6-metillectocrisina	
	δ_C - DEPTQ (100 MHz)	δ_H (400 MHz)	δ_C (75 MHz)	δ_H (300 MHz)
C				
2	163,54	-	163,4	-
4	182,66	-	182,2	-
5	158,72	-	158,3	-
6	109,18	-	109,1	-
7	163,54	-	163,4	-
9	155,71	-	155,9	-
10	105,35	-	105,4	-
1''	131,27	-	131,4	-
CH				
3	105,83	6,71 (s)	106,0	6,7 (s)
8	89,51	6,54 (s)	89,4	6,5 (s)
2''/6''	126,21	7,90 (m)	126,2	7,9 (m)
3''/5''	129,05	7,58 (m)	128,9	7,5 (m)
4''	131,83	7,58 (m)	131,6	7,5 (m)
CH₃				
Me-6	7,31	2,14 (s)	7,4	2,1 (s)
MeO-7	55,93	3,96 (s)	55,9	4,0 (s)
HO-5	-	12,83 (s)	-	12,4 (s)

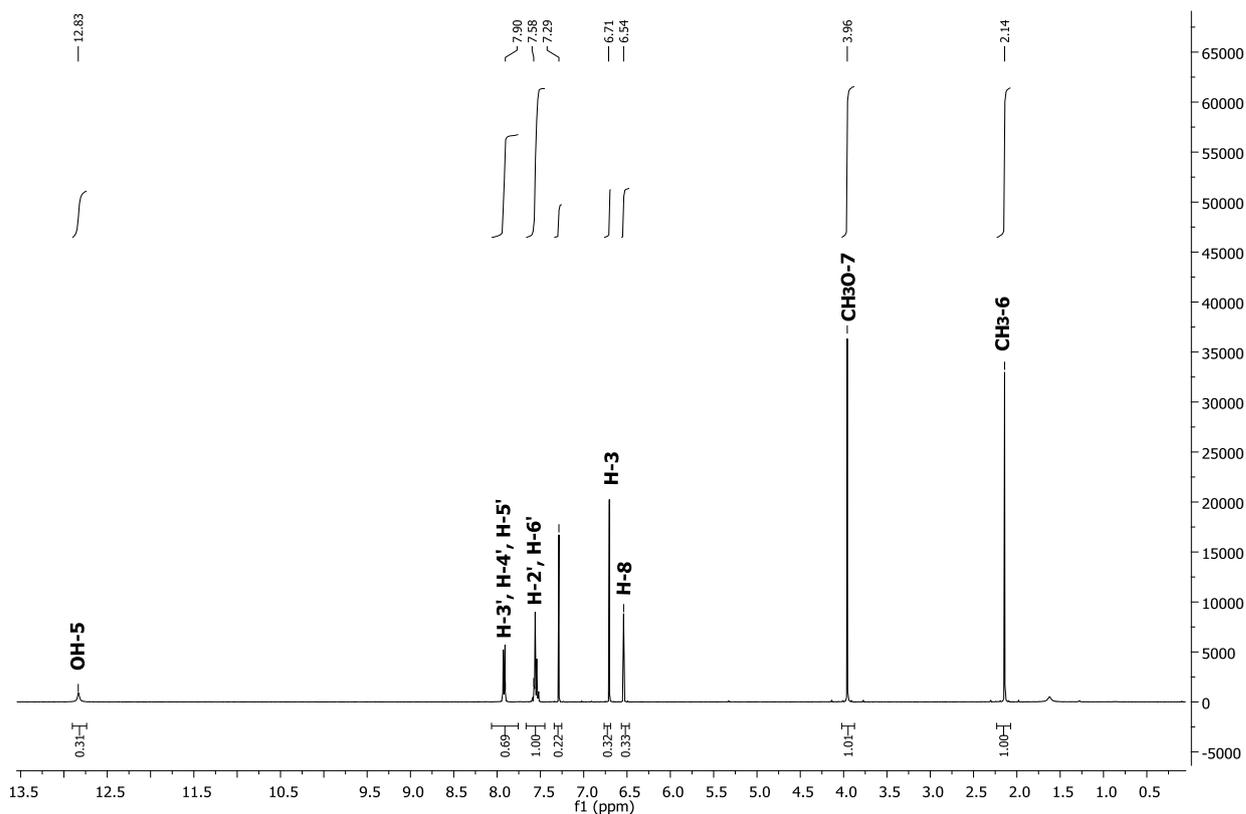


Figura 10. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (126).

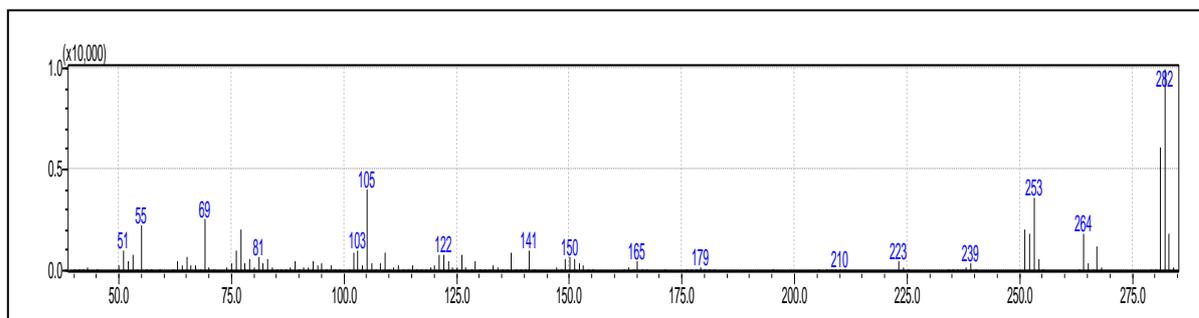


Figura 11. Espectro de massas 70 eV da substância (126).

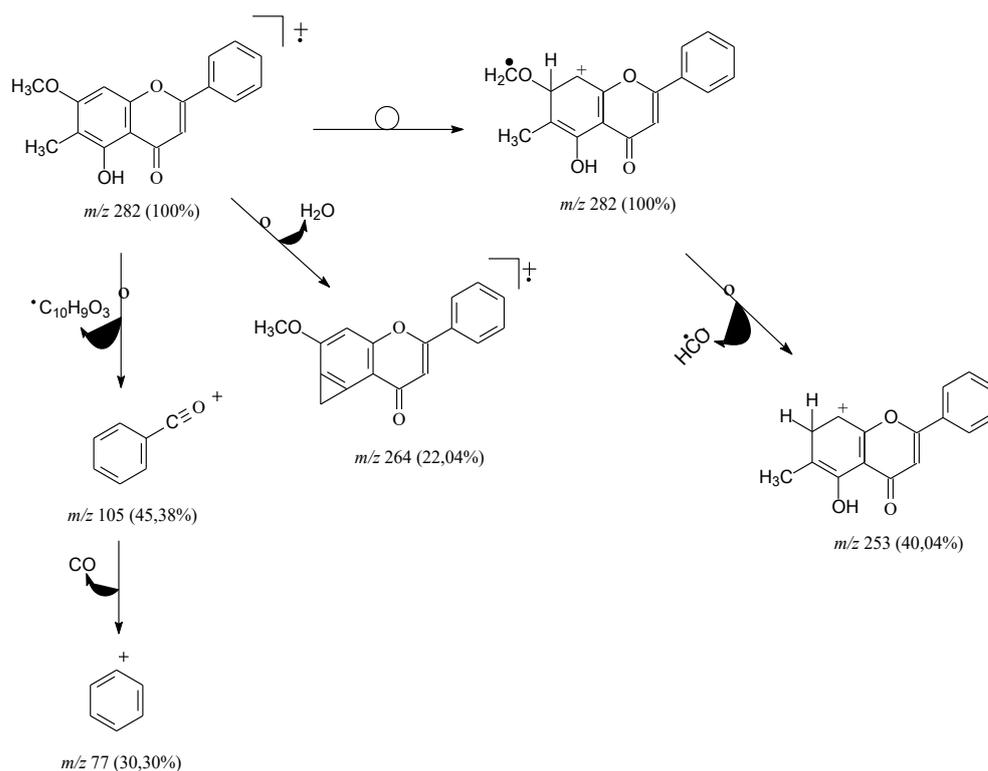


Figura 12. Propostas de fragmentação da substância (126).

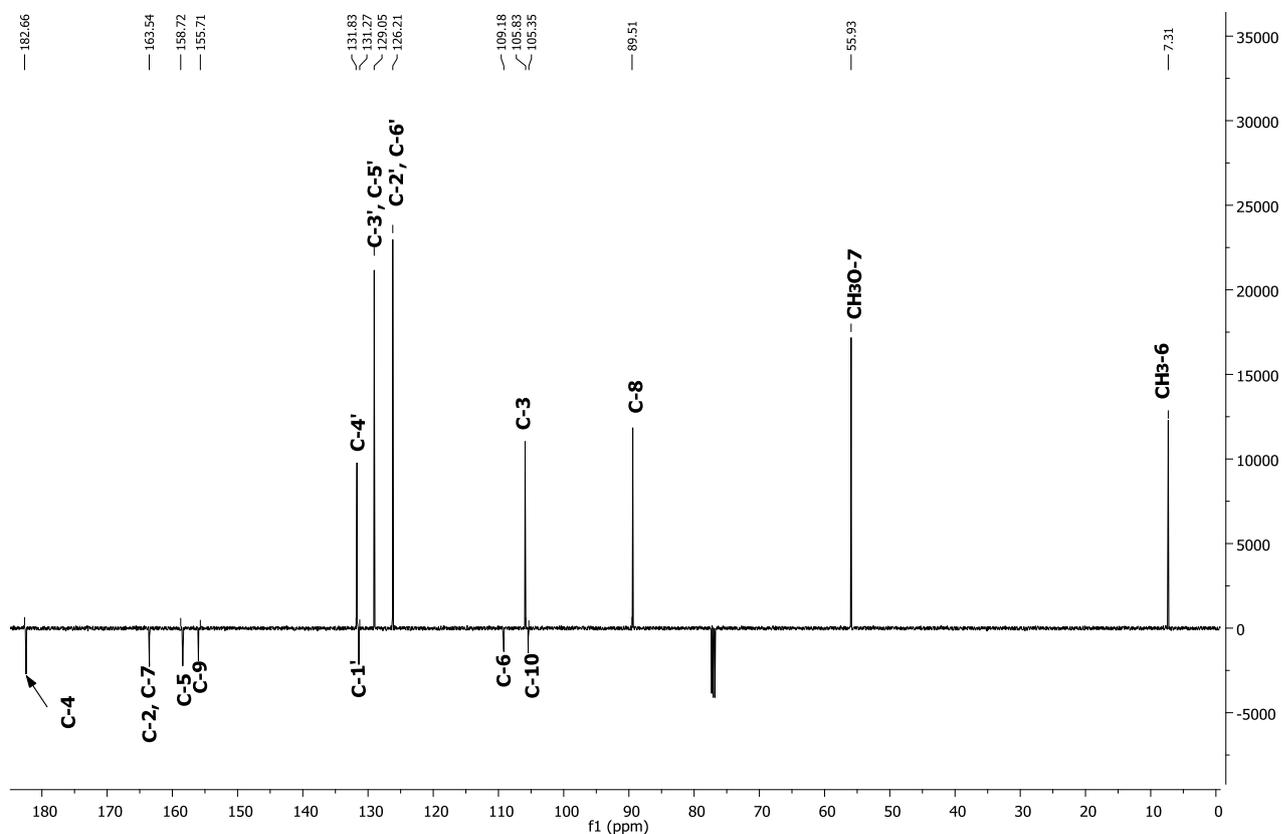


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) da substância (126).

5.1.2. Identificação estrutural da substância (127)

O fracionamento cromatográfico em sílica gel da fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* forneceu 40,68 mg da substância (127) que foi isolada na forma de cristais cúbicos amarelo, solúvel em clorofórmio, apresentando faixa de fusão de 166,5-168,2 °C (Fluxograma 3, pág. 27). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

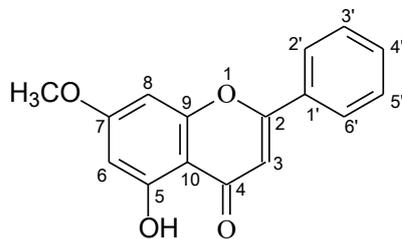
O espectro de RMN ¹H (Figuras 14 a 16) apresenta sinais típicos de substituição padrão de flavona. Verificam-se dois sinais cujos valores de deslocamento químico são adequados para átomos de hidrogênio localizados no anel A cuja constante acoplamento indica interação spin-spin de relação meta entre si ($J = 2,3$ Hz) sendo, então, correspondentes aos hidrogênios H-6 (δ_H 6,39) e H-8 (δ_H 6,51). O sinal em δ_H 12,74 é atribuído a HO-5 em ligação de hidrogênio com a carbonila do C-4 e o sinal com δ_H 3,90, integrando para três hidrogênios, representa um grupo metoxílico. O sinal singlete em δ_H 6,67 pode representar o hidrogênio metínico, H-3, característico de flavona (FOSSEN & ANDERSEN, 2006). Os demais sinais observados a δ_H 7,90 (2H, d, $J = 6,67$ Hz) e em 7,53 (3H, m) juntamente com pico em m/z 77 (18,31 %) (Figura 18) revelado no espectro de massas de (127) (Figura 17) apontaram para a presença de um anel B monossustituído de flavonóide.

O espectro de RMN ¹³C-DEPTQ de (127) (Figura 19) mostrou quinze linhas espectrais, das quais cada uma das absorções em δ_{CH} 126,29 e 129,10 foi atribuída a dois carbonos. De acordo com os deslocamentos químicos, dos dezesseis carbonos, quinze são referentes a carbonos insaturados e um a saturado. Os sinais em δ_{CH} 98,21; 92,67; 126,29; 129,10 e 131,86 foram atribuídos a carbonos metínicos de sistema aromáticos, δ_C 182,49 atribuído ao carbono carbonílico α,β -insaturado, δ_{CH} 105,73 e δ_C 163,97 atribuídos aos carbonos 3 e 2 do sistema cromônico. Observou-se ainda absorção em δ_{CH_3} 55,83 confirmando o grupo metoxila ligado ao anel A e o δ_C 162,16 foi atribuído ao carbono 5 sustentando o grupo hidroxila *orto* à carbonila.

A análise dos dados espectrométricos do composto (127), aliada a comparação dos mesmos com dados descritos literatura (CRANCHI, 1994), permitiram determinar que (127) é a flavona tectocrisina (5-hidroxi-7-metoxiflavona) (Tabela 3). Esta proposta foi confirmada pelo sinal observado no espectro de massas em m/z 268 (100%) (Figura 17), compatível com sua fórmula molecular (C₁₆H₁₂O₄).

Tectocrisina é inédita no gênero *Myrcia*, foi anteriormente obtida de folhas de *Marliera shootti* Legrand (Myrtaceae) (AMARAL *et al.*, 2001), de cascas do caule de *Friesodielsia enghiana* (Diels) Verdc. (Annonaceae) (FLEISCHER *et al.*, 1997) e de caule *Pinus strobus* var. *chiapensis* Martínez (Pinaceae) (CRANCHI, 1994). Esta substância apresentou elevada atividade antileishmanicida frente à *Leishmania amazonensis* Lainson & Shaw, 1972 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (SALVADOR *et al.*, 2009).

Tabela 3. Dados espectroscópicos de **(127)** (CDCl₃) comparados com os da literatura (CRANCHI, 1994 - CDCl₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



(127)

	(127)		tectocrisina	
	δ_C - DEPT-Q (125 MHz)	δ_H (500 MHz)	δ_C (50,3 MHz)	δ_H (200 MHz)
C				
2	163,97	-	163,9	-
4	182,49	-	182,4	-
5	162,16	-	162,1	-
7	165,60	-	165,5	-
9	157,70	-	157,0	-
10	105,73	-	105,9	-
1''	131,23	-	131,6	-
CH				
3	105,84	6,67 (s)	105,8	6,64 (s)
6	98,21	6,39 (d, $J = 2,3$)	98,2	6,35 (s)
8	92,67	6,51 (d, $J = 2,3$)	92,6	6,35 (d, $J = 2$)
2''/6''	126,29	7,90 (d, $J = 6,7$)	126,1	7,8 (d, $J = 8$)
3''/5''	129,10	7,55 (m)	128,8	7,5 (m)
4''	131,86	7,55 (m)	131,8	7,5 (m)
CH₃				
MeO-7	55,83	3,90 (s)	56,0	3,9 (s)
HO-5	-	12,74 (s)	-	12,7 (s)

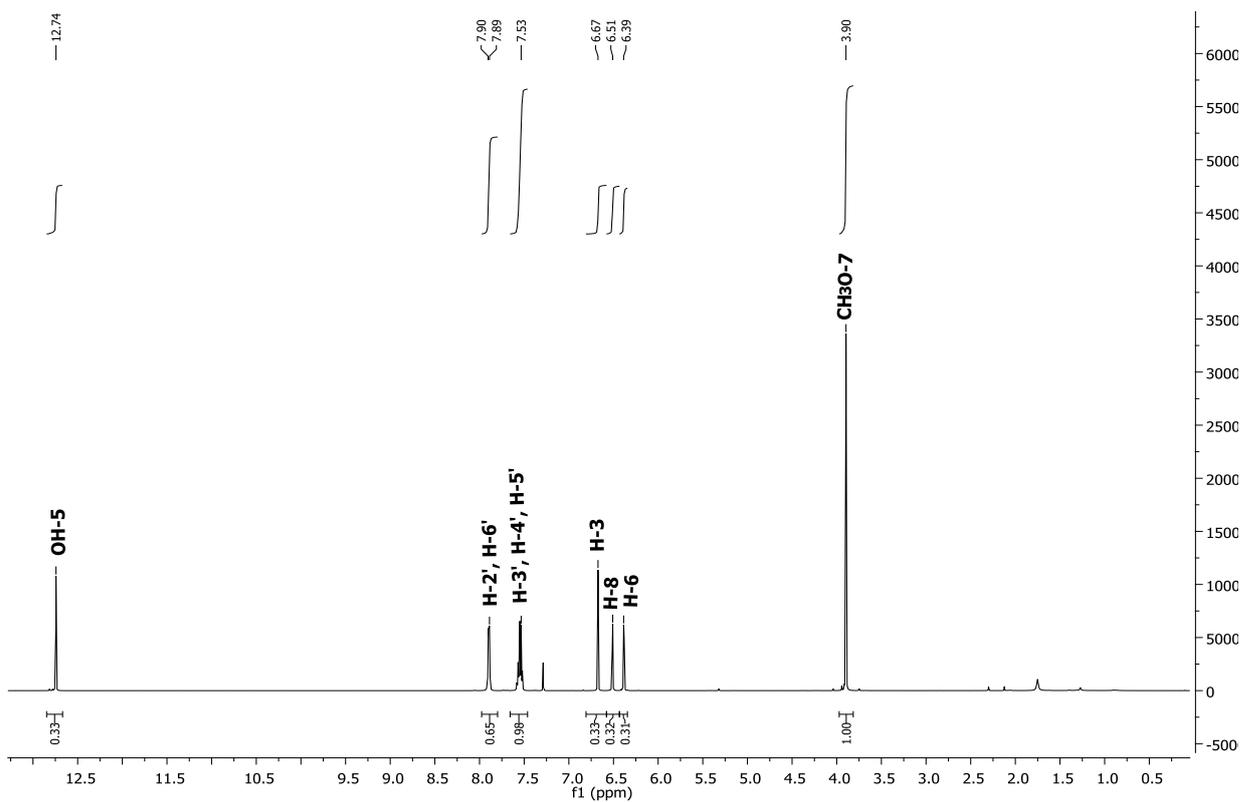


Figura 14. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) da substância (127).

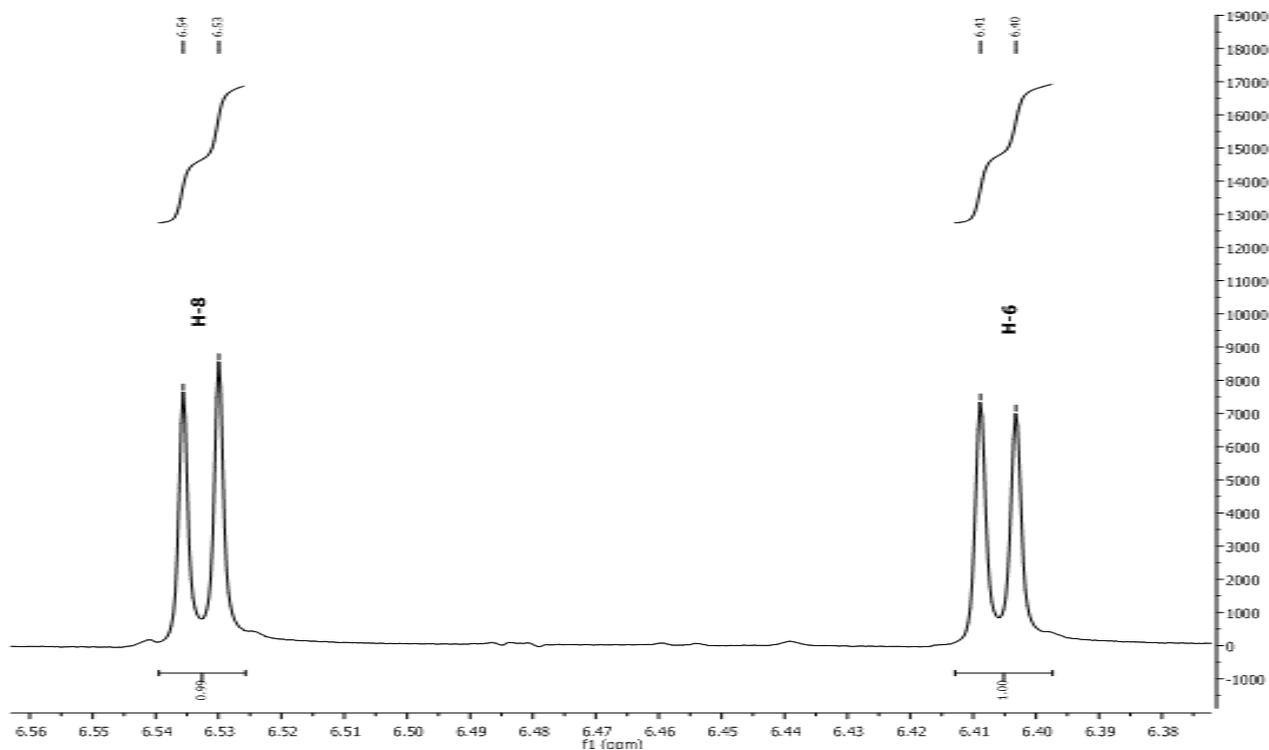


Figura 15. Expansão do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da substância (127) na região entre δ_H 6,37-6,56 ppm.

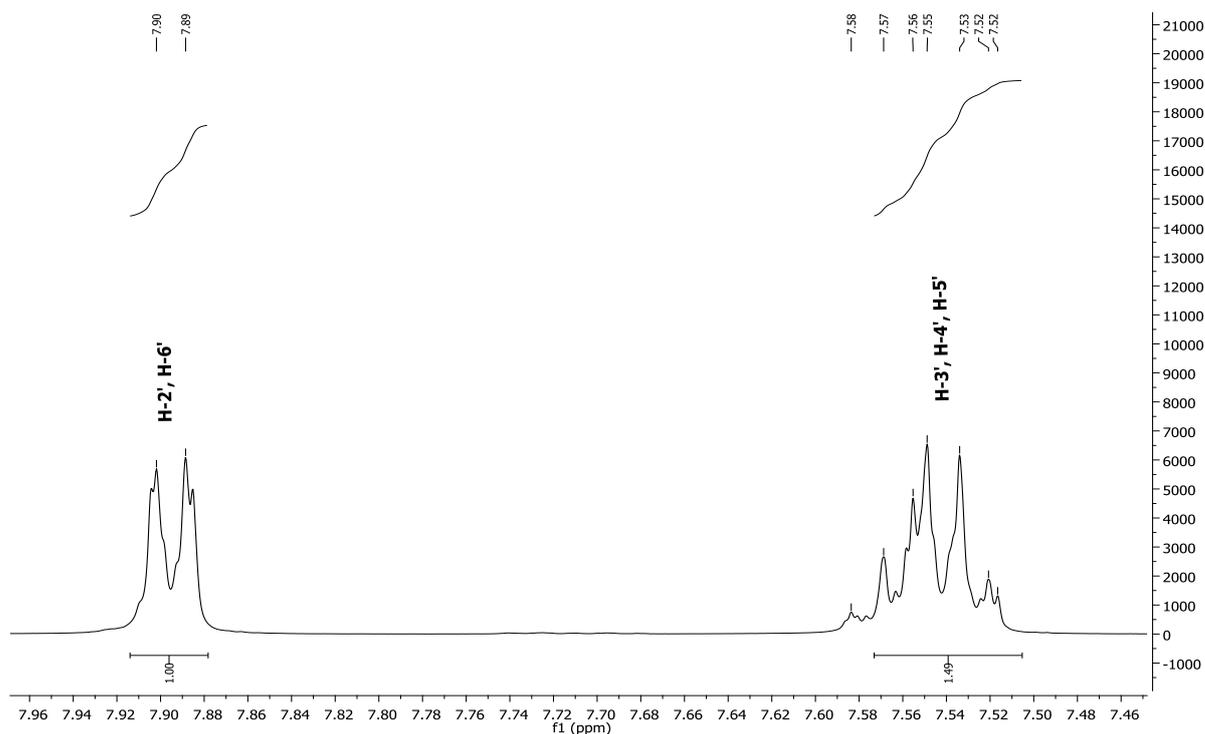


Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância (**127**) na região entre δ_{H} 7,45-8,15 ppm.

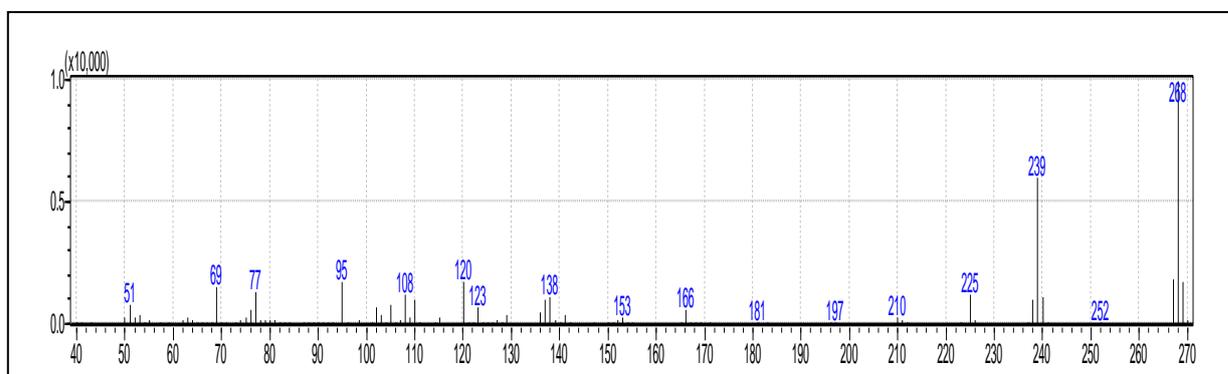


Figura 17. Espectro de massas 70 eV da substância (**127**).

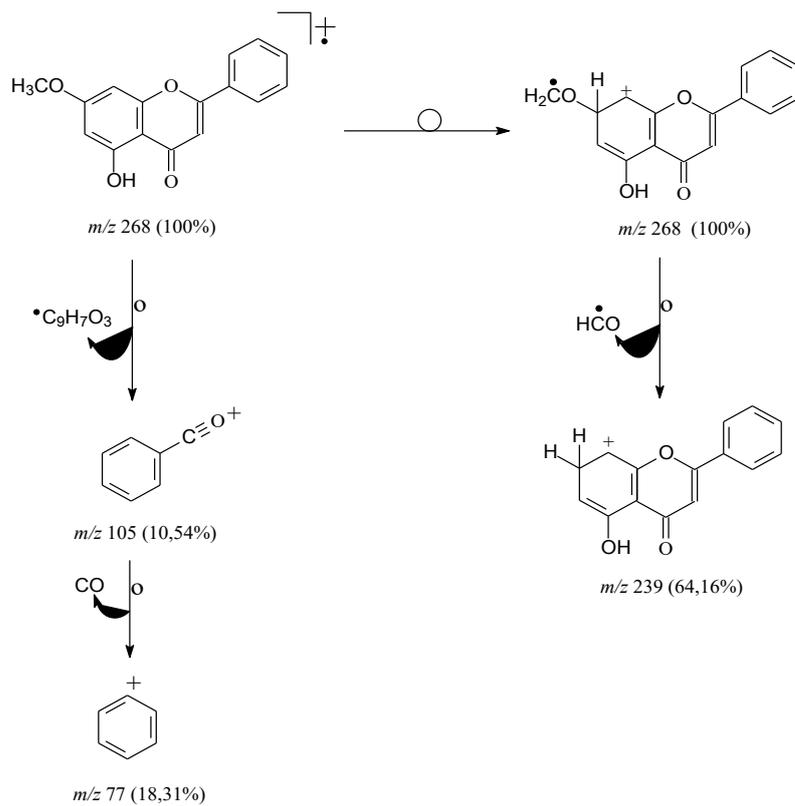


Figura 18. Propostas de fragmentação da substância (127).

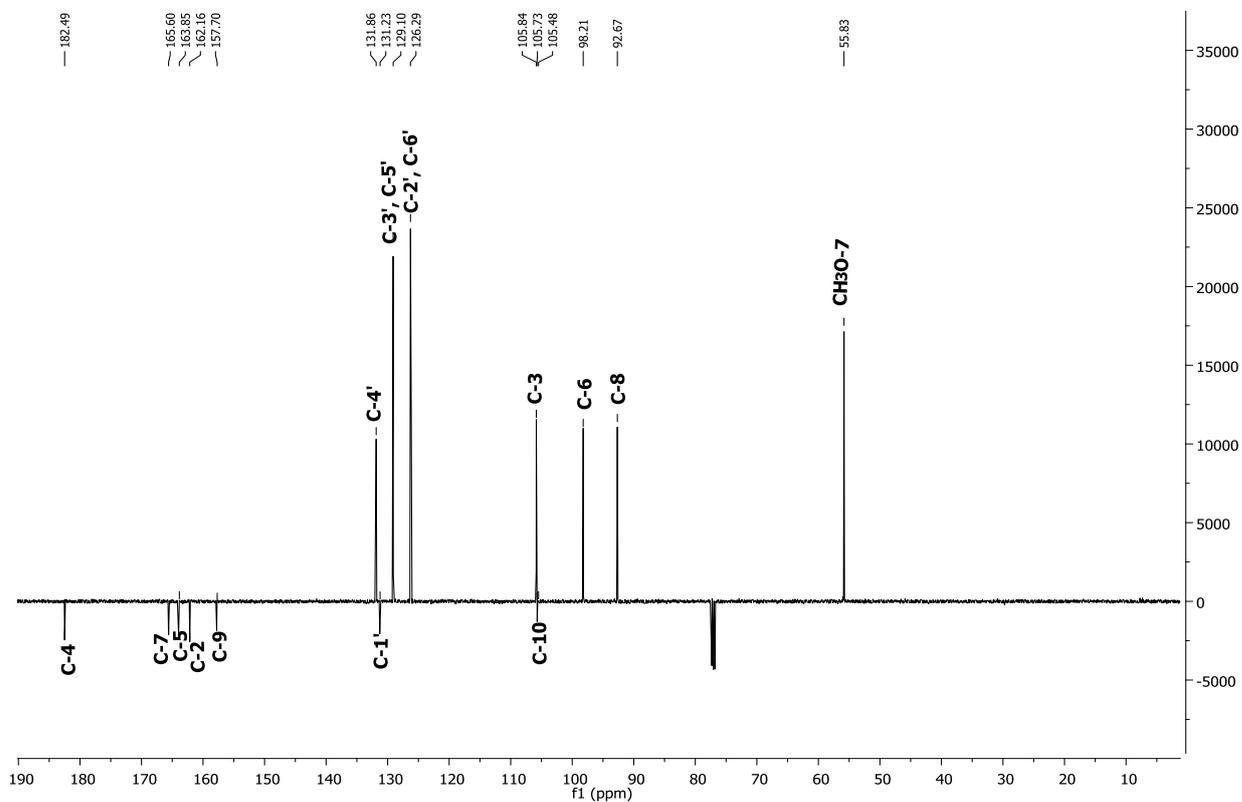


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, $CDCl_3$) da substância (127).

5.1.3. Identificação estrutural da substância (128)

A fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata* foi fracionada por *cromatografia* em coluna com sílica gel resultando na obtenção de 67,3 mg da substância (55) que foi isolada como cristais amarelos em forma de agulhas, solúvel em clorofórmio, apresentando faixa de fusão de 234-235 °C (Fluxograma 3, pág. 27). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

O espectro de RMN ^1H (Figura 20) forneceu sinais típicos de substituição para o padrão de flavona. O anel A da fórmula estrutural de (128) apresenta singleto em δ_{H} 6,44 para H-6, indicando a presença de três substituintes, sinal em δ_{H} 12,80 (s), em região mais desblindada, sugerindo a presença de uma hidroxila em C-5 formando ligação de hidrogênio intramolecular e singletos em 2,32 e 3,94 ppm, integrando para três hidrogênios cada, sugerindo um grupo metílico e um grupo metoxílico, respectivamente. Sinal singleto em δ_{H} 6,69 pode ser atribuído ao hidrogênio metínico, H-3, característico de flavona (FOSSSEN & ANDERSEN, 2006). Sinais observados em δ_{H} 7,94 (2H, m) e 7,57 (3H, m) juntamente os picos em m/z 105 (27,07%) e 77 (32,42%) (Figura 22) revelados no espectro de massa de (128) (Figura 21) justificam a proposta do anel B monossustituído de flavonóide.

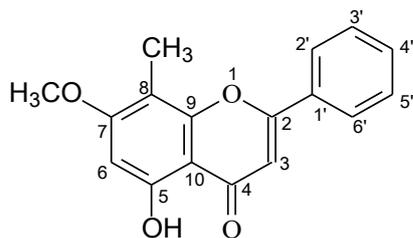
O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ de (128) (Figura 23) mostrou quinze linhas espectrais, das quais cada uma das absorções em δ_{CH} 126,23 e 129,12 foi atribuída a dois carbonos. De acordo com os seus deslocamentos químicos, dos dezessete carbonos, quinze eram referentes a carbonos insaturados e dois a saturados. Sinais em δ_{CH} 94,97; 126,23; 129,12 e 131,77 foram atribuídos a carbonos metínicos de sistemas aromáticos; δ_{C} 183,01 representa o carbono carbonílico α,β -insaturado e os sinais em δ_{CH} 105,15 e δ_{C} 163,73 foram atribuídos aos carbonos olefínicos 3 e 2 do anel C, respectivamente. Observaram-se ainda absorções em δ_{CH_3} 56,02 e 7,74 que correspondem aos respectivos carbonos de grupos metoxila e metila ligados ao anel A e o sinal em δ_{C} 160,23 que foi atribuído ao carbono 5 do anel A.

A análise dos dados espectrométricos do composto (128) e a comparação destes dados com os descritos na literatura (MUSTAFA *et al.*, 2003a), permitiram identificá-la como 5-hidroxi-8-metil-7-metoxiflavona, conhecida como 8-metiltectocrisina (Tabela 4), cuja identificação foi confirmada pelo pico observado no espectro de massas (Figura 21) em m/z 282 (100%), compatível com sua fórmula molecular ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4$).

A presença do fragmento com m/z 267 (24,44%), gerado pela eliminação de radical metila em m/z 282 (Figura 22), sugeriu que a metila em δ_{CH_3} 7,74 está em C-8 (Tabela 4). No caso da 6-metilflavona (126), o fragmento com m/z 264 (22,04 %) foi resultante da eliminação de H_2O do íon molecular com m/z 282 (100%) (Figura 12, pág. 44), permitindo propor que a metila em δ_{CH_3} 7,31 está localizada em C-6 (Tabela 2, pág. 42).

A 8-metiltectocrisina é inédita neste gênero e foi anteriormente obtida da casca de caule de *Friesodielsia enghiana* (Diels) Verdc. (Annonaceae) (FLEISCHER *et al.*, 1997) e de folhas de: *Marliera shootti* Legrand (AMARAL *et al.*, 2001), *Leptospermum recurvum* Hook. f. (MUSTAFA, 2003a) e *Leptospermum polygalifolium* subsp. *polygalifolium* Salisb (Myrtaceae) (MUSTAFA, 2003b).

Tabela 4. Dados espectroscópicos da substância **(128)** (CDCl₃) comparados com os da literatura (MUSTAFA *et al*, 2003a - CDCl₃), deslocamento químico em δ (ppm).



(128)

	(128)		8-methyltectoquinone	
	δ_C - DEPT-Q (125MHz)	δ_H (500 MHz)	δ_C (125 MHz)	δ_H (500 MHz)
C				
2	163,73	-	163,8	-
4	183,01	-	183,1	-
5	160,23	-	160,3	-
7	163,23	-	163,3	-
8	103,97	-	104,1	-
9	154,48	-	154,6	-
10	105,05	-	105,3	-
1''	131,67	-	131,8	-
CH				
3	105,15	6,69 (s)	105,1	6,7 (s)
6	94,97	6,44 (s)	95,3	6,4 (s)
2''/6''	126,23	7,94 (m)	126,3	7,9 (m)
3''/5''	129,12	7,57 (m)	129,1	7,5 (m)
4''	131,77	7,57 (m)	131,8	7,5 (m)
CH₃				
Me-8	7,74	2,32 (s)	7,7	2,3 (s)
MeO-7	56,02	3,94 (s)	56,0	3,9 (s)
HO-5	-	12,80 (s)	-	12,8 (s)

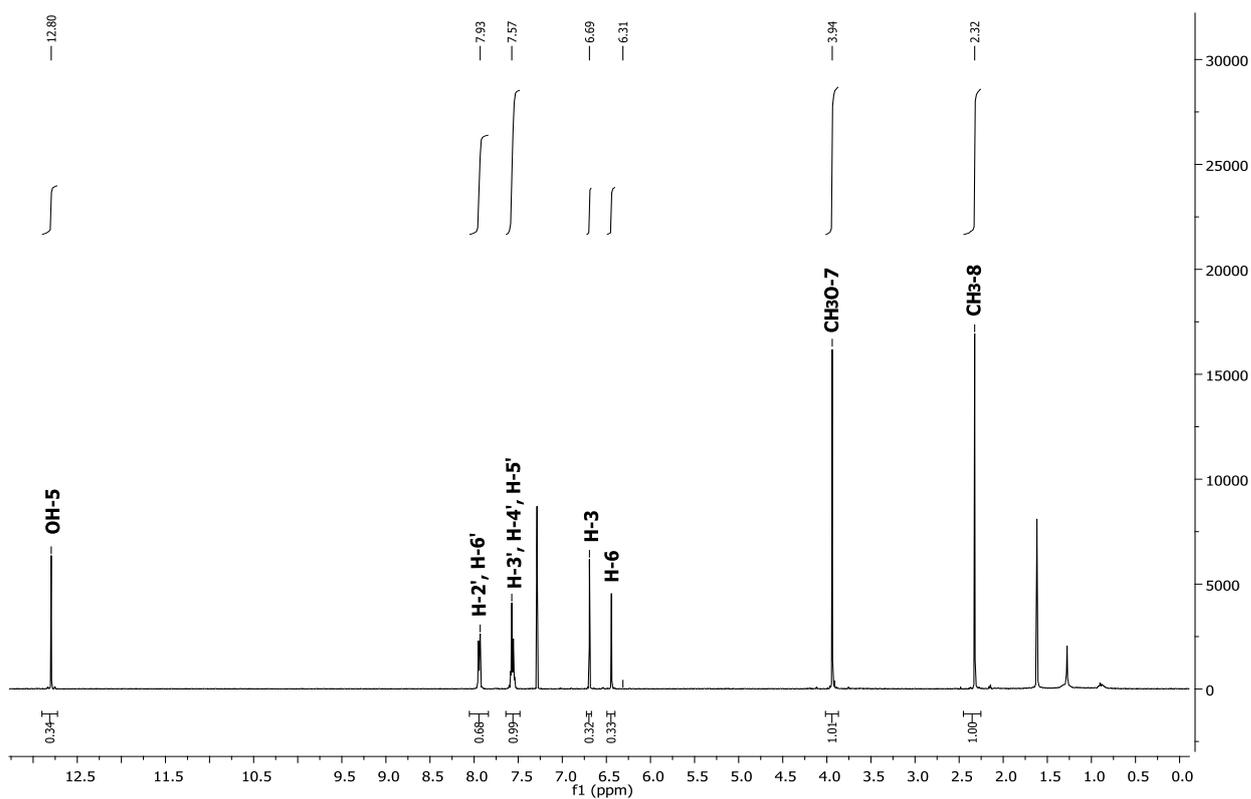


Figura 20. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância **(128)**.

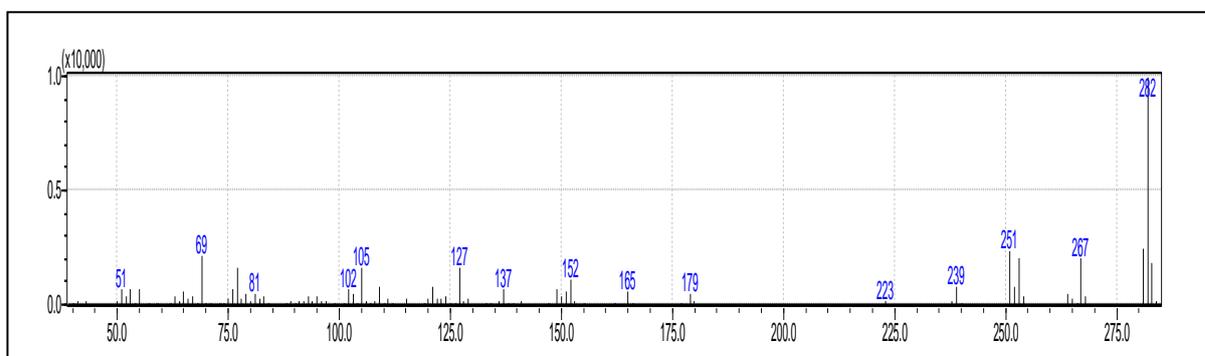


Figura 21. Espectro de massas 70 eV da substância **(128)**.

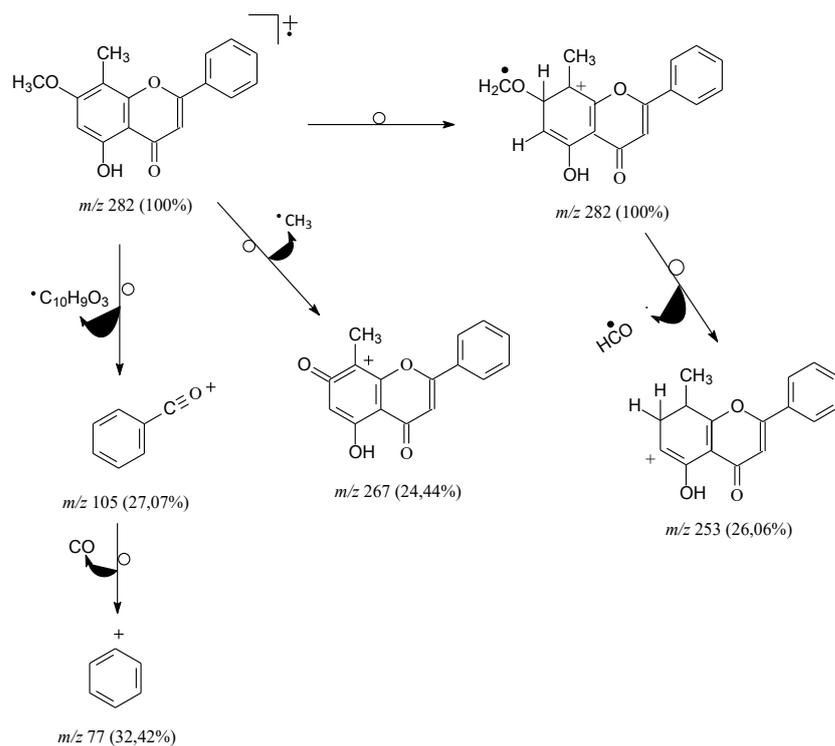


Figura 22. Propostas de fragmentação da substância (128).

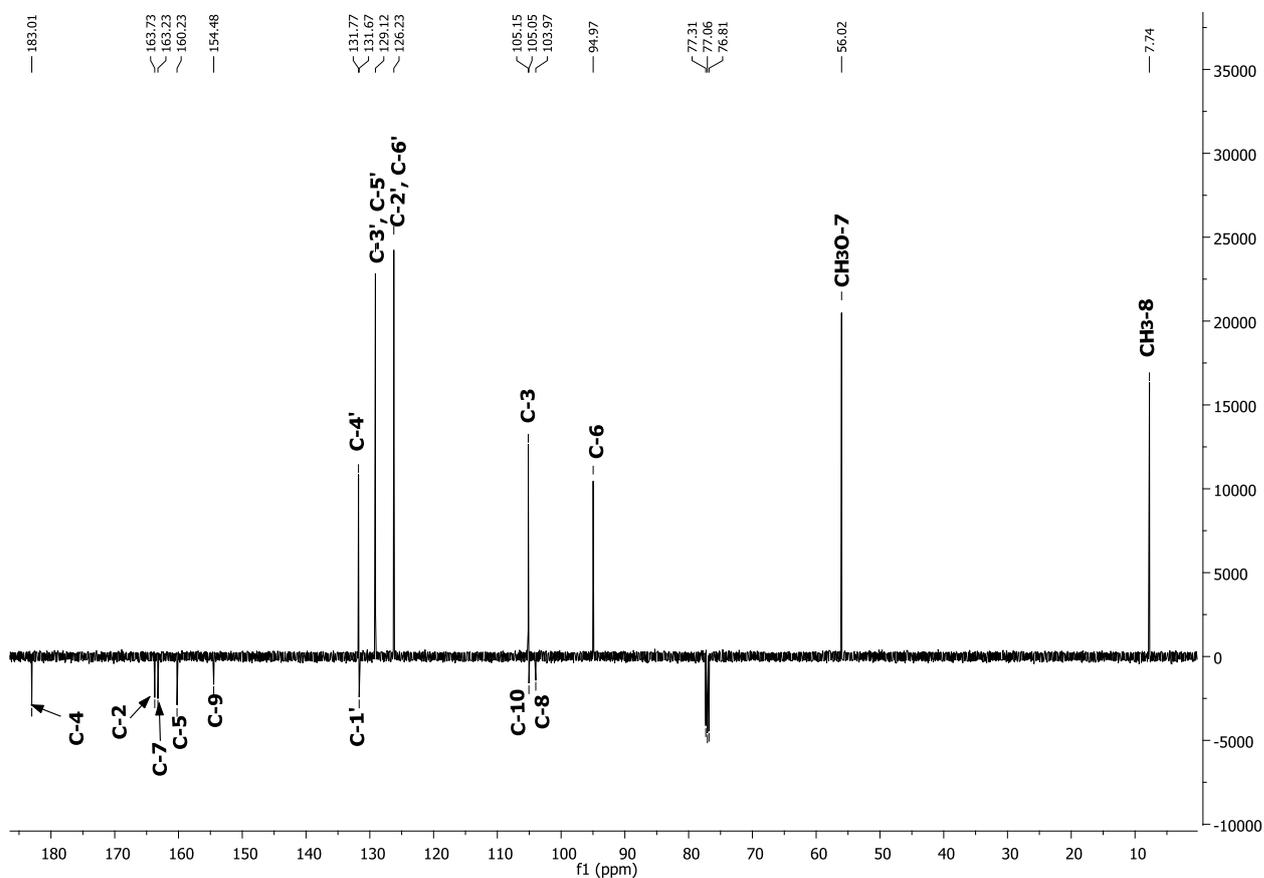


Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância (128).

5.1.4. Identificação estrutural da substância (129)

A fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, após sucessivos fracionamentos cromatográficos, forneceu 17,3 mg da substância (129) que foi isolada como um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio, apresentando faixa de fusão de 240-242 °C (Fluxograma 3, pág. 27). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.2, págs. 131 e 132).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 24) apresentou sete singletos em 0,75; 0,91; 0,98; 1,02; 1,03; 1,07 e 1,20 ppm característicos de metilas de triterpeno. O espectro apresentou ainda sinais em δ_{H} 1,99 (m); 1,70 (m); 2,42 (ddd); 2,33 (m) e 2,27 ppm (q) correspondentes aos hidrogênios vizinhos à função carbonila. O espectro de RMN ^{13}C - DEPTQ (Figura 25) apresentou sinais relevantes para a identificação de (129), destacando-se as absorções em 213,3 ppm de carbono carbonílico e em 6,85 ppm, indicando a presença de grupo metila bastante protegido atribuído ao efeito γ -gauche da carbonila.

A comparação dos dados espectrais da substância (129) com os da friedelina descritos na literatura (ALMEIDA *et al.*, 2011) apontaram para a identidade entre as duas substâncias (Tabela 5). Friedelina já foi anteriormente obtida a partir do estudo do caule de *M. rotundifolia* (CERQUEIRA, 2002). Ensaios biológicos realizados com este triterpeno sugerem que ele possui atividades anti-inflamatória, analgésica, antipirética, antialimentar para insetos e antimicobacteriana (ANTONISAMY *et al.*, 2011; GUNATILAKA, 1986; MANN *et al.*, 2011).

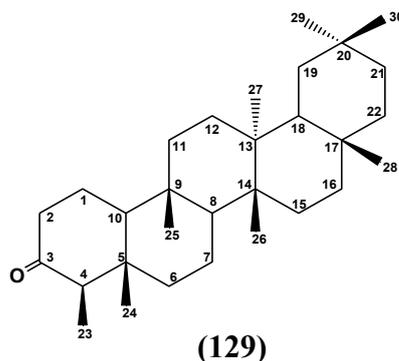
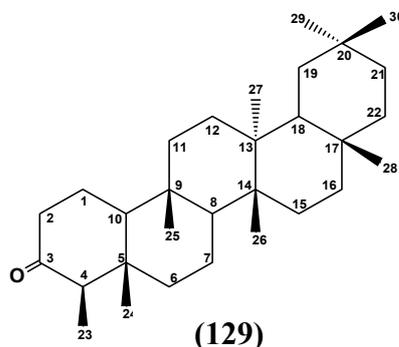


Tabela 5. Dados espectroscópicos de **(129)** (CDCl₃) comparados com os da literatura (ALMEIDA *et al.*, 2011 - CDCl₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



(129) ($\delta_H=500$ MHz, $\delta_C=125$ MHz)			Friedelina (500 MHz)	
C	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	22,30	1,99 (m; H-1a) e 1,70 (m; H-1b)	22,3	1,96 (m; H-1a) e 1,68 (dq; $J = 13,8; 5,1$; H-1b)
2	41,45	2,42 (ddd; $J = 13,6; 5,1; 1,9$; H-2a) e 2,33 (m)	41,5	2,39 (ddd; $J = 13,7; 5,1; 1,9$; H-2a) e 2,29 (m; $J = 13,8; 13,6; 6,5$; H-2b)
3	213,46	-	213,2	-
4	58,22	2,27 (q; $J = 7,0$)	58,2	2,24 (q; $J = 6,5$)
5	42,10	-	42,1	-
6	41,19	1,76 (m; H-6a) e 1,28 (m; H-6b)	41,3	1,75 (m; H-6a) e 1,27 (m; H-6b)
7	18,24	-	18,2	-
8	53,10	-	53,3	-
9	37,41	-	37,5	-
10	59,46	1,57 (m)	59,5	1,55 (m)
11	35,62	-	35,6	-
12	30,51	-	30,5	-
13	39,72	-	39,7	-
14	38,29	-	38,3	-
15	32,41	-	32,8	-
16	36,22	-	36,0	-
17	30,00	-	30,0	-
18	42,77	1,57 (m)	42,8	1,56 (m)
19	35,34	-	35,4	-
20	28,18	-	28,2	-
21	32,76	-	32,4	-
22	39,16	-	39,3	-
23	6,85	0,90 (d; $J = 6,5$)	6,8	0,87 (d; $J = 6,5$)
24	14,67	0,75 (s)	14,7	0,73 (s)
25	17,96	0,91 (s)	17,9	0,88 (s)
26	20,28	1,03 (s)	20,3	1,01 (s)
27	18,69	1,07 (s)	18,7	1,05 (s)
28	32,10	1,20 (s)	32,1	1,18 (s)
29	31,80	1,02 (s)	31,8	1,00 (s)
30	35,05	0,98 (s)	35,0	0,95 (s)

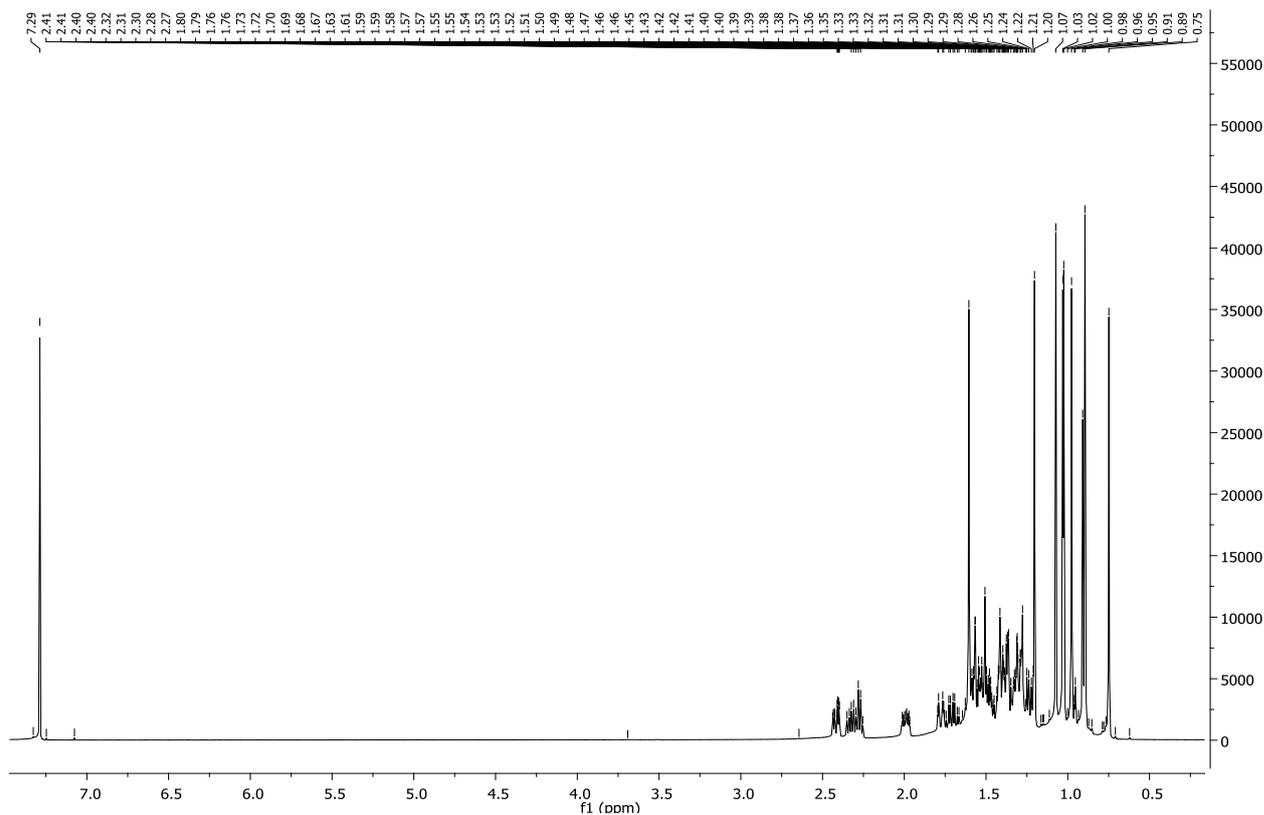


Figura 24. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância (129).

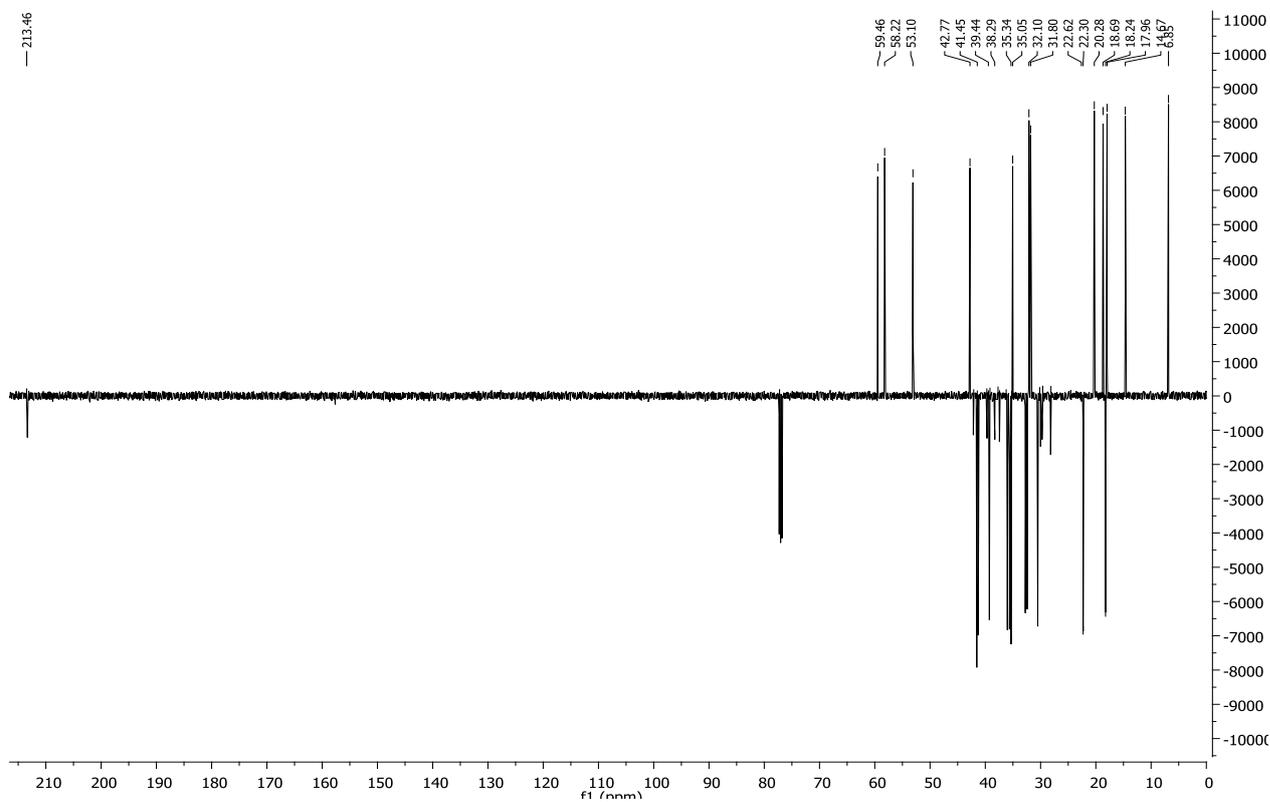


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância (129).

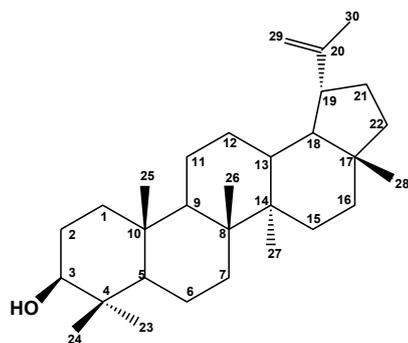
5.1.5. Identificação estrutural das substâncias (130), (131) e (132) (mistura)

A fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, após ser submetido a sucessivas colunas cromatográficas em sílica gel, forneceu 21,5 mg de mistura das substâncias (130), (131) e (132) que foi obtida como um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio (Fluxograma 3, pág. 27). A análise por CG permitiu constatar que a mistura é formada por três substâncias (Figura 26).

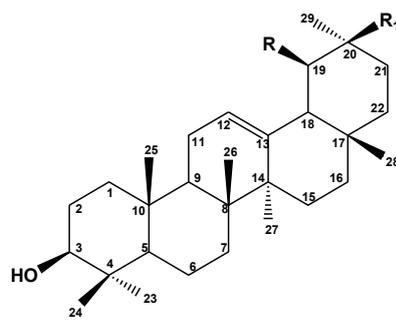
As fórmulas estruturais dos três componentes foram definidas pela interpretação do espectro de RMN ^1H (Figura 27), reconhecendo-se a presença dos sinais em δ_{H} 0,767 – 1,28 correspondentes aos grupos metila ligados a carbono sp^3 característicos de triterpenos. O multiplete em δ_{H} 3,26 evidencia a presença de hidrogênios carbinólicos ligados a C-3 comuns as substâncias (130), (131) e (132). Sinais atribuídos ao triterpeno lupeol podem ser observados em δ_{H} 1,64, associado a grupo metila (CH_3 -30) ligado a carbono sp^2 de alceno terminal, e em δ_{H} 5,21 (s) e 5,15 (s) referentes aos hidrogênios vinílicos H-29a e H-29b. O sinal em δ 5,59 (m) representa os hidrogênios (H-12) de α e β -amirina.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 28) revelou sinais de carbonos sp^2 característicos de C-12 e C-13: δ_{CH} 124,52 e δ_{C} 139,59 da α -amirina e δ_{CH} 121,88 e δ_{C} 145,21 da β -amirina.

A análise dos dados espectrométricos dos constituintes da mistura, juntamente com a comparação destes dados com os descritos na literatura (RAZDAN *et al.*, 1988; MAHATO & KUNDU, 1994) e considerações biossintéticas (Item 5.2.2, págs. 131 e 132) permitiram identificar (130), (131) e (132) como sendo os três triterpenos lupeol, α -amirina e β -amirina, respectivamente. Trabalhos relatam a obtenção destes triterpenos a partir do estudo fitoquímico de espécies do gênero *Myrcia*. O triterpeno (132) foi isolado do caule de *M. rotundifolia* e de folhas de *M. citrifolia*, enquanto que as substâncias (130) e (131) foram obtidas do caule de *M. rotundifolia* e de folhas *M. guianensis*, respectivamente (GOTTLIEB *et al.*, 1972; CERQUEIRA, 2002).



(130)



(131): R = CH₃, R₁ = H

(132): R = H, R₁ = CH₃

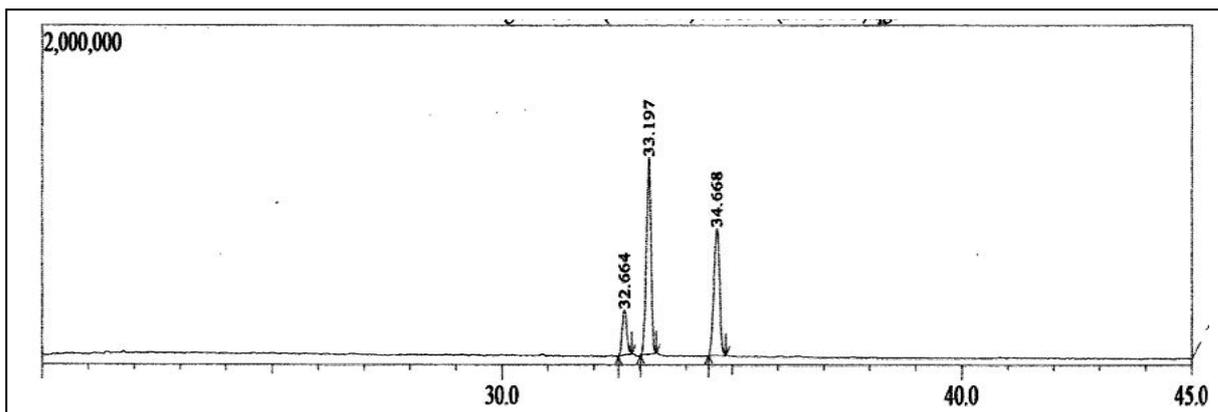


Figura 26. Cromatograma (CG) da mistura das substâncias (130), (131) e (132).

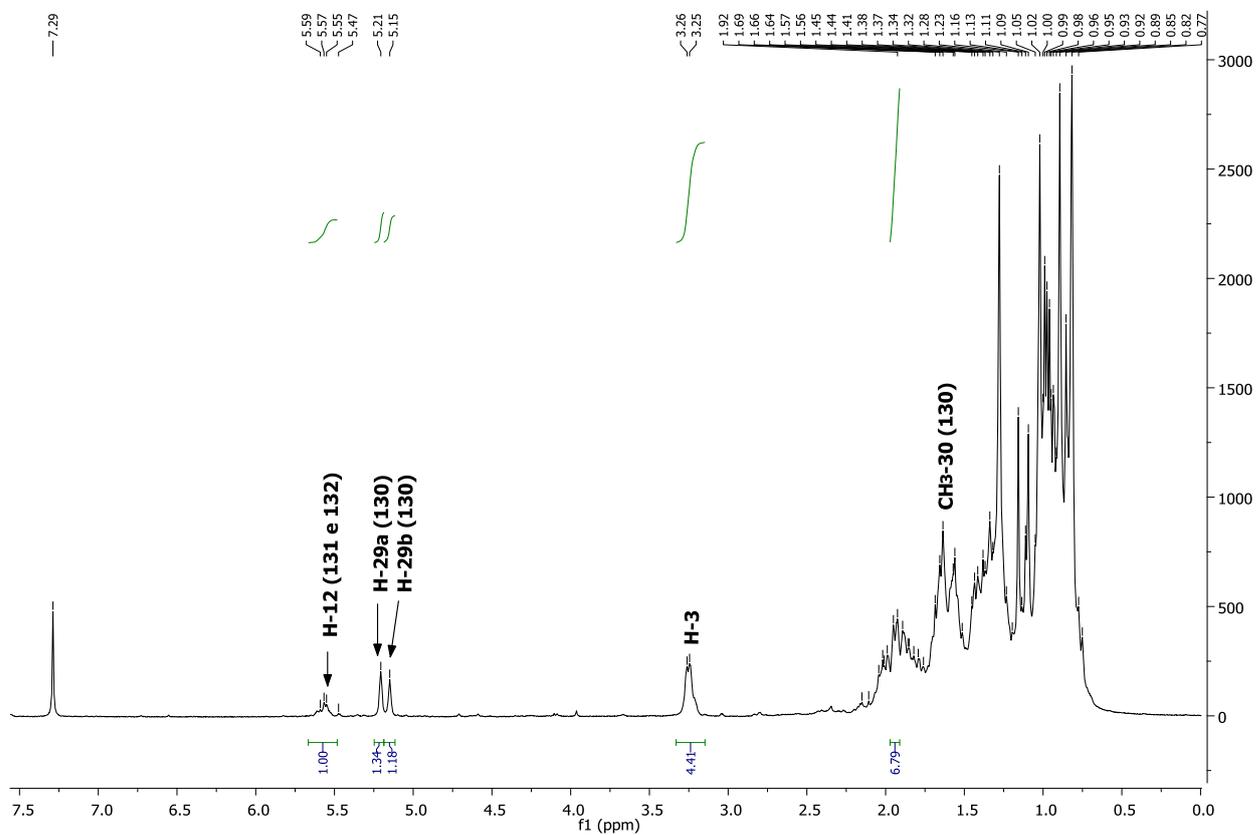


Figura 27. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) da mistura das substâncias (130), (131) e (132).

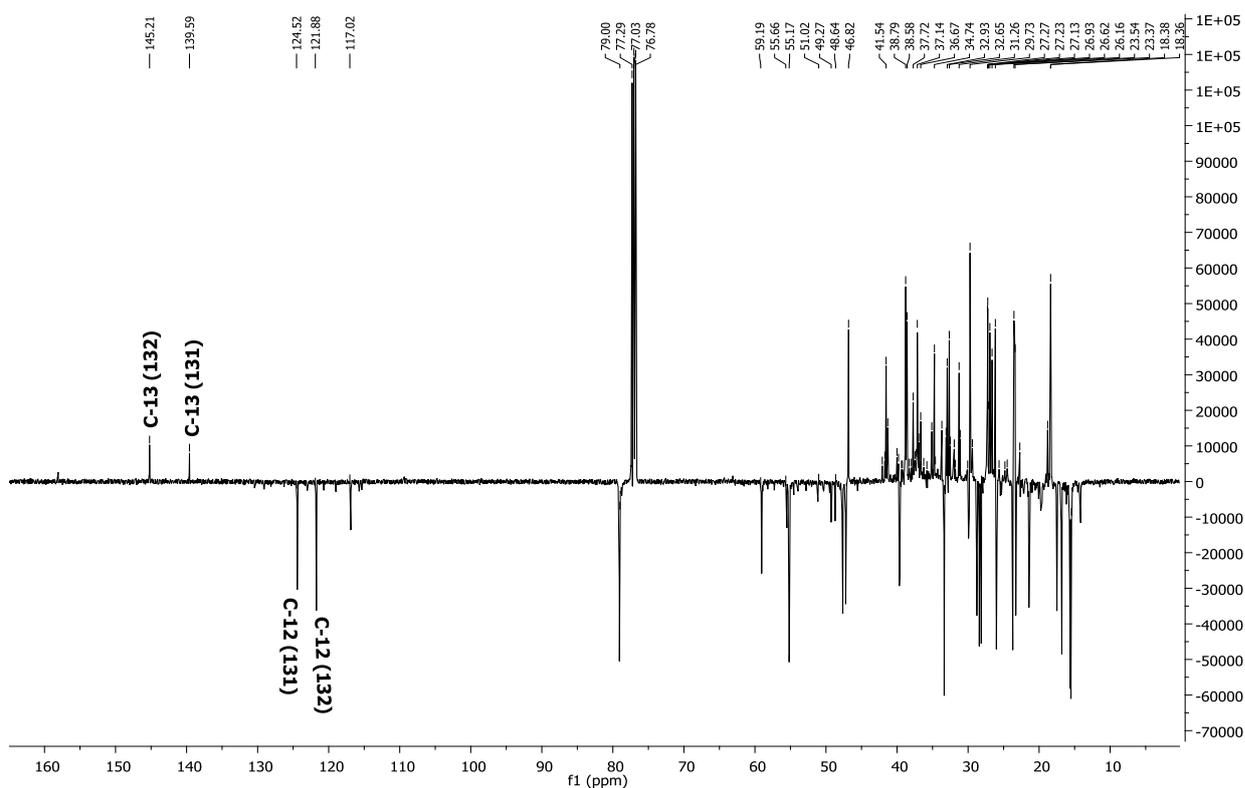


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) das substâncias **(130)**, **(131)** e **(132)**.

5.1.6. Identificação estrutural das substâncias **(133)** e **(134)** (mistura)

A fração hexânica do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, após ser submetida a sucessivos fracionamentos cromatográficos em coluna com sílica gel, forneceu 9 mg da mistura das substâncias **(133)** e **(134)** que foi obtida como sólido amarelo pálido amorfo e solúvel em clorofórmio (Fluxograma 3, pág. 27). As fórmulas estruturais foram definidas com base na análise de espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

A proposta da mistura ser constituída por duas substâncias majoritárias foi resultante da análise de CG (Figura 29) e pela integração dos sinais sugeridos para H-6 em δ_{H} 6,17 **(133)** e para H-8 em δ_{H} 6,10 **(134)** fornecidos pelo espectro de RMN ^1H (Figura 30). O sinal atribuído a **(133)** apresentou-se com maior intensidade do que o atribuído a **(134)**. A integração desses sinais permitiu calcular a percentagem relativa de 6/5 entre **(133)** e **(134)** e, bem como associar estas substâncias aos seus respectivos tempos de retenções fornecidos pelo CG [**(133)**, Tr = 16,10; **(134)**, Tr = 16,26 min].

A identificação da fórmula estrutural de flavanona para ambos os compostos foi possível através da identificação de sinais no espectro de RMN ^1H (Figuras 30 e 31) que indicam a presença de hidrogênios em sistema aromático, cujos sinais apareceram em δ_{H} 7,52 (m); 7,48 (m); 7,27 (m); 7,21(m); 6,17 (s) e 6,10 (s). Os quatro primeiros sinais podem representar sistema ABX e os demais sugerem, em cada composto, a presença de anel-A com três substituintes.

O sistema ABX que envolve hidrogênios de sistemas aromáticos, juntamente com fragmentos em m/z 105 [32,71% - **(133)**; 55,72% - **(134)**] e em m/z 77 [36,60% - **(133)**; 33,42% - **(134)**] (Figuras 34 e 35, respectivamente), revelados nos respectivos espectros de massas dos constituintes da mistura (Figuras 32 e 33), permitem propor a existência de grupo

fenílico monosubstituído. Sinais em δ_H 2,42(s) e 2,35(s) podem estar associados a dois grupos metílicos e os sinais em δ_H 3,26(s) e 3,35(s) podem corresponder a hidrogênios de grupo metoxílico (Figura 30).

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ da mistura **(133)** e **(134)** (Figura 36) mostrou vinte e seis linhas espectrais, das quais cada uma das absorções em δ_{CH} 128,85 e δ_C 102,78 foram atribuídas a dois carbonos, enquanto para δ_{CH} 128,75 e 125,19 foram sugeridos quatro carbonos para cada sinal. De acordo com os seus deslocamentos químicos, dos trinta e quatro carbonos, vinte e seis eram referentes a carbonos insaturados e oito a saturados. Sinais em δ_{CH} 128,85; 128,75 e 125,19 foram atribuídos a carbonos metínicos aromáticos, em δ_C 194,81 e 194,38 sugerindo a presença de carbonilas queladas. Observaram-se absorções que podem evidenciar a existência de carbonos sp^3 (δ_{CH_2} 48,21 e 48,43). Verificaram-se, ainda, absorções que permitiram propor a presença de grupos metilas (δ_{CH_3} 7,82 e 7,07) e metoxilas (δ_{CH_3} 55,02 e 55,16), bem como a existência de carbonos hidroxigenados no anel-A (δ_{CH} 162,82 e 160,93) e no anel-C (δ_{CH} 101,54 e 100,98).

O espectro de RMN-2D HSQC (Figura 37), auxiliou na atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos carbonos e respectivos hidrogênios nas fórmulas estruturais de **(133)** e **(134)** que podem ser conferidos nas Tabelas 6 e 7.

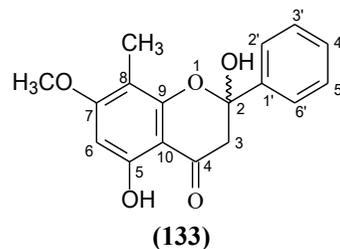
A falta de um duplo dubleto na região de δ_H 5,20 sugeriu a ausência de um H-2 que normalmente acopla com os prótons H-3, em flavanonas (MUSTAFA, 2003b). Sinais em δ_C 101,54 [C-2 - **(133)**] e 100,98 [C-2 - **(134)**] no espectro RMN ^{13}C -DEPTQ (Figura 36), indicaram a presença de dois carbonos sp^3 duplamente oxigenados. Estas informações permitiram deduzir que OH está presente nas fórmulas estruturais de **(133)** e **(134)** ocupando a posição de H-2.

A presença do fragmento com m/z 267 (21,03%), gerado pela eliminação de radical metila em m/z 282 (100%) (Figura 34), sugeriu que a metila em δ_{CH_3} 7,82 está em C-8 da fórmula estrutural de **(133)** (Tabela 6). Em relação a flavanona **(134)**, o fragmento com m/z 264 (20,37%) foi resultante da eliminação de H_2O da espécie química com m/z 282 (100%) (Figura 35), permitindo propor que a metila em δ_{CH_3} 7,07 está localizada em C-6 (Tabela 7). Além disso, as posições ocupadas pelas metilas nos componentes da mistura das flavononas puderam ser corroboradas pelo espectro de RMN-2D do HMBC (Figuras 38 e 39). Em **(133)** observou-se que CH_3 -8 (δ_H 2,35) apresentou correlações ($^2J_{CH}$) com C-8 (δ_C 105,03) e ($^3J_{CH}$) com C-9 (δ_C 155,70). Enquanto que em **(134)** verificou-se que CH_3 -6 (δ_H 2,42) exibiu correlações ($^2J_{CH}$) com C-6 (δ_C 106,44) e ($^3J_{CH}$) com C-7 (δ_C 165,85). As demais correlações estão registradas nas Tabelas 6 e 7 e ilustradas nas Figuras 38 a 42.

A análise dos dados espectrométricos para mistura dos compostos **(133)** e **(134)** e a comparação destes dados com os descritos na literatura (FLEISCHER *et al.*, 1997), permitiram identificá-las como os isômeros 2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona e 2,5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona, respectivamente (Tabelas 6 e 7). A identificação foi confirmada pelo pico em m/z 323,0938, correspondente ao íon quase molecular $[M + Na]^+$ obtido no espectro de massas de alta resolução, (HRMS-ESI, Figura 43) compatível com a fórmula molecular $C_{17}H_{16}O_5Na$ (calc. 323,0895) para os isômeros **(133)** e **(134)**. O valor de $[\alpha]_D^{22,6^\circ}$ -0,0121 (c. 0,056, $CHCl_3$), próximo a zero, permite propor uma mistura de epímeros em proporção próxima de 1:1, independente da relação dos isômeros estruturais, tendo, provavelmente, a mistura de quatro compostos.

As 2-hidroxi-flavanonas obtidas em nosso estudo são inéditas no gênero. Essas substâncias foram obtidas anteriormente da casca de caule de *Friesodielsia enghiana* (Diels) Verdc. (Annonaceae) (FLEISCHER *et al.*, 1997), e em folhas de *Leptospermum recurvum* Hook. f. (MUSTAFA, 2003a) e *Leptospermum polygalifolium* subsp. *polygalifolium* Salisb (Myrtaceae) (MUSTAFA, 2003b).

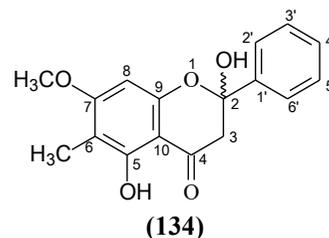
Tabela 6. Dados espectroscópicos da substância **(133)** (C₆D₆) comparados com os da literatura (FLEISCHER *et al.*,1997, RMN ¹H: C₆D₆, RMN ¹³C - DEPTQ: CDCl₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (*J*) em Hz.



2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona		(133)				
δ_C (100 MHz)	δ_H (400 MHz)	HSQC (¹ J)		HMBC		
		δ_C -DEPTQ (100 MHz)	δ_H (400 MHz)	² J _{CH}	³ J _{CH}	
C						
2	101,8	-	101,54	-	H _{eq} -3, H _{ax} -3	-
4	195,0	-	194,81	-	H _{eq} -3, H _{ax} -3	-
5	162,2	-	162,82	-	H-6, OH-5	-
7	166,3	-	165,50	-	H-6	Me-8, MeO-7
8	106,0	-	105,03	-	Me-8	H-6
9	155,7	-	158,02	-	-	Me-8
10	102,5	-	102,78	-	-	H-6, OH-5
1''	142,4	-	142,54	-	-	H-3'', H- 5''
CH						
6	92,8	6,02 (s)	92,82	6,17 (s)	-	OH-5
2''/6''	125,2	7,43 (m)	125,19	7,52 (m)	H-3'', H-5''	H-4''
3''/5''	128,9	7,14 (m)	128,75	7,21 (m)	H-2'', H-4'', H-6''	H-3'', H-5''
4''	129,4	7,14 (m)	128,85	7,27 (m)	H-5''	H-2'', H-6''
CH₂						
3	48,4	2,83 (H _{eq} ; d; <i>J</i> = 17); 2,55 (H _{ax} ; dd; <i>J</i> = 2,6; 17)	48,21	2,91 (H _{eq} ; d; <i>J</i> = 12,4)/2,95 (H _{eq} ; d; <i>J</i> = 16,5)(*); 2,65 (H _{ax} ; d; <i>J</i> = 17)/2,69 (H _{ax} ; d; <i>J</i> = 17,6)(*)	-	-
CH₃						
Me-8	8,0	2,28 (s)	7,82	2,35 (s)	-	-
MeO-7	56,1	3,16 (s)	55,16	3,26 (s)	-	-
OH						
HO-2	-	2,70 (d; <i>J</i> = 2,7)	-	2,58 (s)	-	-
HO-5	-	12,64 (s)	-	12,86 (s)	-	-

(*) Podem ser trocados entre as fórmulas estruturais de **(133)** e **(134)**

Tabela 7. Dados espectroscópicos da substância **(134)** (C₆D₆) comparados com os da literatura (FLEISCHER *et al.*,1997, RMN ¹H: C₆D₆, RMN ¹³C - DEPTQ: CDCl₃), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (*J*) em Hz.



2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona		(134)			
δ _C (100 MHz)	δ _H (400 MHz)	HSQC (¹ J)		HMBC	
		δ _C - DEPTQ (100 MHz)	δ _H (400 MHz)	² J _{CH}	³ J _{CH}
C					
2	101,3	100,98	-	H _{eq} -3, H _{ax} -3	-
4	194,6	194,38	-	H _{eq} -3, H _{ax} -3	-
5	160,3	160,93	-	OH-5	-
6	106,7	106,44	-	Me-6	OH-5, H-8
7	165,9	165,85	-	H-8	Me-6, MeO-7
9	158,0	155,63	-	H-8	-
10	102,5	102,78	-	-	H-8, OH-5
1''	142,1	142,35	-	-	H-3'', H- 5''
CH					
8	91,9	5,99 (s)	91,38	6,10 (s)	-
2''/6''	125,2	7,39 (m)	125,15	7,48 (m)	H-3'', H-5''
3''/5''	128,9	7,09 (m)	128,75	7,21 (m)	H-2'', H-4'', H-6''
4''	129,4	7,09 (m)	128,85	7,21 (m)	H-5''
CH₂					
3	48,7	2,81 (H _{eq} ; d; <i>J</i> = 17); 2,60 (H _{ax} ; dd; <i>J</i> = 2,4; 17)	48,43	2,91 (H _{eq} ; d; <i>J</i> = 12,4)/2,95 (H _{eq} ; d; <i>J</i> = 16,5)(*); 2,65 (H _{ax} ; d; <i>J</i> = 17)/2,69 (H _{ax} ; d; <i>J</i> = 17,6)(*)	-
CH₃					
Me-6	7,1	2,22 (s)	7,07	2,42 (s)	-
MeO-7	56,0	3,25 (s)	55,02	3,35 (s)	-
OH					
HO-2	-	3,02 (d; <i>J</i> = 2,6)	-	2,82 (s)	-
HO-5	-	12,57 (s)	-	12,78 (s)	-

(*) Podem ser trocados entre as fórmulas estruturais de **(133)** e **(134)**

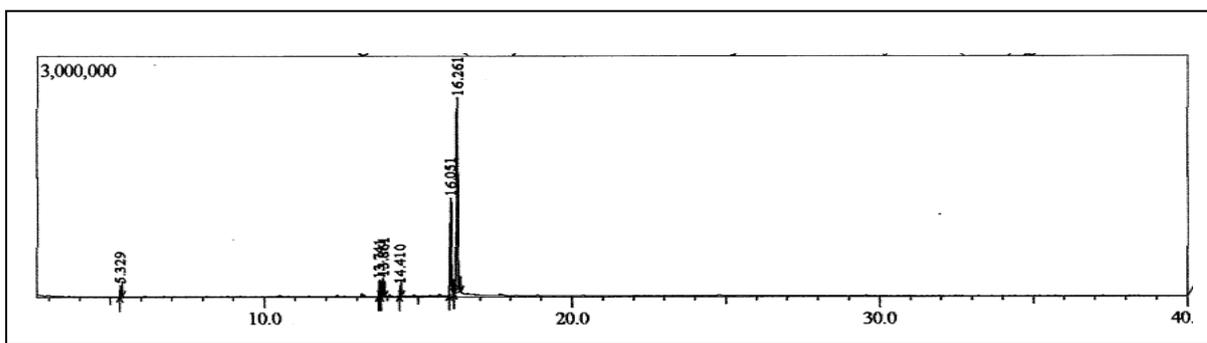


Figura 29. Cromatograma (CG) da mistura das substâncias (133) e (134).

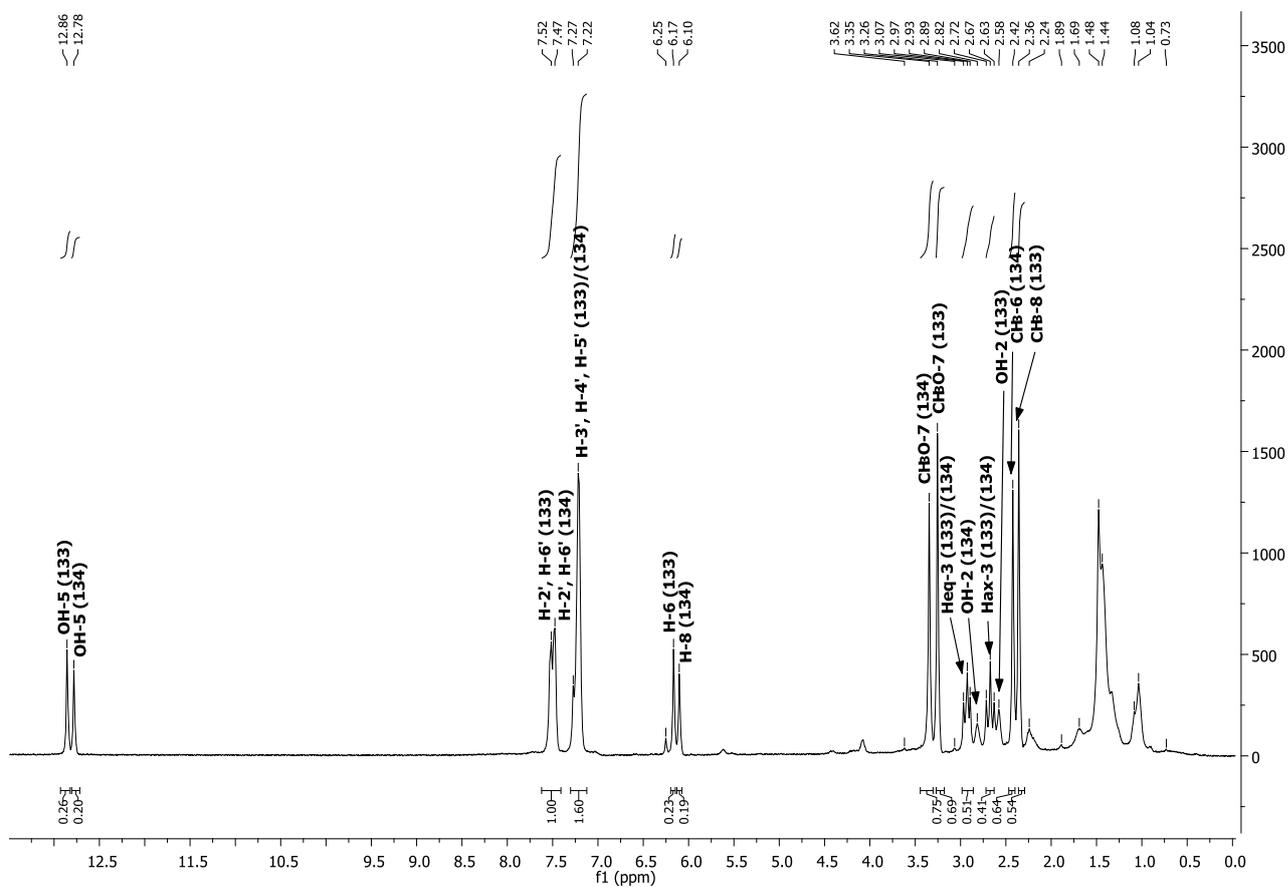


Figura 30. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) da mistura das substâncias (133) e (134).

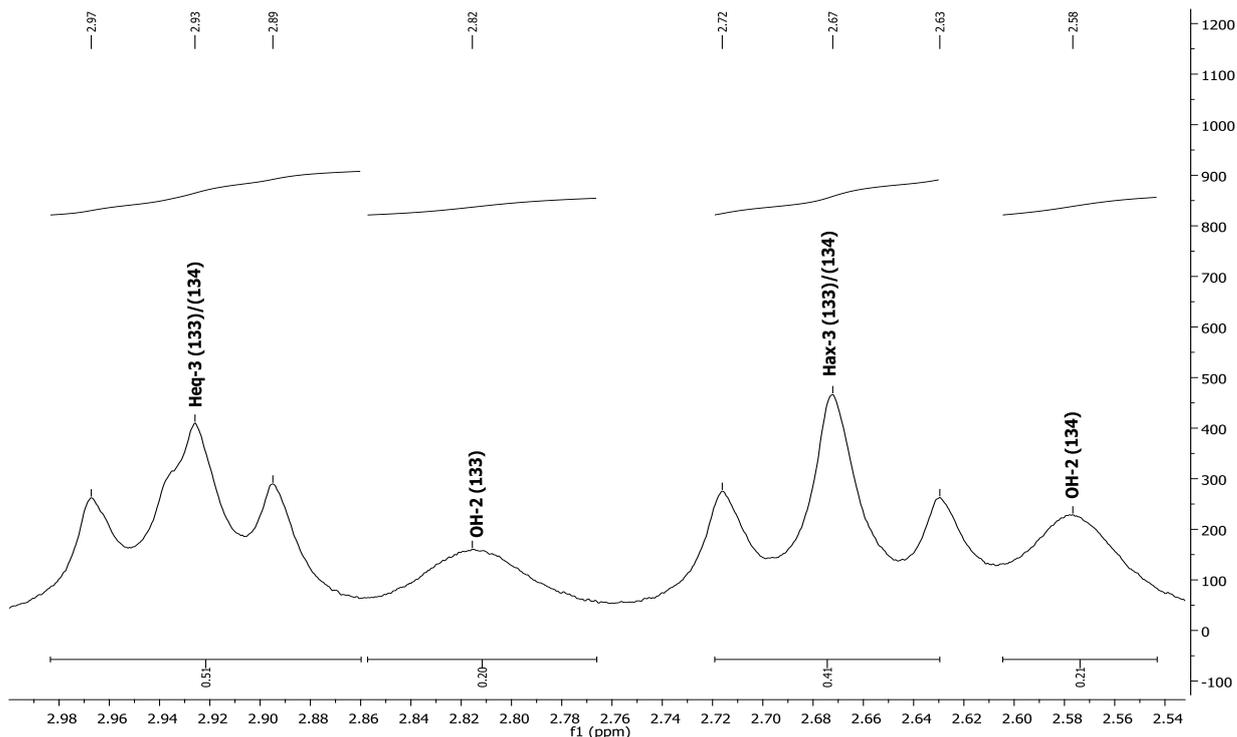


Figura 31. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_6D_6) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_{H} 2,54-2,98 ppm

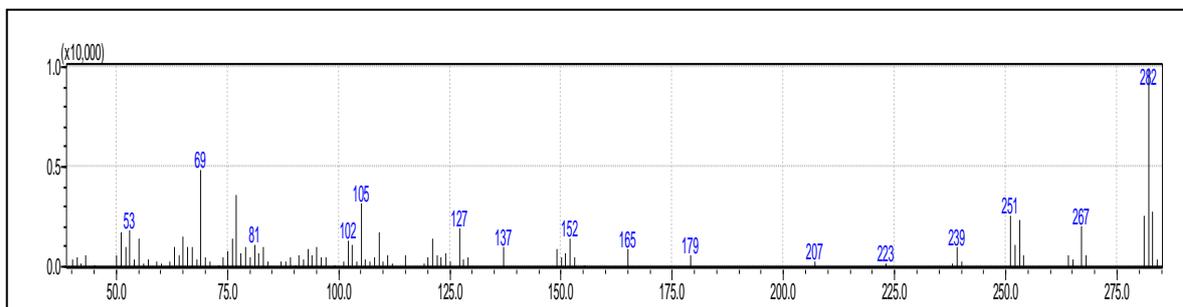


Figura 32. Espectro de massas 70 eV da substância (133) (Tr = 16,05 min)

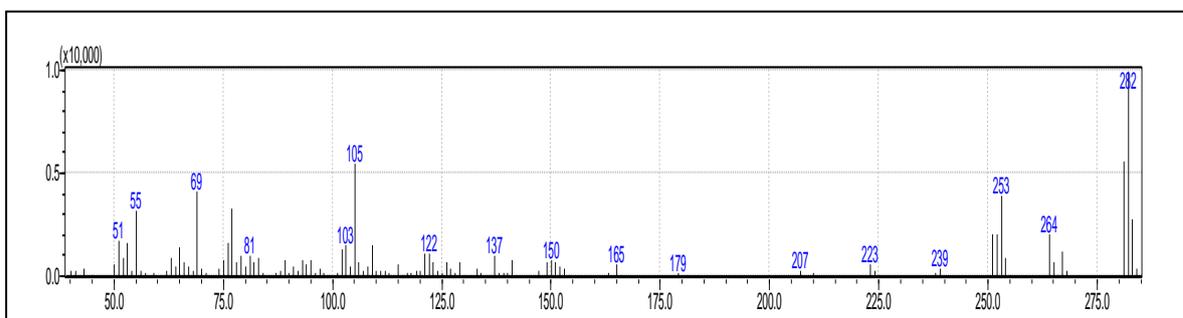


Figura 33. Espectro de massas 70 eV da substância (134) (Tr = 16,26 min)

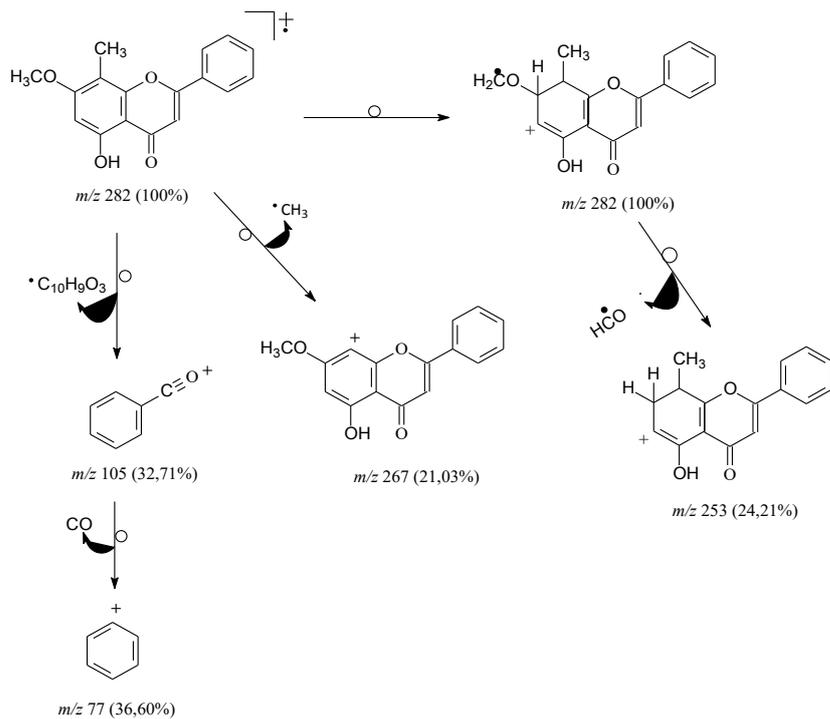


Figura 34. Propostas de fragmentação da substância (133).

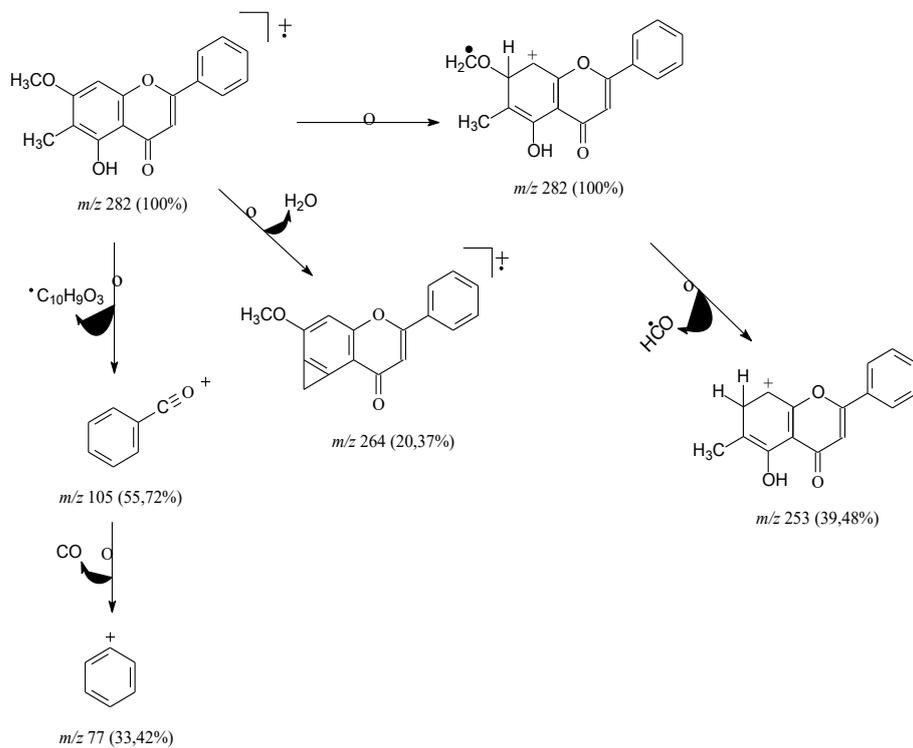


Figura 35. Propostas de fragmentação da substância (134).

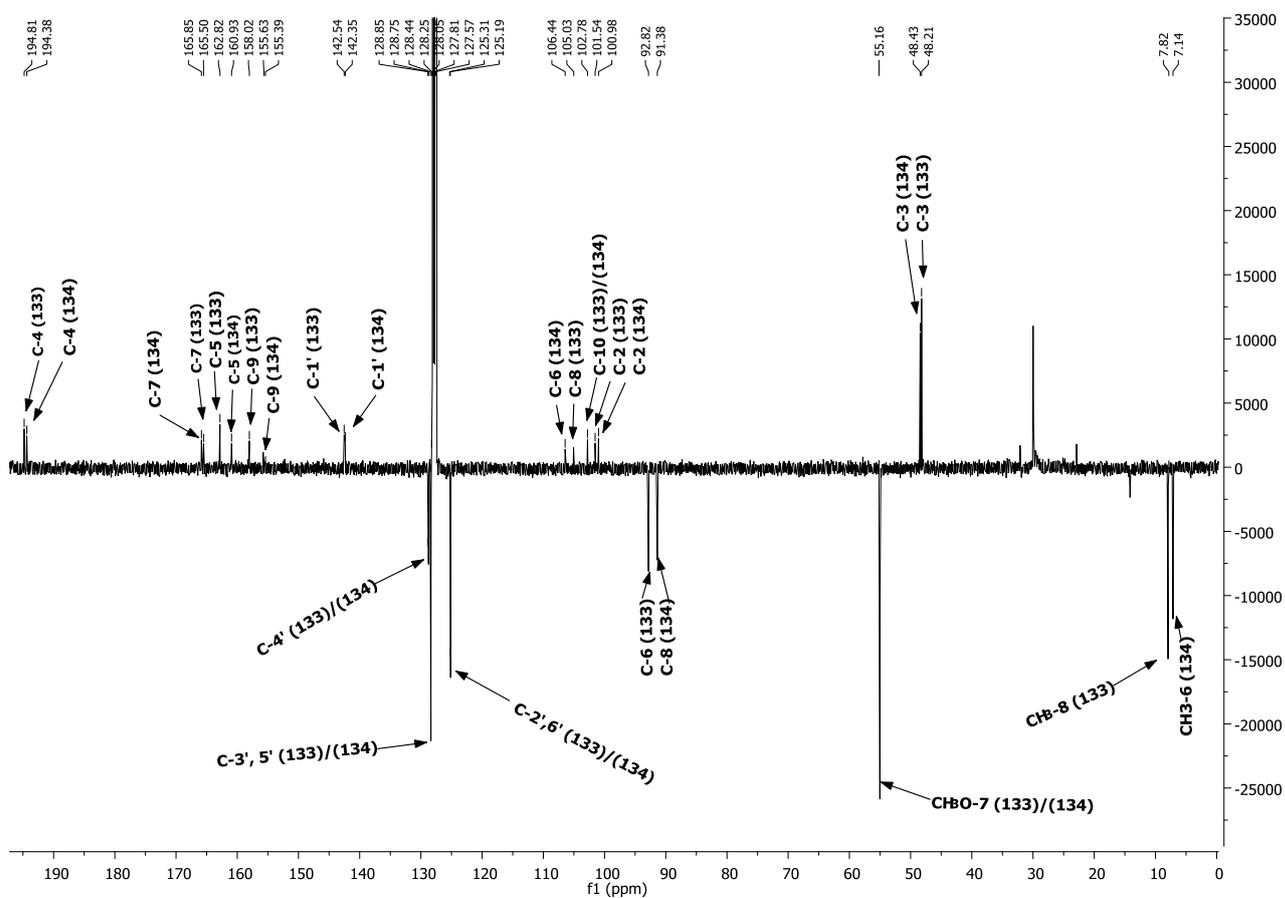


Figura 36. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, C_6D_6) das substâncias (133) e (134).

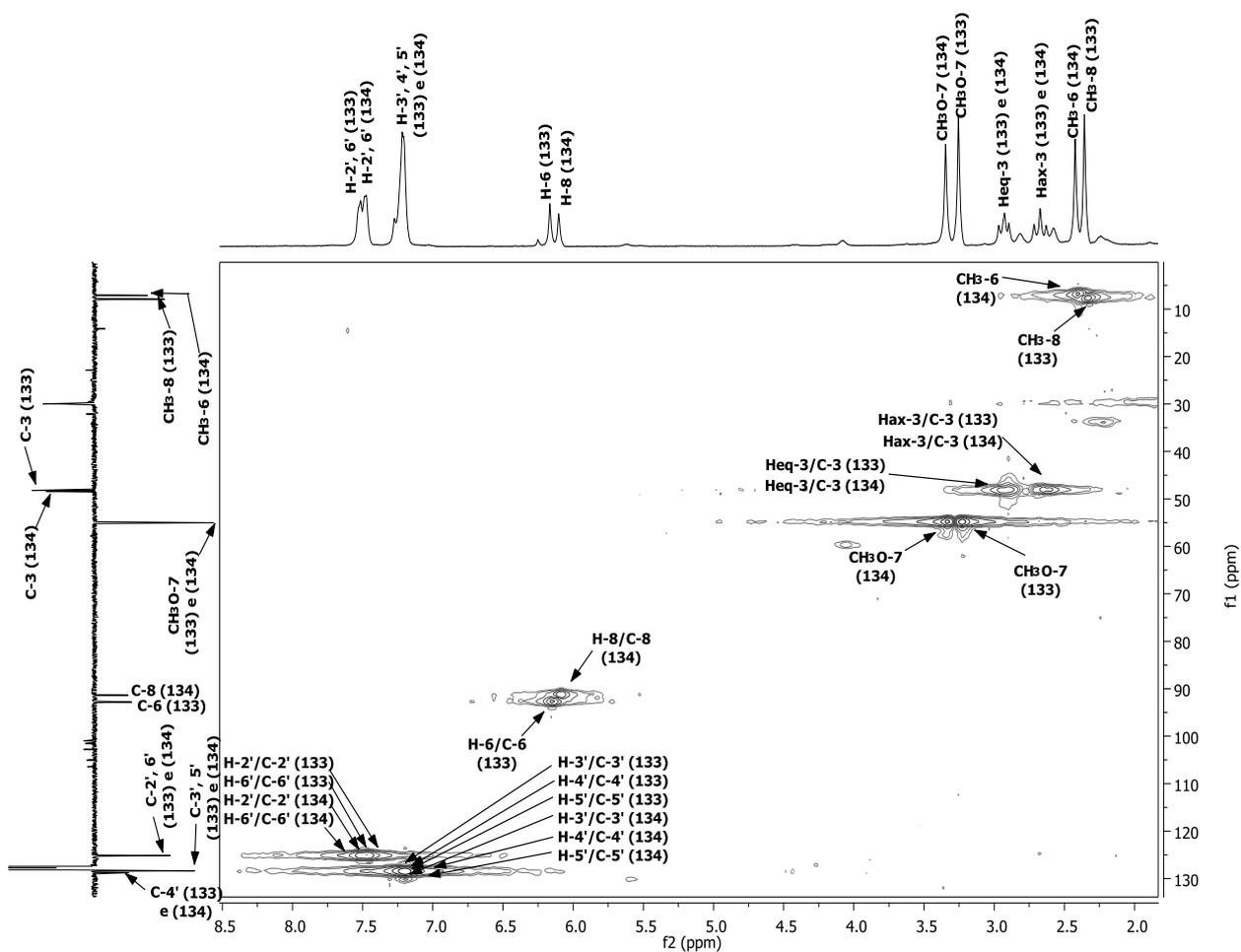
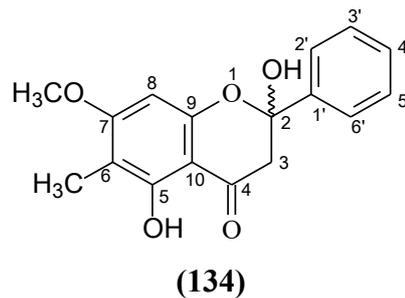
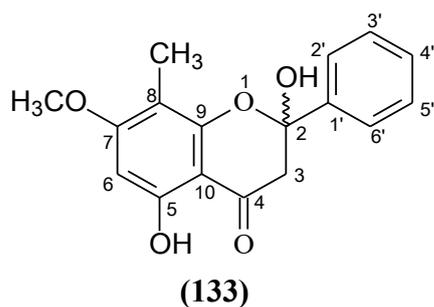


Figura 37. Espectro de RMN-2D HSQC (400/100 MHz, C₆D₆) da mistura das substâncias (133) e (134).

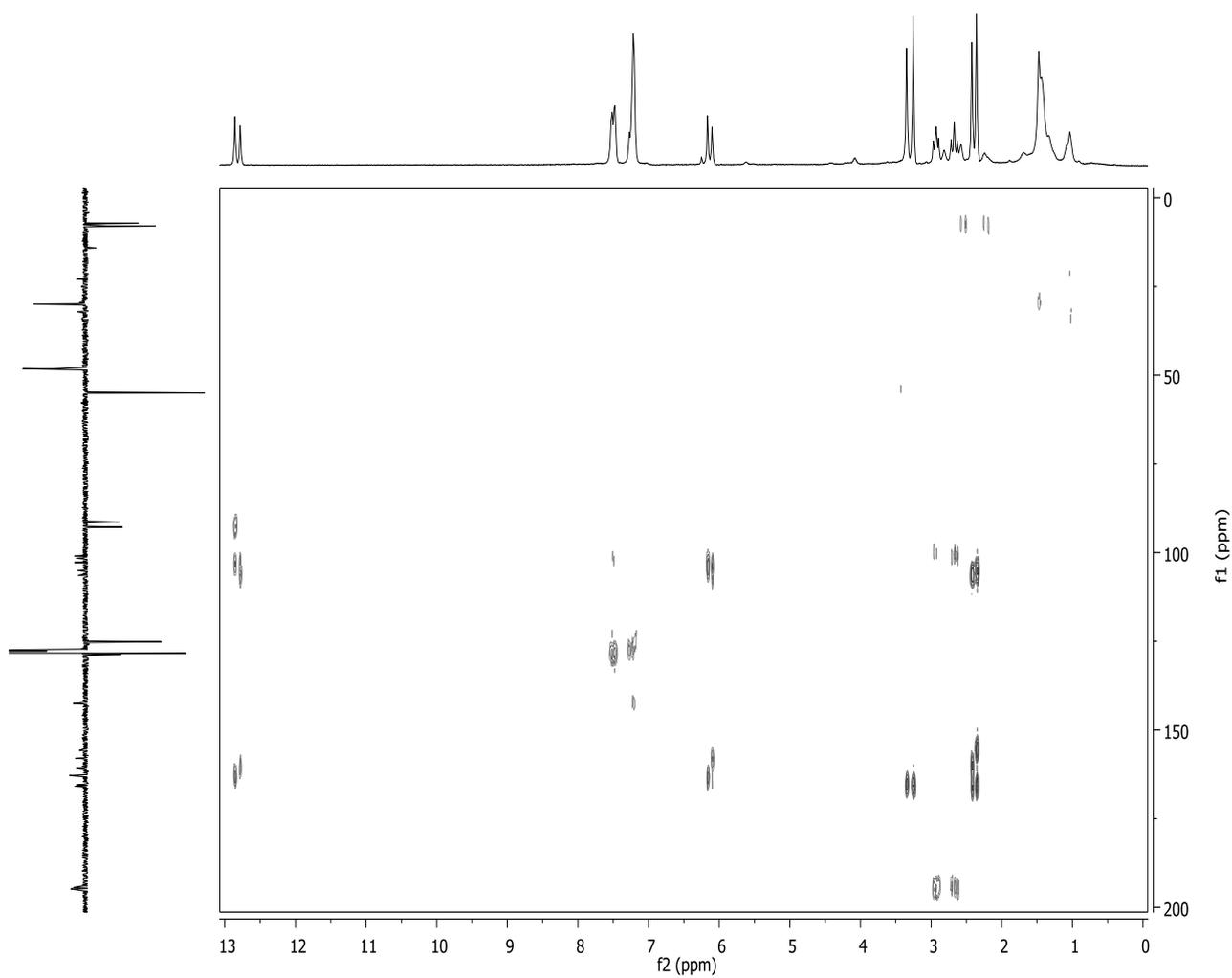
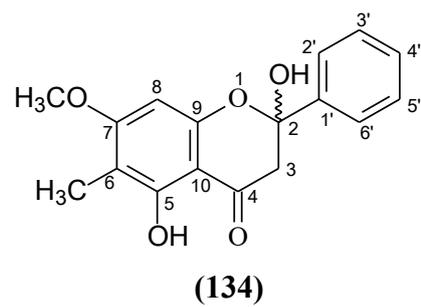
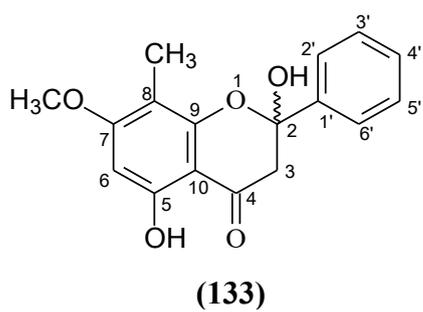


Figura 38. Espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C_6D_6) da mistura das substâncias (133) e (134).

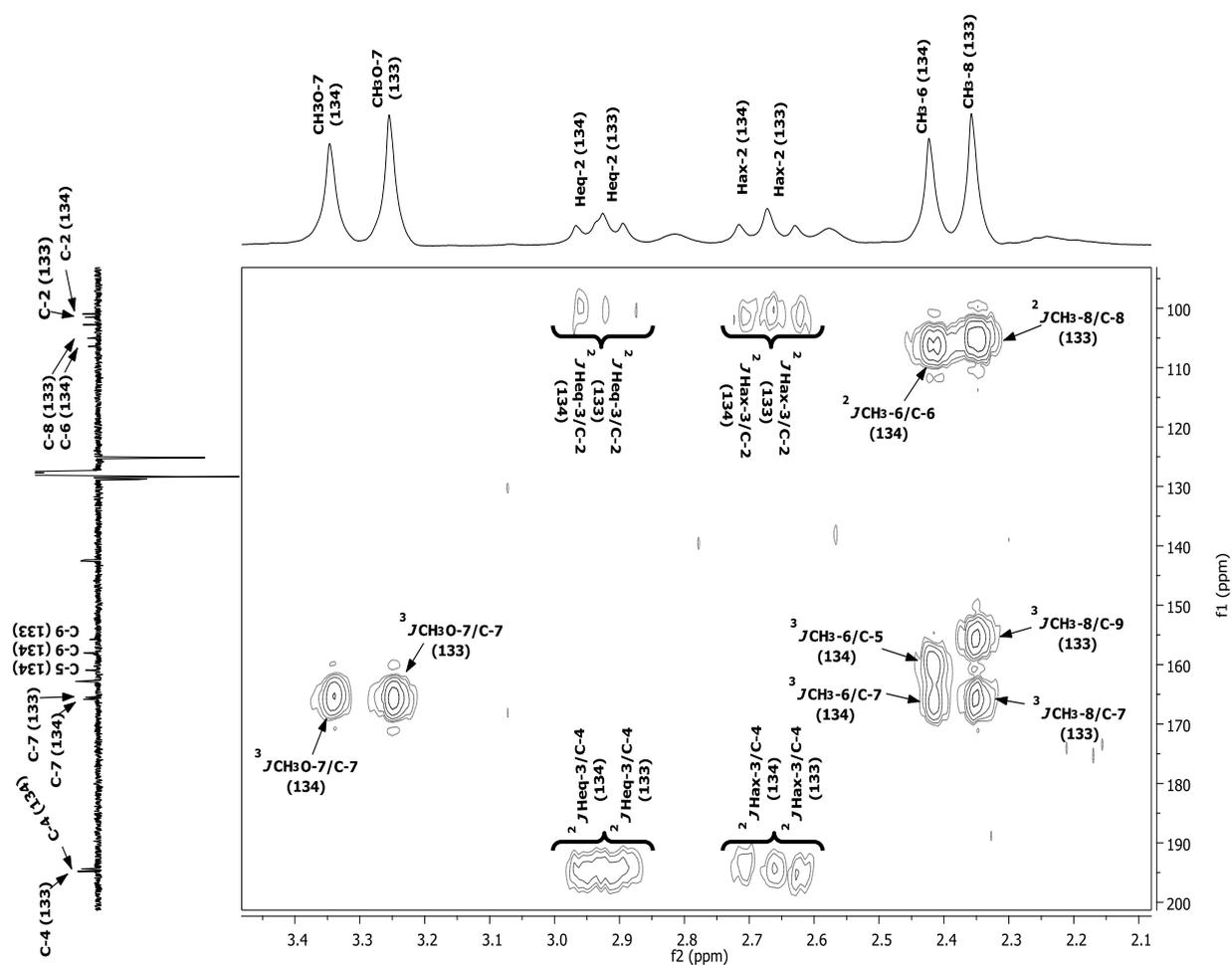
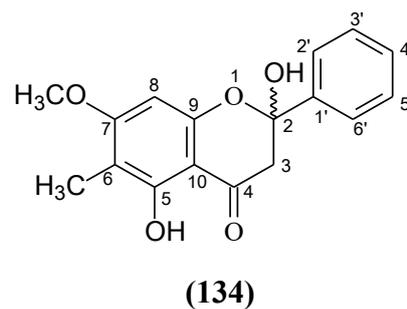
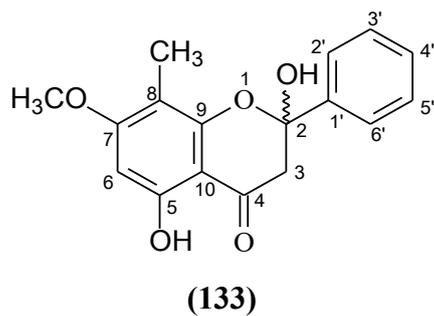


Figura 39. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C_6D_6) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 90,0-200,0 ppm e δ_H 2,1-3,4 ppm.

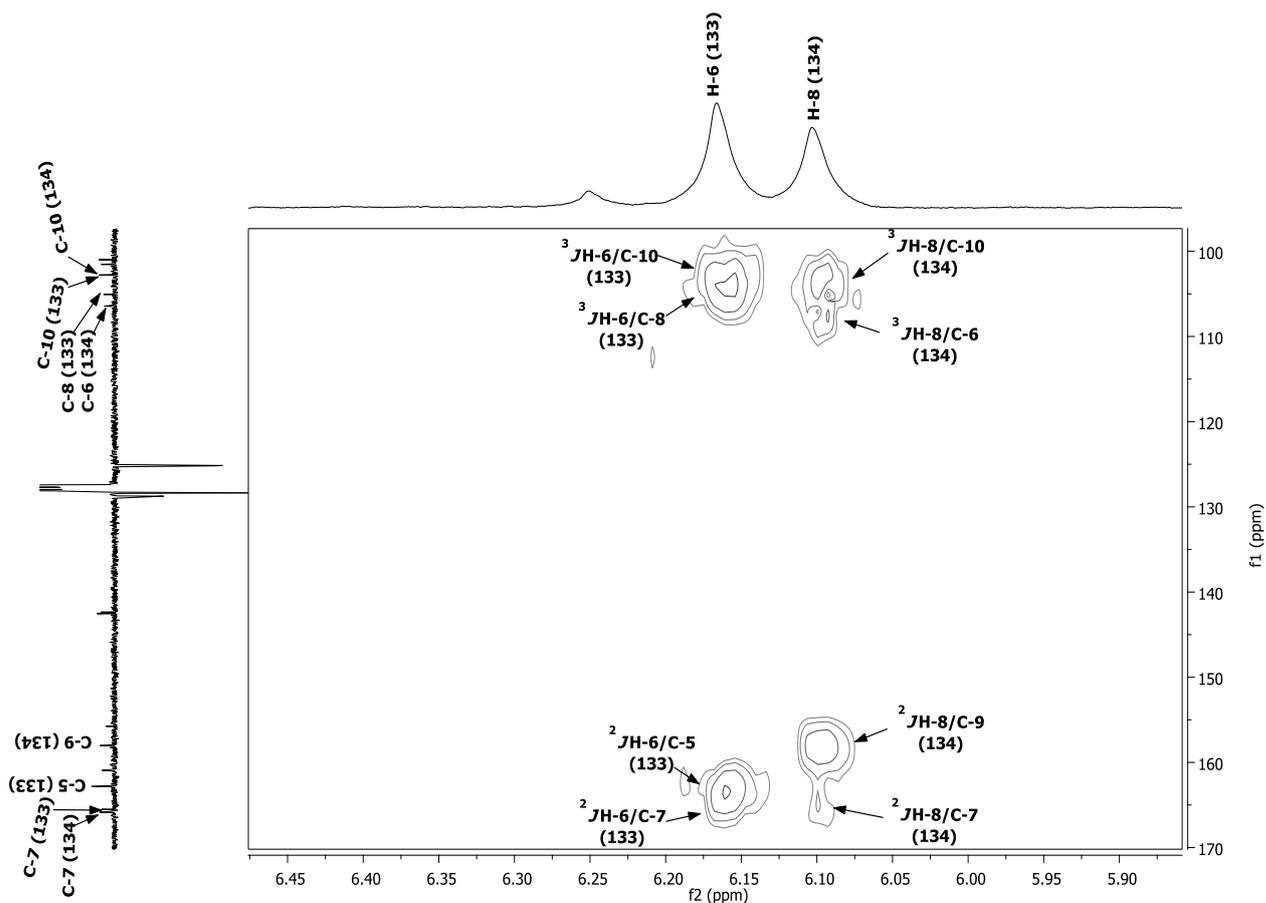
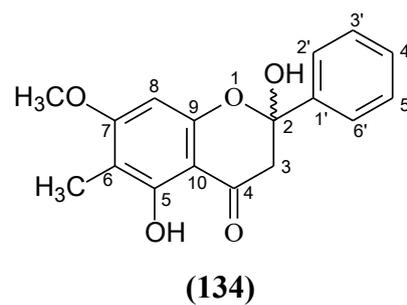
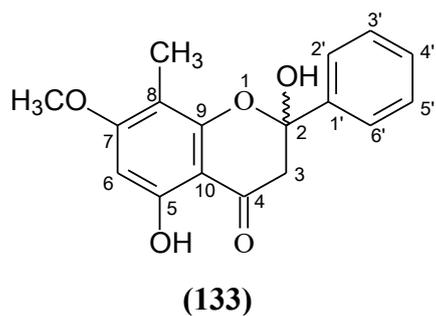


Figura 40. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C_6D_6) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 100,0-170,0 ppm e δ_H 5,85-6,48 ppm.

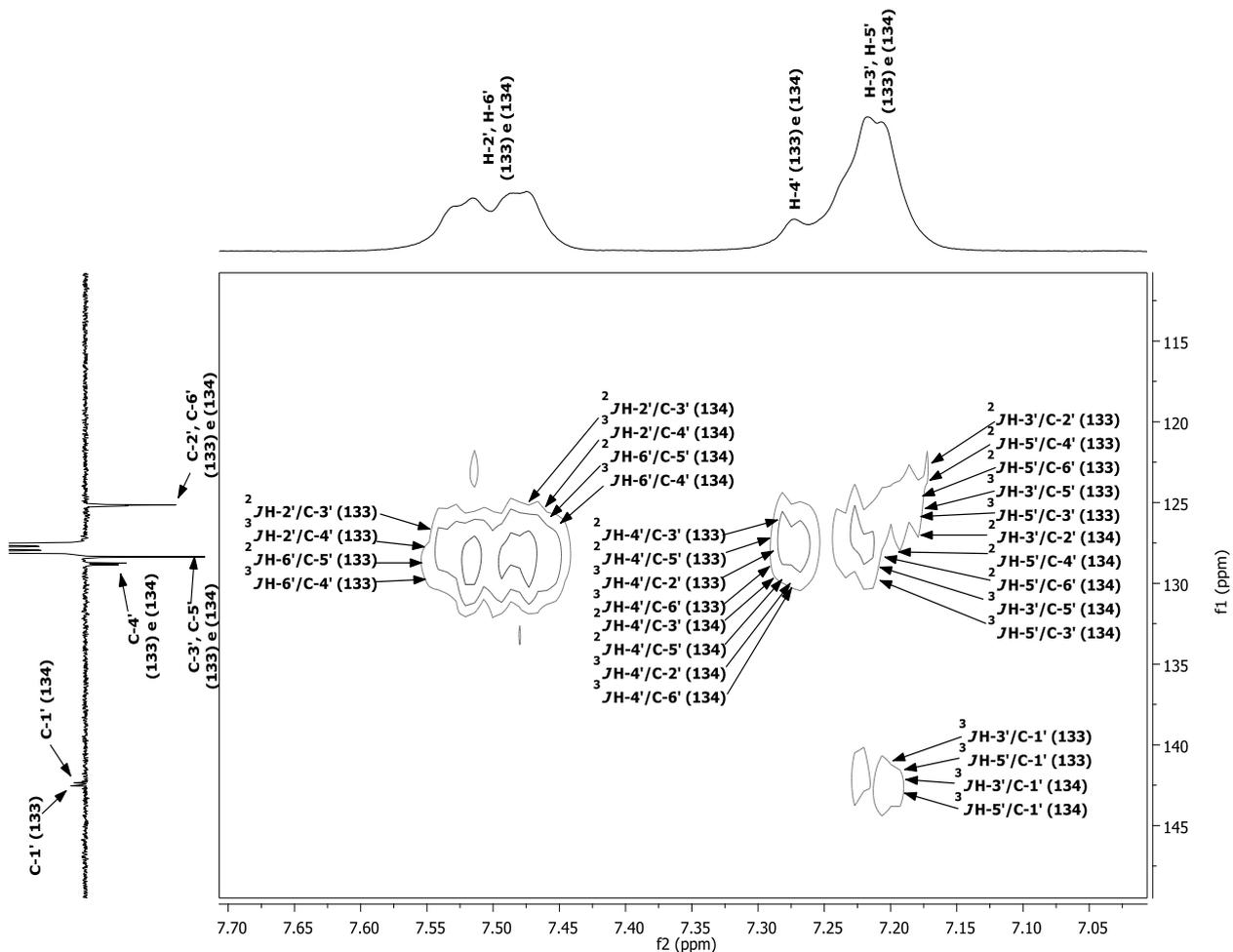
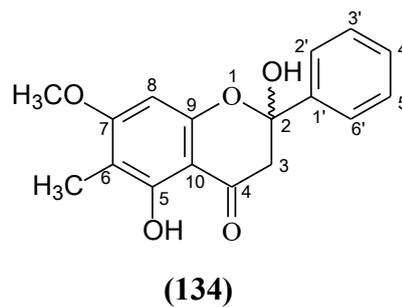
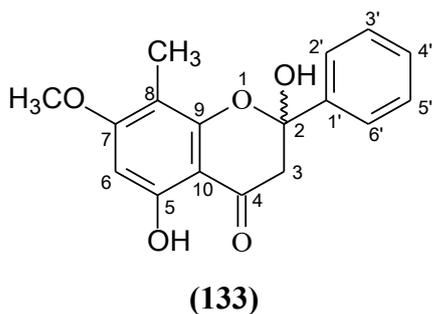


Figura 41. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C_6D_6) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 110,0-150,0 ppm e δ_H 7,05-7,70 ppm.

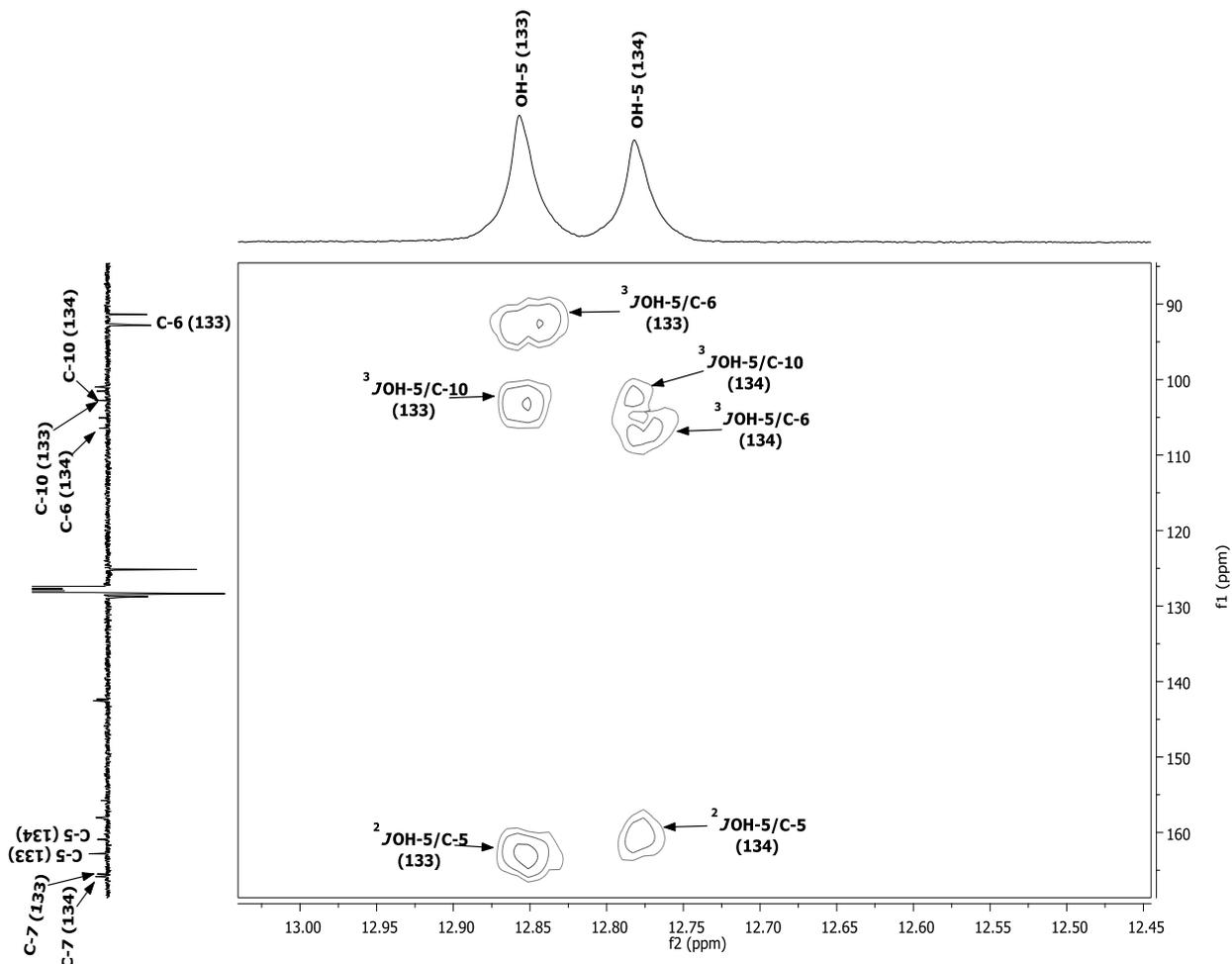
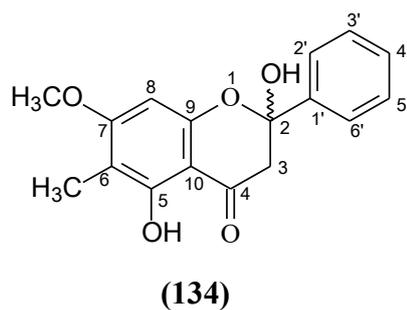
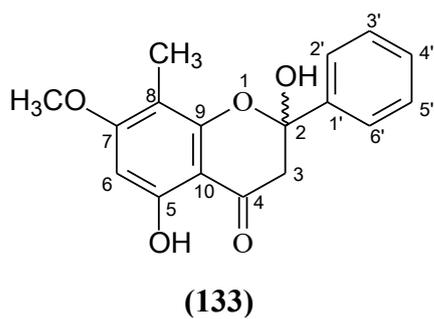


Figura 42. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (400/100 MHz, C_6D_6) da mistura das substâncias (133) e (134) na região entre δ_C 85,0-170,0 ppm e δ_H 12,45-13,05 ppm.

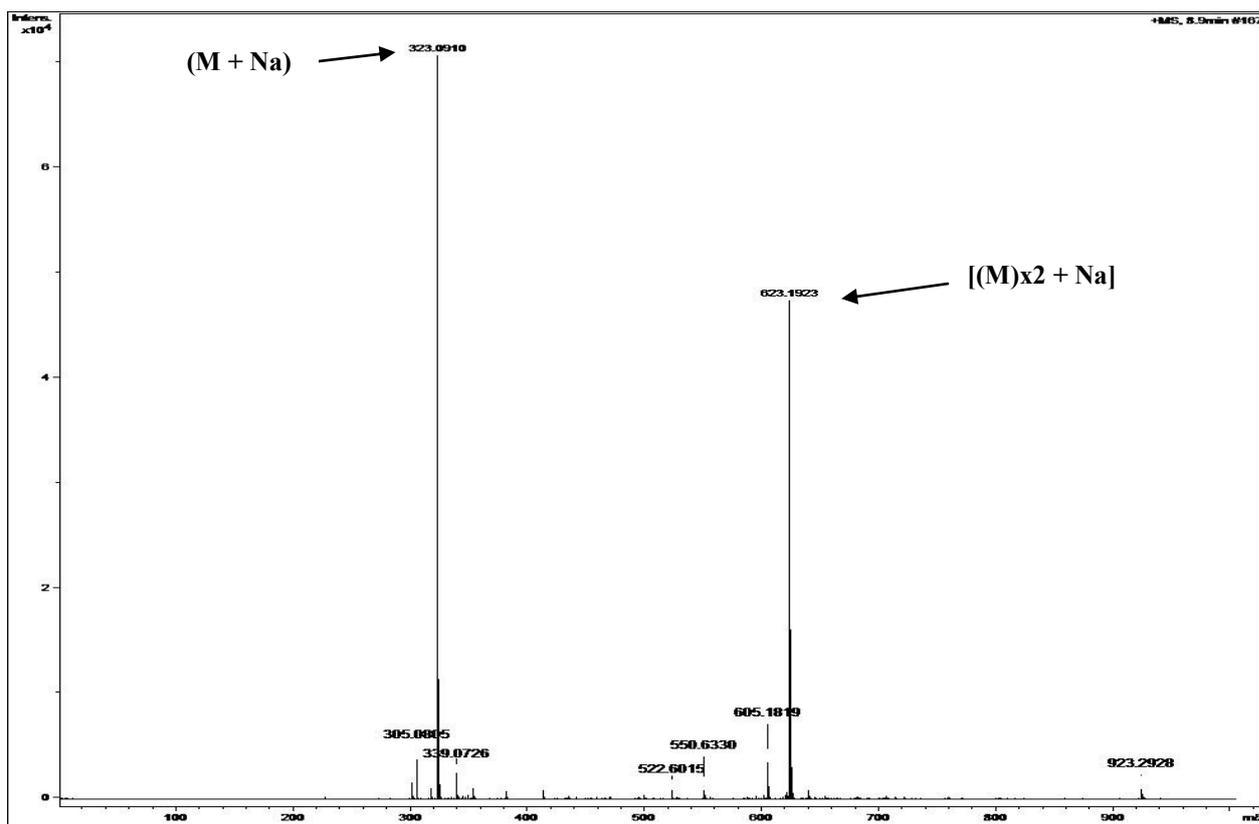


Figura 43. Espectro de massas de alta resolução da mistura das substâncias (133) e (134), modo positivo com ionização por spray de elétrons.

5.1.7. Identificação estrutural da substância (135)

As frações diclorometano e acetato de etila, resultantes da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, foram fracionadas através de técnicas cromatográficas de colunas abertas de sílica gel e/ou sephadex LH-20 fornecendo 43 mg da substância (135) que foi obtida como um sólido amorfo de cor castanho claro, solúvel em metanol, apresentando faixa de fusão de 179-182 °C (Fluxogramas 5, 6 e 7, págs. 29, 30 e 33 respectivamente). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

Os espectros de RMN de ¹H (Figuras 44 a 49) e RMN ¹³C-DEPTQ (Figura 50) permitiram deduzir que (135) pertence à classe dos flavonóides. A presença de dubletos centrados em δ_H 5,10 ($J = 10,7$ Hz; 1H) (Figura 48) e 4,60 ($J = 10,7$ Hz; 1H) (Figura 47) de prótons H-2 e H-3, respectivamente, é característica de dihidroflavonois. A constante de acoplamento apresentada por estes dois dubletos ($J = 10,7$ Hz) sugere um acoplamento do tipo axial-axial, conduzindo à proposição de que o anel B e o grupo hidroxila 3-OH mantém uma relação *anti*.

A fórmula estrutural de dihidroflavonol sugerida foi corroborada pelos sinais fornecidos no espectro RMN ¹³C-DEPTQ (Figura 50), em δ_{CH} 77,24; 82,25 e δ_C 194,35 atribuídos aos carbonos C-3, C-2 e C-4 (anel-C), respectivamente. O espectro de RMN de ¹H apresentou, ainda, um par de singletos em δ_H 5,94 e 5,92 (Figura 48) atribuídos ao anel-A 5,7,9,10-tetrassubstituído. Os sinais em δ_H 6,98; 6,87 e 6,83 (Figura 49) podem sugerir o padrão 1,3,4-trissubstituído para o anel B. A presença da unidade monossídica ramosa é constatada pela verificação de dubleto em δ_H 1,21 ($J = 6,2$ Hz, 1H) (Figura 45), juntamente

com o conjunto de sinais entre δ_H 3,32-4,28 (Figuras 44 a 49). Além disso, no espectro RMN ^{13}C -DEPTQ (Figura 50) o sinal em δ_{CH} 16,48, atribuído ao carbono metílico e o conjunto de sinais em δ_C 100,48; 72,48; 70,78; 70,54 e 69,13 contribuíram para a identificação da unidade glicosídica.

A estereoquímica da fórmula estrutural foi definida através da análise do espectro de dicroísmo circular (DC) (Figura 51). A luz plano-polarizada é constituída pela luz circularmente polarizada à esquerda (LCPE) e a luz circularmente polarizada à direita (LCPD). Quando a luz plano-polarizada incide sobre um meio opticamente ativo, na faixa de comprimento de onda em que seu cromóforo absorve, a luz é desviada em um ângulo (α) e a região da molécula opticamente ativa absorve LCPE e LCPD de forma diferencial. A luz emergente é elipticamente polarizada e o meio apresenta DC. Se ϵ_d e ϵ_e são os coeficientes de extinção molar para LCPD e LCPE, respectivamente, a absorção dicróica diferencial ($\Delta\epsilon = \epsilon_d - \epsilon_e$) é a medida da intensidade do DC. A elipsidade molecular $[\theta]$ está associada com $\Delta\epsilon$ pela a equação: $[\theta] = 3300\Delta\epsilon$ (VELLUZ *et al.*, 1965; LUCAS FILHO *et al.*, 2009).

Para substâncias da classe das dihidroflavonol, a literatura relata que o efeito Cotton resultante da transição $n \rightarrow \pi^*$ pode ser utilizado de modo satisfatório para definir a configuração absoluta de C-2. Um efeito Cotton positivo para bandas de absorção na faixa de comprimentos elevados (320-340 nm) indica configuração 2R, ao passo que o efeito negativo indica a configuração 2S (SLADE *et al.*, 2005). O espectro de DC de (135) (Figura 51), registrado na região λ 220-400 nm, revelou efeito Cotton positivo ($\Delta\epsilon = + 4,72$) em λ 331 nm (Tabela 9), permitiu determinar a estereoquímica absoluta de C-2 como R.

A análise dos dados espectrométricos do composto (135) e a comparação dos deslocamentos químicos obtidos dos espectros de RMN 1H e de RMN ^{13}C - DEPTQ de (135) com os descritos na literatura na literatura (HUANG *et al.*, 2011), permitiram identificá-la como o flavanonol glicosilado astilbina (*rel-2R,3S-5,7,3',4'*-tetrahydroxi-3-*O*- α -L-rhamnopiranosilflavanonol) (Tabela 8).

Astilbina é um flavonóide inédito na família Myrtaceae e foi isolado de raízes de *Andira fraxinifolia* Benth. (SILVA *et al.*, 2006) e de flores e pedúnculos de *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae) (PEREIRA *et al.*, 2002), apresentou ampla atividade inseticida, causando a mortalidade de pragas agrícolas e insetos sociais (CINTRA *et al.*, 2002, 2005a, 2005b).

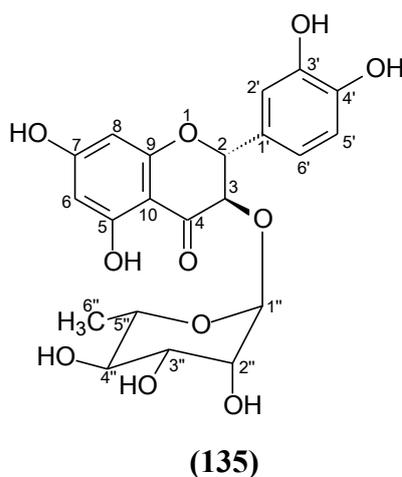
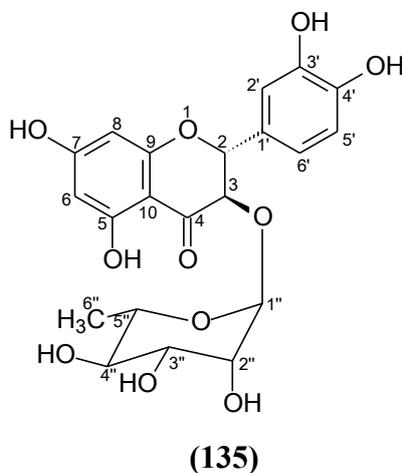


Tabela 8. Dados espectroscópicos de **(135)** (CD₃OD) comparados com os da literatura (HUANG *et al.*, 2011 - CD₃OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



	(135)		Astilbina	
	δ C- DEPT-Q (125 MHz)	δ H (500 MHz)	δ C (100 MHz)	δ H (400 MHz)
C				
4	194,35	-	196,00	-
5	163,79	-	165,52	-
7	167,15	-	168,68	-
9	162,39	-	164,11	-
10	100,76	-	102,48	-
1''	127,68	-	129,18	-
3''	145,04	-	146,54	-
4''	145,91	-	147,38	-
CH				
2	82,25	5,10 (d; $J = 10,7$)	83,96	5,08 (d; $J = 10,8$)
3	77,24	4,60 (d; $J = 10,7$)	78,56	4,58 (d; $J = 10,4$)
6	96,05	5,92 (sl)	97,37	5,89 (d; $J = 2,0$)
8	94,94	5,94 (sl)	96,25	5,91 (d; $J = 2,0$)
2''	115,08	6,98 (s)	116,30	6,95 (d; $J = 1,6$)
5''	113,68	6,83 (d; $J = 8,1$)	115,46	6,85 (m)
6''	119,24	6,87 (dl; $J = 6,7$)	120,48	6,85 (m)
1''	100,48	4,07(sl)	102,14	4,04 (d; $J = 1,6$)
2''	70,54	4,28 (m)	71,77	4,28 (m)
3''	70,78	3,69 (dd, $J = 9,6; 3,2$)	72,14	3,67 (dd, $J = 9,6; 3,2$)
4''	72,48	3,57 (sl)	73,79	3,53 (dd, $J = 3,2; 1,6$)
5''	69,13	3,32 (m)	70,50	3,32 (m)
CH₃				
6''	16,48	1,21(d; $J = 6,2$)	17,85	1,18 (d; $J = 6,0$)

Tabela 9. Dados do espectro do diacromismo circular obtidos para substância (135).

λ (nm)	DC (medg)
382,1	0
331	4,72
313,7	0
292,6	-11,52
266,7	0
250,4	1,61
242,6	0,43
224,8	10,44

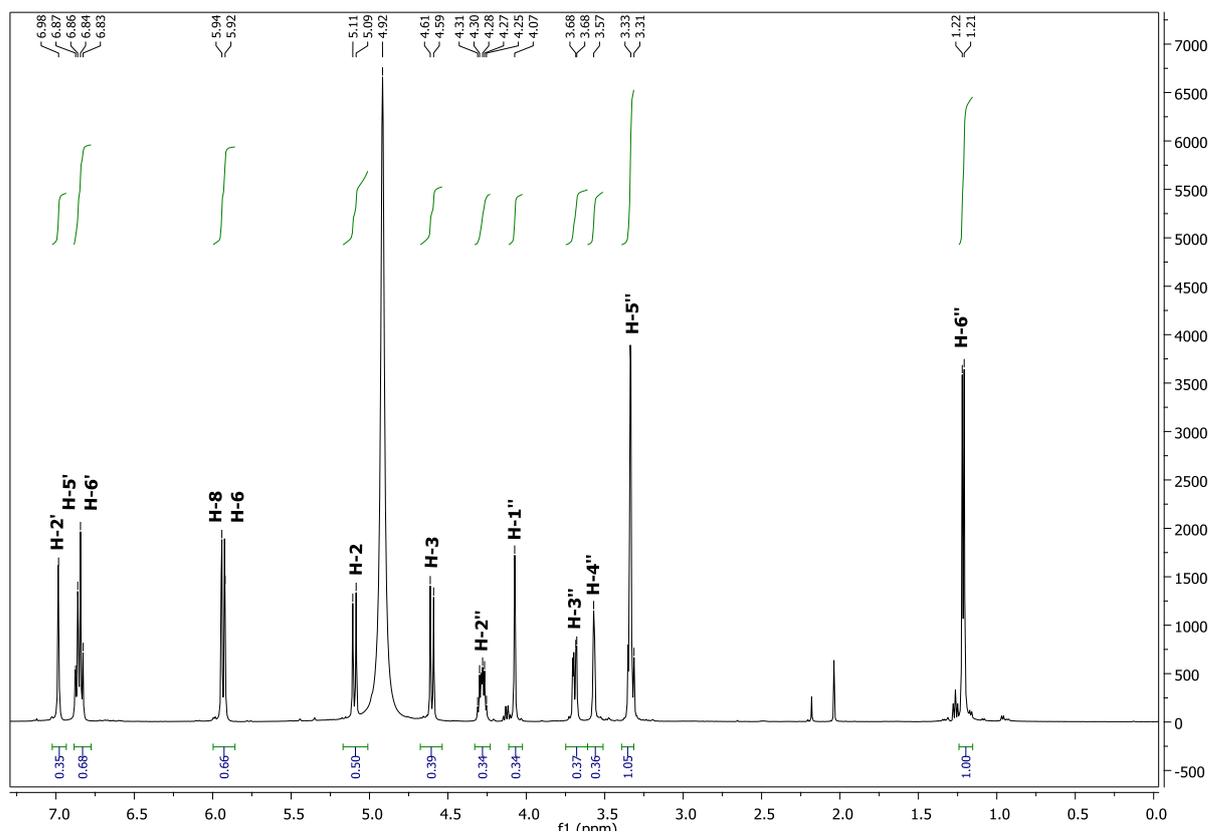


Figura 44. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (135).

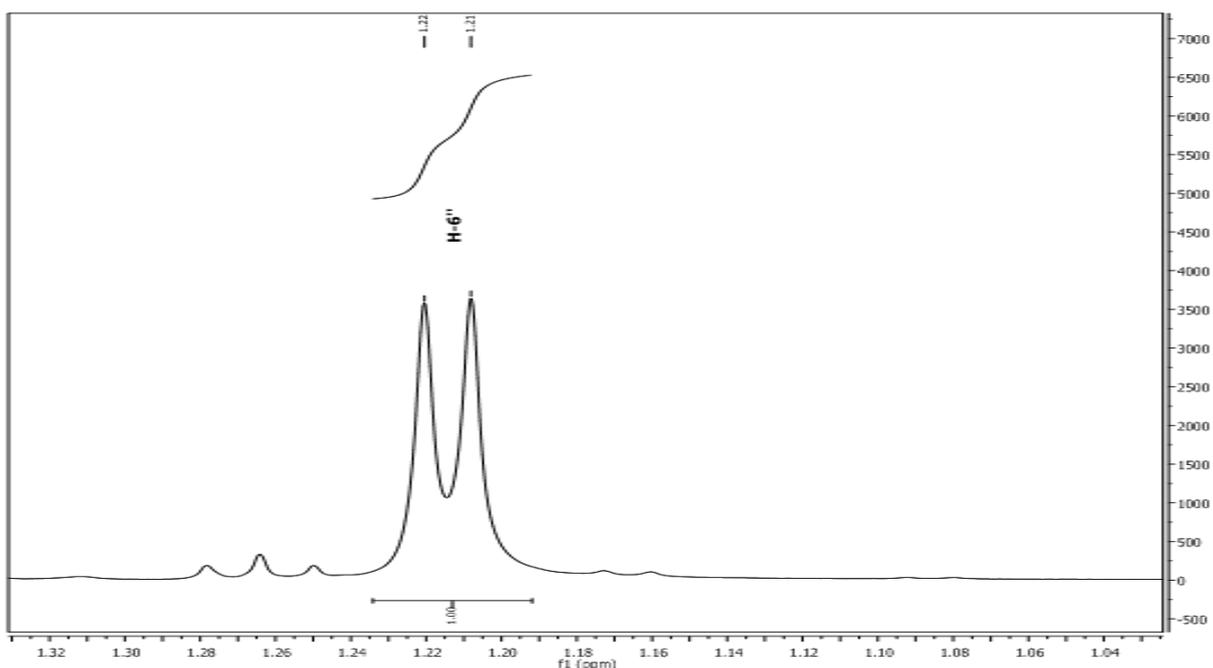


Figura 45. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (**135**) na região entre δ_{H} 1,04-1,32 ppm.

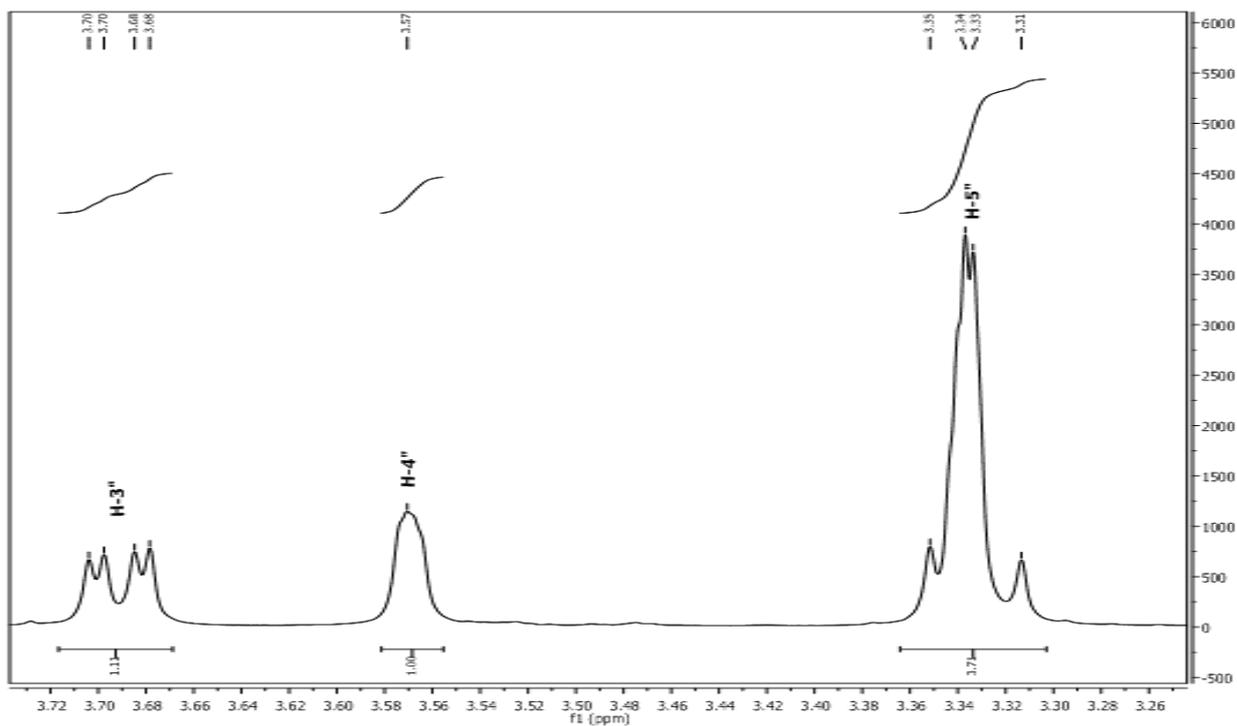


Figura 46. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (**135**) na região entre δ_{H} 3,26-3,72 ppm.

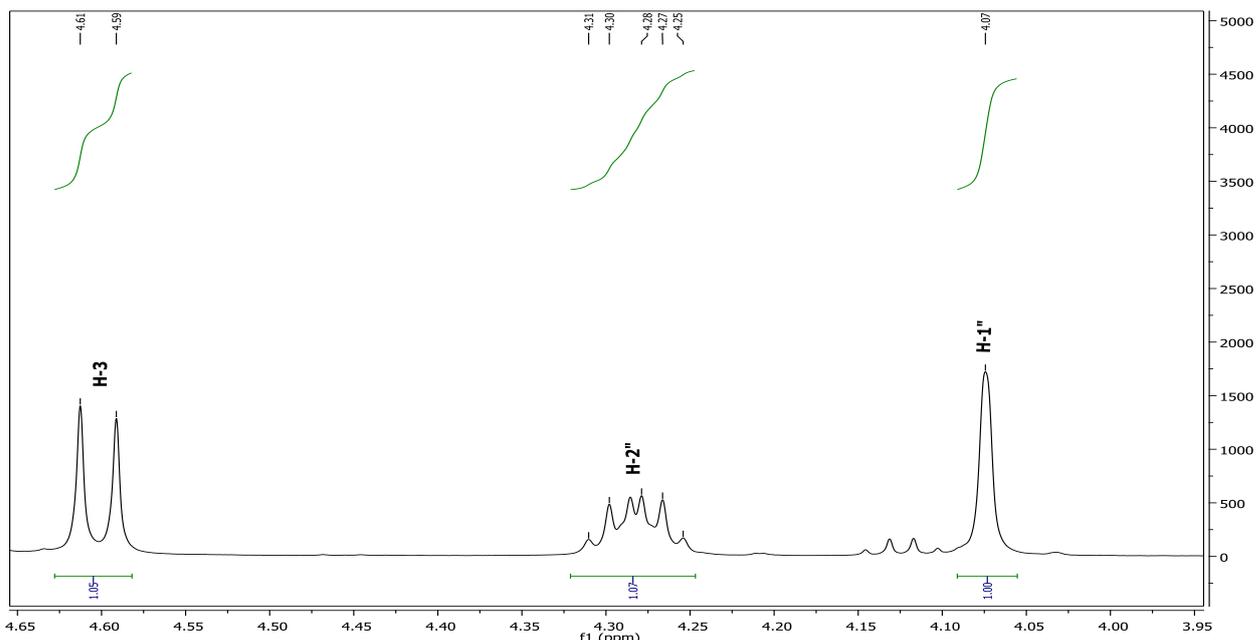


Figura 47. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (**135**) na região entre δ_{H} 3,95-4,65 ppm.

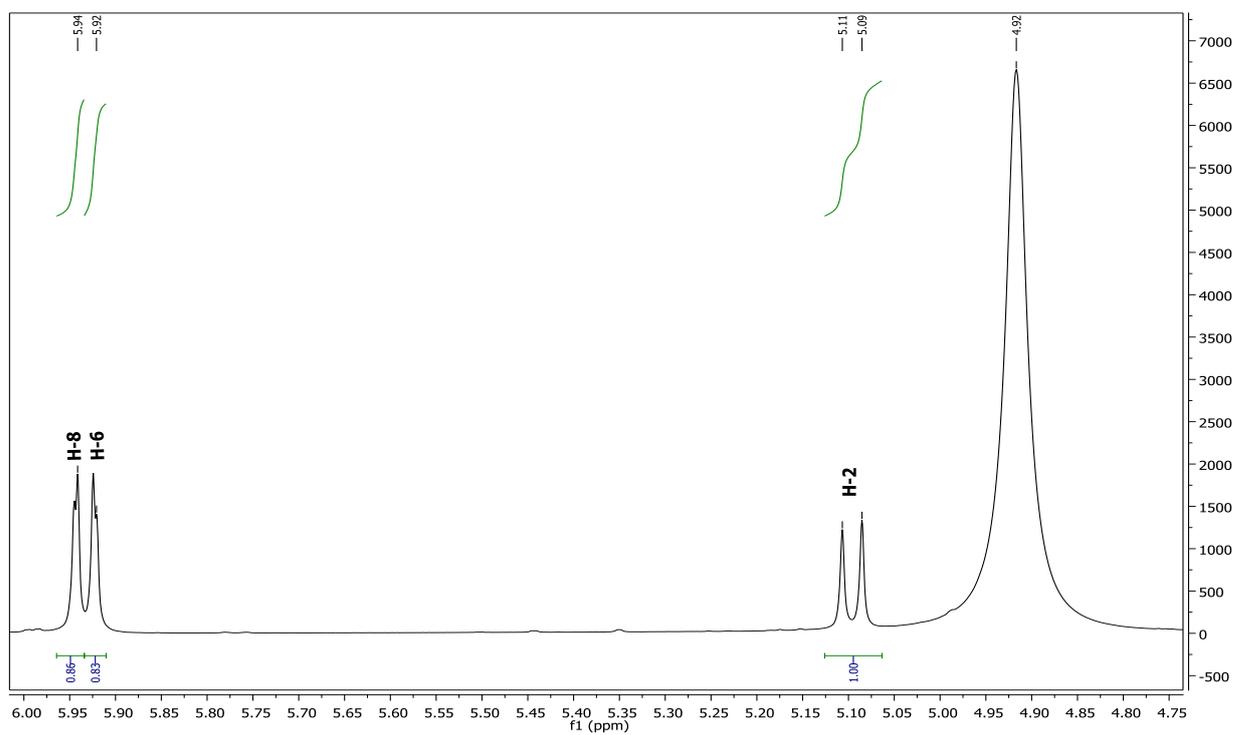


Figura 48. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (**135**) na região entre δ_{H} 4,75-6,00 ppm.

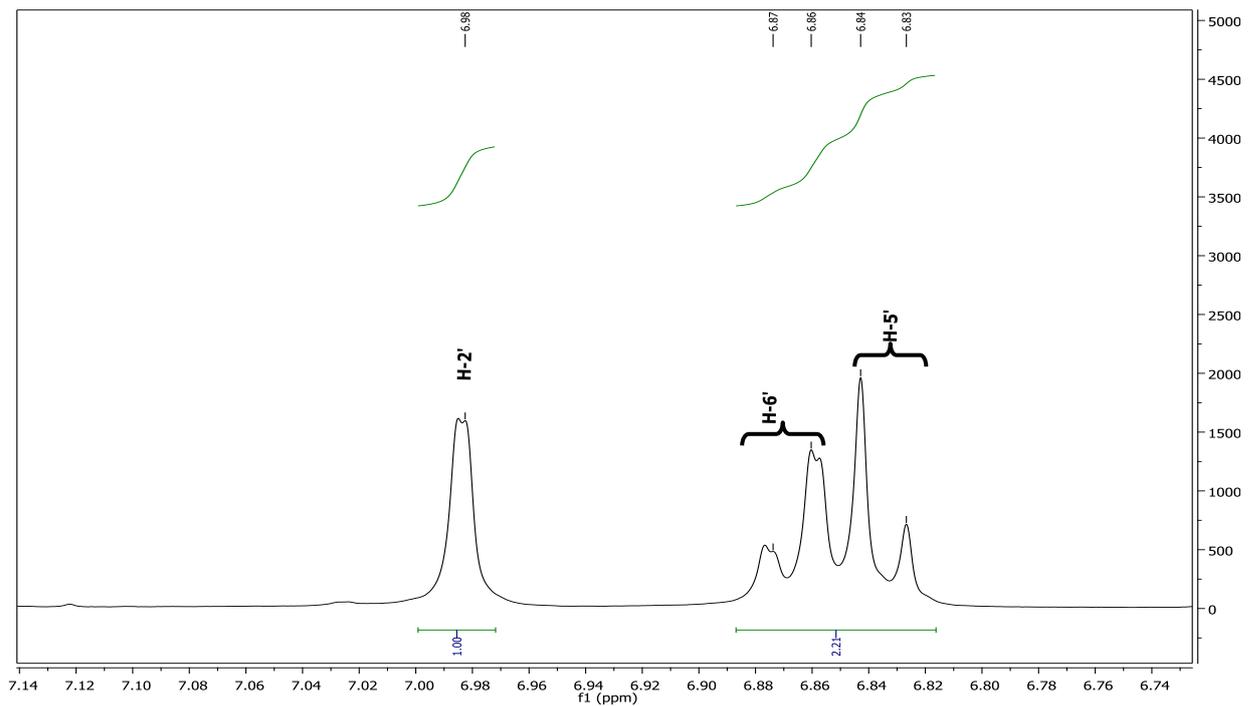


Figura 49. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (135) na região entre δ_{H} 6,74-7,14 ppm.

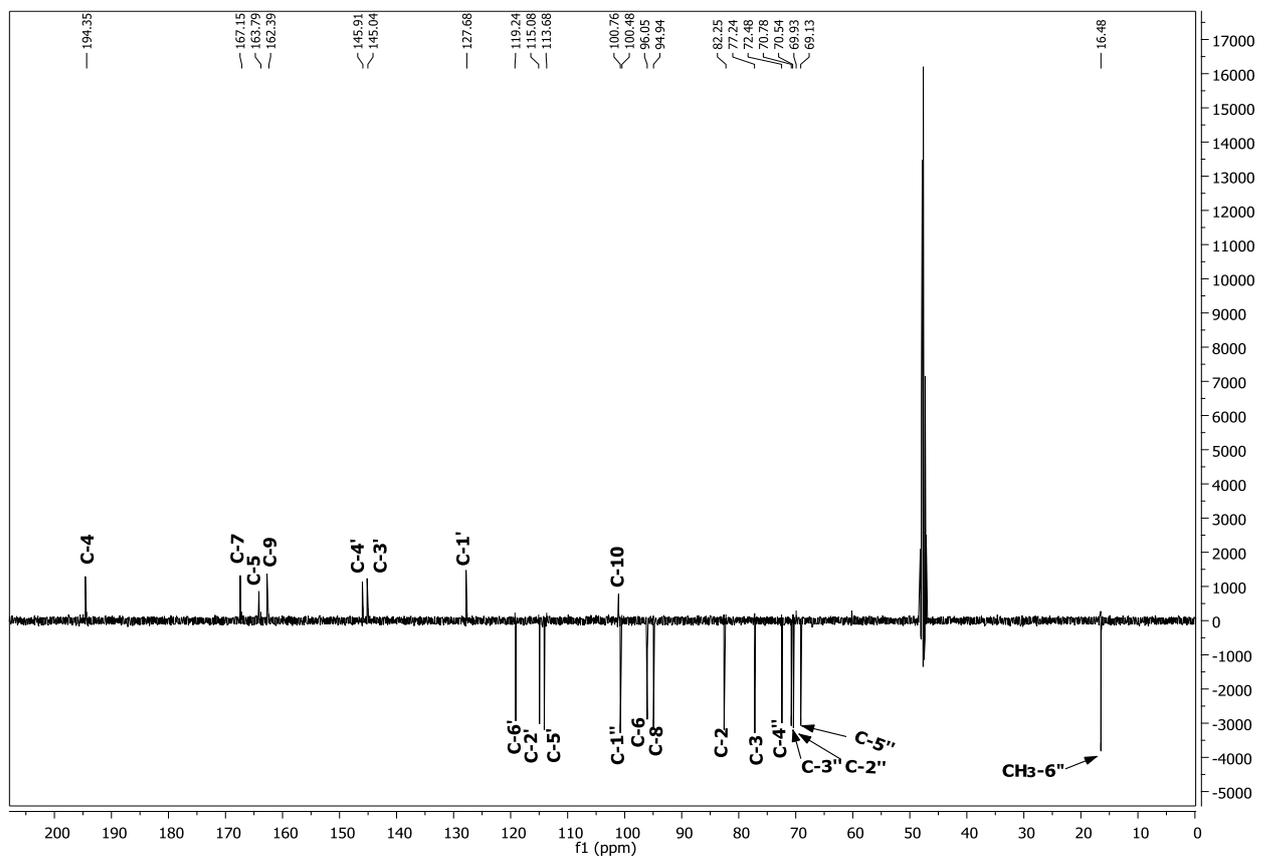


Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CD_3OD) da substância (135).

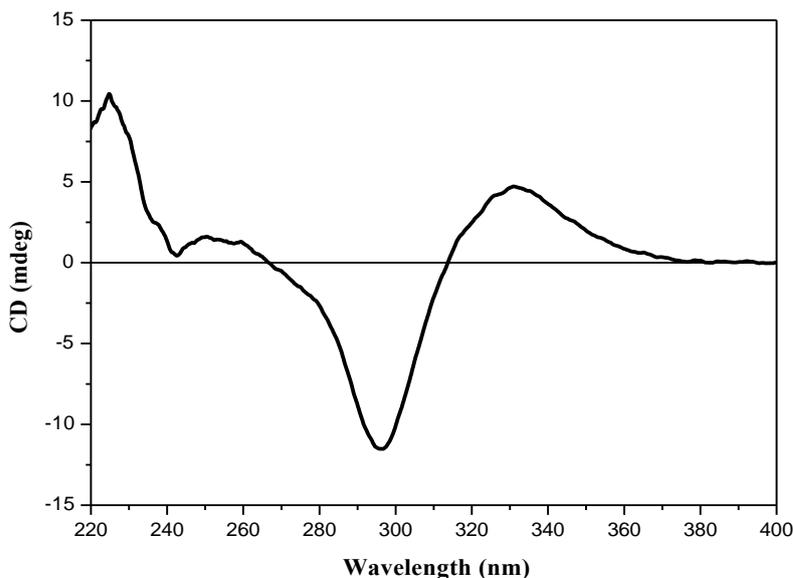


Figura 51. Espectro de dicroísmo circular obtido para a substância **(135)** (dados obtidos em MeOH, a 20 °C, na concentração de 0,023 mg/mL).

5.1.8. Identificação estrutural da substância **(136)**

A fração acetato de etila, resultante da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, foi submetida a repetidos fracionamentos através de técnicas cromatográficas de colunas abertas de sílica gel e sephadex LH-20 resultando na obtenção de 22 mg da substância **(136)** que foi isolado na forma de sólido amorfo de cor laranja, solúvel em metanol, apresentando faixa de fusão de 276-278 °C (Fluxograma 7, pág. 33). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

Os espectros de RMN ^1H (Figuras 52 e 53) e RMN ^{13}C -DEPTQ (Figura 54) permitiram deduzir que o composto **(136)** pertence à classe dos flavonoides.

O espectro de RMN ^1H (Figura 53) mostrou dois singletos em δ_{H} 6,21 e 6,41, compatíveis com hidrogênios de carbonos aromáticos *meta*-posicionados, sendo atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-8 de anel A, respectivamente. Os sinais dos carbonos quaternários oxigenados encontrados no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ: 163,98; 160,62 e 156,49 ppm são compatíveis com as frequências dos carbonos oxigenados deste anel (Figura 54). Os sinais em δ_{H} 7,76; 7,66 e 6,91 podem sugerir o padrão 1,3,4-trissubstituído para o anel B (Figura 53).

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (Figura 54) exibiu 15 sinais espectrais, sendo todos associados a carbonos sp^2 . Os sinais em δ_{CH} 120,27; 114,82; 114,58; 97,82 e 93,00 foram atribuídos a carbonos metínicos de sistema aromáticos, δ_{C} 175,94 atribuído ao carbono carbonílico α,β -insaturado, δ_{C} 135,85 e 147,85 relacionados aos carbonos 3 e 2 do sistema cromônico.

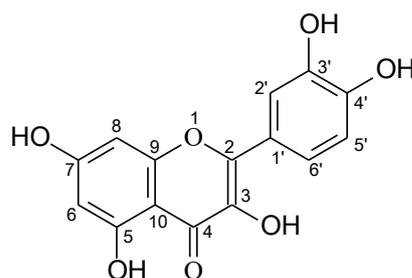
Os dados espectroscópicos obtidos para a substância **(136)** e a comparação destes dados com os da literatura (OLIVEIRA & CARVALHO, 1999; GÜVENALP & DEMIREZER, 2005) conduziram a fórmula estrutural do flavonol quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi flavona) (Tabela 10).

Quercetina ocorre em inúmeros vegetais tanto na forma livre como em combinação com vários açúcares, estudos relatam este flavonoide, na forma de aglicona, como constituinte químico de outras plantas da família Myrtaceae, como por exemplo, *Psidium guajava* L. (SESHADRI & VASISHITA, 1965), *Eugenia uniflora* L. (SCHMEDA-HIRSCHMANN,

1995), *Eucalyptus globulus* Labill. (SOUSA *et al.*, 2004) e *Myrcia bella* Cambess. (SALDANHA *et al.*, 2013b).

Trabalhos mencionam que a quercetina exibiu efeitos antioxidante (HAYEK *et al.*, 1997; CHOPRA *et al.*, 2000), anticarcinogênico (VERMA *et al.*, 1988; DESCHNER *et al.*, 1991; PEREIRA *et al.*, 1996), antiinflamatório (FERRY *et al.*, 1996), anti-agregatório (PIGNATELLI *et al.*, 2000) e vasodilatador (PEREZ-VIZCAINO *et al.*, 2002)

Tabela 10. Dados espectroscópicos de **(136)** (CD₃OD) comparados com os da literatura (GÜVENALP & DEMIREZER, 2005 – RMN ¹H: acetona-d₆; OLIVEIRA & CARVALHO, 1999 - RMN ¹³C: DMSO-d₆), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (*J*) em Hz.



(136)

	(136)		Quercetina	
	δC- DEPT-Q (125 MHz)	δH (500 MHz)	δC (50,3 MHz)	δH (300 MHz)
C				
2	147,37	-	149,97	-
3	135,85	-	136,08	-
4	175,94	-	176,13	-
5	161,12	-	161,13	-
7	164,18	-	164,30	-
9	156,83	-	156,63	-
10	103,11	-	103,40	-
1''	122,74	-	122,36	-
3''	144,83	-	145,38	-
4''	146,59	-	147,99	-
CH				
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
6	97,83	6,21 (s)	98,46	6,17 (d, <i>J</i> = 2,0)
8	92,99	6,41 (s)	93,60	6,37 (d, <i>J</i> = 2,0)
2''	114,58	7,76 (s)	115,45	7,73 (d, <i>J</i> = 2,0)
5''	114,81	6,91 (d, <i>J</i> = 8,5)	116,27	6,87 (d, <i>J</i> = 8,0)
6''	120,27	7,64 (dl, <i>J</i> = 8,5)	120,36	7,62 (dd, <i>J</i> = 2,0; 7,5)

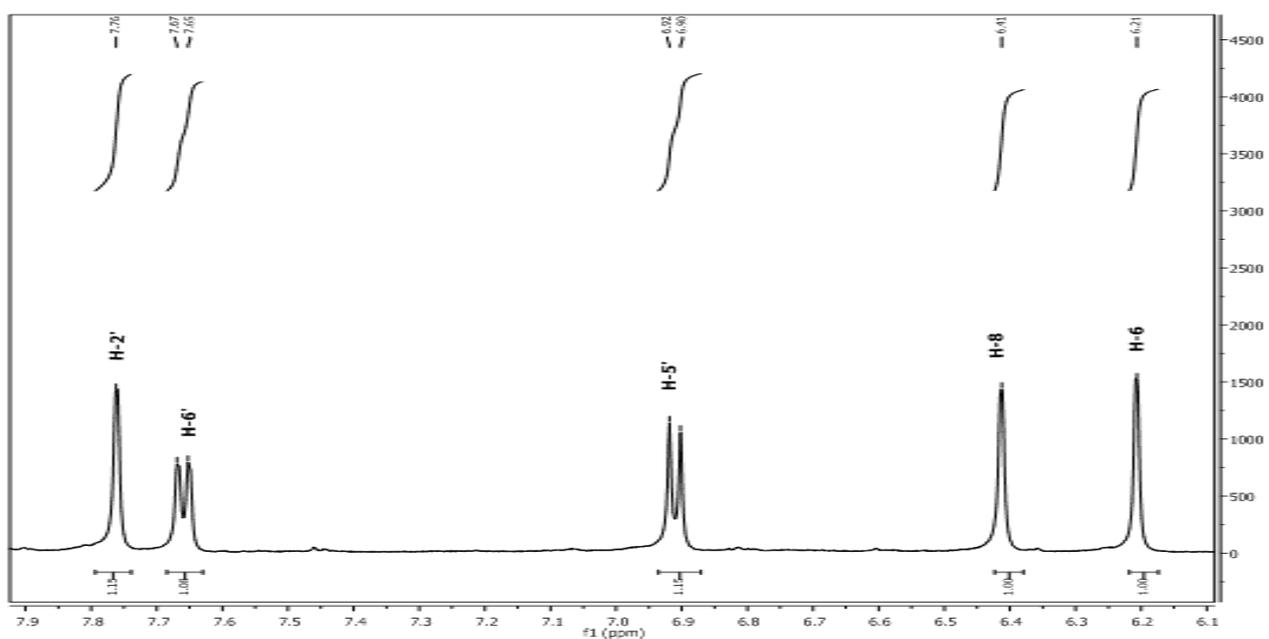


Figura 52. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (136).

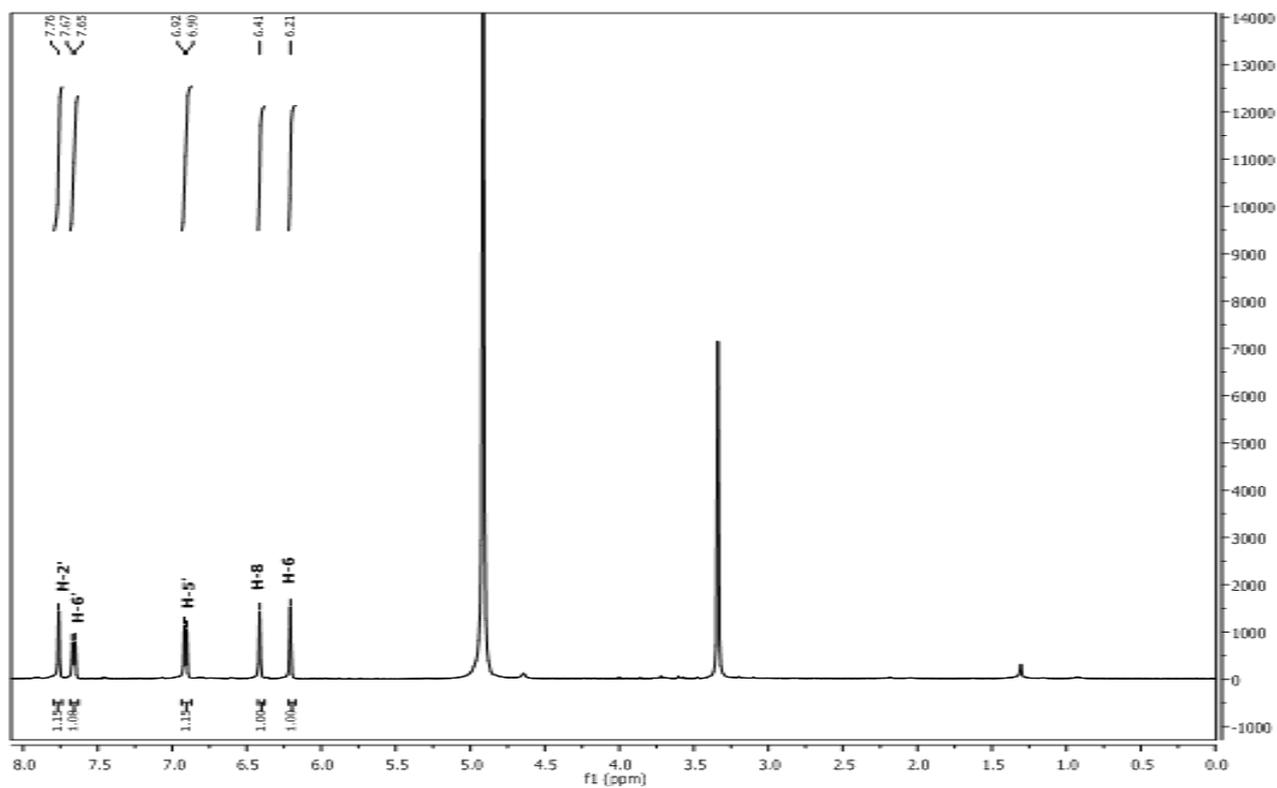


Figura 53. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (136) na região entre δ_{H} 6,1-7,9 ppm.

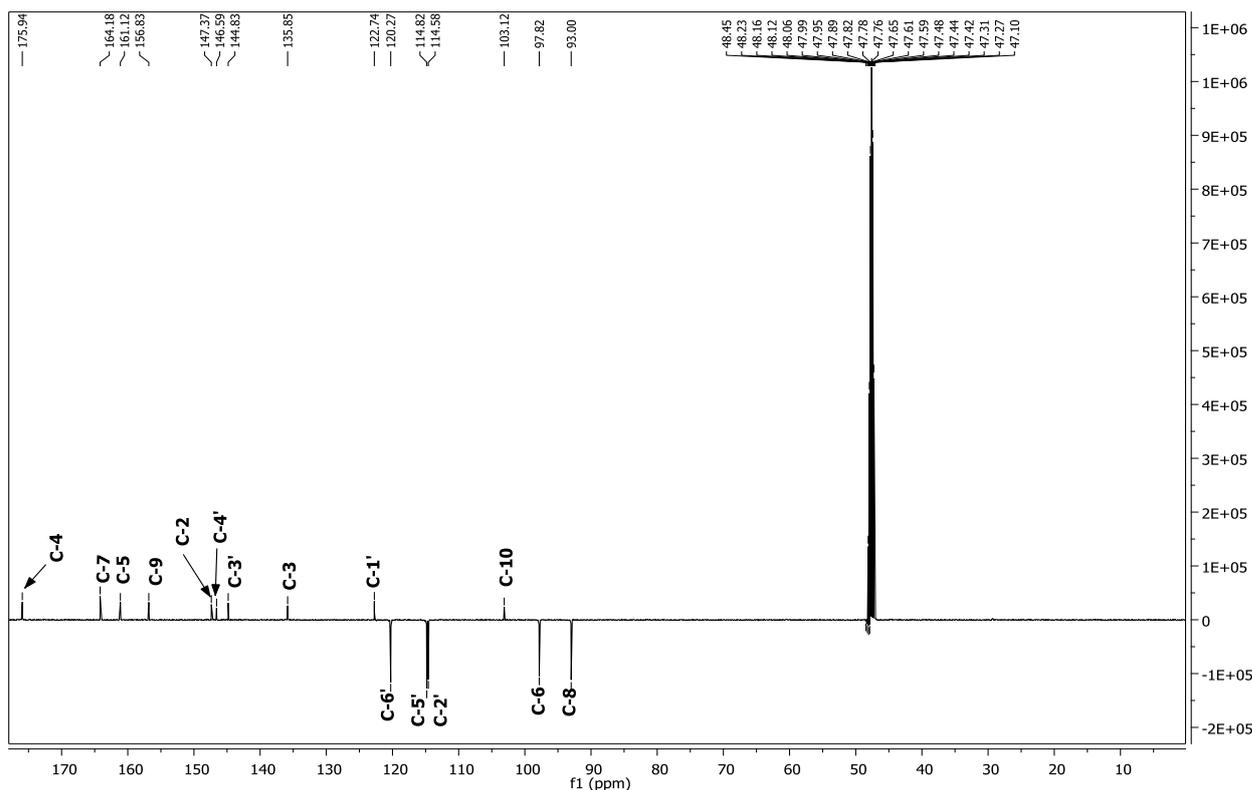


Figura 54. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CD_3OD) da substância (136).

5.1.9. Identificação estrutural da substância (137)

A fração acetato de etila, obtido da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, após ser submetido a sucessivos fracionamentos cromatográficos em sílica gel e sephadex LH-20 forneceu 23 mg da substância (137) que foi obtido na forma de óleo de cor castanho claro, solúvel em metanol (Fluxograma 7, pág. 33). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.5, págs. 136 e 137).

A análise do espectro de RMN ^1H (Figuras 55 a 60) revelou a presença de duas unidades cafeoíla devido aos sinais de dois grupos de hidrogênios olefinicos *trans* em δ_{H} 7,63 (d; $J = 16,0$ Hz; H-7''); 6,33 (d; $J = 16,0$ Hz; H-8'') e 7,54 e 6,20 (d; $J = 16,0$ Hz; H-7'' e H-8'') e de seis hidrogênios de sistema aromático na forma: de dois dubletos largos em δ_{H} 6,95 e 6,96 (H-6'' e H-6'') com $J = 8,0$ Hz, de um duplete em δ_{H} 6,79 (H-5'' e H-5'') com $J = 8,0$ Hz e de singletos em δ_{H} 7,05 e 7,04 (H-2'' e H-2'') (Figuras 59 e 60).

O espectro de RMN de ^1H revelou, ainda, outros sinais para: três hidrogênios metínicos em δ_{H} 5,58 (dd, $J = 12,2; 7,2$ Hz, H-5); 5,15 (dd, $J = 8,0$ e $2,9$ Hz, H-4) (Figura 58) e 4,38 (m, H-3) (Figura 57); e quatro hidrogênios metilênicos na faixa de δ_{H} 2,10 – 2,37 (m, H-2 e H-6) (Figura 56) que indicam a presença de uma unidade derivada do ácido quínico na fórmula estrutural. O sinal em δ_{H} 3,75 (s, CH_3 -8) (Figura 57), referentes a hidrogênios metílicos, pode indicar a presença de éster metílico nesta unidade.

Os hidrogênios H-4 e H-5 encontram-se mais desprotegidos quando comparados com H-3, sugerindo que as unidades cafeoilas estão esterificando as hidroxilas das posições 4 e 5 do quinato de metila.

Os dados obtidos a partir dos espectros de RMN ^{13}C DEPTQ (Figura 61) foram concordantes com o sugerido, mostrando sinais correspondentes aos carbonos olefinicos e aromáticos, sinais para as carbonilas dos grupos cafeoíla em δ_{C} 167,10 e 166,49.

A confirmação dos grupos cafeoila e do esqueleto de éster de ácido quínico foi baseada no espectro de RMN ^{13}C DEPTQ (Figura 61), especialmente, pelos sinais para dois grupos carbonila das unidades cafeoila em δ_{C} 167,10 e 166,49; do grupo éster em δ_{C} 173,2; de dois carbonos metilênicos em δ_{CH_2} 36,99 (C-2 e C-6) e de três carbonos oximetínicos em δ_{CH} 73,42 (C-4), 67,19 (C-3) e 67,70 (C-5). As posições dos grupos cafeoila foram determinadas com base nos valores de deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento para H-3, H-4 e H-5 (Tabela 11).

O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação, HSQC (Figuras 62 a 64), auxiliou na atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos carbonos e respectivos hidrogênios na fórmula estrutural de **(137)** que podem ser conferidos na Tabela 11.

O espectro de RMN-2D HMBC (Figuras 65 a 68), além de mostrar outras correlações relevantes para identificação da fórmula estrutural, confirmou que a carboxila do ácido quínico estava esterificada com um grupo metoxila através da correlação ($^3J_{\text{CH}}$) entre o singlete em δ_{H} 3,75 e o sinal em δ_{C} 175,2 (C-7) (Figura 66) permitindo, desta forma, atribuir o valor de RMN ^1H para o grupo metoxílico e de RMN ^{13}C -DEPTQ para a carbonila. Além disso, a análise deste espectro evidenciou que tanto C-4 quanto C-5 estavam esterificados com ácido cafeico, pois foram verificadas correlações ($^3J_{\text{CH}}$) de H-4 (δ_{H} 5,13) e H-5 (δ_{H} 5,54) com C-9'' (δ_{C} 167,05) e C-9''' (δ_{C} 166,46) (Figuras 66 e 67), respectivamente.

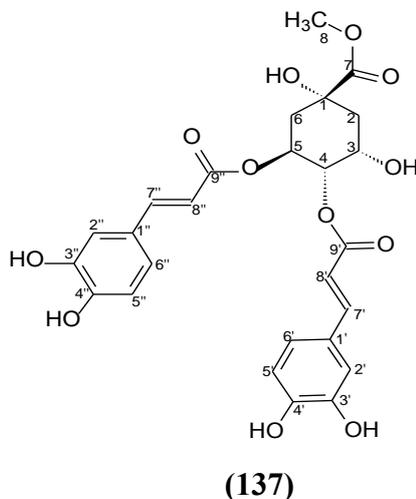
Outros parâmetros que corroboram com a fórmula estrutural proposta foram os dados de espectro de massa de alta resolução em modo positivo e negativo de **(137)** que foi obtido a partir de CL-EM-ESI. Os EM (Figura 69) mostraram os sinais em m/z 531,1541 ($\text{M} + \text{H}^+$) e 529,1498 ($\text{M} - \text{H}^+$) que apontaram para a fórmula molecular $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$ (calc. respectivamente: 531,1503 e 529,1346) compatíveis com o que está sendo sugerido. As propostas de fragmentação estão ilustradas nas Figuras 70 e 71.

Os valores observados para os acoplamentos de H-4 com H-3 e H-5 obtidos a partir do espectro de RMN de ^1H (Figuras 57 e 58) sugeriram uma relação axial-equatorial entre H-4 e H-3 ($J = 2,9$ Hz) e axial-axial entre H-4 e H-5 ($J = 8,0$ Hz) (Tabela 11) indicando as posições 4,5-diequatoriais para os grupos cafeoila. A estereoquímica proposta para **(137)** foi consolidada pelo espectro de RMN-2D NOESY (Figuras 72 e 73) onde foram observadas a ausência da correlação entre os hidrogênios H-3 e H-5 e a presença das interações espaciais entre H-3 e H-4; H-4 e H-5. Estes dados indicaram que H-3 e H-4 estão situados em um mesmo lado do plano da molécula e H-5 em lado oposto.

A análise dos dados espectrométricos da substância **(137)** e a comparação destes dados com os descritos na literatura (LEE *et al.*, 2010) permitiram identificá-lo como 4,5-di-*O*-cafeoilquinato de metila, um éster de ácido clorogênico (Tabelas 11 e 12).

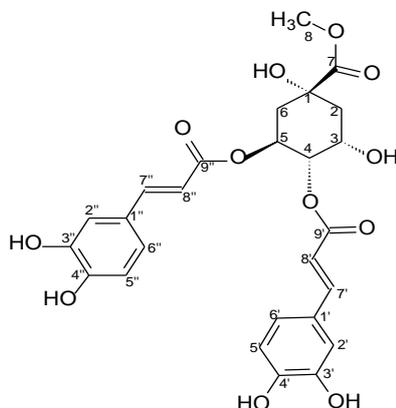
Estudos relatam a atividade hepatoprotetora de 4,5-di-*O*-cafeoilquinato de metila isolado a partir de própolis coletada do Brasil (BASNET *et al.*, 1996). Hung e colaboradores (2008) descrevem a obtenção desta substância de raízes de *Dipsacus asper* Wall. (Dipsacaceae), bem como sua atividade antioxidante. Investigações realizadas com este éster de ácido clorogênico, obtidos de partes aéreas de *Artemisia dúbia* Wall. (Compositae), revelaram seu efeito inibitório em AKRIB10, enzima que está associada ao desenvolvimento de vários tipos de câncer (LEE *et al.*, 2010).

Tabela 11. Dados espectroscópicos de **(137)** (CD₃OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



C	HSQC (¹ J)		HMBC	
	δ_C - DEPTQ (125 MHz)	δ_H (500 MHz)	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	-	-	-	-
7	173,72	-	-	H _{eq} -2, H _{ax} -2, H _{eq} -6, H _{ax} -6, CH ₃ O-8
1''	126,31	-	H-7''	H-5'', H-8''
4''	148,39	-	H-5''	H-2'', H-6''
1'''	126,16	-	H-7'''	H-5''', H-8'''
3''	145,40	-	-	H-5''
3'''	145,40	-	-	H-5'''
4'''	148,31	-	H-5'''	H-2''', H-6'''
9''	167,10	-	H-8''	H-4, H-7''
9'''	166,49	-	H-8'''	H-5, H-7'''
CH				
3	67,19	4,38 (m)	H _{eq} -2, H _{ax} -2	-
4	73,42	5,15 (dd, J = 8,0; 2,9)	H-3, H-5	H _{eq} -2, H _{ax} -2, H _{eq} -6, H _{ax} -6
5	67,70	5,58 (dd, J = 12,2; 7,2)	H _{eq} -6, H _{ax} -6, H-4	H-3
2''	113,77	7,05 (s)	-	H-6'', H-7''
5''	115,11	6,79 (d; J = 8,0)	H-6''	-
6''	121,78	6,95 (dl; J = 8,0)	H-5''	H-2'', H-7''
7''	146,32	7,63 (d; J = 16,0)	H-8''	H-2'', H-6''
8''	113,33	6,33 (d; J = 16,0)	H-7''	-
2'''	113,77	7,04 (s)	-	H-6''', H-7'''
5'''	115,11	6,79 (d; J = 8,0)	H-6'''	-
6'''	121,78	6,96 (dl; J = 8,0)	H-5'''	H-2''', H-7'''
7'''	146,32	7,54 (d; J = 16,0)	H-8'''	H-2''', H-6'''
8'''	113,16	6,20 (d; J = 16,0)	H-7'''	-
CH₂				
2	36,99	2,10-2,37 (m; H _{eq} e H _{ax})	H-3	H _{eq} -6, H _{ax} -6, H-4,
6	36,99	2,10-2,37 (m; H _{eq} e H _{ax})	-	H _{eq} -2, H _{ax} -2, H-4,
CH₃				
Me-8	51,75	3,75 (s)	-	-

Tabela 12. Dados espectroscópicos de (137) (CD₃OD) comparados com os da literatura (LEE et al., 2010 - CD₃OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



(137)

	(137)	4,5-di- <i>O</i> -cafeoilquinato de metila		
	δ_C - DEPT-Q (125 MHz)	δ_H (500 MHz)	δ_C (125 MHz)	δ_H (500 MHz)
C				
1	-	-	74,04	-
7	173,72	-	173,76	-
1''	126,31	-	126,26	-
4''	148,39	-	148,38	-
1'''	126,16	-	126,10	-
3''	145,40	-	145,42	-
3'''	145,40	-	145,42	-
4'''	148,31	-	148,38	-
9''	167,10	-	167,05	-
9'''	166,49	-	166,46	-
CH				
3	67,19	4,38 (m)	67,13	4,36 (m)
4	73,42	5,15 (dd, $J = 8,0; 2,9$)	74,32	5,13 (m)
5	67,70	5,58 (dd, $J = 12,2; 7,2$)	67,66	5,54 (m)
2''	113,77	7,05 (s)	113,73	7,04 (d; $J = 2,4$)
5''	115,11	6,79 (d; $J = 8,0$)	115,09	6,77 (d; $J = 8,3$)
6''	121,78	6,95 (dl; $J = 8,0$)	121,75	6,95 (dd; $J = 8,2; 2,3$)
7''	146,32	7,63 (d; $J = 16,0$)	146,31	7,62 (d; $J = 16$)
8''	113,33	6,33 (d; $J = 16,0$)	113,28	6,32 (d; $J = 16$)
2'''	113,77	7,04 (s)	113,73	7,04 (d; $J = 2,4$)
5'''	115,11	6,79 (d; $J = 8,0$)	115,09	6,77 (d; $J = 8,3$)
6'''	121,78	6,96 (dl; $J = 8,0$)	121,75	6,95 (dd; $J = 8,2; 2,3$)
7'''	146,32	7,54 (d; $J = 16,0$)	146,31	7,52 (d; $J = 16$)
8'''	113,16	6,20 (d; $J = 16,0$)	113,10	6,19 (d; $J = 16$)
CH₂				
2	36,99	2,10-2,37 (m; H _{eq} e H _{ax})	39,96	2,24-2,34 (m; H _{eq} e H _{ax})
6	36,99	2,10-2,37 (m; H _{eq} e H _{ax})	39,96	2,24-2,37 (m; H _{eq} e H _{ax})
CH₃				
MeO-8	51,75	3,75 (s)	51,68	3,72 (s)

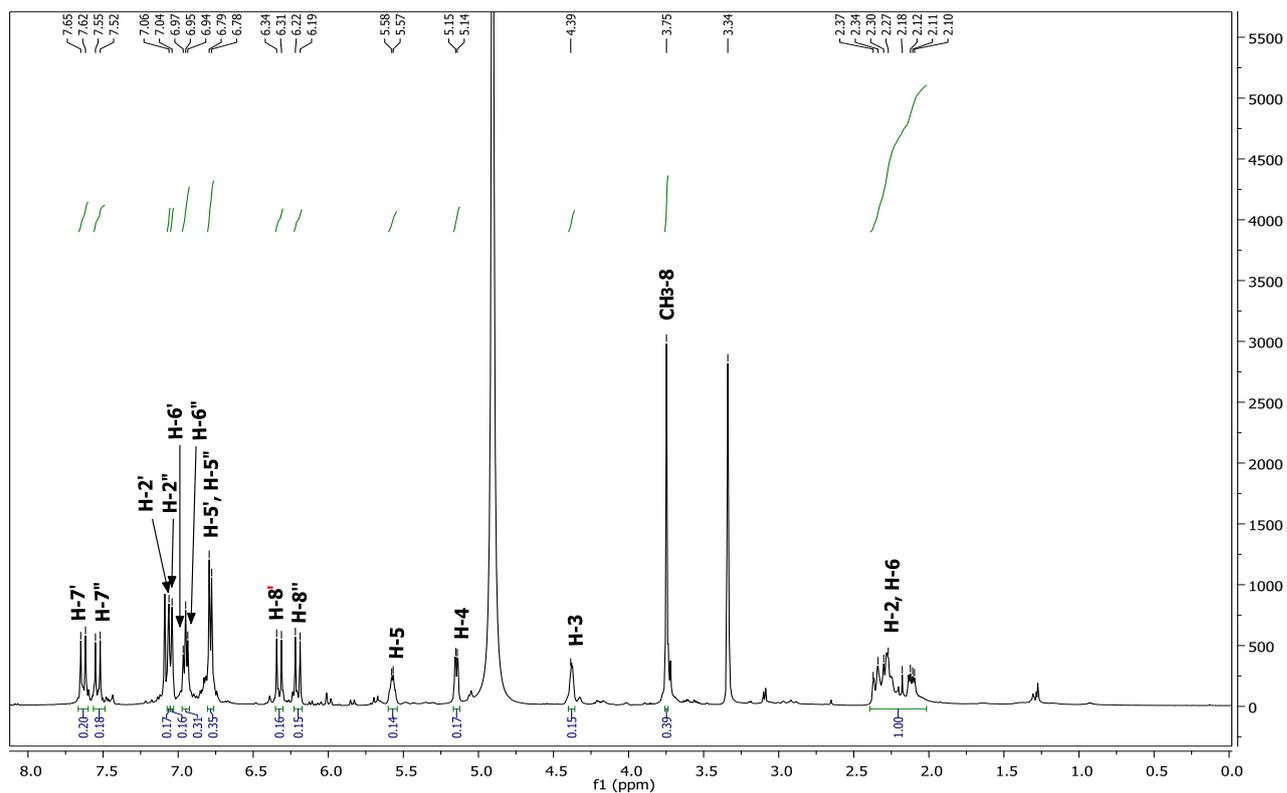


Figura 55. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (137).

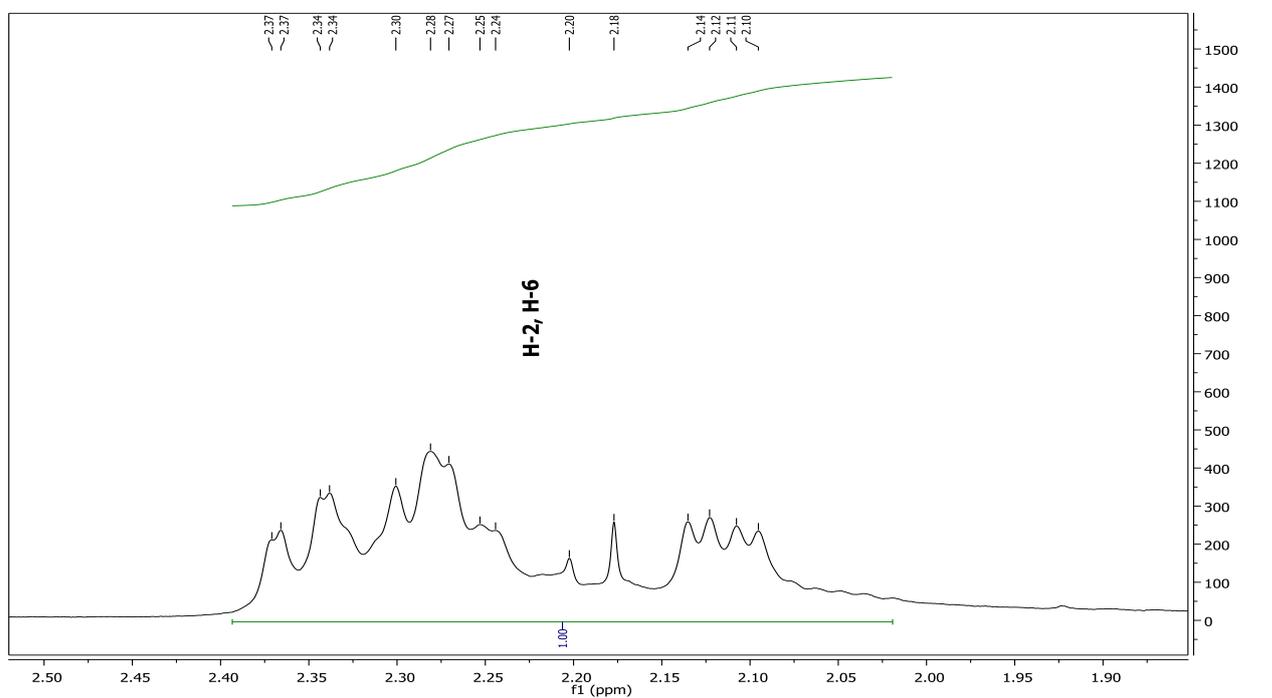


Figura 56. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (137) na região entre δ_{H} 1,85-2,52 ppm.

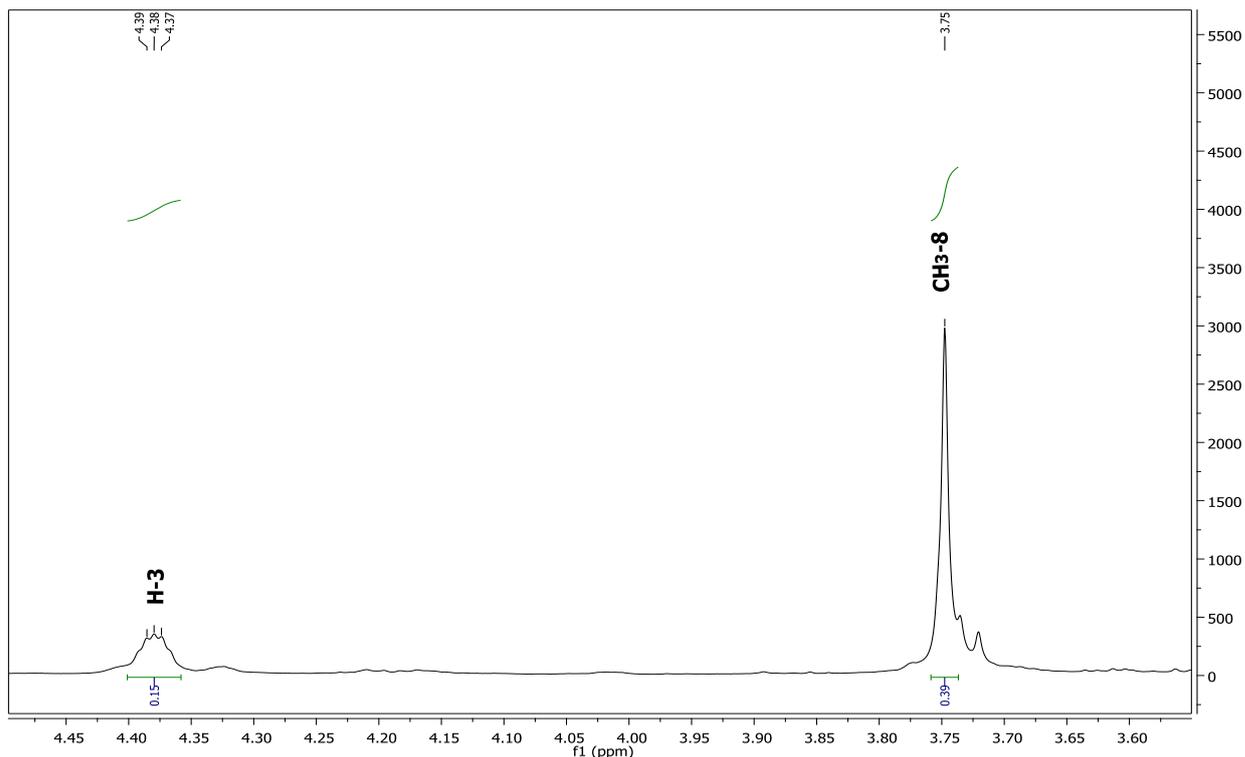


Figura 57. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (**137**) na região entre δ_{H} 3,55-4,50 ppm.

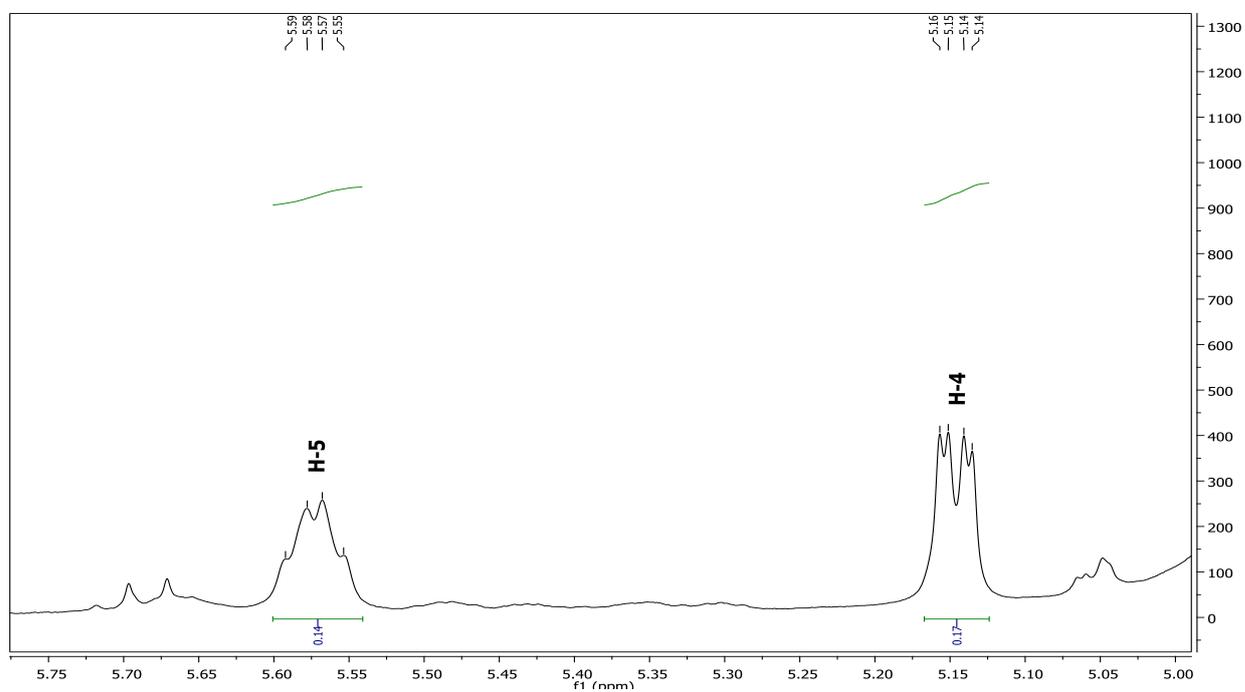


Figura 58. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (**137**) na região entre δ_{H} 5,00-5,80 ppm.

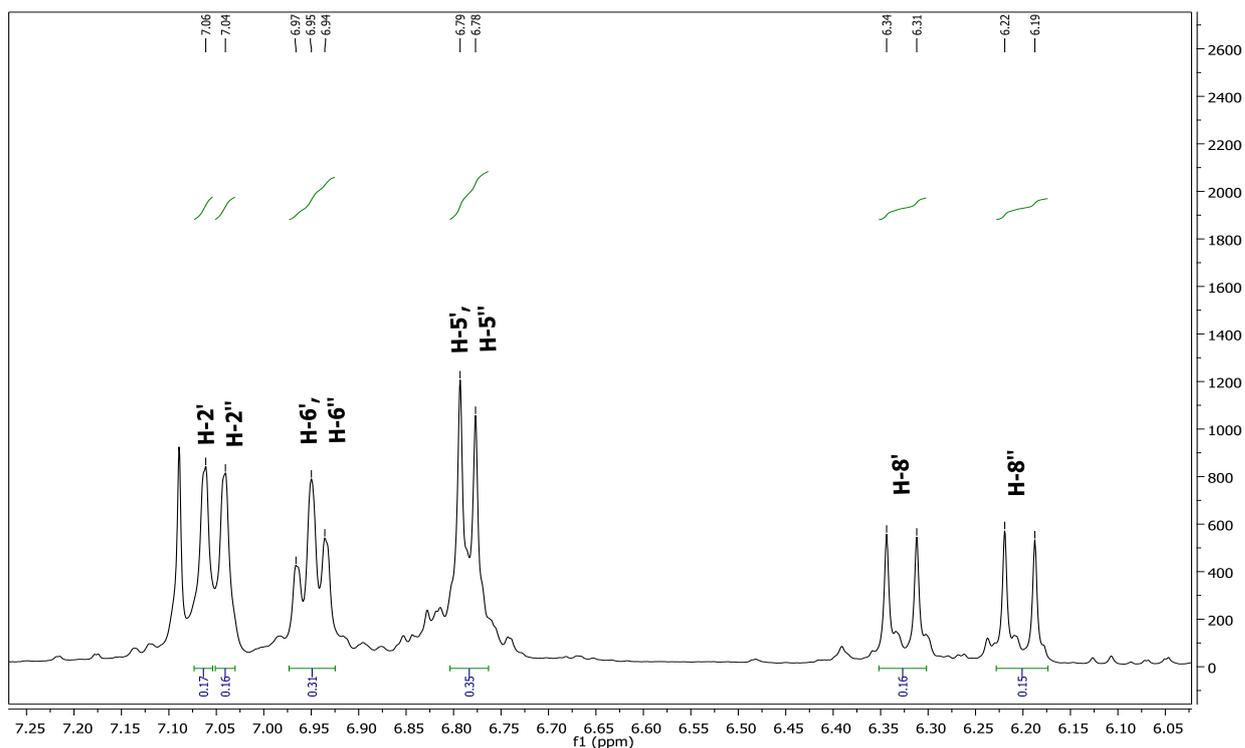


Figura 59. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância **(137)** na região entre δ_{H} 6,05-7,25 ppm.

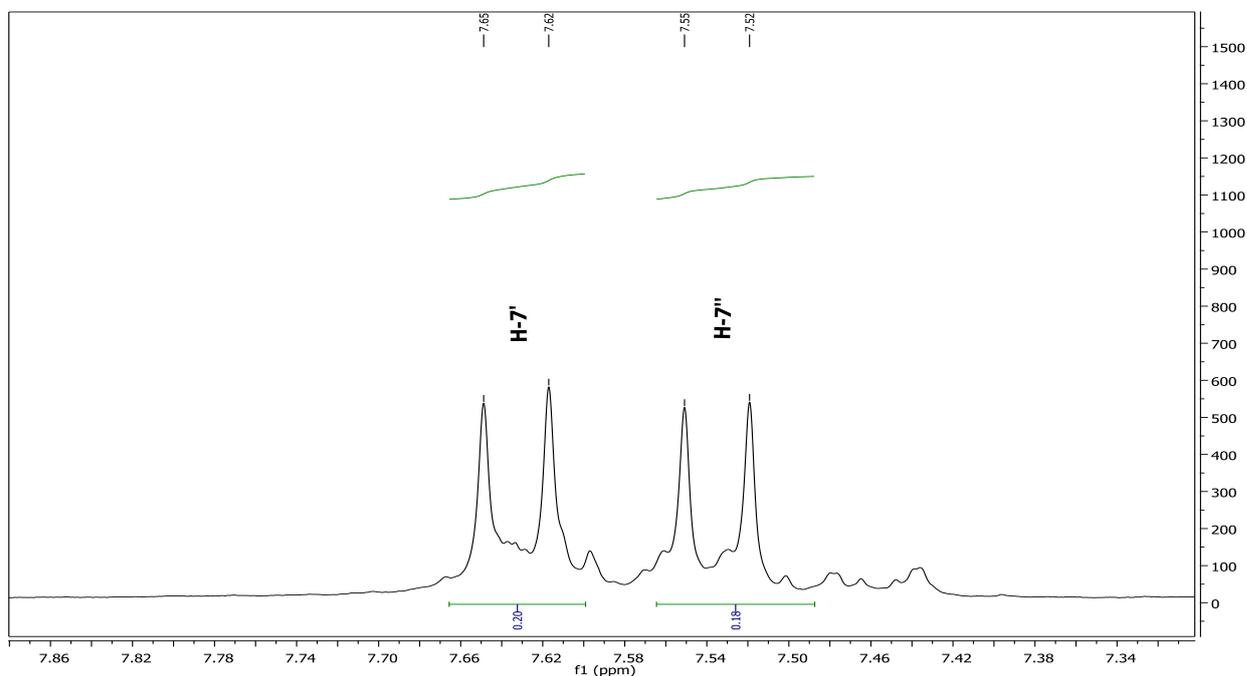


Figura 60. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância **(137)** na região entre δ_{H} 7,30-7,86 ppm.

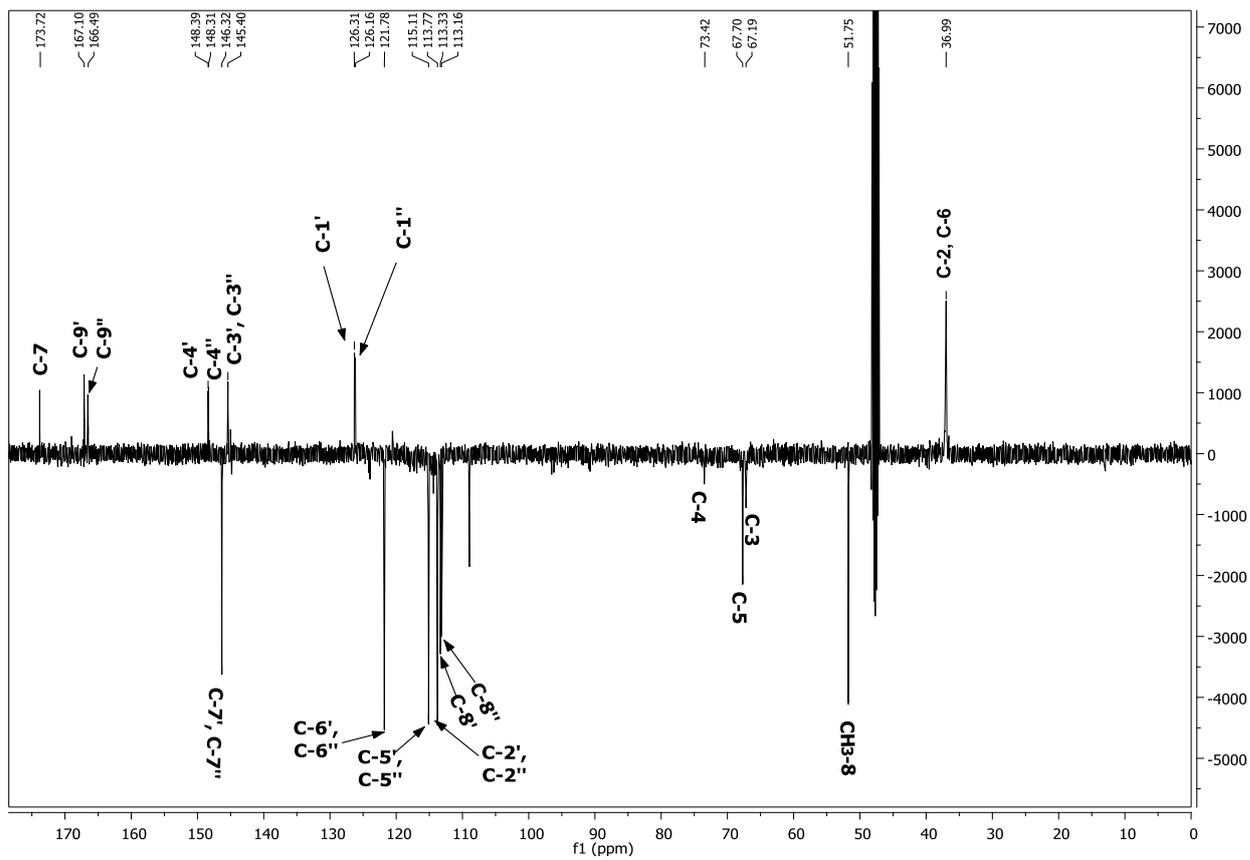
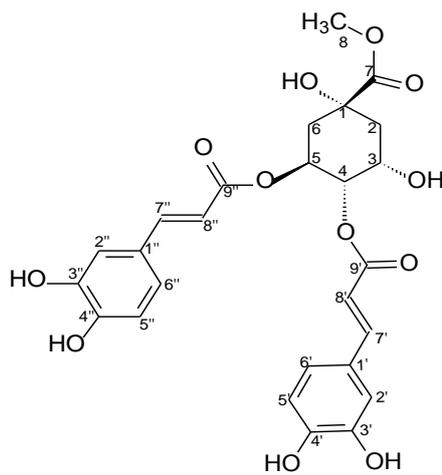


Figura 61. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CD_3OD) da substância (137).



(137)

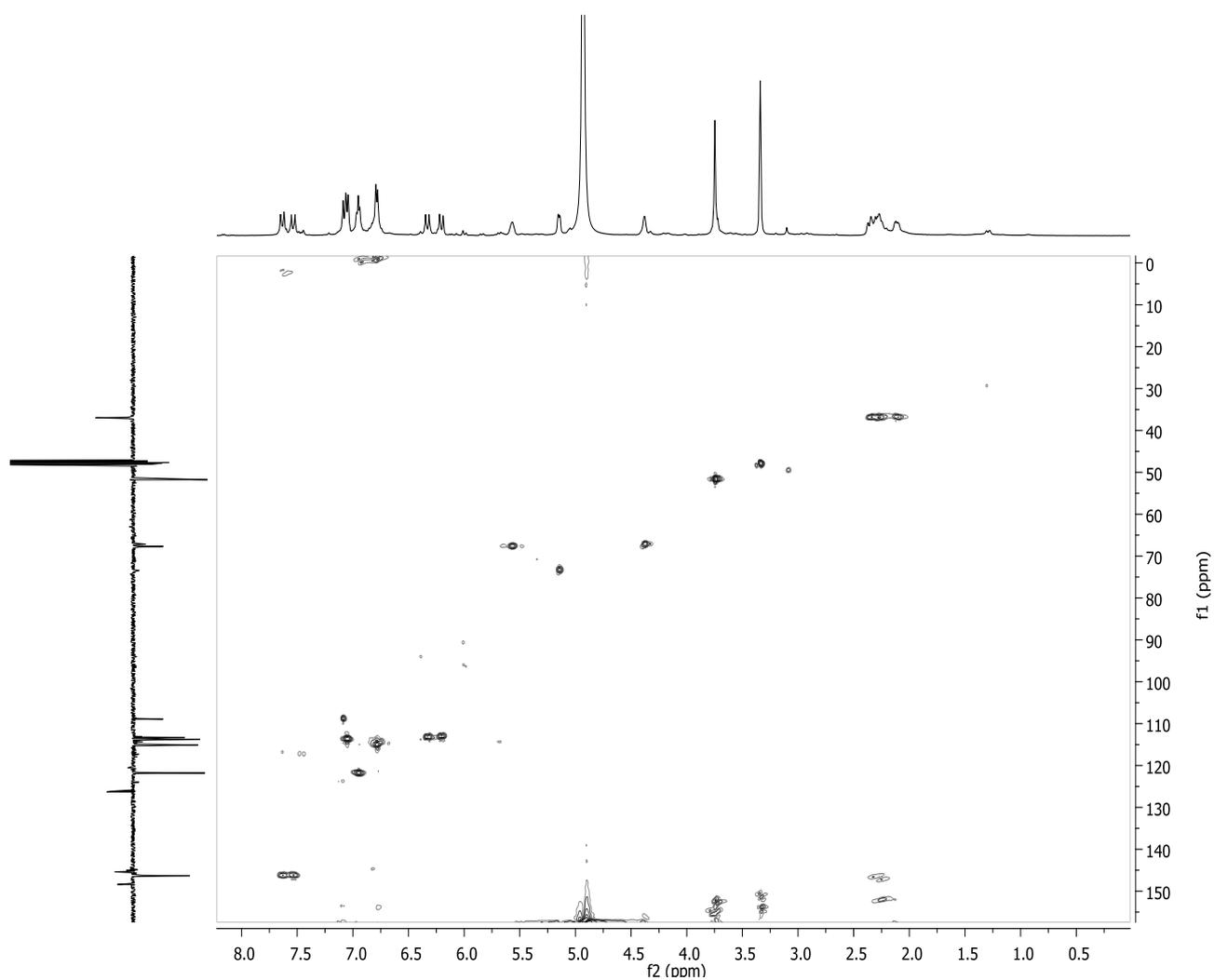
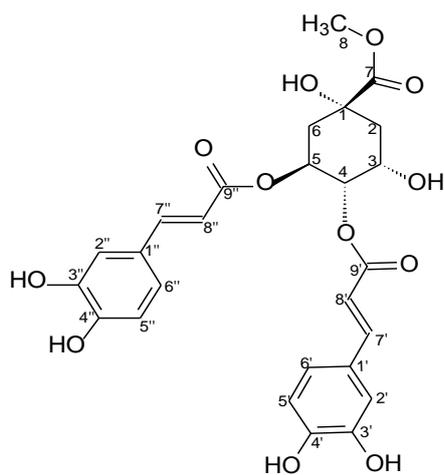


Figura 62. Espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137).



(137)

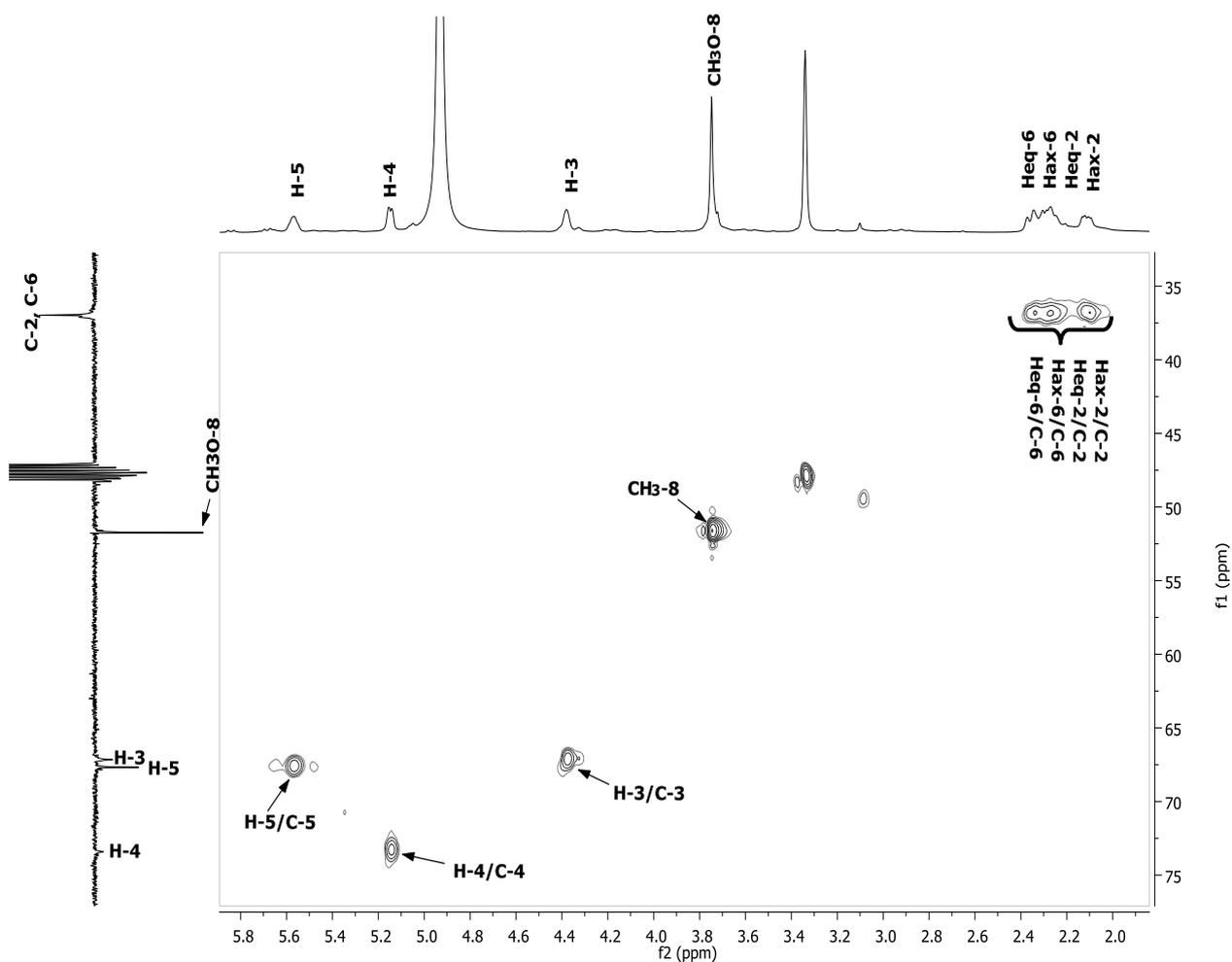


Figura 63. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137) na região entre δ_C 33,0-78,0 ppm e δ_H 1,0-6,0 ppm.

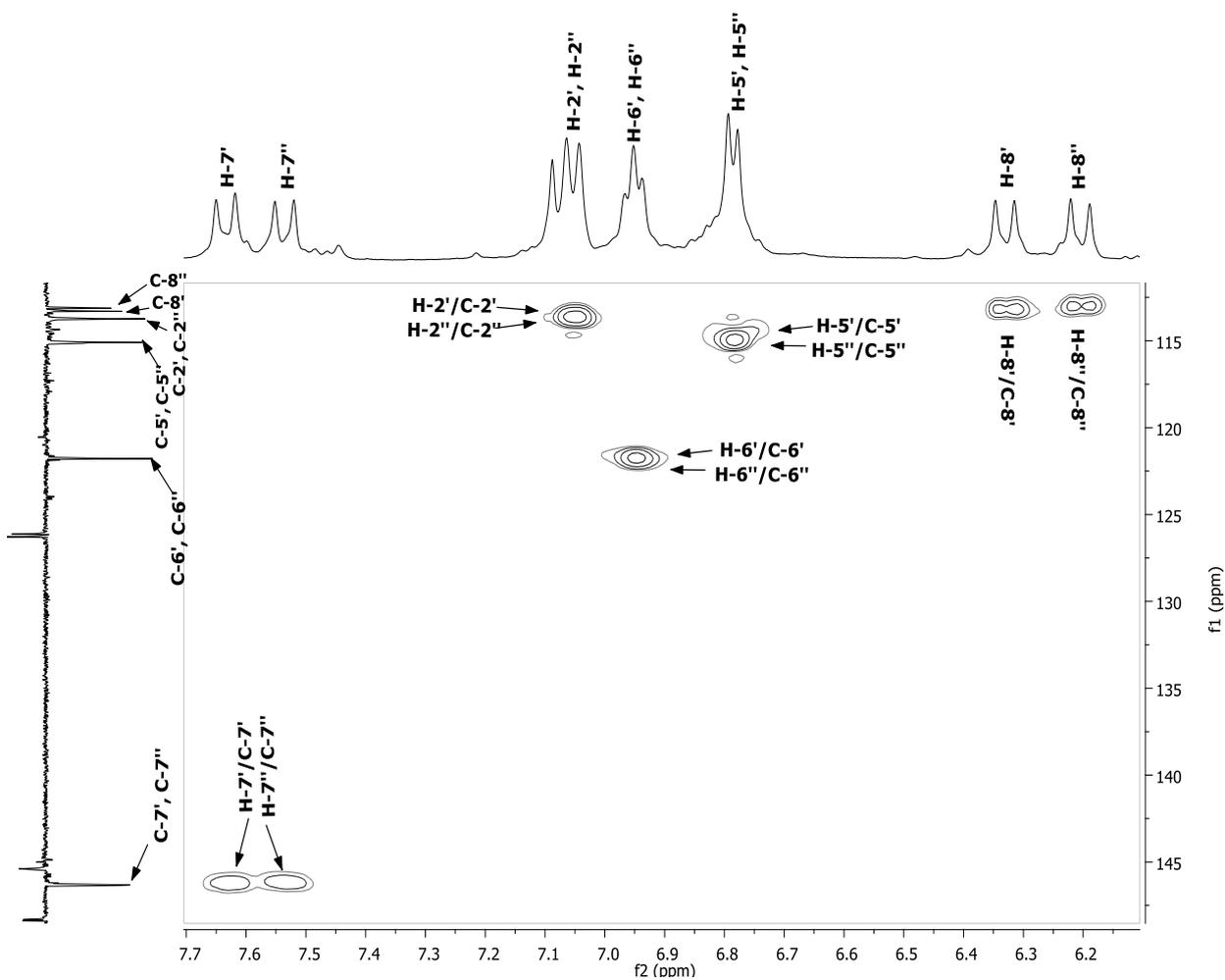
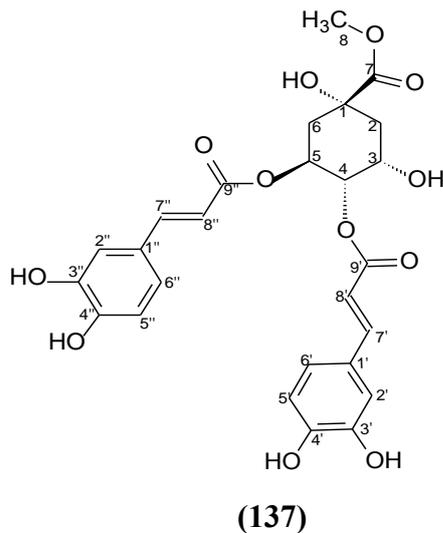


Figura 64. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137) na região entre δ_C 112,0-149,0 ppm e δ_H 6,1-7,7 ppm.

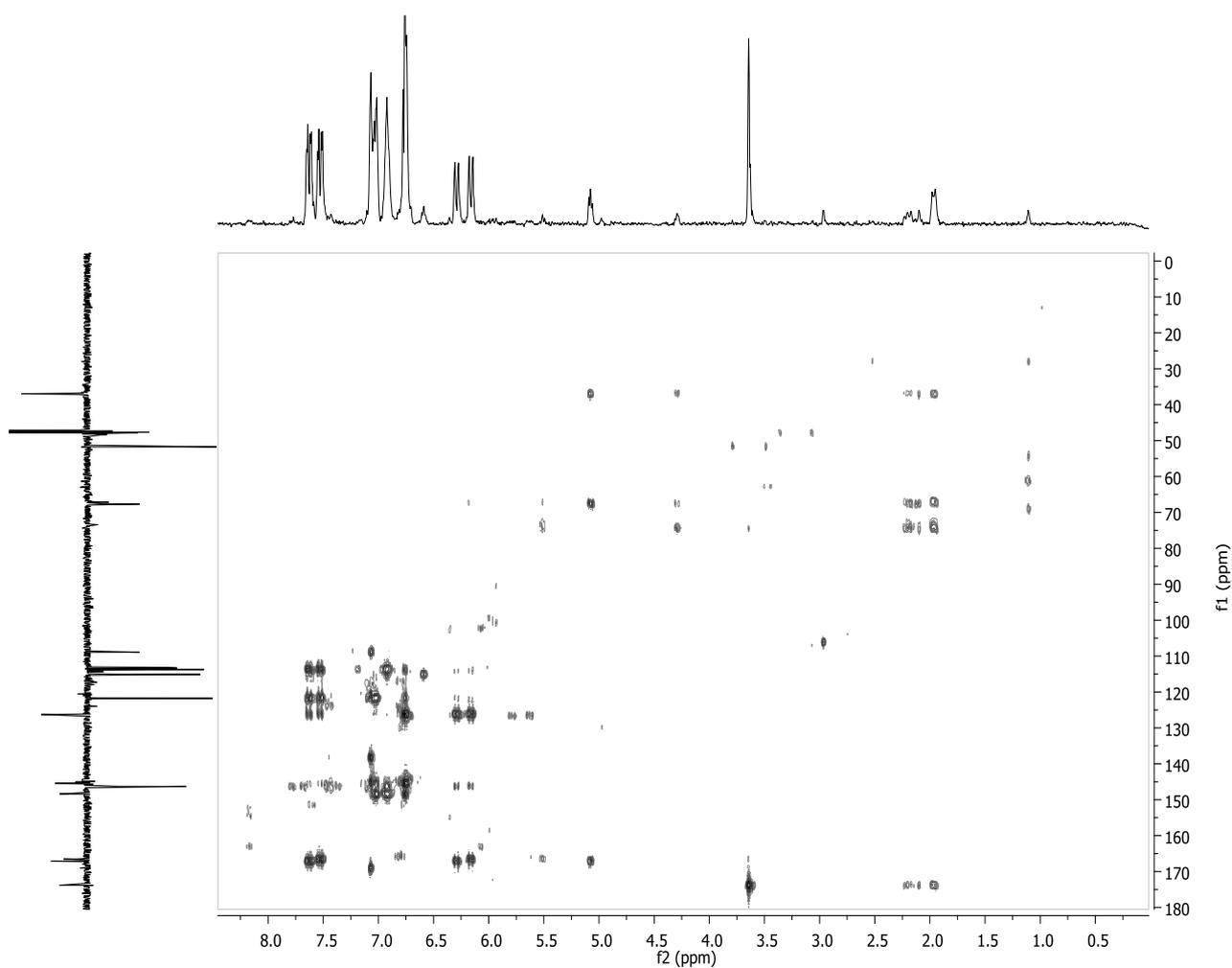
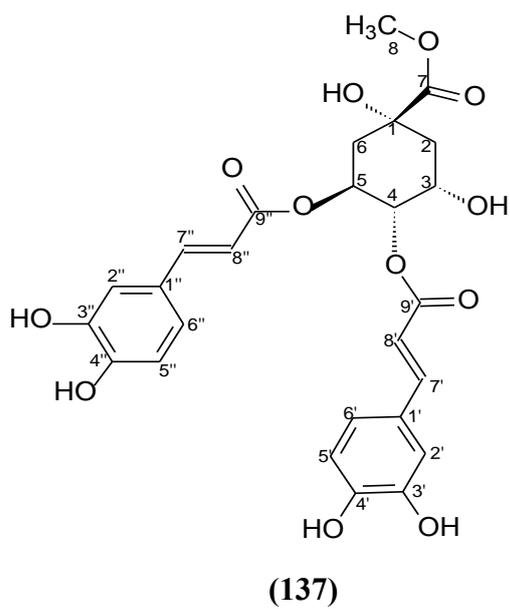
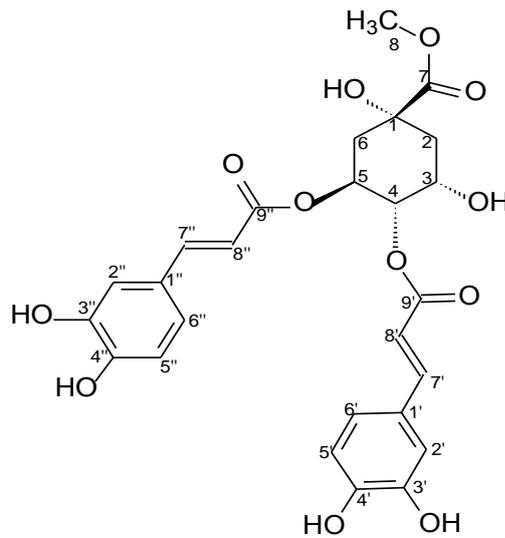


Figura 65. Espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137).



(137)

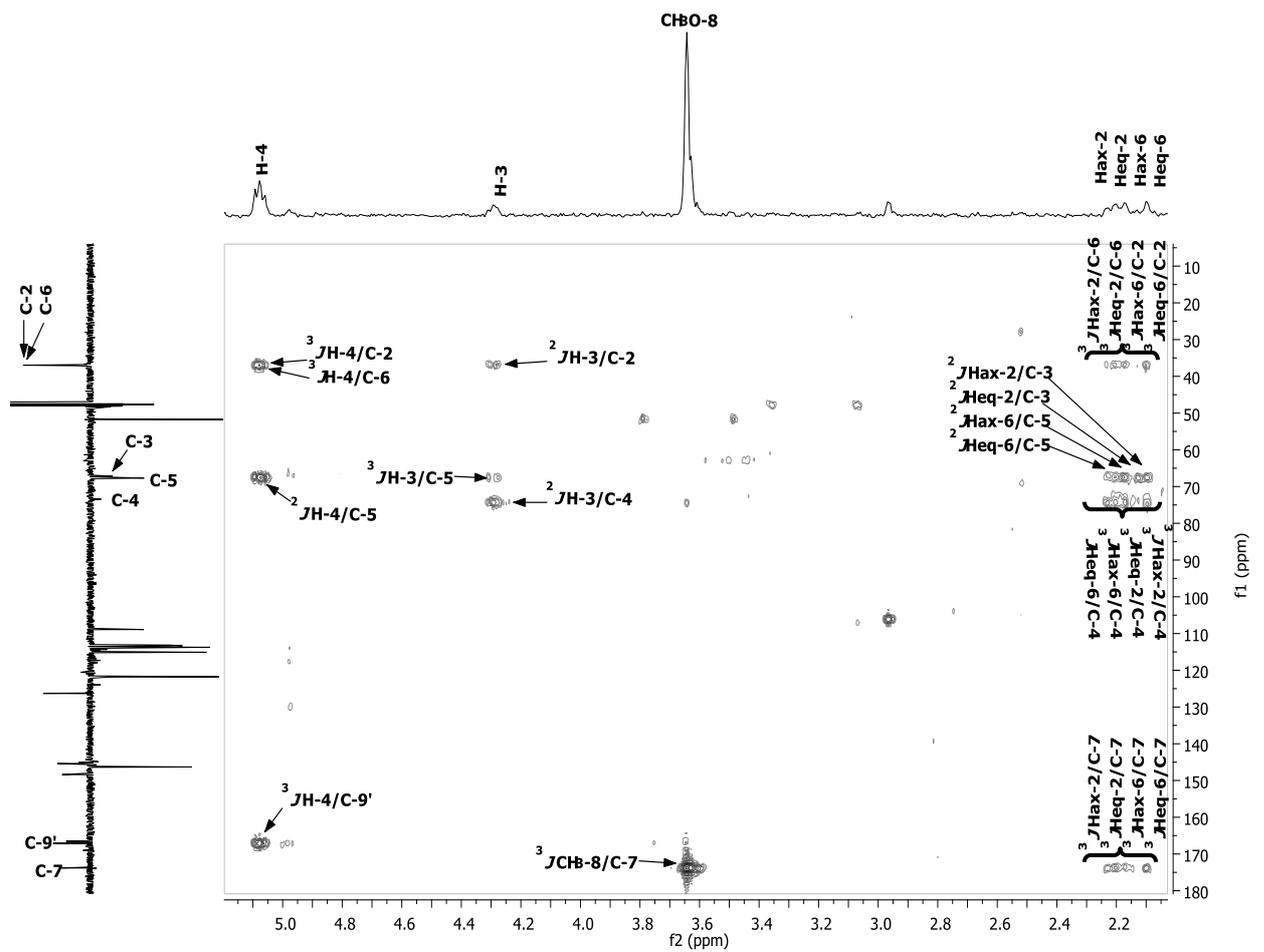
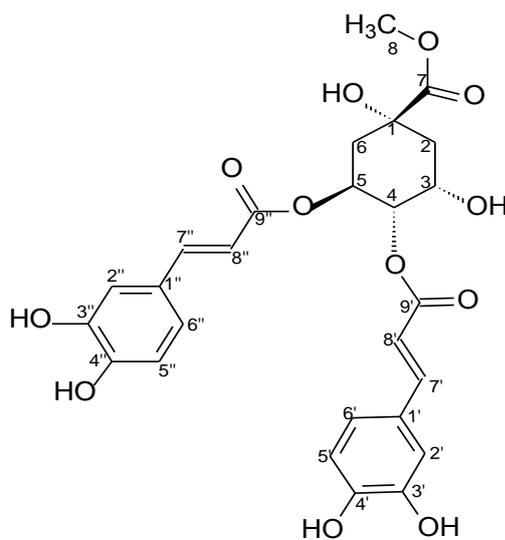


Figura 66. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137) na região entre δ_C 5,0-180,0 ppm e δ_H 2,1-5,2 ppm.



(137)

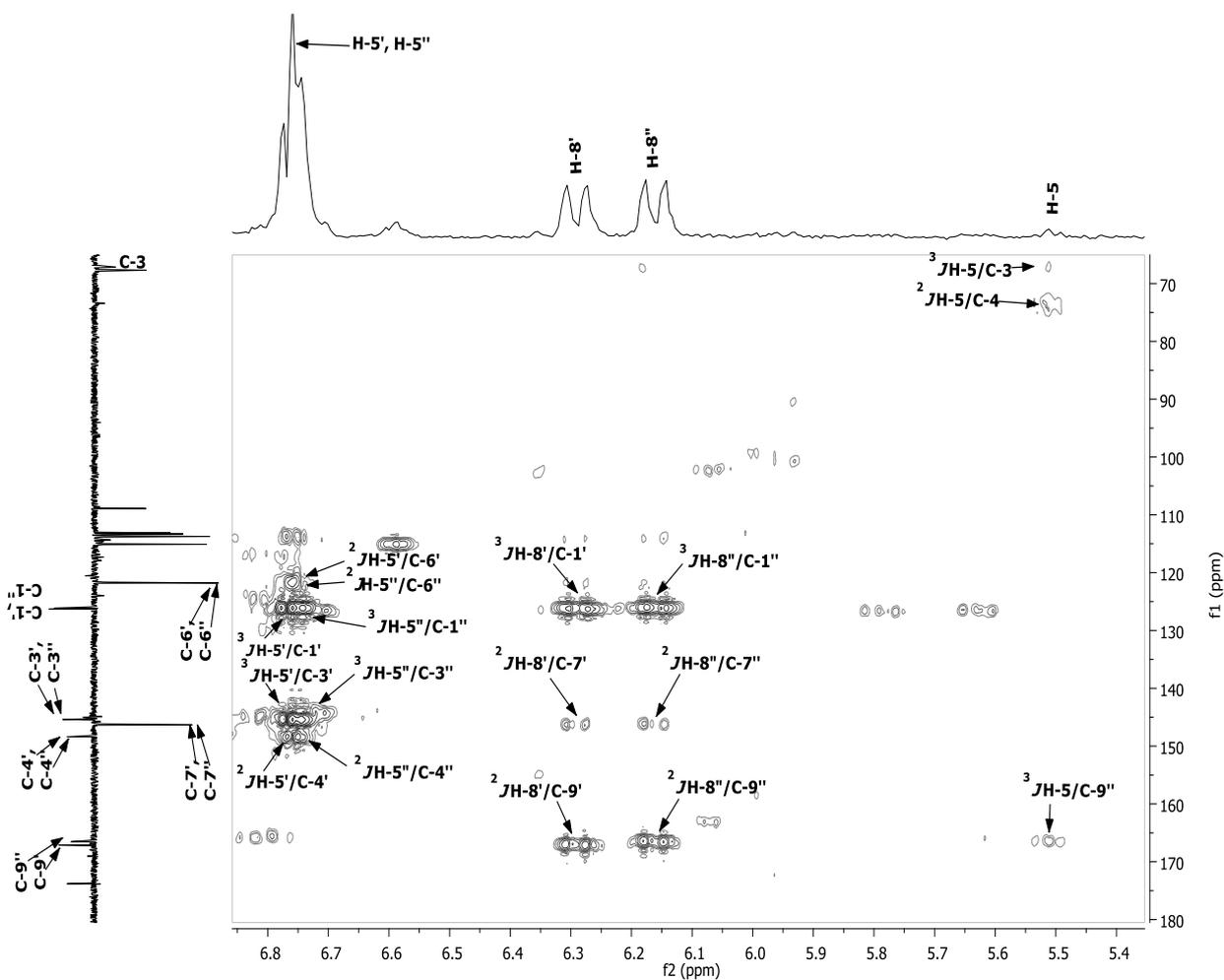
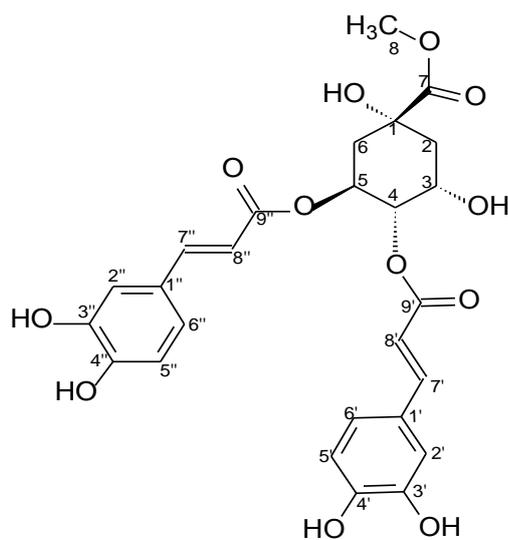


Figura 67. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137) na região entre δ_C 65,0-180,0 ppm e δ_H 5,35-6,85 ppm.



(137)

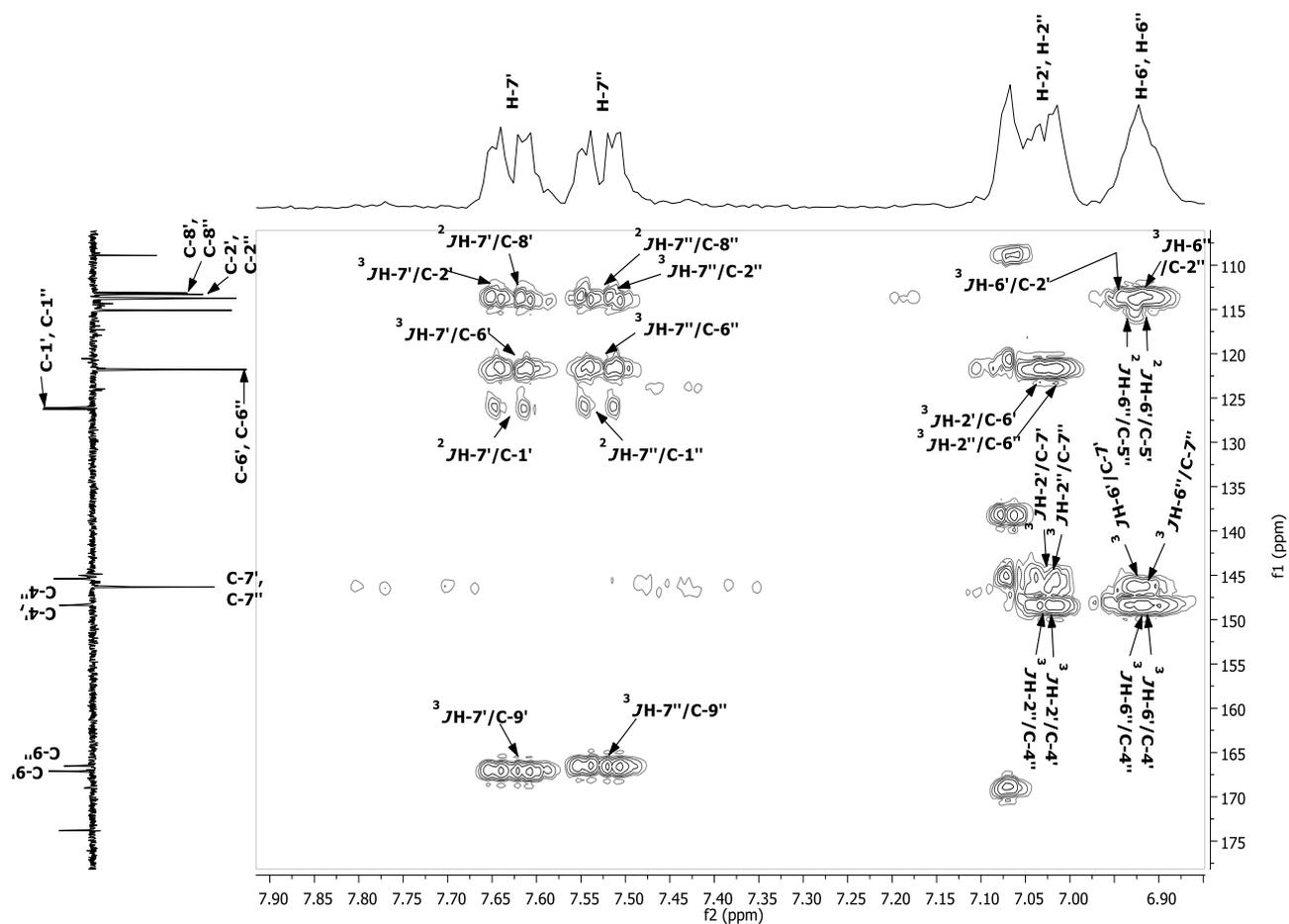


Figura 68. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CD₃OD) da substância (137) na região entre δ_C 105,0-178,0 ppm e δ_H 6,85-7,93 ppm.

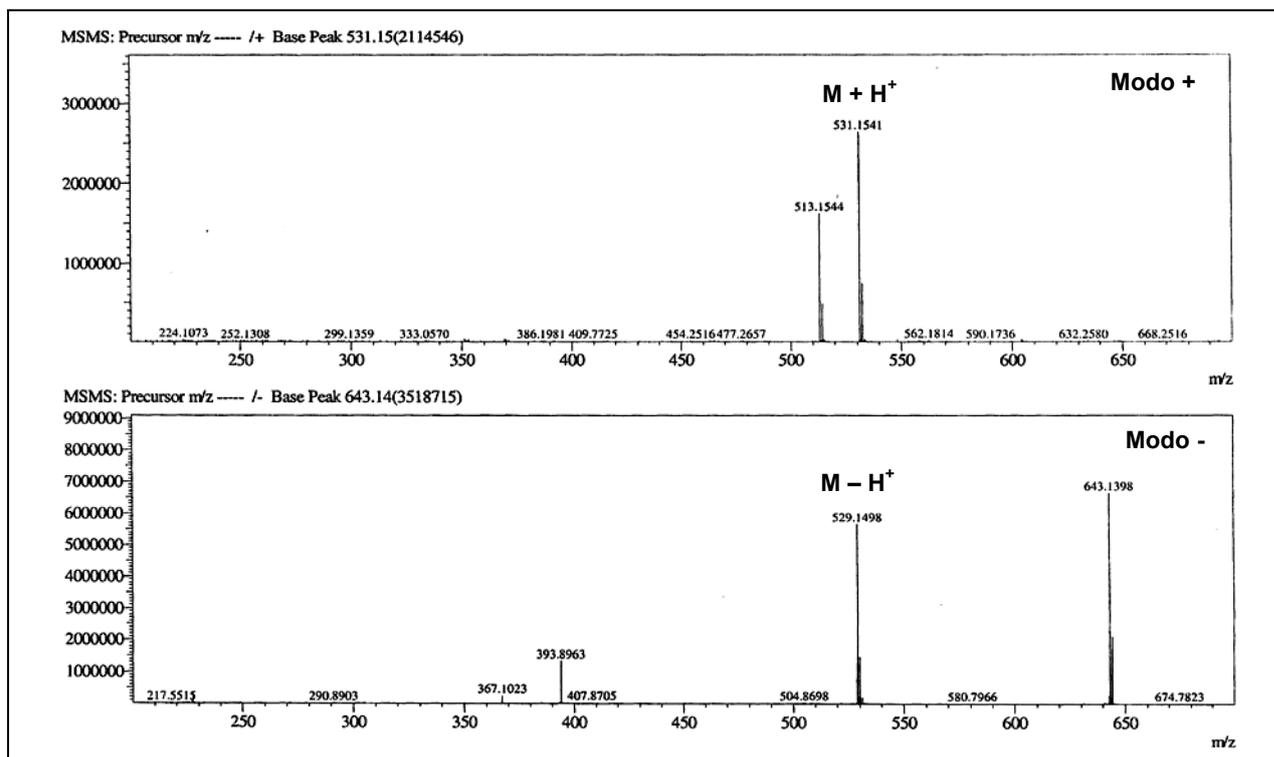


Figura 69. Espectros de massa de (137) em modo positivo e negativo.

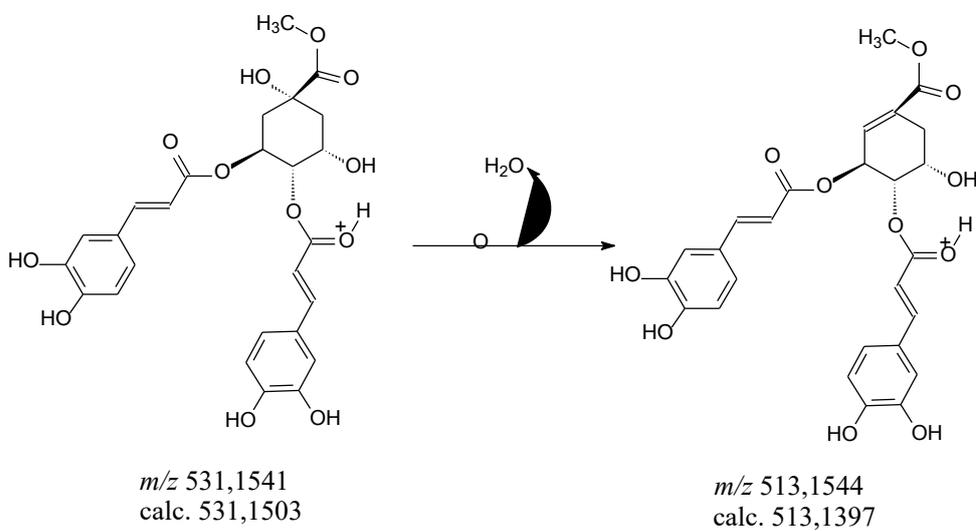


Figura 70. Propostas de fragmentação da substância (137) com valores de m/z obtidos de EM em modo positivo.

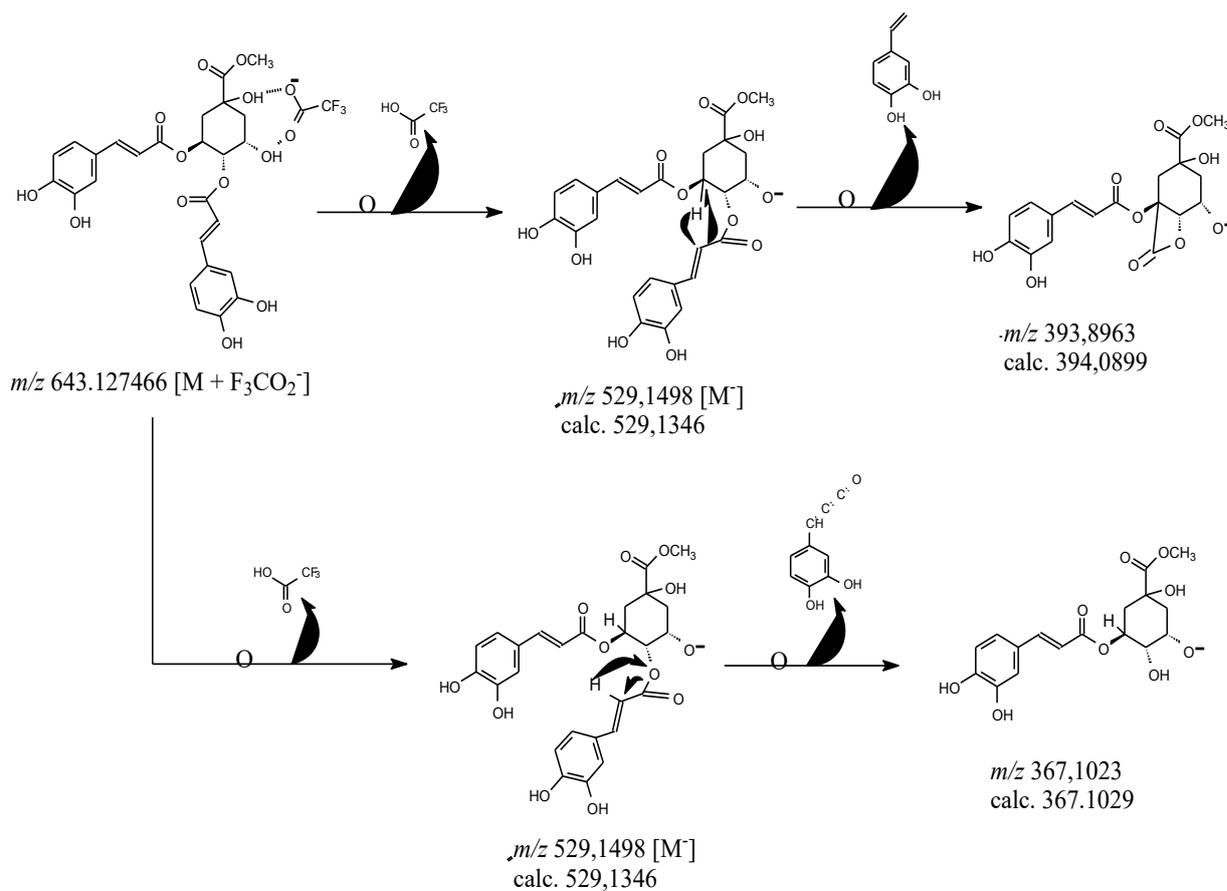
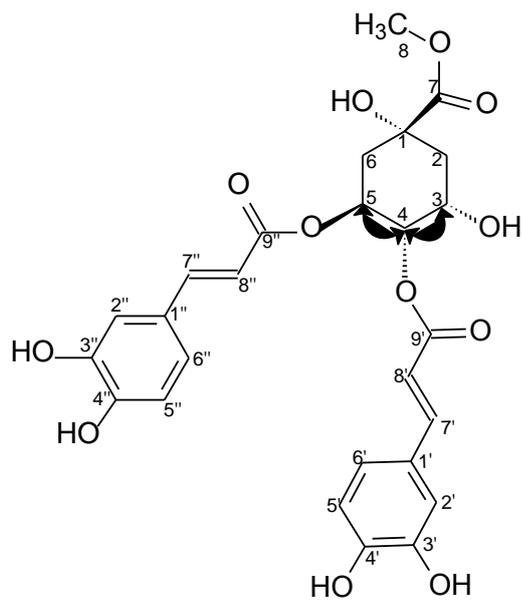


Figura 71. Propostas de fragmentação da substância (137) com valores de m/z obtidos de EM em modo negativo.



(137)

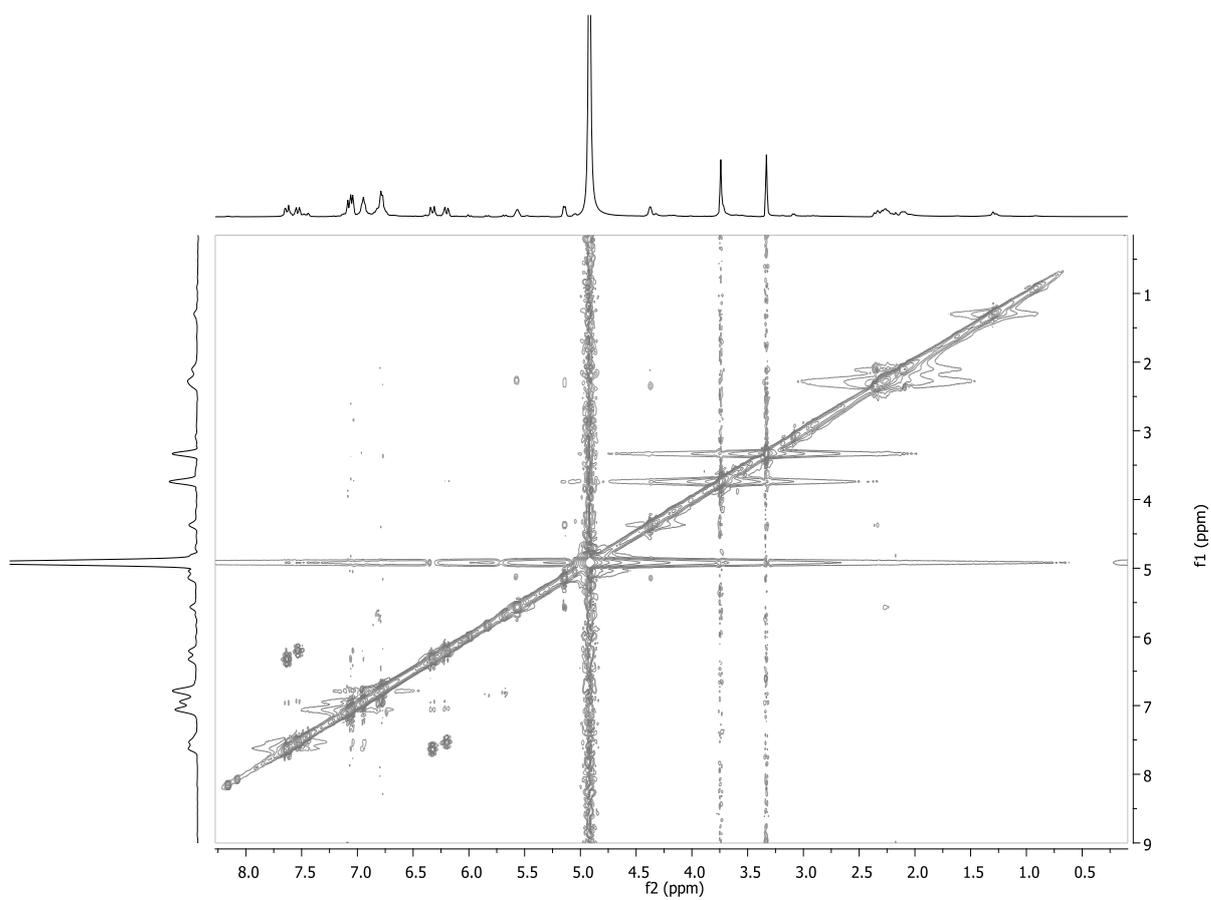
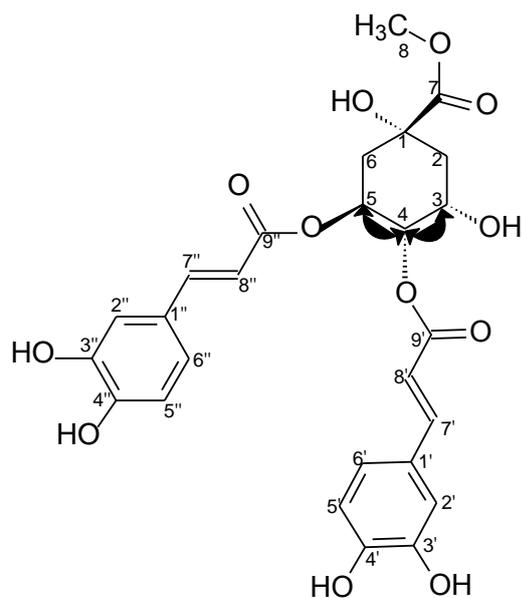


Figura 72. Espectro de RMN-2D NOESY (125 MHz, CD₃OD) da substância (137).



(137)

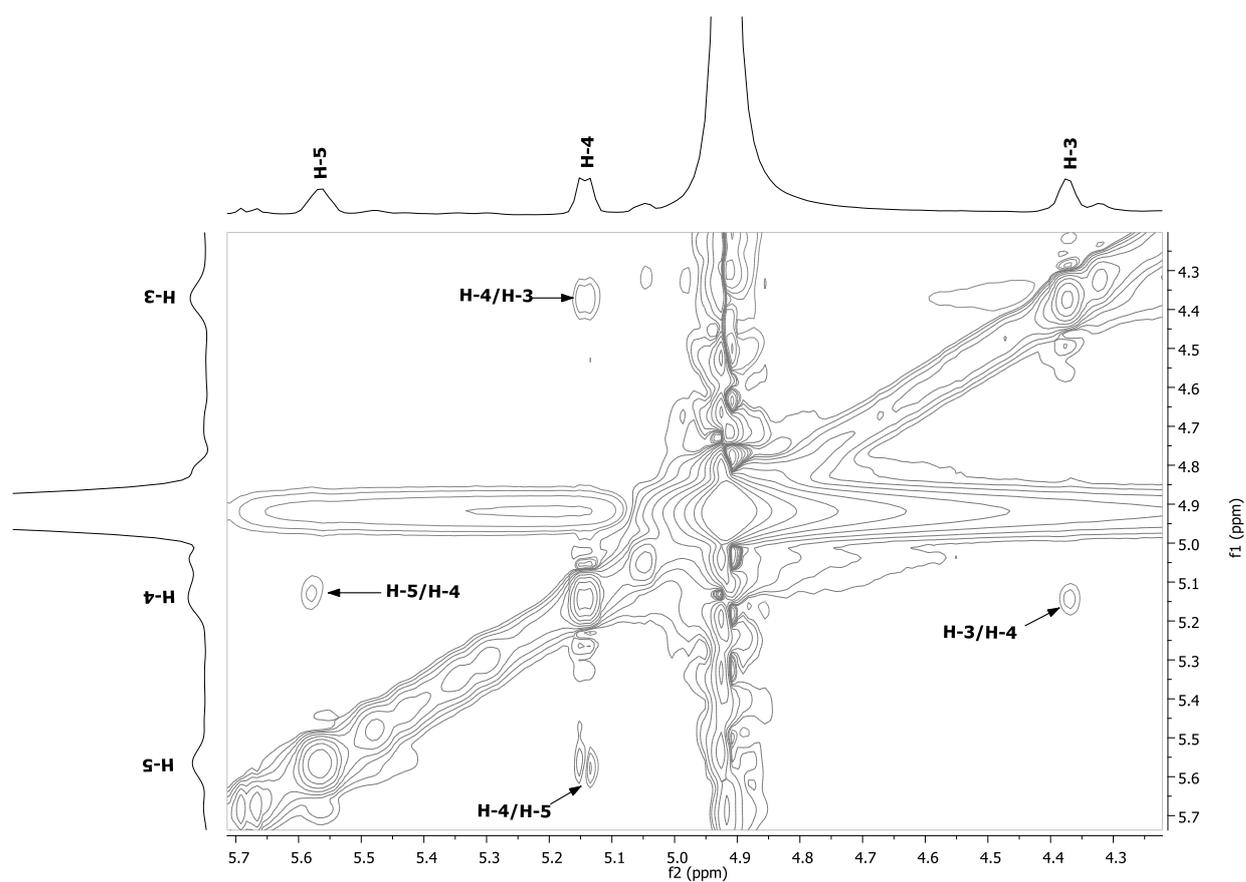


Figura 73. Expansão do espectro de RMN-2D NOESY (500/125 MHz, CD₃OD) na região entre δ_H 4,2-5,7 ppm e δ_H 4,2-5,7 ppm e algumas interações espaciais observadas para a substância (137).

5.1.10. Identificação estrutural da substância (138)

A fração acetato de etila, resultante da partição da fração acetato de etila do extrato etanólico de folhas de *Myrcia ovata*, foi submetida a sucessivos fracionamentos cromatográficos em sílica gel e sephadex LH-20 fornecendo 16 mg da substância (138) que foi obtido como um sólido de cor castanho claro em forma de agulhas, solúvel em metanol., apresentando faixa de fusão de 164-166 °C (Fluxograma 7, pág. 33). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.4, págs. 133 a 135).

Os espectros de RMN de ^1H (Figuras 74 a 78) e RMN ^{13}C -DEPTQ (Figura 79) de (138) permitiram inferir que está substância pertence à classe dos flavonóides. A presença de dubletos centrados em δ_{H} 5,16 ($J = 10,9$ Hz, 1H) e 4,60 ($J = 10,9$ Hz, 1H) (Figura 77) é característico de prótons H-2 e H-3 de dihidroflavonois, respectivamente. Esta fórmula estrutural sugerida foi corroborada pelos sinais fornecidos no espectro RMN ^{13}C -DEPTQ, em δ_{CH} 77,30; 82,47 e δ_{C} 194,71 atribuídos aos carbonos C-3, C-2 e C-4 (anel-C), respectivamente. O espectro de RMN de ^1H apresentou, ainda, um par de singletos em δ_{H} 5,98 e 5,94 (Figura 78) atribuídos ao anel-A 5,7,9,10-tetrassubstituído.

Os sinais em δ_{H} 7,39 (d, $J = 8,2$ Hz) e 6,87 (d, $J = 8,5$ Hz) (Figura 78) podem ser característicos de um sistema aromático *para* dissubstituído de uma anel B, sendo estes sinais correspondentes aos dois pares de átomos de hidrogênio, H-2'/H-6' e H-3'/H-5', respectivamente, acoplados através de interação spin-spin em *orto*, constituindo um típico sistema AA''BB''.

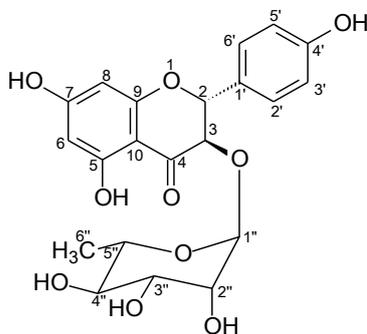
A presença da unidade monosídica ramnose é constatada pela verificação de dubleto em δ_{H} 1,21 ($J = 6,2$ Hz; 1H) (Figura 75), juntamente com o conjunto de sinais entre δ_{H} 3,34-4,30 (Figuras 76 a 77). Além disso, no espectro RMN ^{13}C -DEPTQ o sinal em δ_{CH} 16,49, foi atribuído ao carbono metílico e o conjunto de sinais em δ_{CH} 100,85; 72,38; 70,72; 70,37 e 69,13 contribuíram para a identificação da unidade glicosídica (Figura 79).

O espectro de dicroísmo circular de (138) (Figura 80), registrado na região λ 220-400 nm, apresentou efeito Cotton positivo ($\Delta\varepsilon = + 6,41$) em λ 331,6 nm (Tabela 14), o que permite estabelecer a estereoquímica absoluta do C-2 como *R*. De acordo Slade e colaboradores (2005), um efeito Cotton positivo para bandas de absorção na faixa de comprimentos elevados (320-340 nm) indica configuração *2R* para C-2 de dihidroflavonois.

A análise dos dados espectrométricos do composto (138) e a comparação dos deslocamentos químicos obtidos dos espectros de RMN ^1H e de RMN ^{13}C - DEPTQ de (138) com os descritos na literatura na literatura (HUANG *et al.*, 2011), permitiram identifica-lo como o flavanonol glicosilado engeletina (*rel-2R,3S-5,7,4''-trihidroxi-3-O- α -L-ramnospiranosilflavanonol*) (Tabela 13).

Engeletina é um flavonóide inédito na família Myrtaceae, sendo anteriormente isolado de raízes de *Andira fraxinifolia* Benth. (Fabaceae) (SILVA *et al.*, 2006) e de folhas de *Engelhardia roxburghiana* Wall. (Juglandaceae) (HUANG *et al.*, 2011). Estudos relatam que este flavonol glicosilado demonstrou potencial na prevenção e tratamento de complicações diabéticas (WIRASATHIEN *et al.*, 2007), além de apresentar ação antiinflamatória (HUANG *et al.*, 2011).

Tabela 13. Dados espectroscópicos de **(138)** (CD₃OD) comparados com os da literatura (HUANG *et al.*, 2011 - CD₃OD), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



(138)

	(138)		ENGELETINA	
	δ C- DEPT-Q (125 MHz)	δ H (500 MHz)	δ C (100 MHz)	δ H (400 MHz)
C				
4	194,71	-	196,05	-
5	164,11	-	165,47	-
7	167,18	-	168,53	-
9	162,76	-	164,10	-
10	101,12	-	102,20	-
1''	127,21	-	128,58	-
4''	158,07	-	159,42	-
CH				
2	82,47	5,16 (d; $J = 10,9$)	83,83	5,13 (d; $J = 10,8$)
3	77,30	4,65 (d; $J = 10,9$)	78,66	4,62 (d; $J = 10,8$)
6	95,99	5,95 (s)	97,39	5,92 (d; $J = 1,6$)
8	94,88	5,93 (s)	96,25	5,89 (d; $J = 1,6$)
2''	128,69	7,39 (d; $J = 8,2$)	130,05	7,36 (d; $J = 8,4$)
3''	115,00	6,87 (d; $J = 8,5$)	116,41	6,85 (d; $J = 8,4$)
5''	115,00	6,87 (d; $J = 8,5$)	116,41	6,85 (d; $J = 8,4$)
6''	128,69	7,39 (d; $J = 8,2$)	130,05	7,36 (d; $J = 8,4$)
1''	100,85	4,03 (s)	102,48	3,99 (s)
2''	70,37	4,30 (m)	71,74	4,30 (m)
3''	70,72	3,69 (dd, $J = 9,5; 2,9$)	72,12	3,67 (dd, $J = 9,2; 2,8$)
4''	72,38	3,53 (sl)	73,76	3,50 (s)
5''	69,13	3,34 (s)	70,50	3,34 (s)
CH₃				
6''	16,49	1,21 (d; $J = 6,2$)	17,85	1,19 (d; $J = 6,0$)

Tabela 14. Dados do espectro do dicroísmo circular obtidos para substância (138).

λ (nm)	DC (medg)
395,9	0
331,6	6,41
310,4	0
292,9	-17,01
269	0
254	2,71
244,4	2,02
236,2	4,07
231,5	1,88

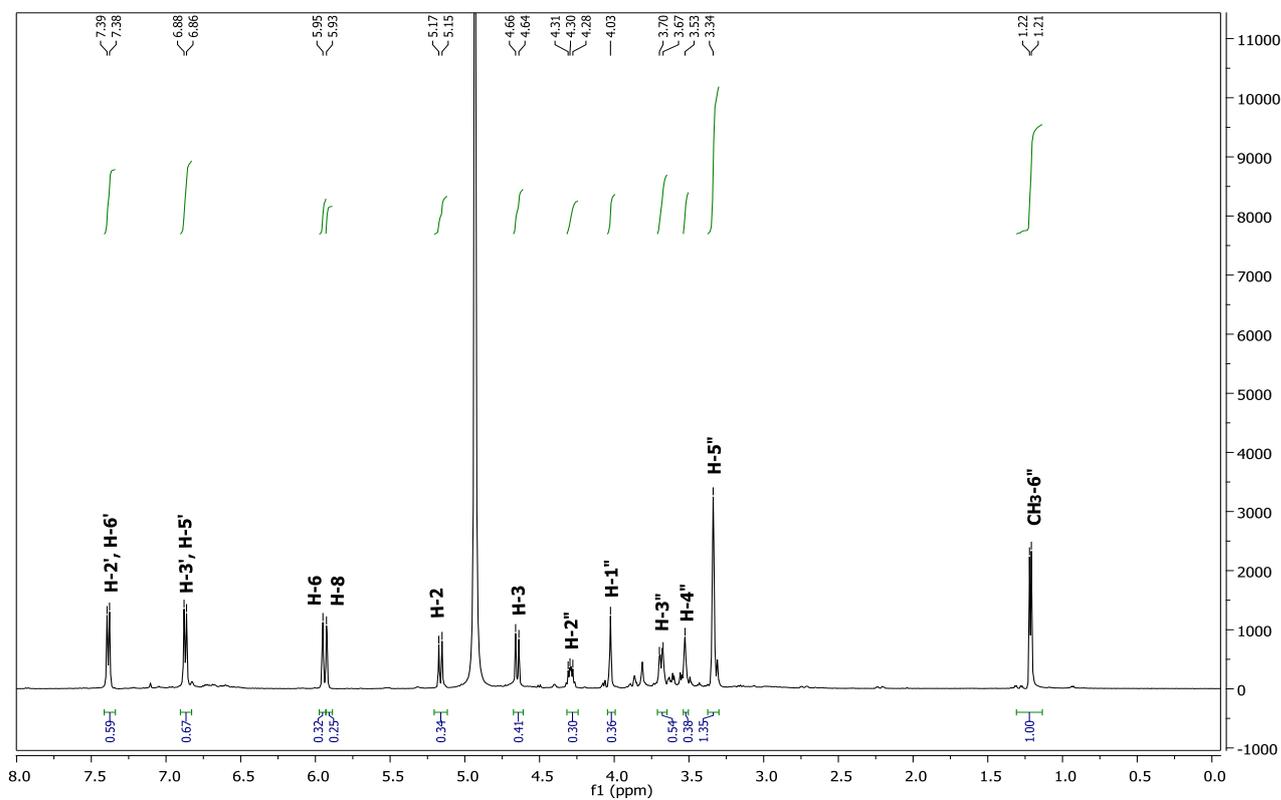


Figura 74. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância (138).

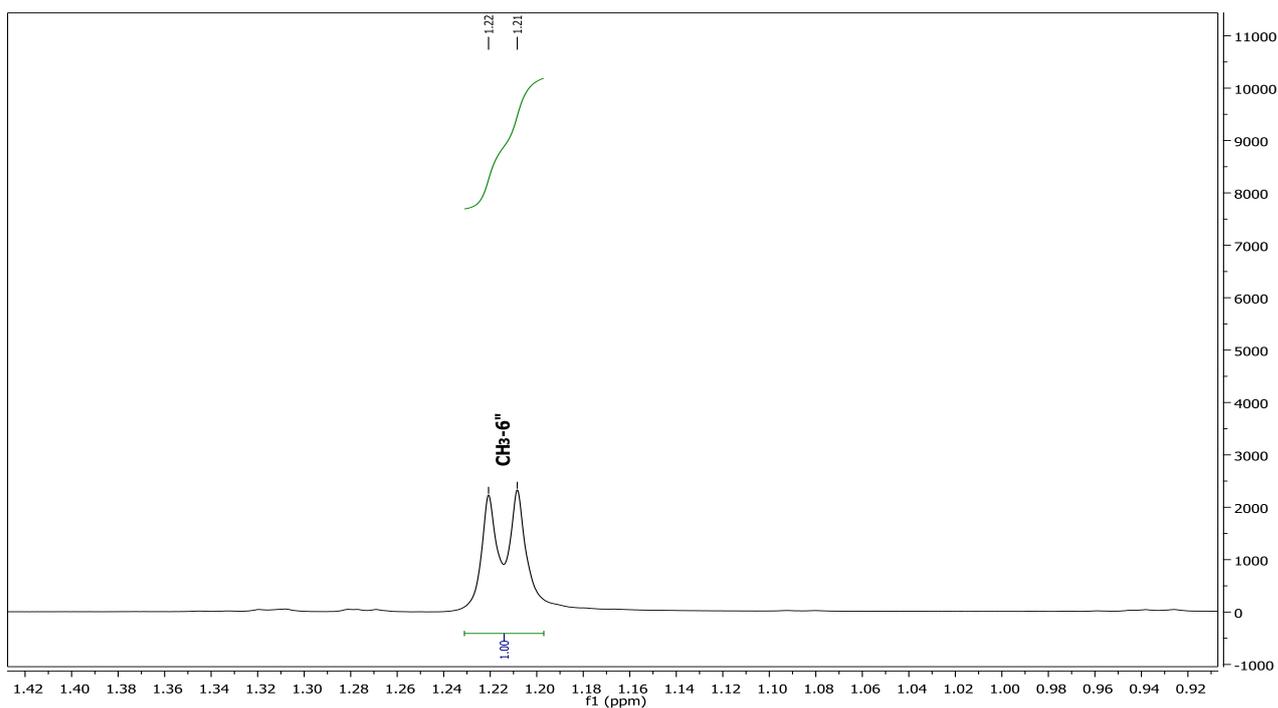


Figura 75. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância **(138)** na região entre δ_{H} 0,92-1,42 ppm.

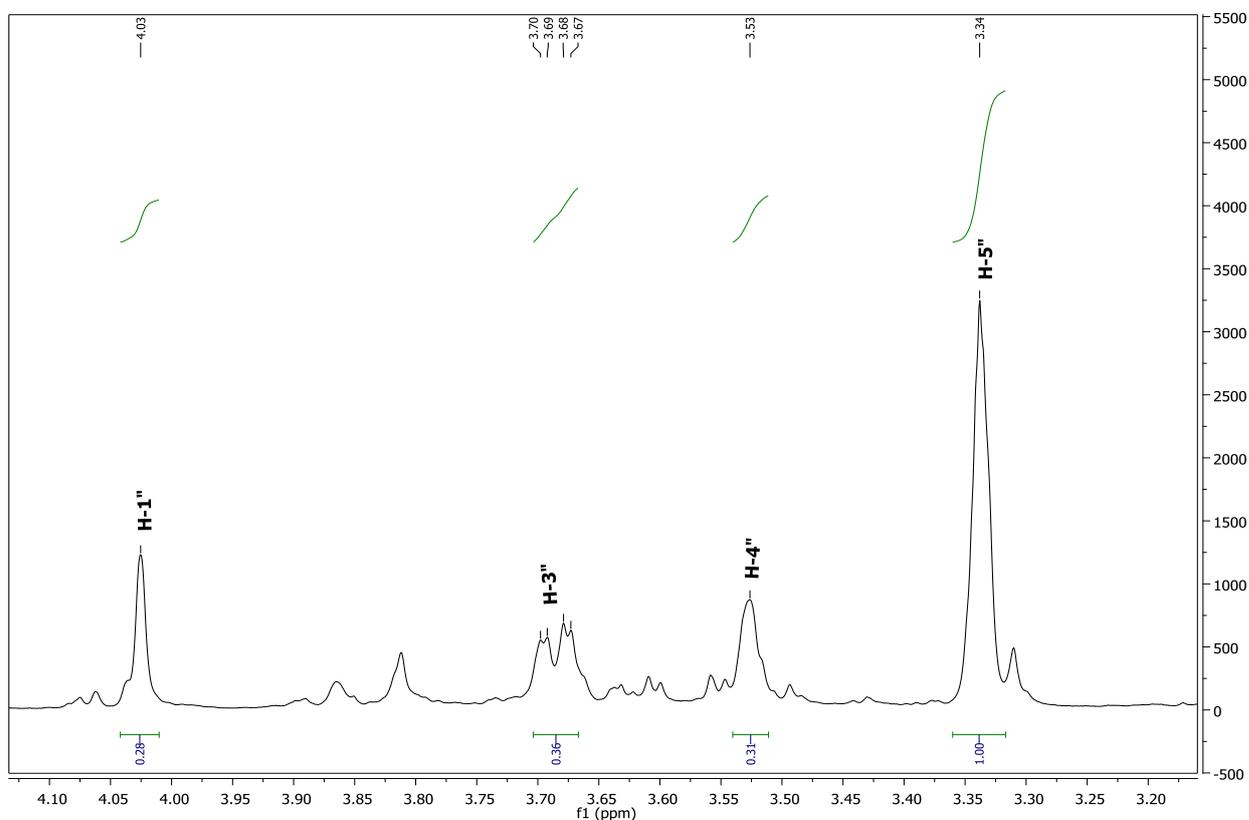


Figura 76. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância **(138)** na região entre δ_{H} 3,20-4,10 ppm.

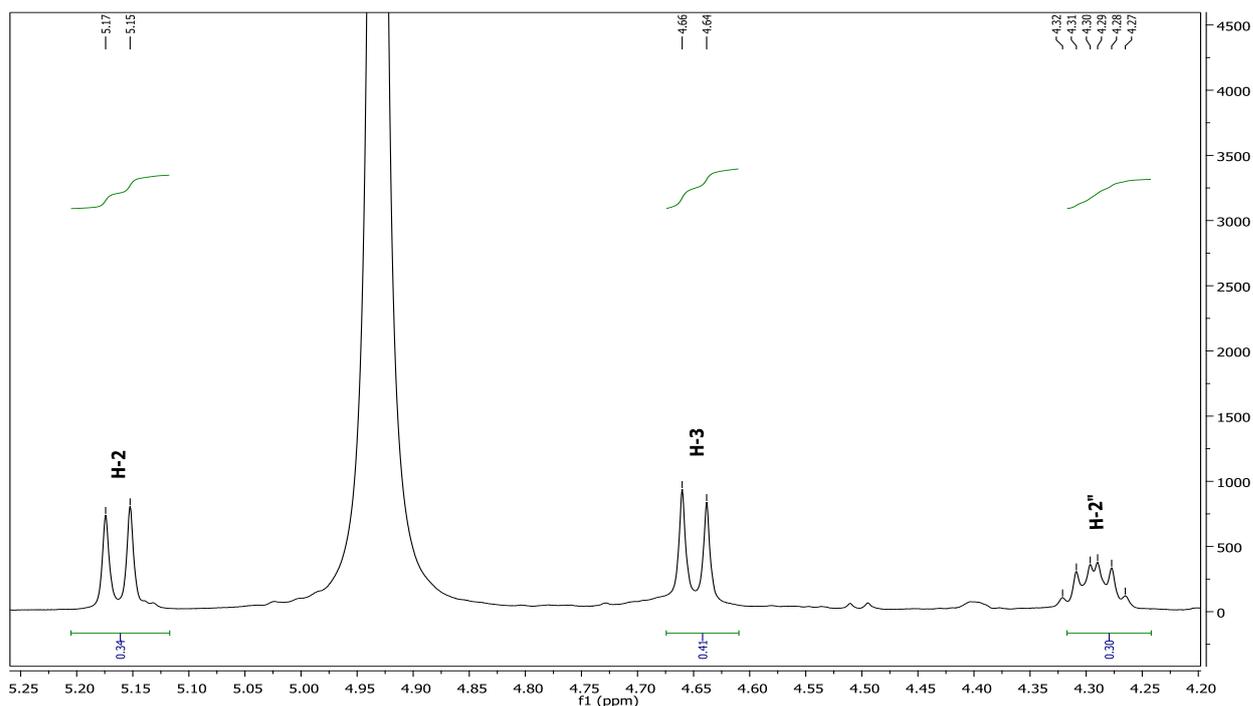


Figura 77. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância **(138)** na região entre δ_{H} 4,20-5,20 ppm.

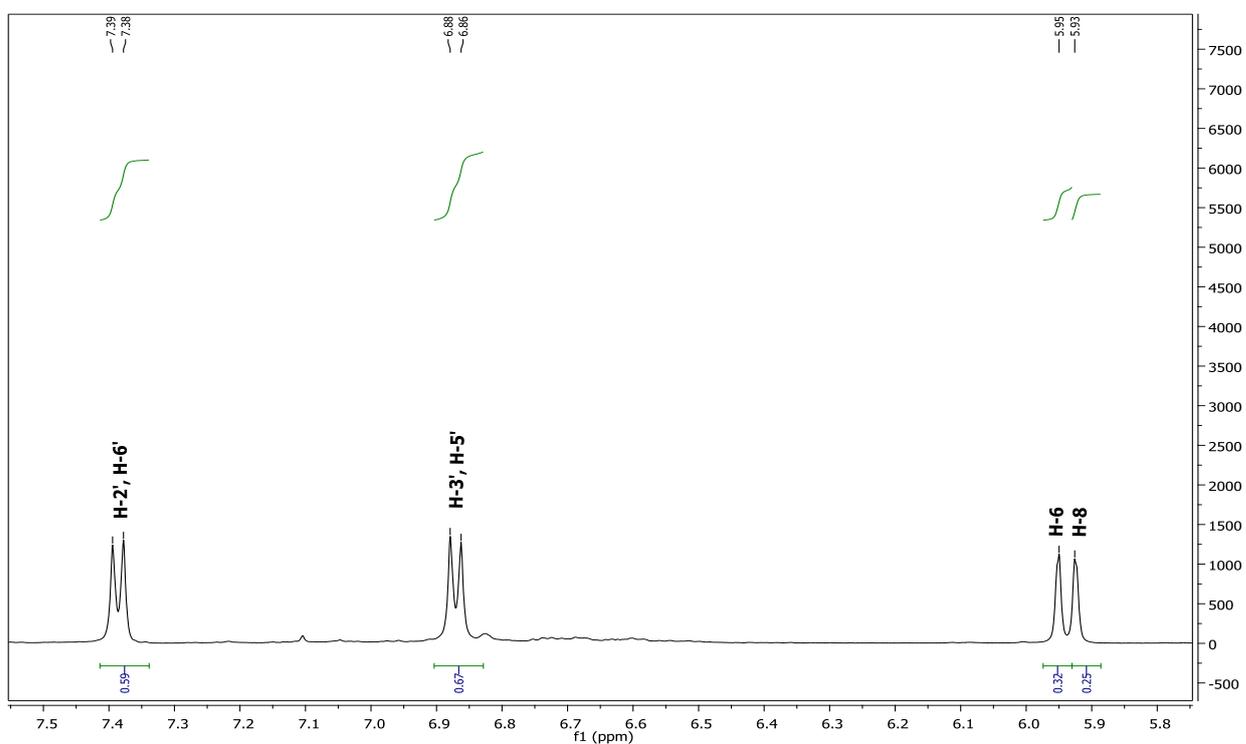


Figura 78. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) da substância **(138)** na região entre δ_{H} 5,80-7,50 ppm.

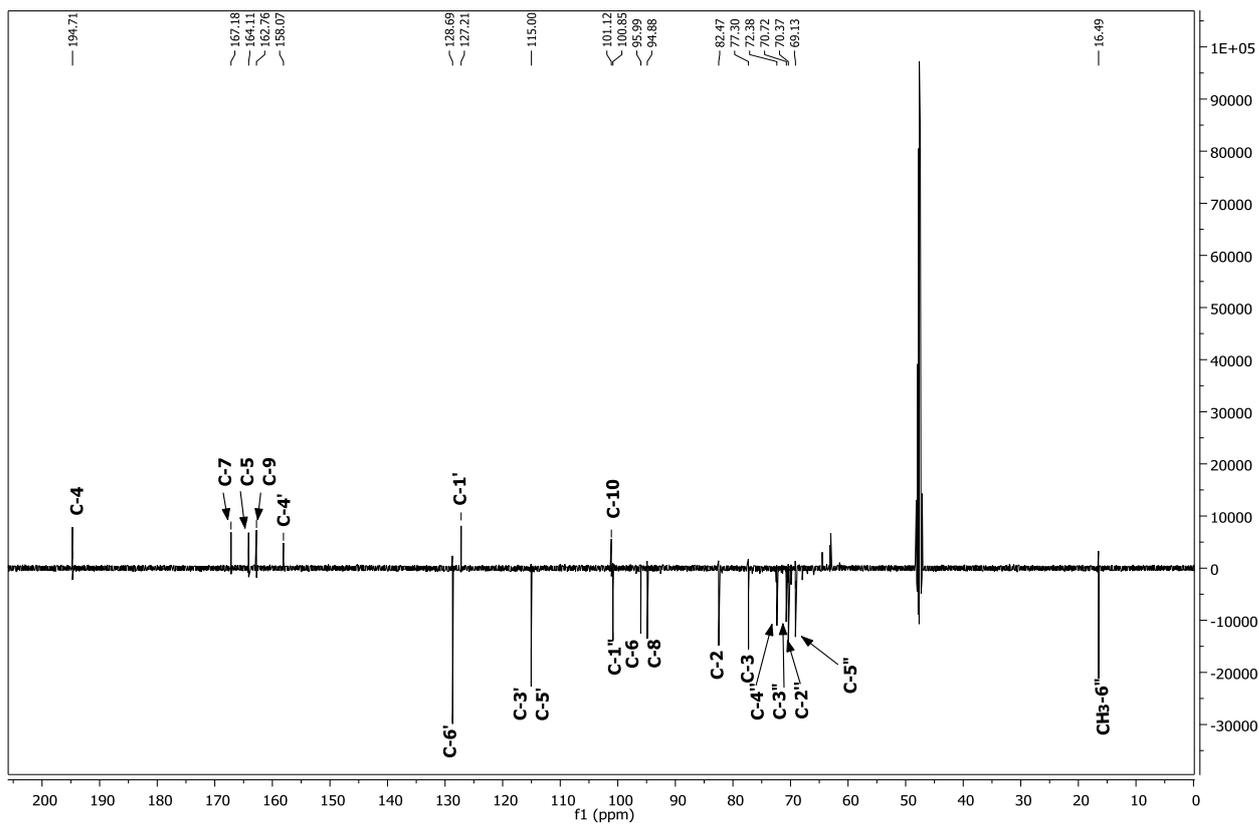


Figura 79. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CD_3OD) da substância (138).

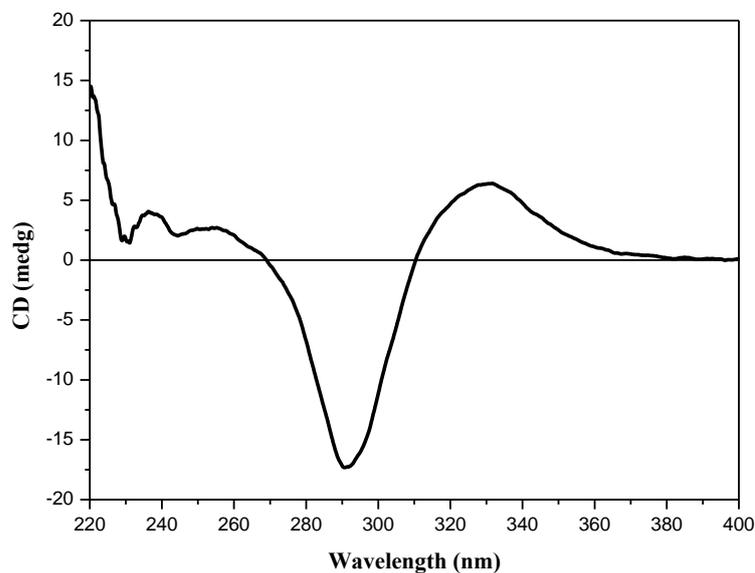


Figura 80. Espectro de dicroísmo circular obtido para a substância (138) (dados obtidos em MeOH, a 20 °C, na concentração de 0,042 mg/mL).

5.1.11. Identificação estrutural da substância (139)

A fração diclorometano do extrato etanólico de caule e galhos de *Myrcia ovata* foi submetido à coluna cromatográfica fornecendo 27,9 mg da substância (139) que foi obtida como um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio, apresentando faixa de fusão de 136-

138 °C. (Fluxograma 9, pág. 35). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.3, págs. 132 e 133).

O espectro do RMN ^1H deste material (Figura 81) mostrou sinais característicos de hidrogênios de esteróide. Verificou-se dois multipletos em δ_{H} 5,37 e 3,54, referentes aos hidrogênios do carbono carbinólico H-3 e olefínico H-6, respectivamente. Apresentou ainda, sinais entre δ_{H} 0,70 e 2,30 atribuídos aos hidrogênios ligados aos carbonos dos grupos metílicos, metilênicos e metínicos do grupo esteroidal.

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ de **(139)** (Figura 82) exibiu dois sinais na região dos carbonos sp^2 , δ_{CH} 121,72 e δ_{C} 140,77, sendo atribuídos ao C-6 e C-5, respectivamente. Estes sinais sugerem a existência de uma dupla ligação característica de certos esteroides.

A comparação dos dados espectrais da substância **(139)** com os do esteróide β -sitosterol (24 α -etil-colestan-5-eno-3 β -ol) descritos na literatura (KOJIMA *et al.*, 1990) apontaram para a identidade entre as duas substâncias (Tabela 15).

β -sitosterol é um micro-nutriente natural que pode ser encontrado nas células e membranas de todas as frutas, legumes, grãos, sementes e árvores produtoras de óleo vegetal (SEN *et al.*, 2012). O isolamento deste fitosterol tem sido relatado para várias plantas, entre elas, *Myrcia rotundifolia* (Myrtaceae) onde foi obtido a partir do estudo fitoquímico de seu caule (CERQUEIRA, 2002).

Estudos experimentais têm demonstrado eficácia deste esteroide como agente anti-inflamatório, antipirético (GUPTA *et al.*, 1980), inibidor de absorção de colesterol (SHEFER *et al.*, 1988), anti-cancer (AWAD *et al.*, 2007; BHASKAR *et al.*, 2010), inseticida (RAHUMAN *et al.*, 2008), anti-diabético, anti-oxidante (KARAN *et al.*, 2012) e antimicrobiano (SEN *et al.*, 2012).

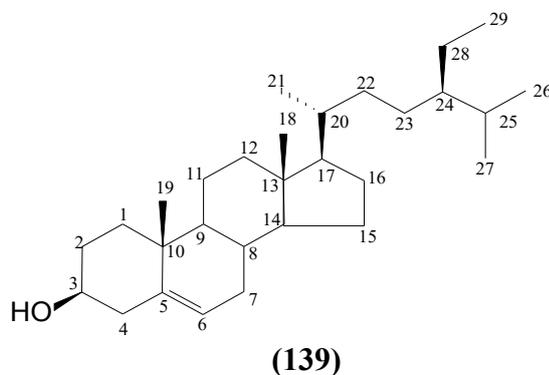
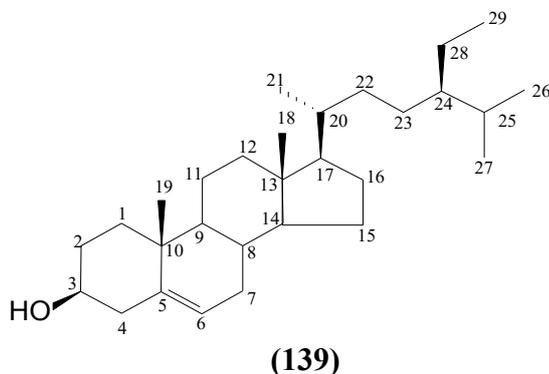


Tabela 15. Dados espectroscópicos de **(139)** (CDCl_3) comparados com os da literatura (KOJIMA *et al.*, 1990 - CDCl_3), deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



	(139)		β-sitosterol	
	$\delta\text{C- DEPT-Q (125 MHz)}$	$\delta\text{H (500 MHz)}$	$\delta\text{C (100 MHz)}$	$\delta\text{H (400 MHz)}$
C				
5	140,77	-	140,7	-
10	36,51	-	36,5	-
13	42,30	-	42,3	-
CH				
3	71,81	3,54 (m)	71,8	3,52 (m)
6	121,72	5,37 (m)	121,7	5,35 (m)
8	31,91	-	31,9	-
9	50,15	-	50,1	-
14	56,78	-	56,8	-
17	56,06	-	56,0	-
20	36,16	-	36,1	-
24	45,85	-	45,8	-
25	29,17	-	29,1	-
CH₂				
1	37,27	-	37,2	-
2	31,66	-	31,6	-
4	42,30	-	42,3	-
7	31,93	-	31,9	-
11	21,09	-	21,1	-
12	39,79	-	39,8	-
15	24,31	-	24,3	-
16	28,26	-	28,2	-
22	33,96	-	33,9	-
23	26,09	-	26,0	-
28	23,18	-	23,0	-
CH₃				
18	11,87	0,70 (s)	11,9	0,68 (s)
19	19,41	1,03 (s)	19,4	1,01 (s)
21	18,79	0,94 (d; $J = 6,5$)	18,8	0,92 (d; $J = 6,5$)
26	19,83	0,86 (d; $J = 6,9$)	19,8	0,83 (d; $J = 6,5$)
27	19,05	0,84 (d; $J = 6,9$)	19,0	0,81 (d; $J = 6,5$)
29	11,99	0,87 (m)	12,0	0,84 (t; $J = 7,5$)

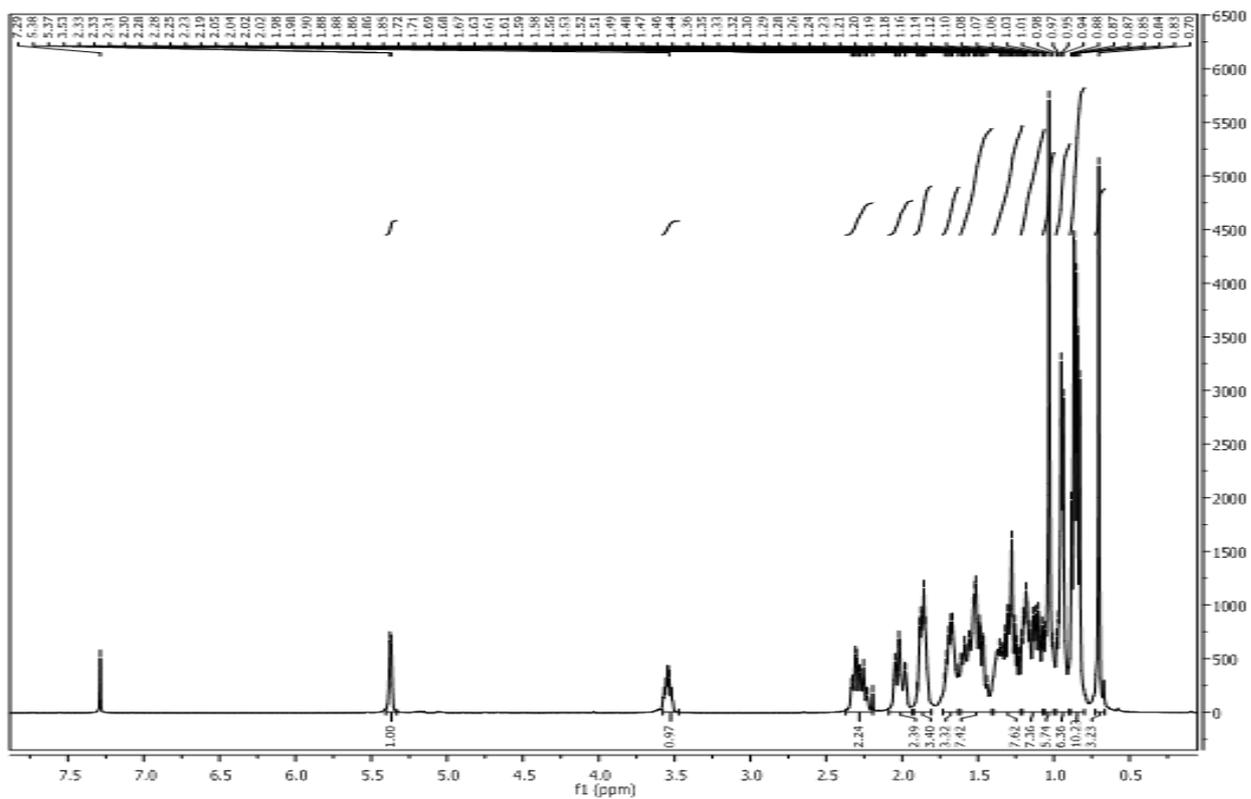


Figura 81. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância (139).

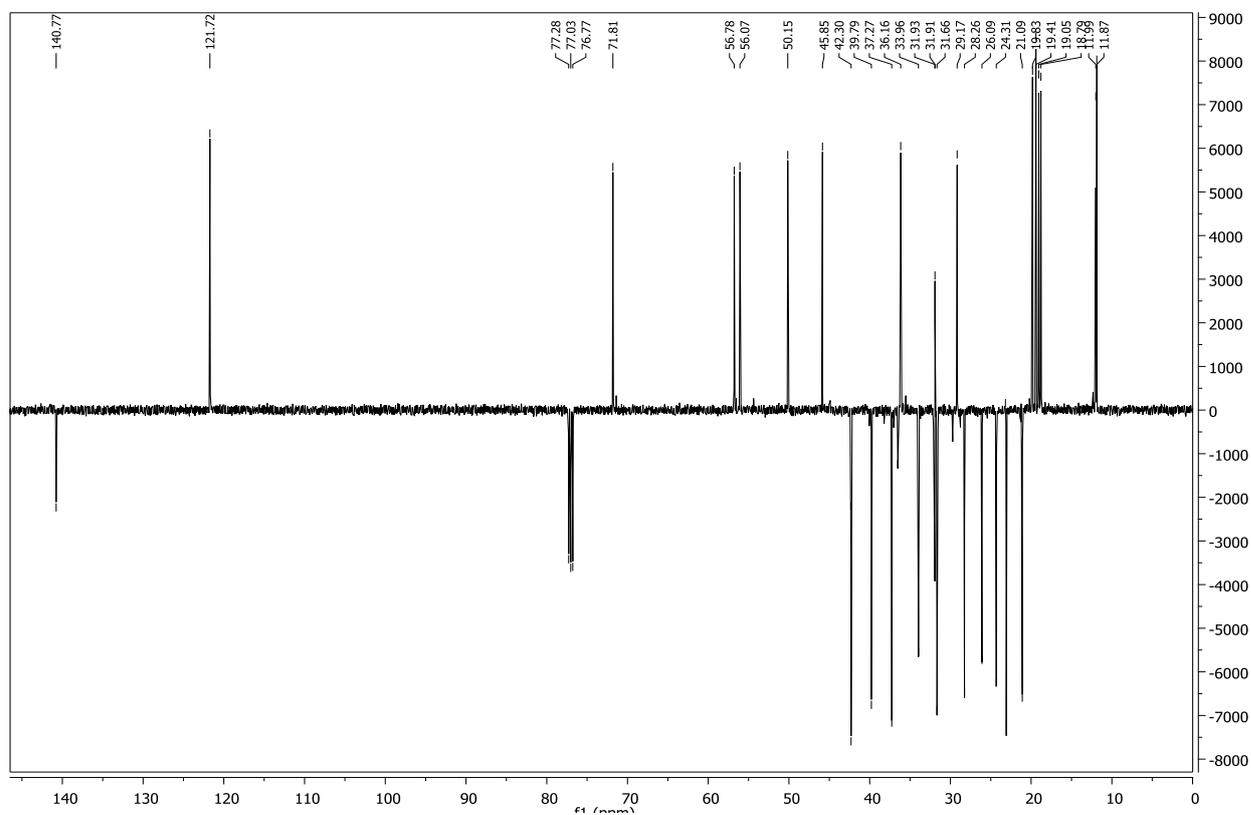


Figura 82. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância (139).

5.1.12. Identificação estrutural da substância (140)

Sucessivas cromatografias em sílica gel da fração diclorometano do extrato etanólico de caule e galhos de *Myrcia ovata*, forneceu 2 mg de óleo de coloração amarela, solúvel em clorofórmio, que foi denominado de (140) (Fluxograma 9, pág. 35). A fórmula estrutural foi definida com base na análise dos espectros e considerações biossintéticas (Item 5.2.1, págs. 130 e 131).

O espectro de absorção na região do IV de (140) (Figura 83) apresentou banda de absorção em 3235 cm^{-1} relacionada à presença de hidroxila (ν_{OH}), bandas em 2959, 2925 e 2855 cm^{-1} associadas a C-H saturado (ν_{CH}), uma banda em 1663 cm^{-1} referente provavelmente a carbonila conjugada de aldeído com oxigênio participando de ligação de hidrogênio intramolecular ($\nu_{\text{C=O}}$), banda em 1383 cm^{-1} sugerindo a presença grupamento dimetila geminado ($\nu_{\text{H}_3\text{C-C-CH}_3}$), além de bandas em torno de $1605\text{-}1437\text{ cm}^{-1}$ indicativas da presença de anel aromático (ν_{ϕ}).

A análise do espectro de RMN ^1H (Figuras 84 a 87) sugeriu a presença de um núcleo naftalênico tetrassubstituído devido aos sinais de quatro hidrogênios de sistema aromático na forma: de dois dubletos em δ_{H} 7,41 ($J = 7,1\text{ Hz}$; H-6) e 7,23 (1H, $J = 7,3\text{ Hz}$; H-7) (Figura 87); e dois singletos em δ_{H} 8,47 (H-1) e 7,47 (H-4) (Figura 84). Além disso, o espectro de RMN ^1H mostrou um singlete integrando para três hidrogênios em δ_{H} 2,61 (Figura 84) indicando a presença de um grupo metílico ligado a anel aromático. Foi verificado, também, um dubleto em δ_{H} 1,43 ($J = 6,8\text{ Hz}$; CH₃-13 e CH₃-14) (Figura 85) e um multiplete em δ_{H} 3,75 (H-12) (Figura 86) que indicaram a existência de um grupo isopropílico na fórmula estrutural de (140), bem como, sinais em δ_{H} 10,38 e 10,16 referentes a hidroxila fenólica (OH-3) e hidrogênio (H-11) de grupo aldeído, respectivamente (Tabela 16).

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ de (140) (Figura 88) revelou a presença de dois sinais referentes a grupos metílicos, sendo um em δ_{CH_3} 19,58 e outro em δ_{CH_3} 23,72, este último relativo a dois carbonos metílicos quimicamente equivalentes. Além desses, apresentou sinais de carbonos metínicos em δ_{CH} 133,87; 130,83; 120,04; 109,74 e 28,60; sendo os quatro primeiros atribuídos a carbonos de sistemas aromáticos e o último sinal referente a carbono do grupo isopropílico. Foram detectados, também, seis sinais de carbonos não hidrogenados de sistema aromático em δ_{C} 121,62; 125,59; 131,09; 138,42; 144,58 e 155,27. Dentre esses sinais, o último apresentou-se mais desprotegido o que permitiu sugerir a presença de um carbono oxigenado. Outro sinal foi observado em δ_{CH} 196,99 referente a carbono carbonílico de aldeído (Tabela 16). Esses dados indicaram a presença de um núcleo naftalênico tetrassubstituído validando a proposta desta fórmula estrutural anteriormente sugerida através da análise do espectro de RMN ^1H (Figuras 84 e 87).

O espectro de RMN bidimensional HSQC (Figuras 89 a 90) possibilitou a correlação de cada sinal de hidrogênio ao seu respectivo sinal de carbono como observado na Tabela 16.

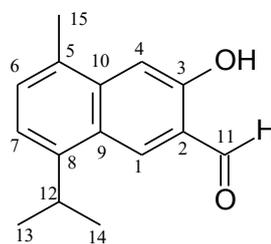
O espectro de RMN bidimensional HMBC (Figuras 92 a 95), além de mostrar outras correlações importantes para identificação da fórmula estrutural, permitiu constatar a ligação do grupo isopropílico em um anel aromático através da correlação ($^3J_{\text{CH}}$) entre o dubleto em δ_{H} 1,43 (CH₃-13 e CH₃-14) e os sinais em δ_{C} 144,58 (C-8) e δ_{C} 23,72 (CH₃-13 e CH₃-14) (Figura 93). O multiplete em δ_{H} 3,75 (H-12), atribuído a hidrogênio de carbono metínico, apresentou correlações a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$) com os sinais em δ_{C} 23,72 (CH₃-13 e CH₃-14) e δ_{CH} 120,04 (C-7); e a duas ligações ($^2J_{\text{CH}}$) com o sinal em δ_{C} 144,59 (C-8) (Figura 93) consolidando, deste modo, a proposta da ligação do grupo isopropílico com anel aromático e permitindo posicionar este grupo vizinho a carbono metínico (C-7) de sistema aromático. A correlação ($^3J_{\text{CH}}$) observada entre o singlete em δ_{H} 2,61 (CH₃-15) e os sinais em δ_{C} 138,42 (C-

10) e δ_{CH} 130,83 (C-6), bem como a correlação ($^2J_{CH}$) deste singlete com o sinal em δ_C 131,09 (C-5) permitiram confirmar a ligação do grupo metílico com anel aromático (Figura 93).

A análise do espectro de HMBC possibilitou, ainda, a localização da hidroxila no carbono de sistema aromático (C-3) que foi evidenciada pelas correlações de OH-3 (δ_H 10,38) a três ligações ($^3J_{CH}$) com C-2 (δ_C 121,62) e C-4 (δ_{CH} 109,74); e a duas ligações ($^2J_{CH}$) com o C-3 (δ_C 155,27). Além disso, através das correlações ($^3J_{CH}$) de H-11 (δ_H 10,16) com o C-3 e de H-1 (δ_H 8,47) com o C-11 (δ_C 196,99), foi possível posicionar o grupo aldeído entre um carbono hidroxilado (C-3) e um metínico (C-1), ambos pertencentes a sistema aromático (Figura 95).

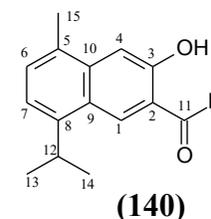
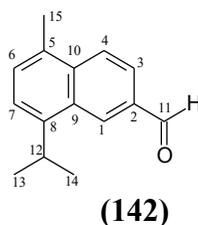
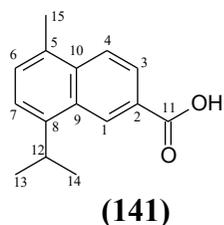
A fórmula molecular $C_{15}H_{16}O_2$, para **(140)**, foi deduzida com base na análise das informações obtidas acima, como mostra a Tabela 16, e pelo pico observado no espectro de massas em m/z 228 (69,73%) (Figura 96). As propostas de fragmentação estão ilustradas na Figura 97. O índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a oito, calculado a partir da fórmula molecular, confirmou a existência de um sistema naftalênico na fórmula estrutural.

A análise dos dados espectrométricos da substância **(140)** e a comparação destes dados com os do ácido cadalen-15-óico **(141)** e do 5-metil-8-isopropil-2-naftalenocarboxaldeído **(142)** descritos na literatura (FANG *et al.*, 1987; DELGADO *et al.*, 2001) permitiram identifica-lo como 7-hidroxicadalenal (3-hidroxi-8-isopropil-5-metil-2-naftaldeído) (Tabela 16). A referida substância foi anteriormente obtida de *Ulmus rubra* Muhl. (FRACHEBOUD *et al.*, 1968) e *U. glabra* Huds.(Ulmaceae) (BURDEN *et al.*, 1984), mas seus dados de RMN 1H e RMN ^{13}C são relatados pela primeira vez. O sesquiterpeno 7-hidroxicadalenal **(140)** apresentou atividade antifúngica contra *Chondrostereum purpureum* (Pers.) Pouzar (1959) e *Coriolus versicolor* (L.) Quél. (1886) (BURDEN *et al.*, 1984).



(140)

Tabela 16. Dados espectroscópicos de **(140)** comparados com os do ácido cadalen-15-óico **(141)** e do 5-metil-8-isopropopil-2-naftalenocarboxaldeído **(142)** descritos na literatura (FANG *et al.*, 1987; DELGADO *et al.*, 2001- CDCl₃), CDCl₃ como solvente, deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



	(141)	(142)	(140)			
	δ_C (125 MHz)	δ_H (400 MHz)	HSQC (1J)		HMBC	
			δ_C (125 MHz)	δ_H (400 MHz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C						
2	125,72	-	121,62	-	-	H-4, OH-3
3	-	-	155,27	-	OH-3	H-1, H-11
5	132,16	-	131,09	-	3H-15	H-4
8	144,78	-	144,58	-	H-12	3H-13, 3H-14, H-6, H-1
9	130,68	-	125,59	-	-	H-7, H-4
10	135,72	-	138,42	-	-	3H-15, H-6, H-1
CH						
1	128,01	8,66 (d, $J = 1,2$)	133,87	8,47 (s)	-	-
3	124,69	7,98 (dd, $J = 8,8; 1,2$)	-	-	-	-
4	125,42	8,13 (d, $J = 8,8$)	109,74	7,47 (s)	-	OH-3
6	129,34	7,46 (d, $J = 7,2$)	130,83	7,41 (d, $J = 7,1$)	H-7	3H-15
7	122,44	7,42 (d, $J = 7,2$)	120,04	7,23 (d, $J = 7,3$)	-	H-12
11	172,03	10,20 (s)	196,99	10,16 (s)	-	H-1
12	28,42	3,84 (septet, $J = 6,8$)	28,60	3,75 (m)	3H-13, 3H-14	H-7
CH₃						
Me-13	23,78	1,43 (d, $J = 6,8$)	23,72	1,43 (d, $J = 6,8$)	-	3H-14, H-12
Me-14	23,78	1,43 (d, $J = 6,8$)	23,72	1,43 (d, $J = 6,8$)	-	3H-13, H-12
Me-15	19,40	2,70 (s)	19,58	2,61 (s)	-	H-6
OH						
OH-3	-	-	-	10,38 (s)	-	-

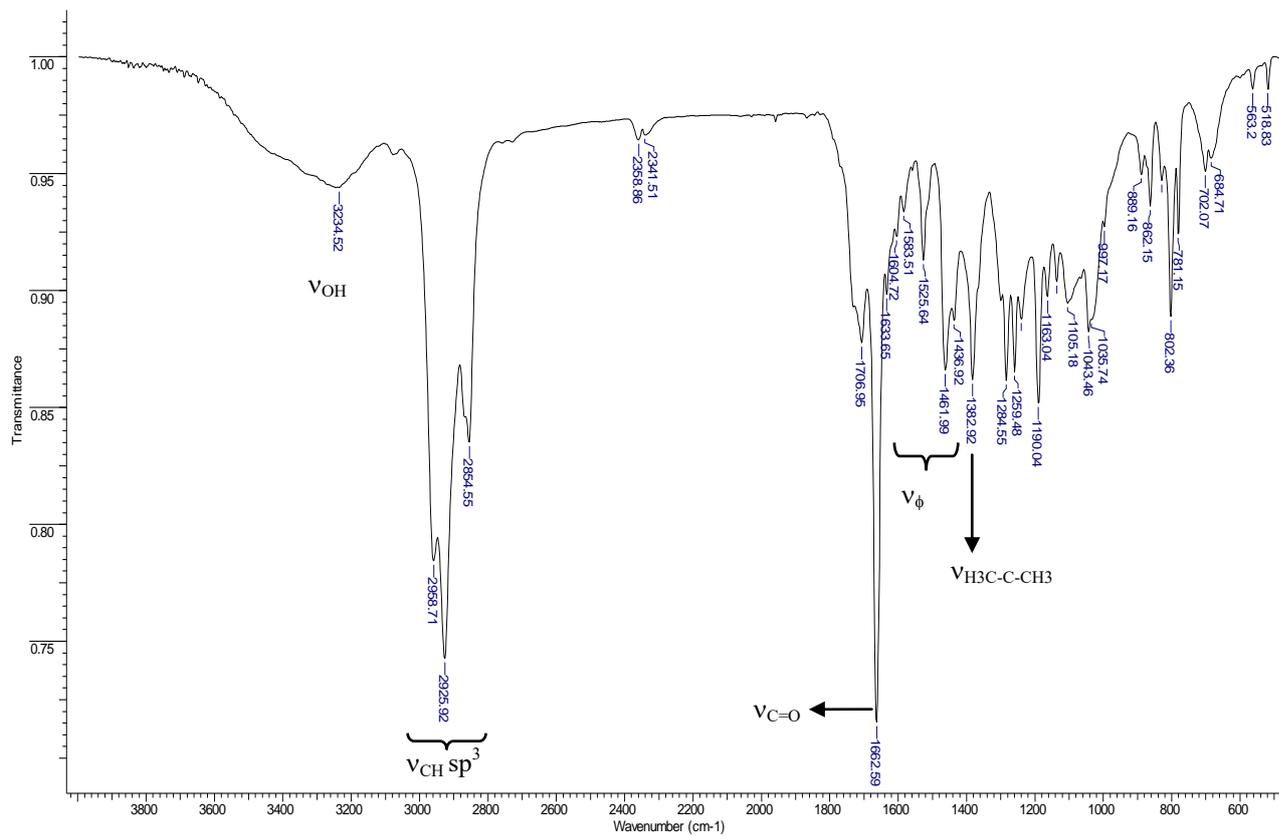


Figura 83. Espectro no infravermelho da substância (140).

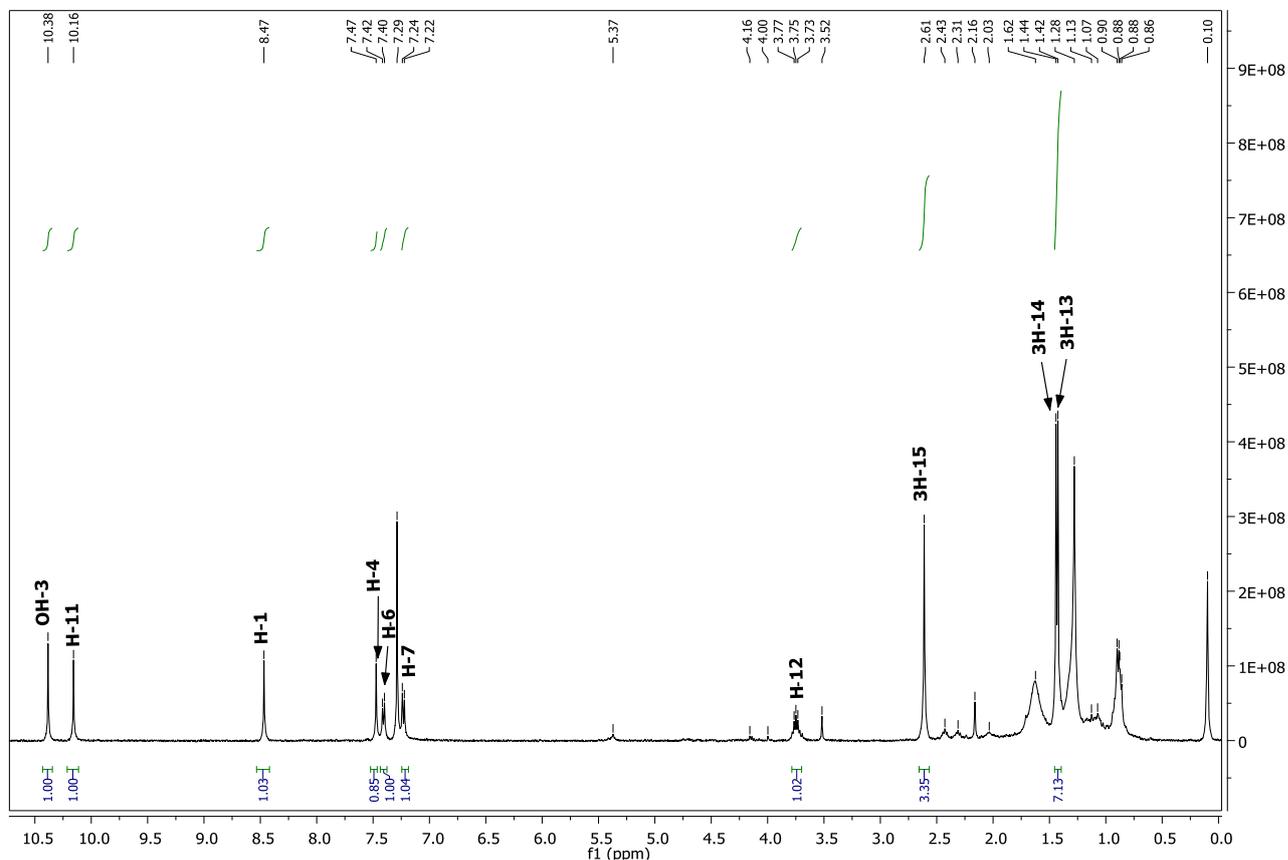


Figura 84. Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) da substância (140).

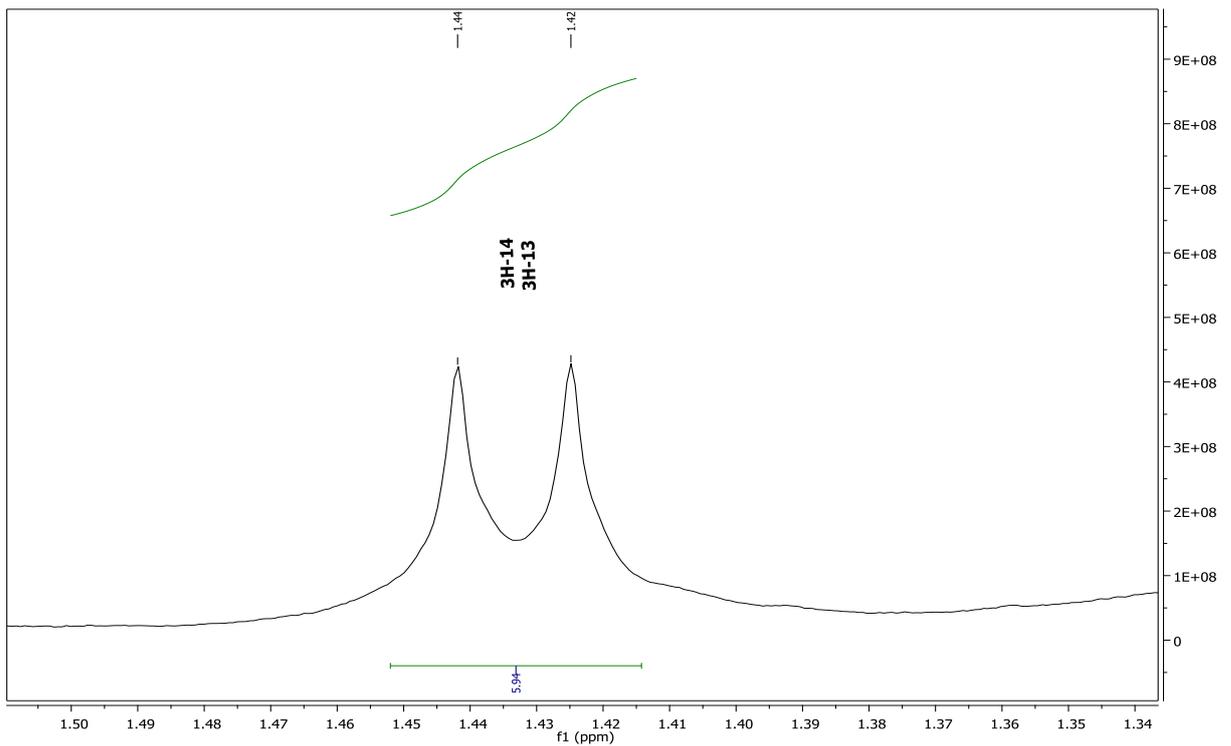


Figura 85. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância (**140**) na região entre δ_{H} 1,34-1,51 ppm.

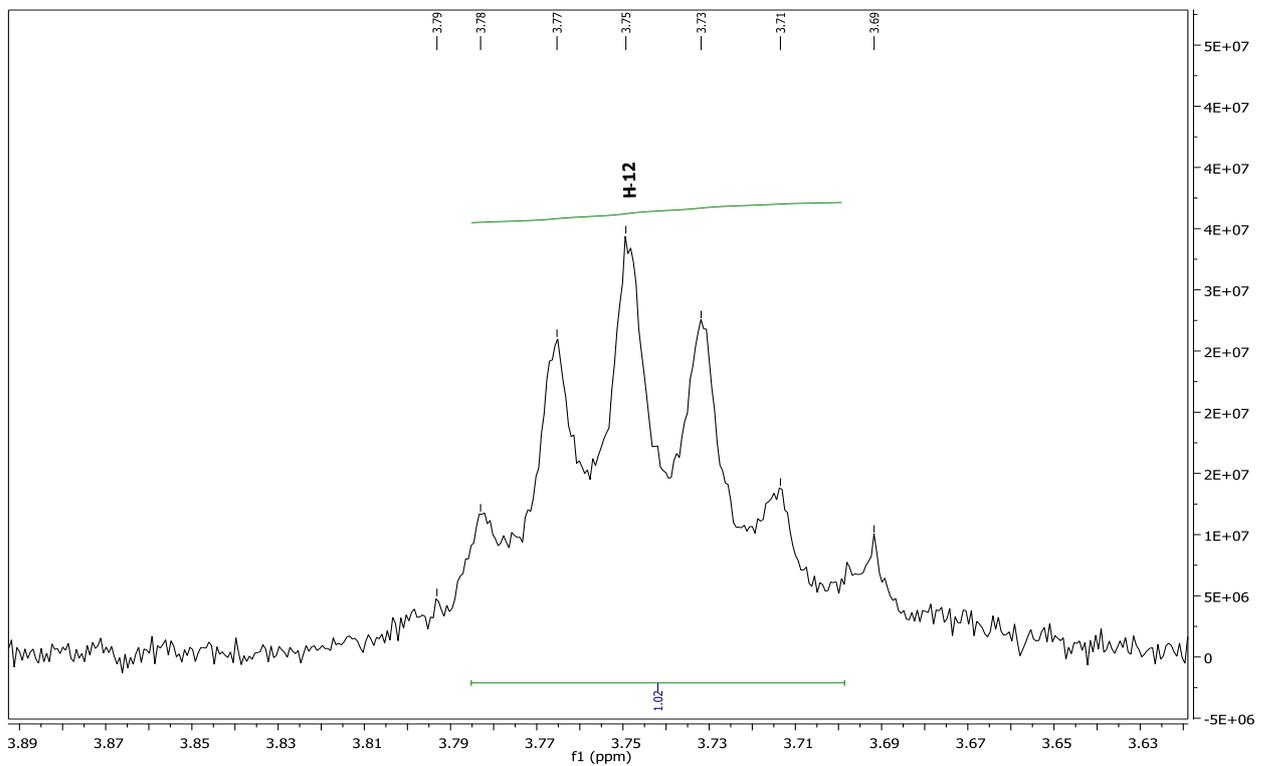


Figura 86. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância (**140**) na região entre δ_{H} 3,62-3,89 ppm.

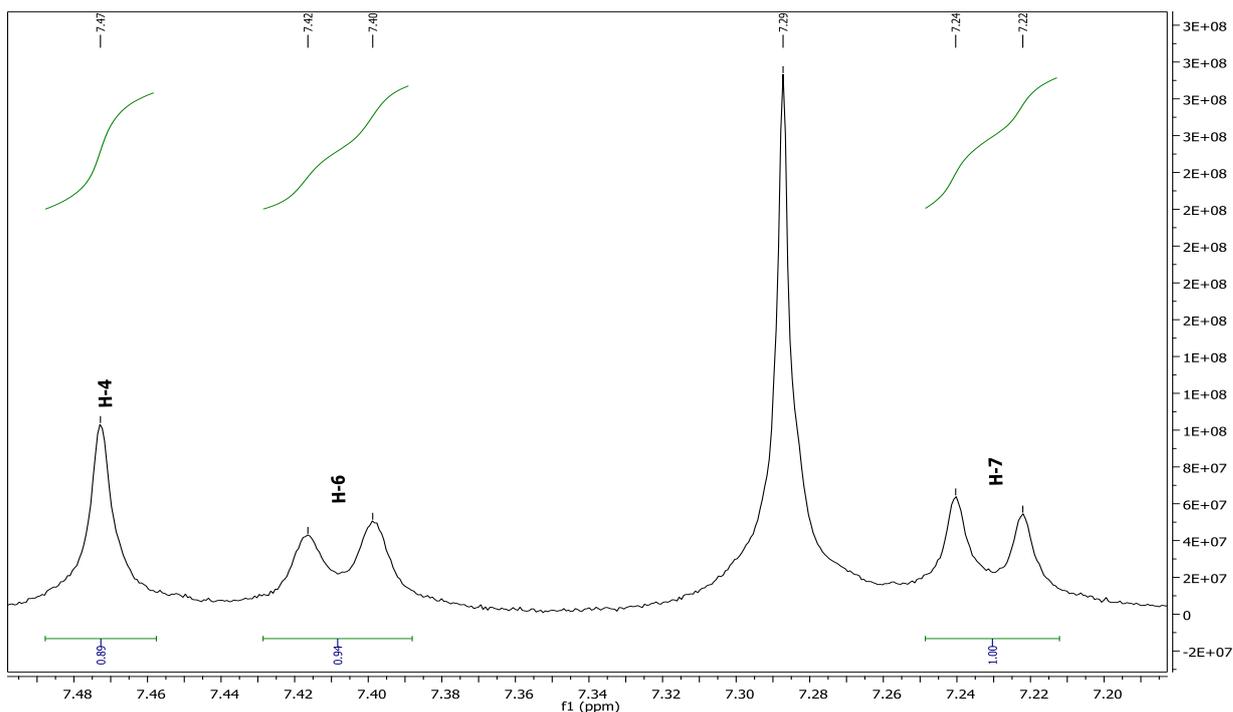


Figura 87. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância (140) na região entre δ_{H} 7,18-7,50 ppm.

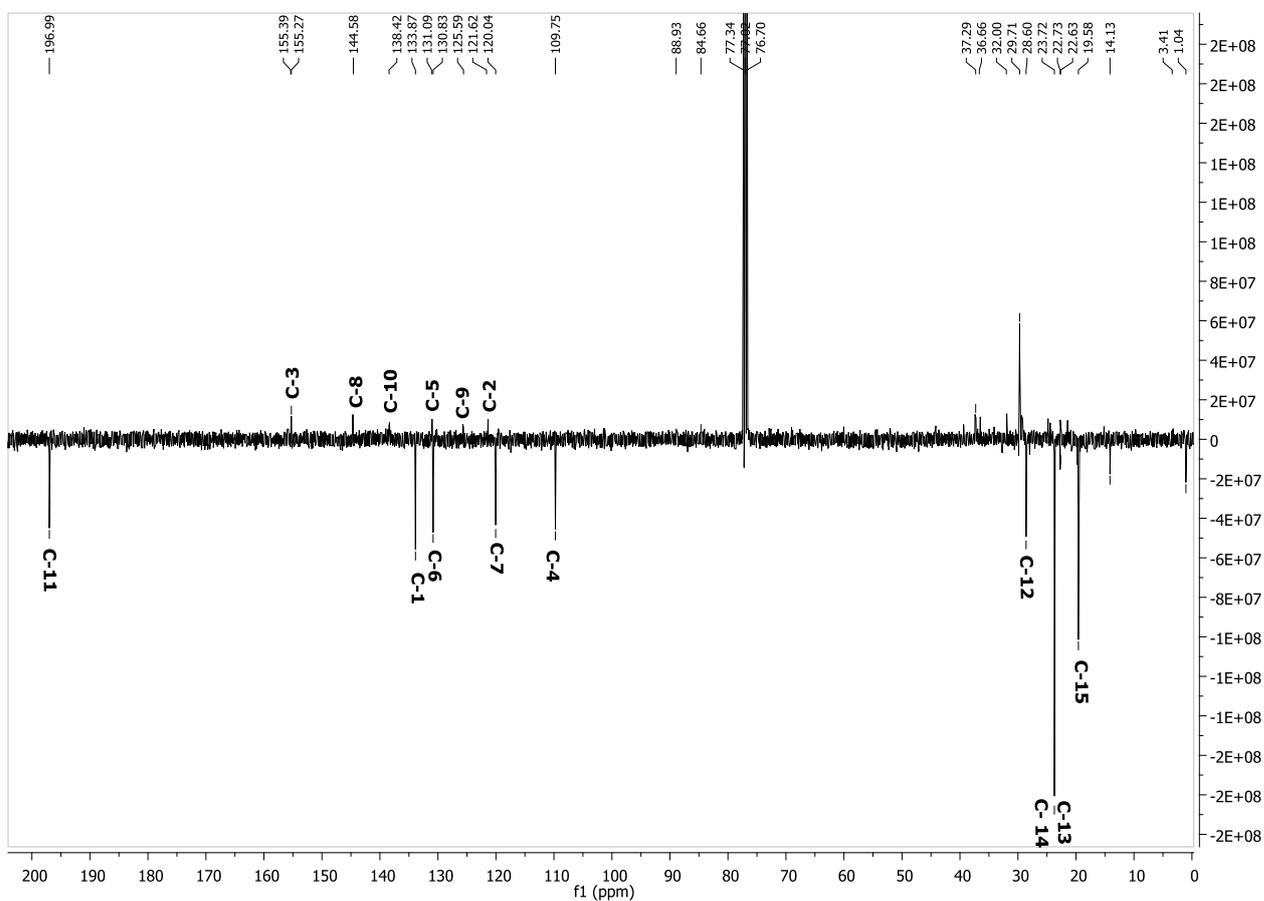
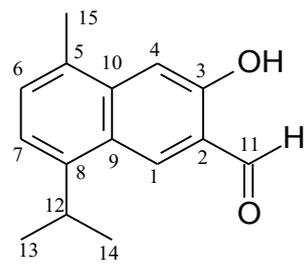


Figura 88. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância (140).



(140)

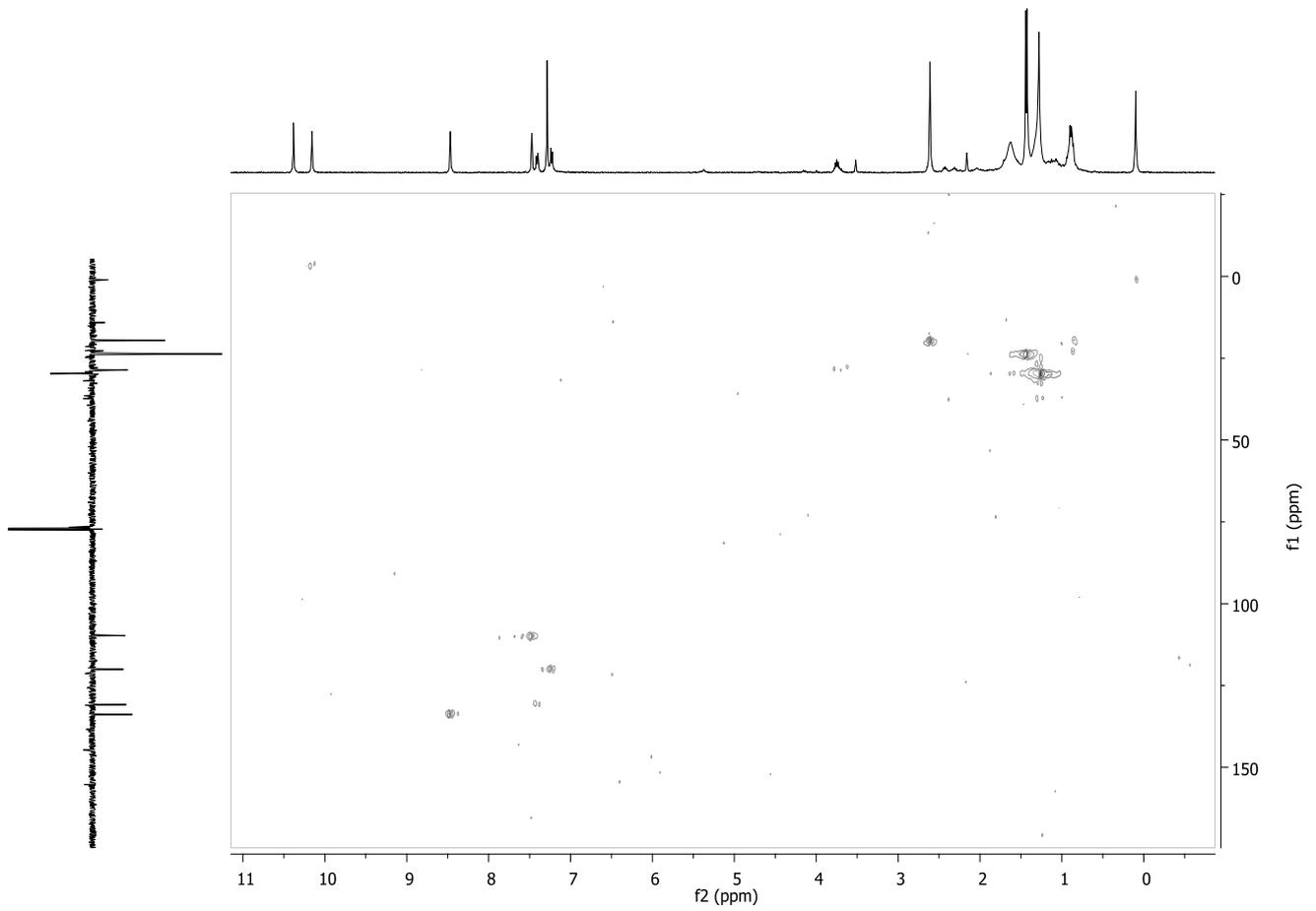
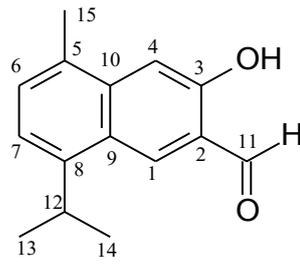


Figura 89. Espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140).



(140)

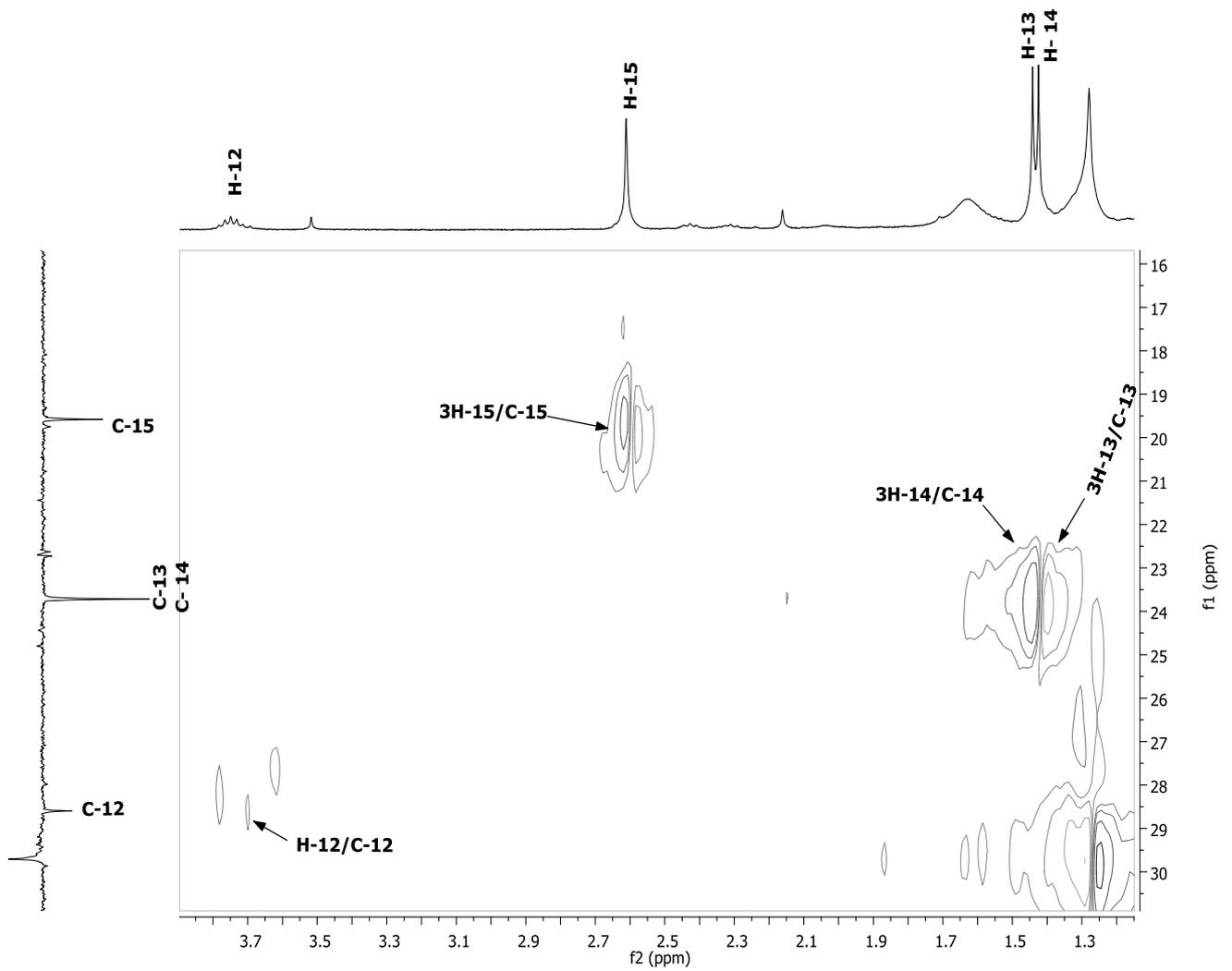
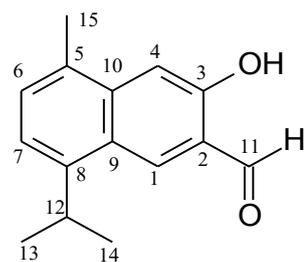


Figura 90. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140) na região entre δ_{C} 16,0-31,0 ppm e δ_{H} 1,2-3,9 ppm.



(140)

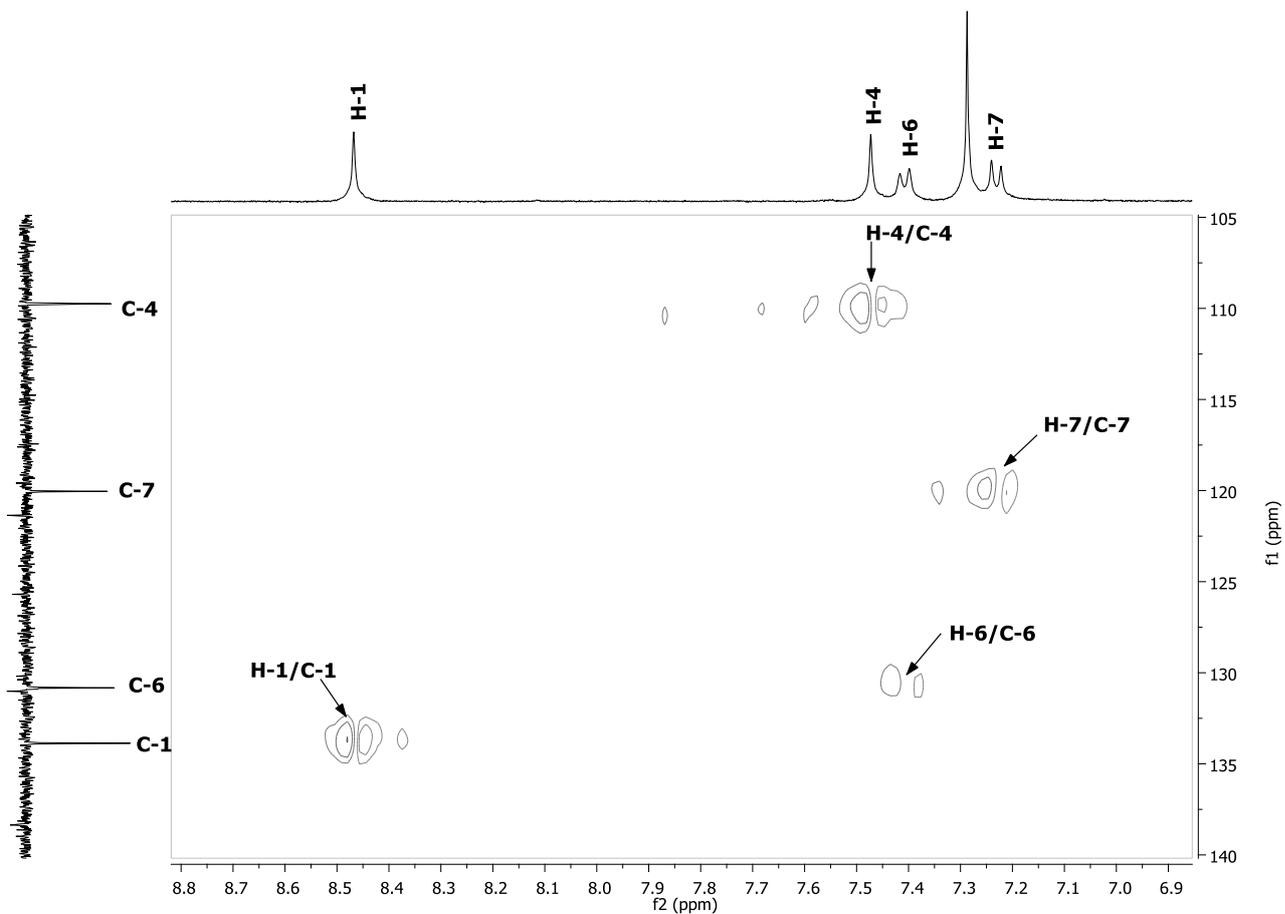
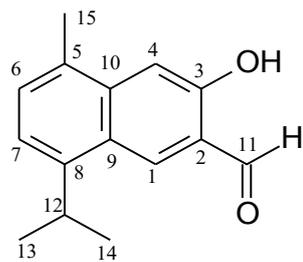


Figura 91. Expansão do espectro de RMN-2D HSQC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140) na região entre δ_{C} 105,0-140,0 ppm e δ_{H} 6,9-8,8 ppm.



(140)

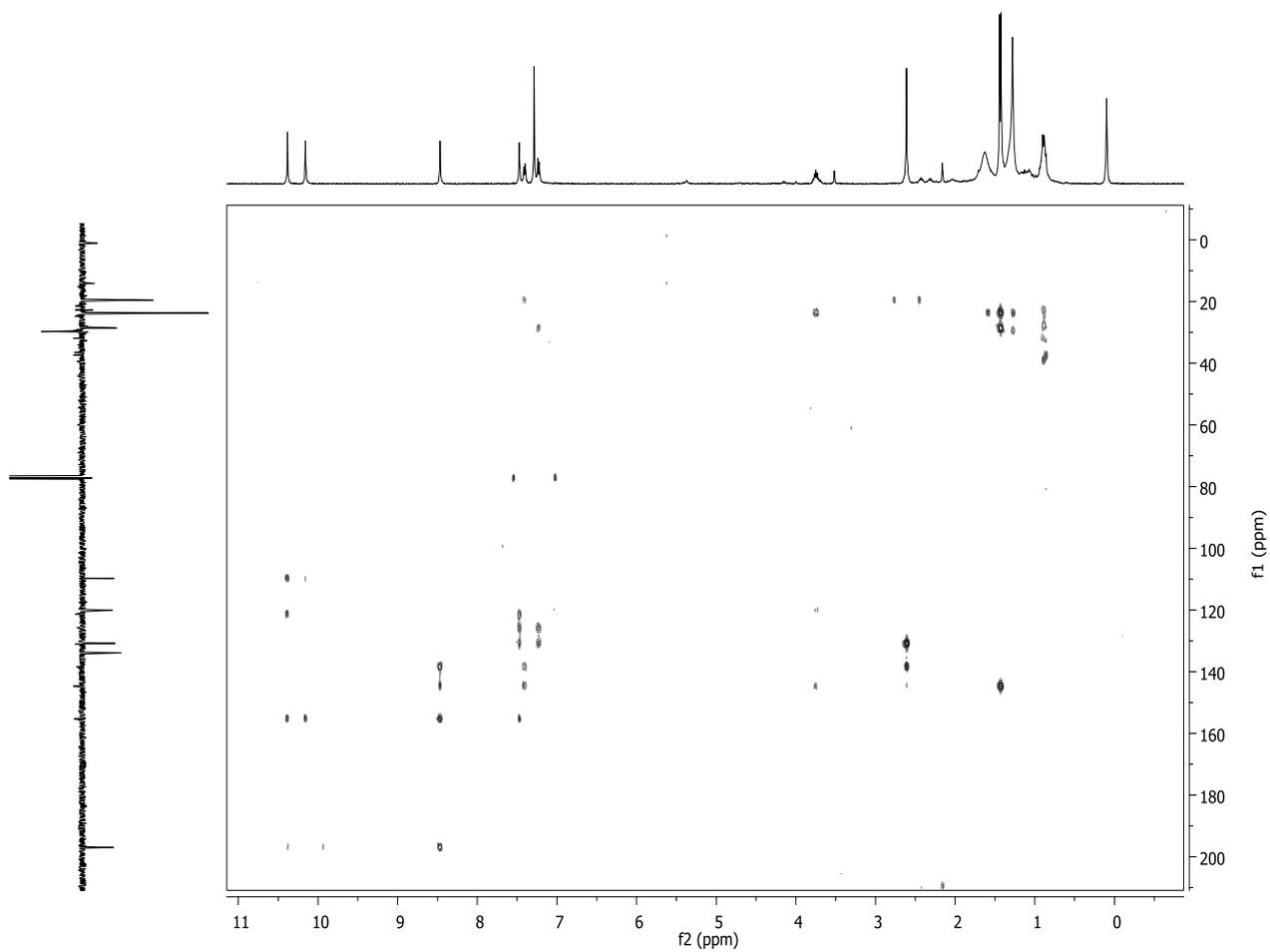
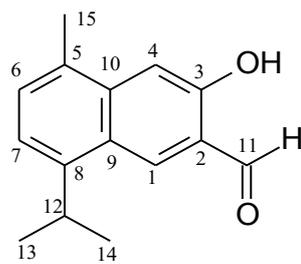


Figura 92. Espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140).



(140)

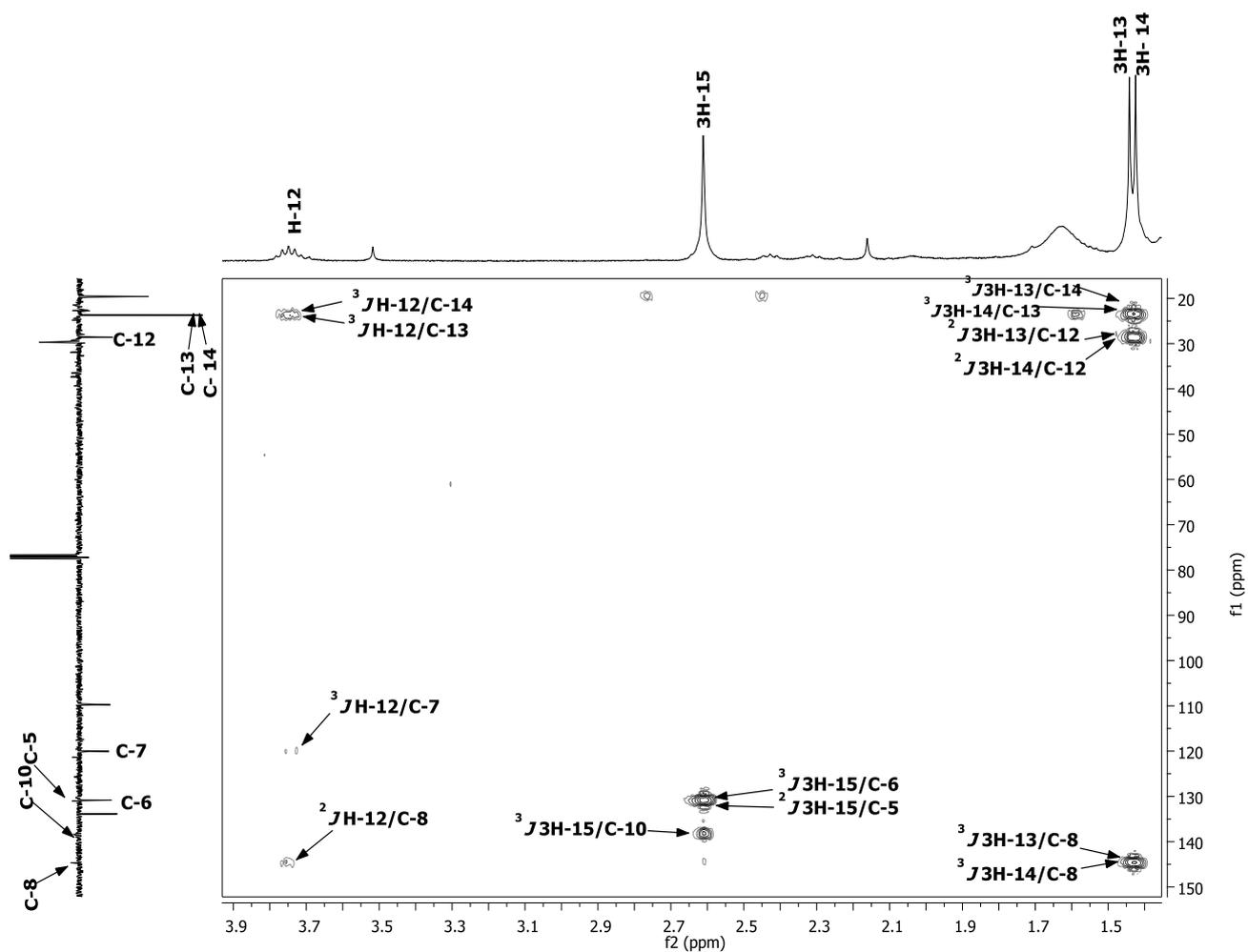
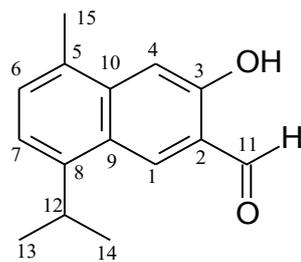


Figura 93. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140) na região entre δ_{C} 15,0-150,0 ppm e δ_{H} 1,4-3,9 ppm.



(140)

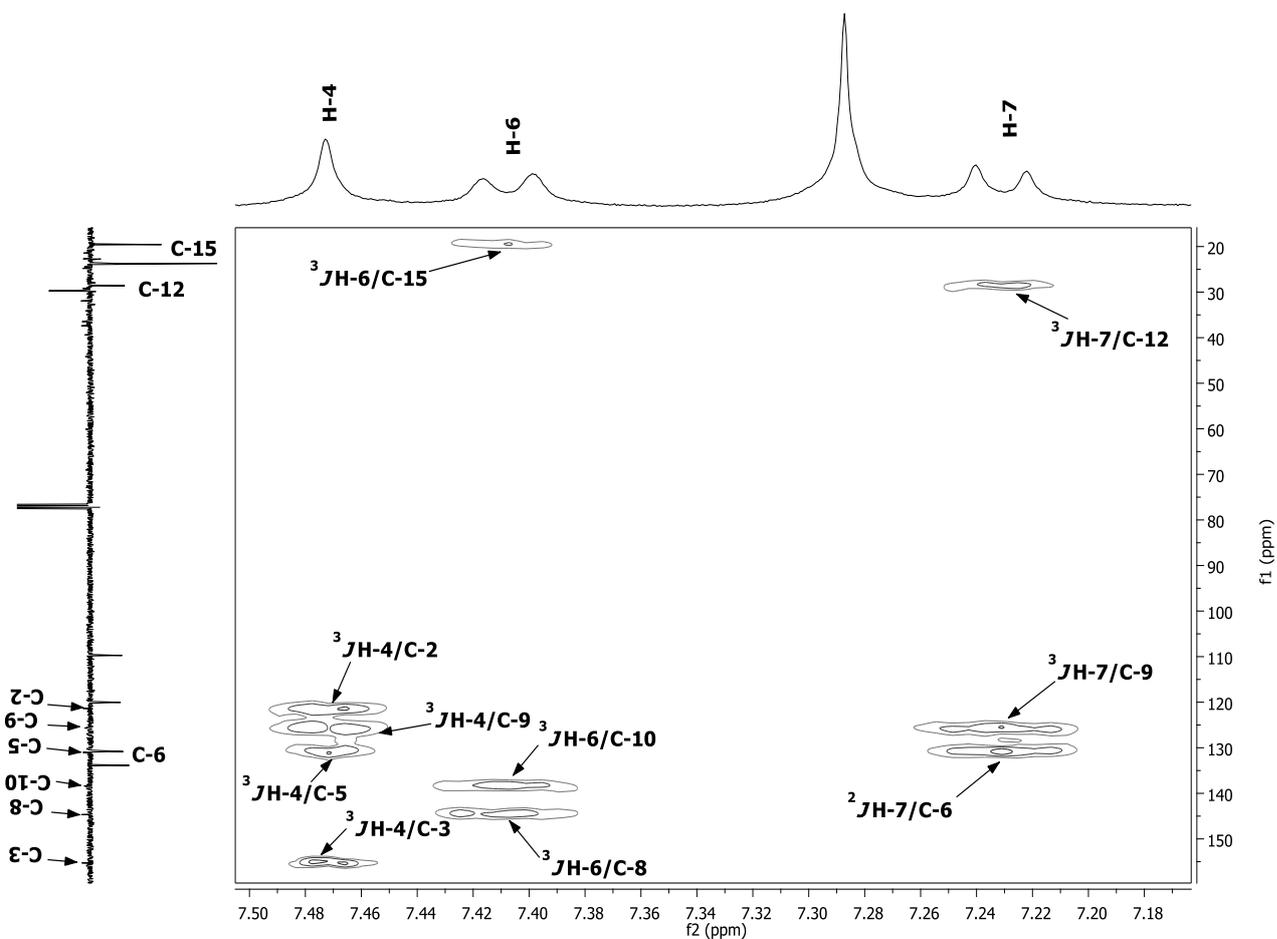


Figura 94. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140) na região entre δ_{C} 15,0-160,0 ppm e δ_{H} 7,16-7,51 ppm.

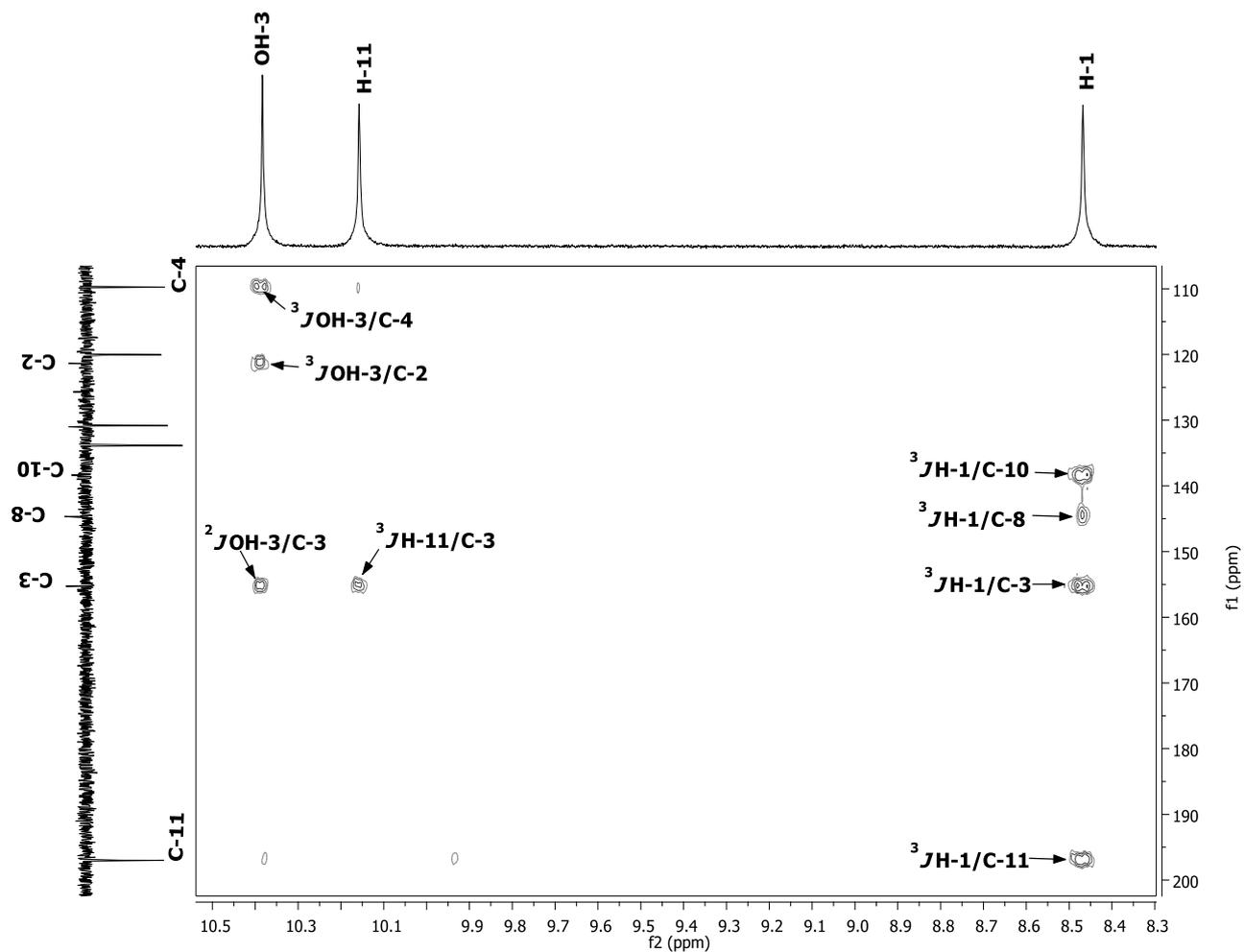
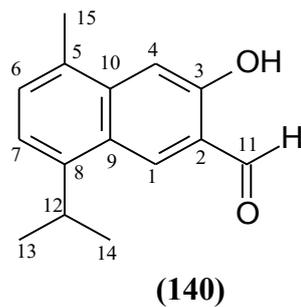


Figura 95. Expansão do espectro de RMN-2D HMBC (500/125 MHz, CDCl_3) da substância (140) na região entre δ_{C} 100,0-200,0 ppm e δ_{H} 8,3-10,5 ppm.

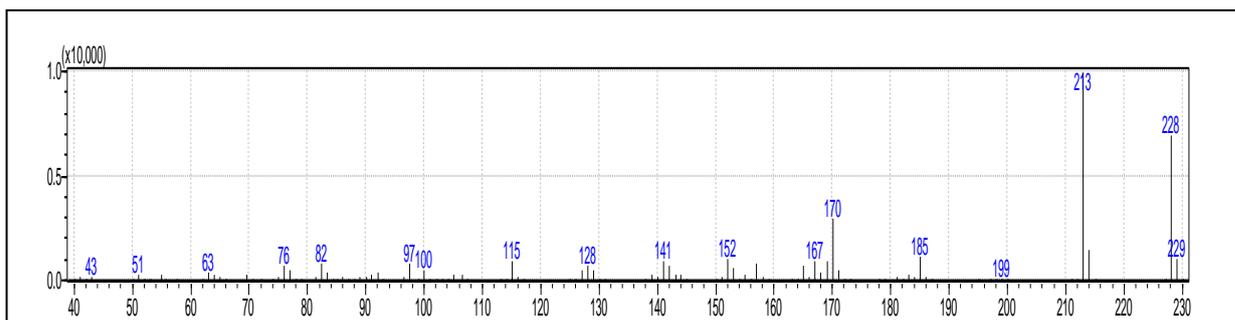


Figura 96. Espectro de massas 70 eV da substância (140).

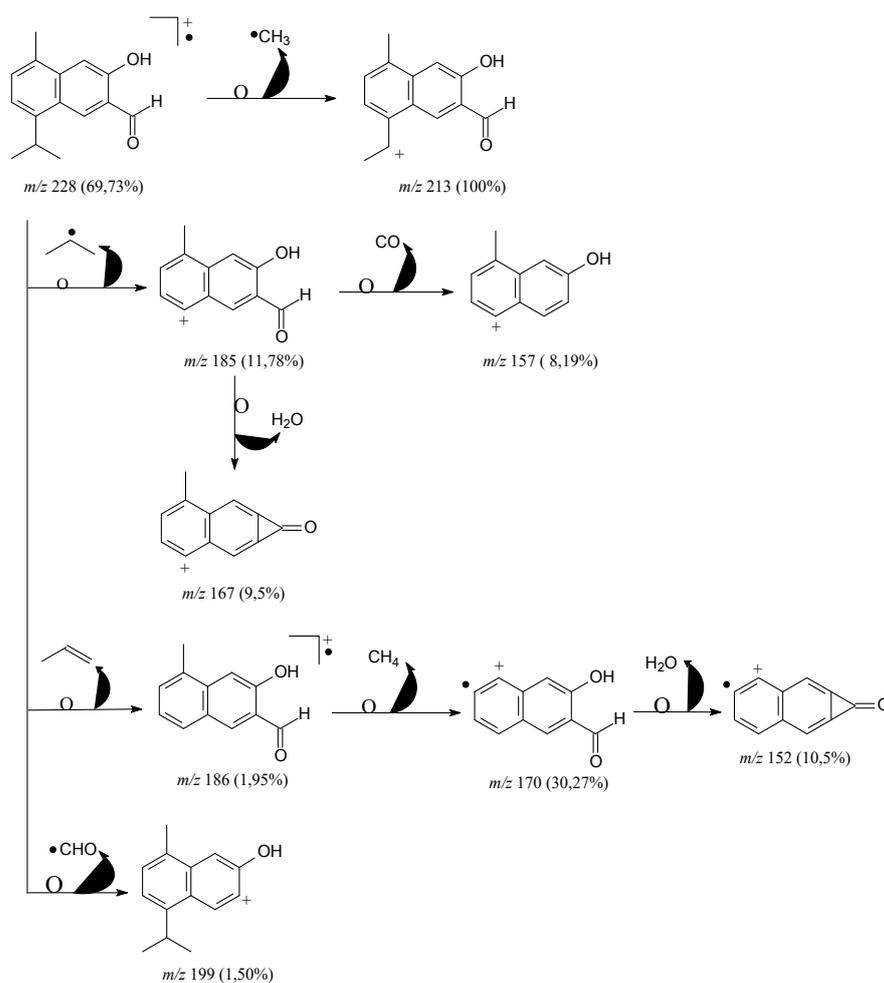


Figura 97. Propostas de fragmentação da substância (140).

5.1.13. Determinação estrutural do derivado (143)

A incorporação de iodo em flavonóides tem sido utilizada para obter precursores sintéticos de biflavonóides através reação radicalar (ALI & ILYAS, 1986; SILVA *et al.*, 2009). Considerando essa informação, escolheu-se a substância (126) para obtenção de derivado iodado por ser o flavonoide mais abundante em *Myrcia ovata* (Fluxogramas 3 e 4, págs. 27 e 28, respectivamente) e pelo fato de ser um excelente substrato para a funcionalização da posição 8 livre do seu anel A.

A reação do flavonóide 6-metillectocrisina (**126**) na presença de I₂/KOH em metanol forneceu 53,5 mg do derivado (**143**) (Figura 98) sendo obtido como cristais amarelos em forma de agulhas, solúvel em clorofórmio, apresentando faixa de fusão de 209 – 212 °C.

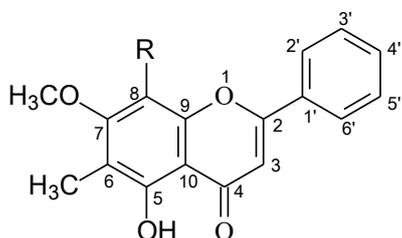
O espectro de absorção na região do IV de (**143**) (Figura 99) revelou banda de absorção em 3458 cm⁻¹ associada à presença de hidroxila (ν_{OH}), bandas em 3065 e 3009 cm⁻¹ referentes a C-H de sistema aromático (ν_{CHsp²}), bandas em torno de 2966-2795 cm⁻¹ relacionadas a C-H saturado (ν_{CHsp³}), banda em 1641 cm⁻¹ referente a carbonila conjugada (ν_{C=O}), banda em 1350 cm⁻¹ atribuída a hidroxila fenólica (δ_{OH}), além de bandas em torno de 1492-1425 cm⁻¹ indicativas da presença de anel aromático (ν_φ).

O espectro de RMN ¹H (Figura 100) apresenta sinais de substituição para o padrão de flavona. Verificou-se a ausência de singleto em δ_H 6,54 referente à H-8 presente em (**126**) (Tabela 17), sugerindo que houve incorporação de iodo com substituição nucleofílica de H-8. A presença de quatro substituintes no anel-A, além do iodo, a hidroxila quelada (δ_H 13,08), a metila (δ_H 2,30) e a metoxila (δ_H 3,90). O hidrogênio metínico H-3 (δ 6,81), característico de flavona (FOSSEN & ANDERSEN, 2006). Os demais sinais detectados no espectro de hidrogênio (Figura 100) e carbono-13 (Figura 101) juntamente com os valores detectados no espectro de massas (Figura 102) e os fragmentos obtidos a partir deste (Figura 103), confirmaram a formação do produto da reação. A Tabela 17 mostra a atribuição dos dados de RMN ¹H e ¹³C do produto.

Além dos sinais no espectro de RMN ¹³C-DEPTQ (Figura 101) esperados para o produto (**143**) observaram-se algumas modificações. A ausência de sinal em δ_{CH} 89,4, referente ao carbono metínico C-8 presente na fórmula estrutural de (**126**) (Tabela 17), e o aparecimento de sinal em δ_C 67,78 evidencia em (**143**) a existência de carbono quaternário (C-8) ligado a átomo de iodo, esta proteção acontece devido a densidade eletrônica do iodo sobre esse carbono diminuindo o valor do deslocamento químico.

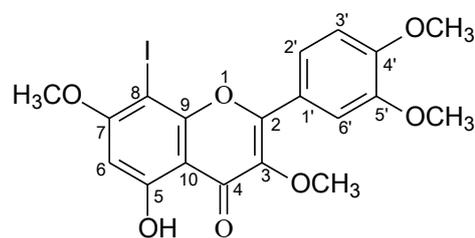
A análise dos dados espectrométricos da substância (**143**) e a comparação destes dados com os da 6-metillectocrisina (**126**) e de 8-iodo-5-hidroxi-3,7,3',4'-tetrametoxi-flavona (**144**) (CARVALHO *et al.*, 2009) permitiram confirmar a fórmula estrutural proposta para 8-iodo-6-metillectocrisina (Tabela 17) registrados pela primeira vez na literatura. A identificação pôde ser confirmada, inclusive, pelo pico observado no espectro de massas em *m/z* 408 (100%) (Figura 102), compatível com fórmula molecular da referida flavona (C₁₇H₁₃O₄I).

Tabela 17. Dados espectroscópicos de **(143)** comparados com os da 6-metilteocrisina **(126)** e de 8-iodo-5-hidroxi-3,7,3',4'-tetrametoxi-flavona **(144)** (CARVALHO *et al.*, 2009), CDCl₃ como solvente, deslocamento químico em δ (ppm) e constante de acoplamento (J) em Hz.



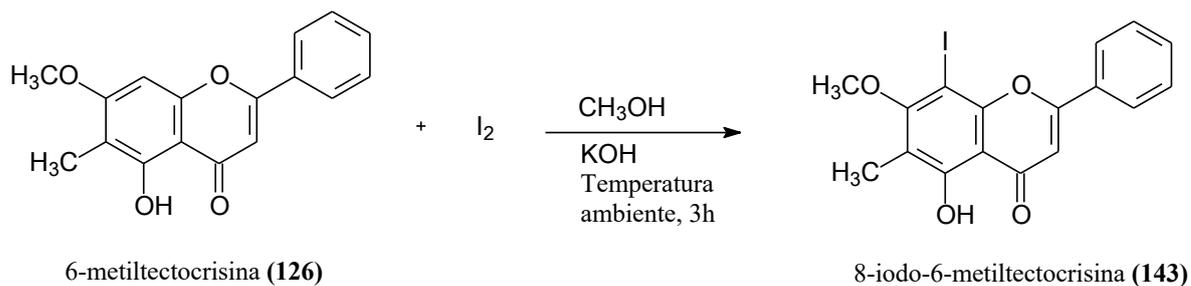
(126): R = H

(143): R = I

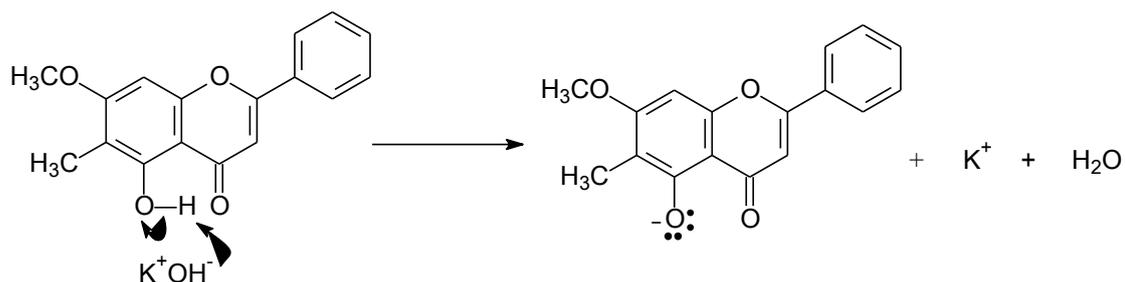


(144)

	(143)		(126)		(144)	
	δ_C - DEPT-Q (100 MHz)	δ_H (400 MHz)	δ_C - DEPT-Q (125 MHz)	δ_H (500 MHz)	δ_C - DEPT-Q (75 MHz)	δ_H (300 MHz)
C						
2	164,54	-	163,54	-	156,15	-
3	-	-	-	-	139,01	-
4	182,91	-	182,42	-	178,64	-
5	160,55	-	158,41	-	163,34	-
6	116,06	-	109,18	-	-	-
7	164,06	-	163,52	-	163,99	-
8	67,78	-	-	-	60,98	-
9	154,04	-	156,00	-	156,15	-
10	108,51	-	105,44	-	106,56	-
1''	130,84	-	131,41	-	122,97	-
3''	-	-	-	-	149,08	-
4''	-	-	-	-	151,79	-
CH						
3	105,42	6,81 (s)	105,92	6,71 (s)	-	-
6	-	-	-	-	95,45	6,42 (s)
8	-	-	89,41	6,54 (s)	-	-
2''	126,77	8,09 (m)	126,21	7,92 (m)	111,61	7,28 (d; 1,8)
3''	129,34	7,60 (m)	129,05	7,56 (m)	-	-
4''	132,36	7,60 (m)	131,70	7,56 (m)	-	-
5''	129,34	7,60 (m)	129,05	7,56 (m)	111,17	7,03 (d; $J = 8,7$)
6''	126,77	8,09 (m)	126,21	7,92 (m)	123,21	8,06 (dd; $J = 1,8; 8,7$)
CH₃						
Me-6	9,24	2,30 (s)	7,31	2,14 (s)	-	-
MeO-3	-	-	-	-	60,23	3,91 (s)
MeO-7	61,04	3,90 (s)	55,93	3,96 (s)	57,18	3,98 (s)
MeO-3''	-	-	-	-	56,34	4,01 (s)
MeO-4''	-	-	-	-	56,20	3,99 (s)
HO-5	-	13,08 (s)	-	12,81 (s)	-	12,92 (s)



ETAPA 1 - Formação do substituinte fenoxi - Forte orientador *orto-para*.



ETAPA 2 - Substituição aromática eletrofílica (Halogenação).

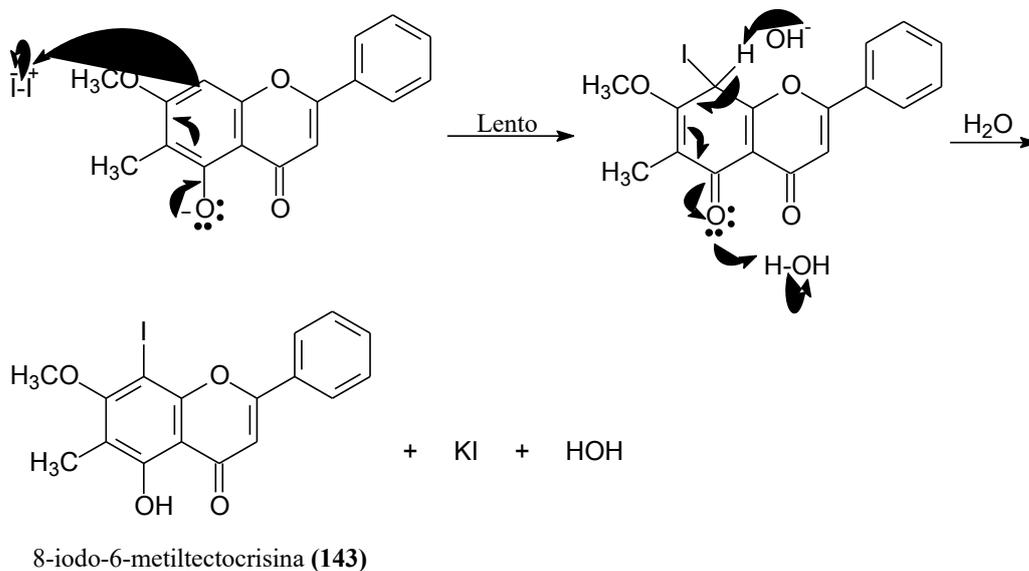


Figura 98. Mecanismo proposto para a formação do derivado (**143**).

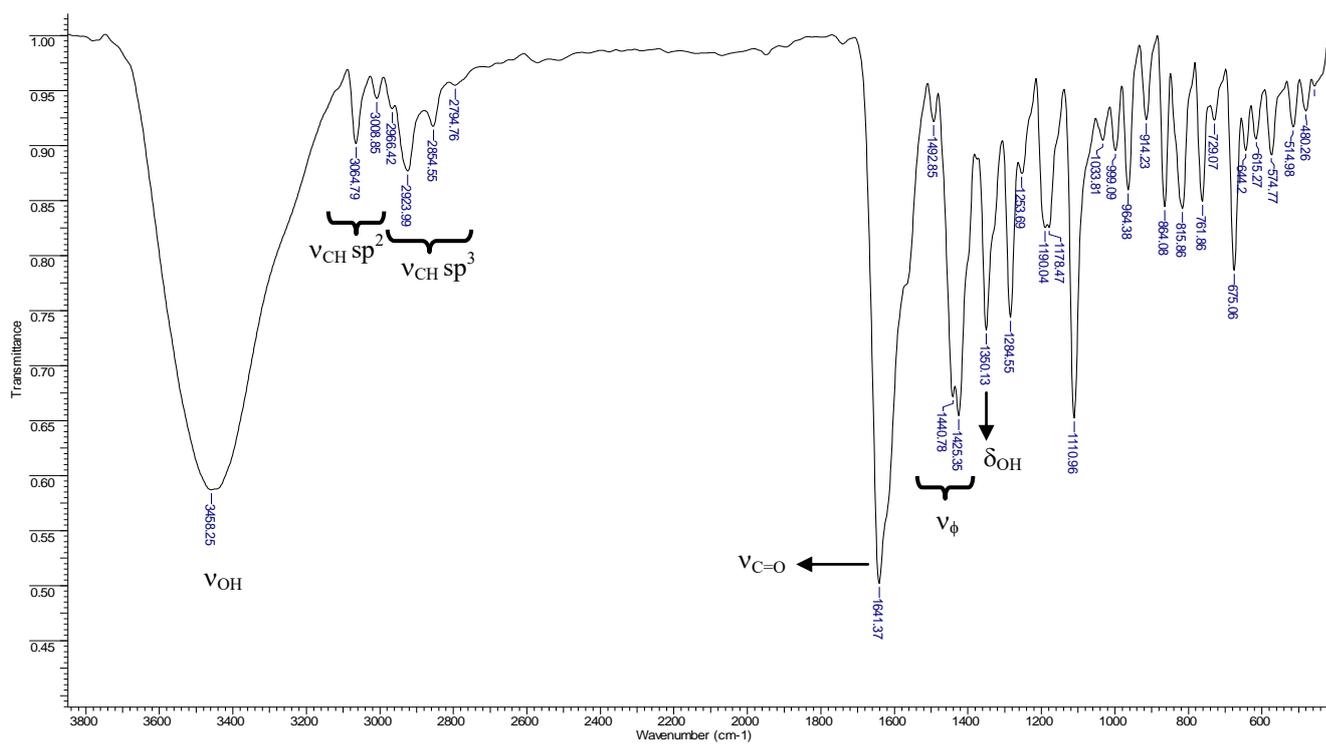


Figura 99. Espectro no infravermelho da substância (143).

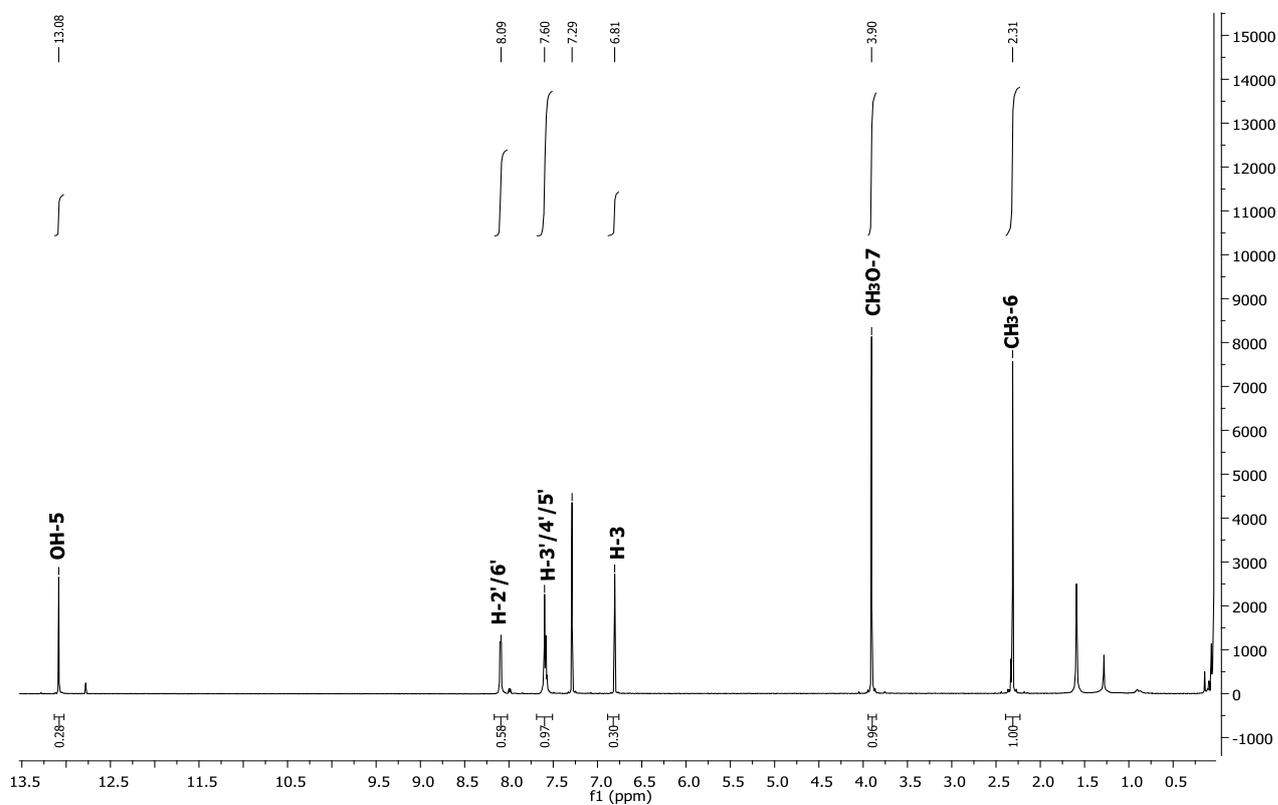


Figura 100. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância (143).

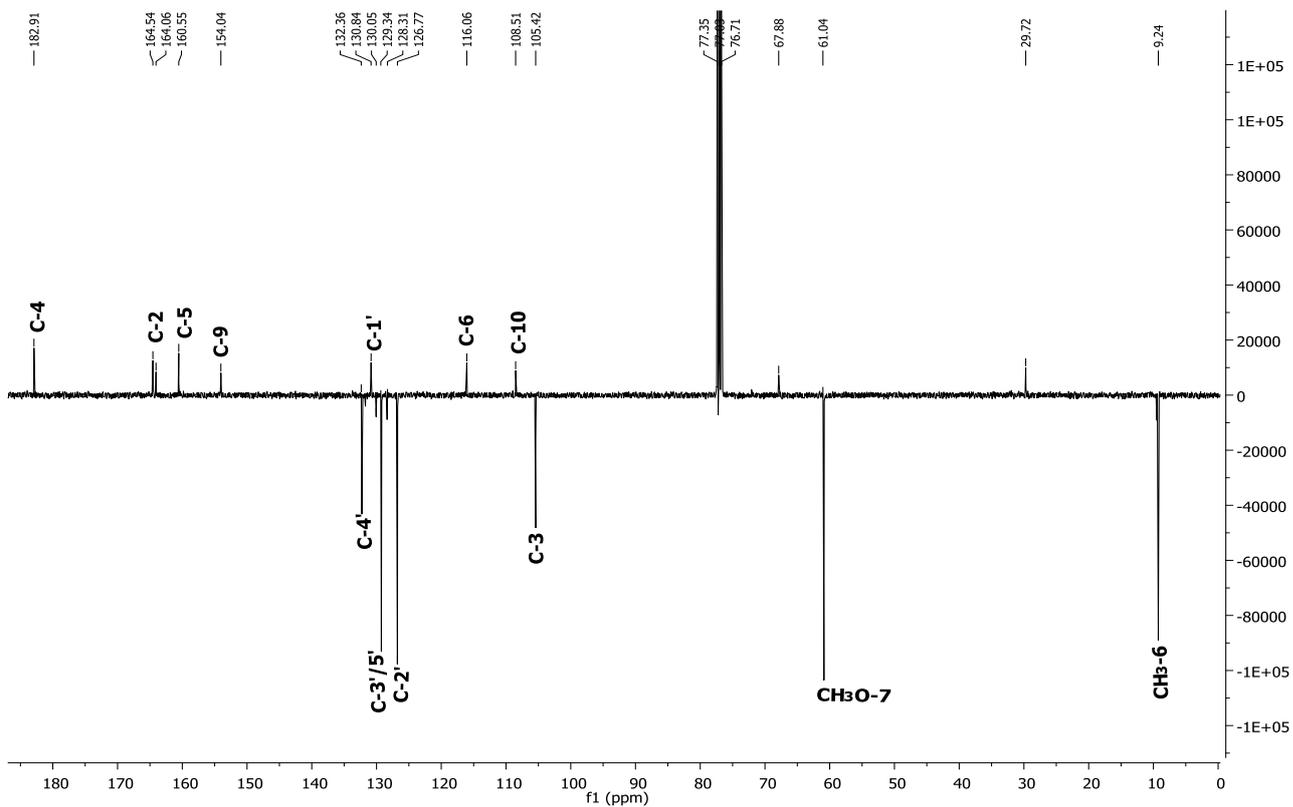


Figura 101. Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) da substância (143).

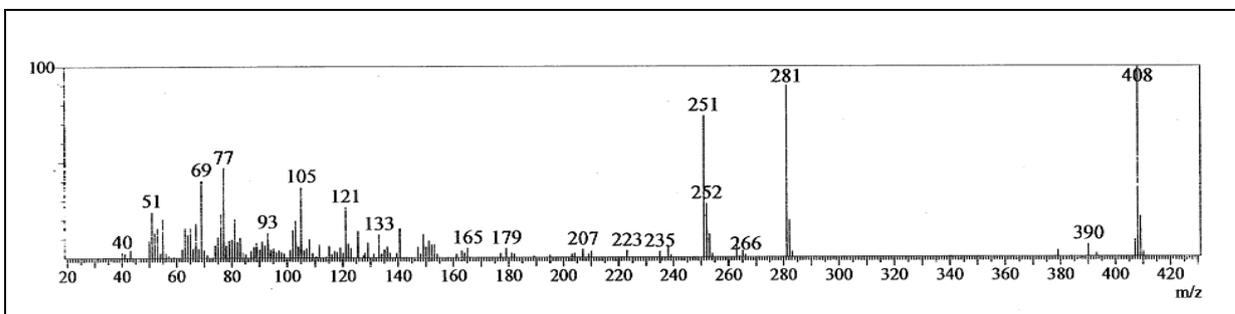


Figura 102. Espectro de massas 70 eV da substância (143).

O precursor dos sesquiterpenos é o farnesil-pirofosfato que é formado pela condensação cabeça-cauda de uma molécula de geranyl-pirofosfato com uma molécula de isopentenil-pirofosfato. Repetidas isomerizações a partir do cátion *E,E*-farnesila, obtido da ionização do farnesil-pirofosfato, fornece o cátion *E,Z*-farnesila que dependendo do tipo de ciclização pode originar vários cátions, entre eles o *cis*-germacrila. Esse cátion, após etapas de ciclização adicional, migrações-1,3 e 1,2 de hidrogênios, desidrogenações e oxidações, pode formar o 7-hidroxicadalenal (**140**) (NABETA *et al.*, 1994; DEGENHARDT *et al.*, 2009; DEWICK, 2009) (Figura 104).

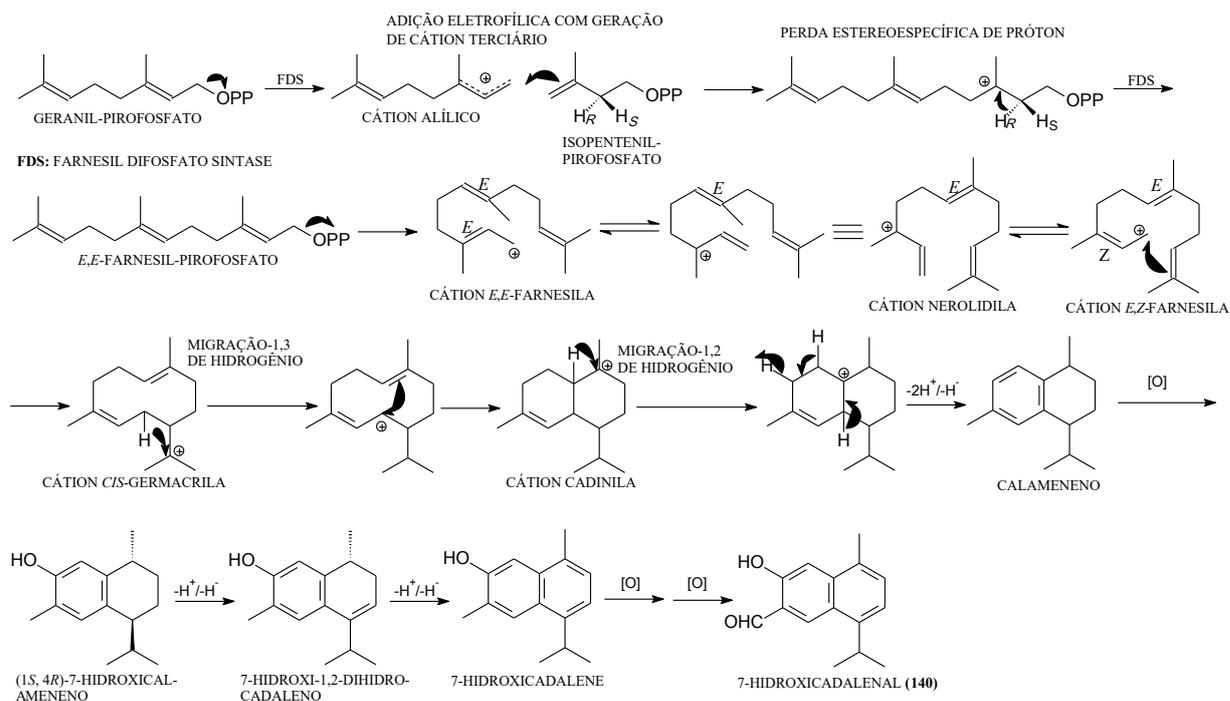


Figura 104. Proposta de rota biossintética para o sesquiterpeno 7-hidroxicadalenal (**140**) (NABETA *et al.*, 1994; DEGENHARDT *et al.*, 2009; DEWICK, 2009).

5.2.2. Triterpenos freidolina (**129**), lupeol (**130**), α - (**131**) e β -amirina (**132**)

Os triterpenos constituem um amplo grupo de produtos naturais derivados do escaleno ou do óxido de escaleno. Estes terpenos não são formados pelo processo habitual de adição de uma unidade de isopentenil-pirofosfato a cadeia já existente, mas são formados a partir da ligação cauda-cauda entre duas moléculas de farnesil-pirofosfato (MALHEIROS & NIERO, 2009). A condensação entre essas moléculas fornece o escaleno. Como resultado da ciclização do óxido de esqualeno em sua forma cadeira-cadeira-cadeira-bote ocorre a formação do cátion dammarenil e, conseqüentemente, o cátion lupenil que pode ser estabilizado pela formação de um novo anel de cinco membros gerando compostos do tipo lupeol (**130**). O cátion lupenil também pode ser estabilizado pela formação do anel de 6 membros, gerando o cátion oleanil. A partir desse cátion podem ser formados os triterpenos friedolina (**129**), α - (**131**) e β -amirina (**132**) através de uma série de migrações de hidrogênios e/ou grupos metila (rearranjos Wagner-Meerwein) e desprotonações (DEWICK, 2009; WANG *et al.*, 2010) (Figura 105).

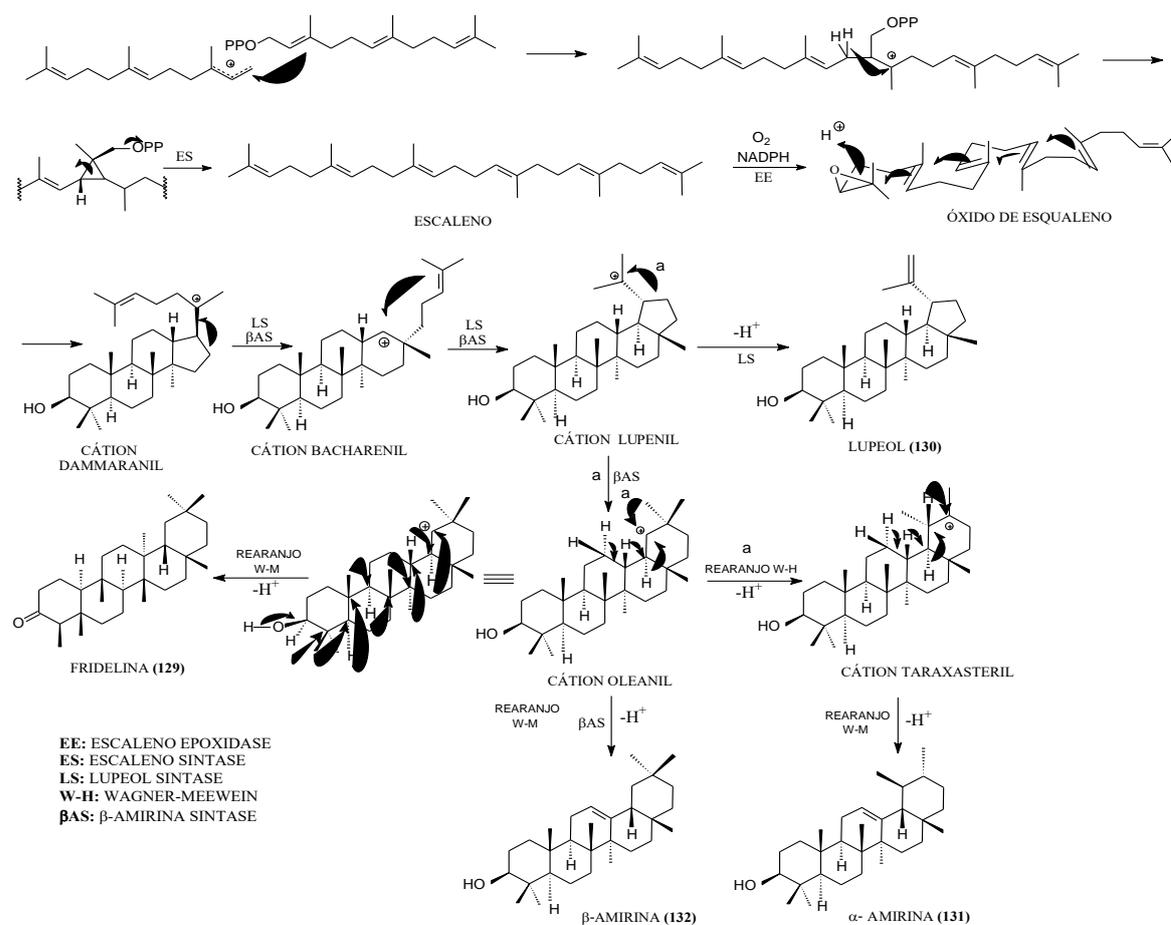


Figura 105. Proposta de rota biossintética para os triterpenos freidolina (129), lupeol (130), α-(131) e β-amirina (132) (Adaptado de DEWICK, 2009; WANG *et al.*, 2010).

5.2.3. Fitoesterol β-sitosterol (139)

Fitoesteróis (esteróis e estanóis vegetais) são compostos encontrados em todos os alimentos de origem vegetal. Suas fórmulas estruturais são semelhantes a do colesterol, esterol encontrado em grande quantidade nos animais. Existem mais de 200 diferentes fitoesteróis, e os mais altos teores dessas substâncias são encontrados em óleos vegetais, grãos de cereais, nozes, legumes e frutas. Um dos mais abundantes na dieta humana é o sitosterol (139). Os fitoesteróis são conhecidos para ter várias propriedades bioativas que podem ter um impacto sobre a saúde humana (TRAUTWEIN & DEMONTY, 2007).

O mecanismo exato de formação do fitoesterol β-sitosterol (139) varia de acordo com o organismo, mas é geralmente desenvolvida via cicloartenol. Os fitoesteróis são formados a partir da ligação cauda-cauda entre duas moléculas de farnesil-pirofosfato. A condensação entre essas moléculas fornece o escaleno que ao sofrer oxidação produz o óxido de esqualeno. Esse triterpeno oxigenado, em sua forma cadeira-cadeira-cadeira-bote, forma o cicloartenol, após etapas que envolvem ciclizações, migrações Wagner-Meerwein de hidrogênios e grupos metila, e formação de anel ciclopropano. O cicloartenol, por sua vez, depois de uma sequência de etapas de metilações, oxidações, desmetilações e isomerizações gera o β-sitosterol (139) (DEWICK, 2009) (Figura 106).

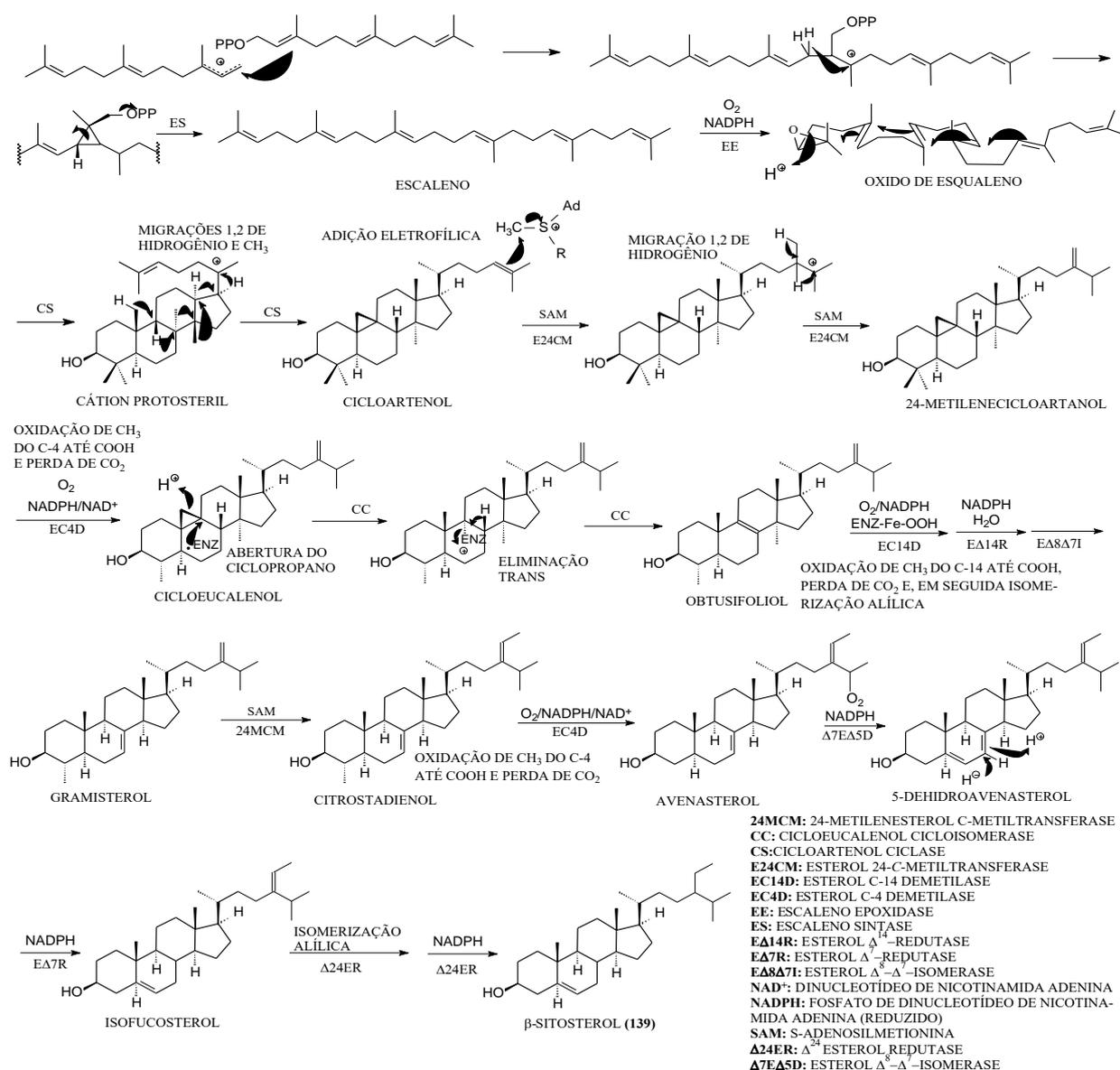


Figura 106. Proposta de rota biossintética para o fitoesterol β-sitosterol (139) (Adaptado de HE *et al.*, 2007; DEWICK, 2009).

5.2.4. Flavonoides 6-metiltectocrisina (126), tectocrisina (127), 8-metiltectocrisina (128), 2,5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona (133), 2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona (134), astilbina (135), quercetina (136) e engeletina (138)

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos naturais (ZUANAZZI & MONTANHA, 2010).

O esqueleto básico destes metabólitos especiais, dois anéis aromáticos conectados por uma ponte de três carbonos (C6-C3-C6), é formado a partir de rotas biossintéticas distintas: a do ácido chiquímico (fenilalanina) e a do acetato, via ácido malônico. A primeira participa para a formação dos flavonoides com o éster 4-hidroxicinamoil-CoA contribuindo com o anel B. Enquanto a segunda via metabólica participa com a condensação de Claysen de três unidades de malonil-CoA seguidas de descarboxilações fornecendo o anel A. A junção das

duas unidades se dá pela substituição nucleofílica à carbonila no 4-hidroxicinamoil-CoA através do enolato do anel A (DEWICK, 2009; SANTOS, 2010).

A extensão de cadeia de 4-hidroxicinamoil-CoA com três moléculas de malonil-CoA proporciona inicialmente um policetídeo que sofre reações de ciclização e aromatização resultando na formação do anel A e gerando as chalconas, primeira sub-classe de flavonoides (DAVIES & SCHWINN, 2006). As chalconas atuam como precursoras para uma vasta extensão de derivados de flavonoides encontrados por todo reino vegetal. A adição de Michael 1,4 ao carbono do sistema carbonílico α,β insaturado das chalconas produz as flavanonas com formação do anel C. A partir do esqueleto básico de flavononas podem ser formados uma variedade de flavonoides (Ex.: flavonas, flavonol, falvononol, antocianidinas etc). Modificações no padrão de hidroxilação nos dois anéis aromáticos podem acontecer. Geralmente ocorrem nas flavonas ou diidroflavononol. Podem ocorrer também metilação, dimetilalilação e glicolisação aumentando assim a variedade estrutural destes compostos (VELÍŠEK *et al.*, 2008; DEWICK, 2009) (Figura 107).

Em alguns casos, a formação do anel B é realizada com a participação da cinamoil-CoA resultando na síntese de flavonoides com grupo fenílico não substituído (YAN *et al.*, 2005). Este tipo de anel pode ser encontrado nos flavonoides obtidos de espécies de Myrtaceae. As plantas dessa família também são caracterizadas pela ocorrência de flavonóides C-metilados que apresentam grupo metila no anel obtido a partir da via do acetato, para isso têm como precursor biossintético o metilmalonil-CoA. Para os C-metilados que possuem um grupo metílico, a rota biossintética envolve a utilização de uma unidade de metilmalonil-CoA e duas de malonil-CoA. As chalconas C-metiladas formadas podem existir em formas isoméricas, somente após a isomerização da chalcona a flavanona a posição do grupo metila pode ser fixada no C-6 ou C-8 do flavonoide gerado (SCHRÖDER *et al.*, 1998) (Figura 107). Os flavonoides C-metilados são raros e, portanto, revelam uma característica da química da família Myrtaceae (MAYER, 1990; AMARAL *et al.*, 2001; MUSTAFA, 2003a).

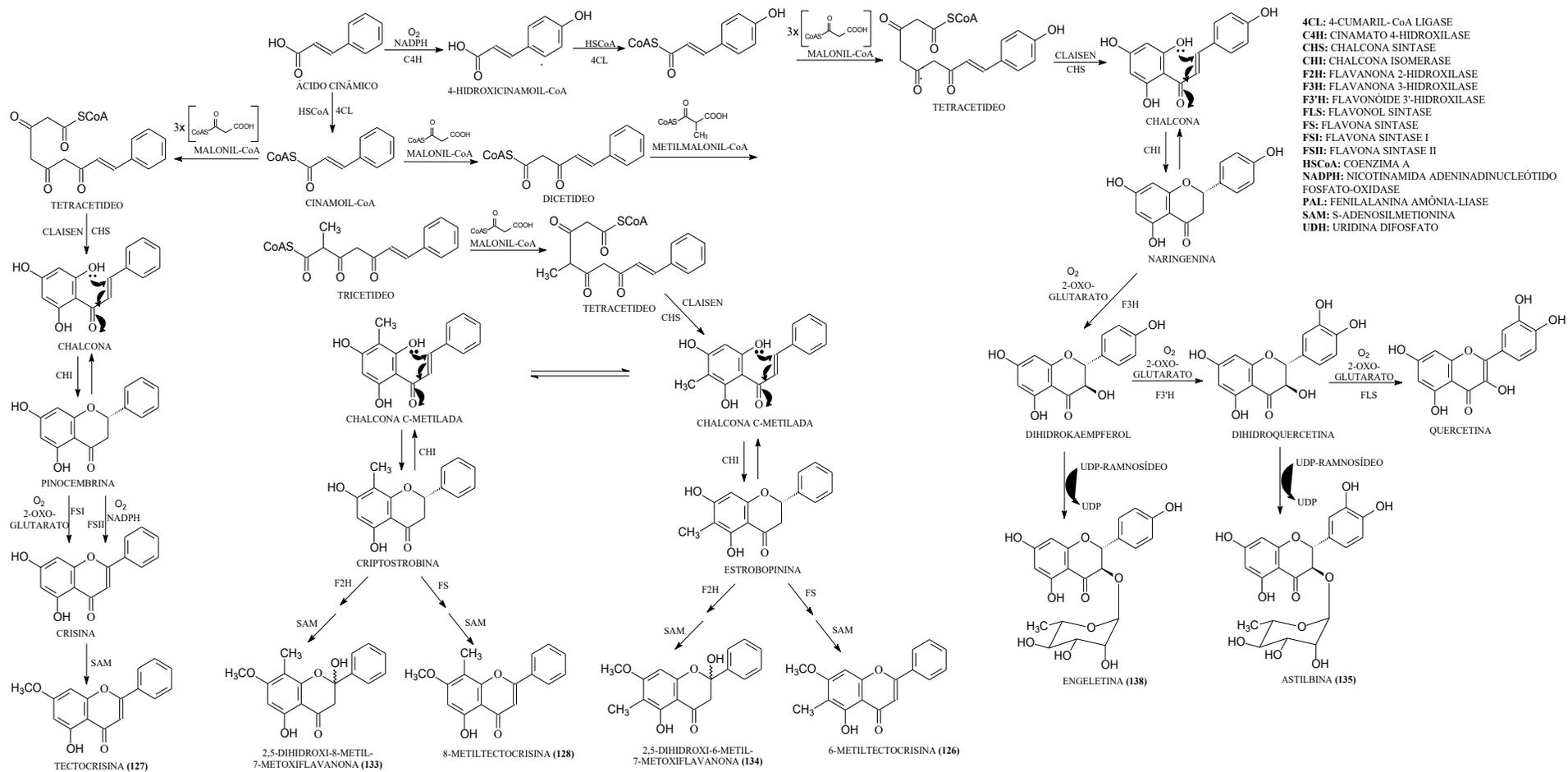


Figura 107. Proposta de rota biossintética para os flavonoides 6-metiltectocrisina (126), tectocrisina (127), 8-metiltectocrisina (128), 2,5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona (133), 2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona (134), astilbina (135), quercetina (136) e engeletina (138) (Adaptado de SCHRÖDER et al., 1998; YAN *et al.*, 2005; DAVIES & SCHWINN, 2006; VELÍŠEK *et al.*, 2008; DEWICK, 2009; SANTOS, 2010).

5.2.5. Derivado de ácido clorogênico 4,5-di-*O*-cafeoilquinato de metila (137)

Os ácidos clorogênicos são ácidos fenólicos, subclasse de uma categoria mais ampla de metabólitos secundários de plantas, denominados compostos fenólicos ou ainda polifenóis. São formados pela esterificação do ácido quínico com um dos seguintes ácidos trans-cinâmicos: o ácido cafeico (3,4-di-hidroxicinâmico), o ferúlico (3-metoxi, 4-hidróxi), sinápico (3,5-dimetóxi, 4-hidróxi) ou o 4-cumárico (4-hidróxi) (OLIVEIRA & BASTOS, 2011). Geralmente, os ácidos clorogênicos podem ser subdivididos em grupos de monoésteres do ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico; di, tri e tetra-ésteres do ácido cafeico; combinação de di-ésteres do ácido cafeico e ferúlico e de di-ésteres do ácido cafeico e sinápico; e combinações de ésteres do ácido cafeico e de ácidos oxálicos, succínicos e glutáricos (CLIFFORD, 1999; CLIFFORD, 2000).

Os ácidos fenólicos de plantas são sintetizados a partir de fenilalanina e tirosina, pela rota do ácido chiquímico, que converte os precursores de carboidratos simples, derivados da glicólise e da via da pentose fosfato (fosfoenolpiruvato e D-eritrose-4-P, respectivamente), em aminoácidos aromáticos. A enzima fenilalanina amônia liase (PAL) atua na L-fenilalanina retirando uma molécula de amônia deste aminoácido aromático, dando origem ao ácido cinâmico que ao ser hidroxilado no C-4 forma o ácido 4-cumárico. Este ácido fenólico pode existir na planta na forma livre e numa variedade de formas esterificadas, como por exemplo, o ácido p-cumarilquínico. Para que a reação de esterificação ocorra é necessário que o ácido 4-cumárico seja, inicialmente, transformado numa forma adequadamente ativada, o éster deste ácido cinâmico com a coenzima A. Deste modo, o ácido p-cumarilquínico pode ser gerado a partir da reação do 4-cumaril-CoA com o ácido quínico que é sintetizado pela redução do ácido 3-dehidroquínico, um metabolito intermediário da via do ácido chiquímico. Diversos derivados do ácido clorogênico formado podem ser gerados após sucessivas esterificações com ácidos cinâmicos juntamente com hidroxilações e metilações (NIGGEWEG *et al.*, 2004; FARAH *et al.*, 2006; COMINO *et al.*, 2007; KOSHIRO *et al.*, 2007; DEWICK, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2011; PLAZAS *et al.*, 2013) (Figura 108).

5.3. Identificação dos Constituintes Químicos Voláteis de Óleos Essenciais de Folhas de *Myrcia ovata* Cambess.

Os dois óleos essenciais obtidos de folhas de *Myrcia ovata* Cambess. (OEMO-1 e OEMO-2) (Fluxograma 1, pág. 23) tiveram suas composições químicas analisadas por CG/EM (para identificação) e CG/DIC (para quantificação). A figura abaixo mostra as fórmulas estruturais dos constituintes voláteis identificados nos óleos de *M. ovata*. Somente os compostos (87), (106) e (107) foram de ocorrência comum na composição dos dois óleos analisados.

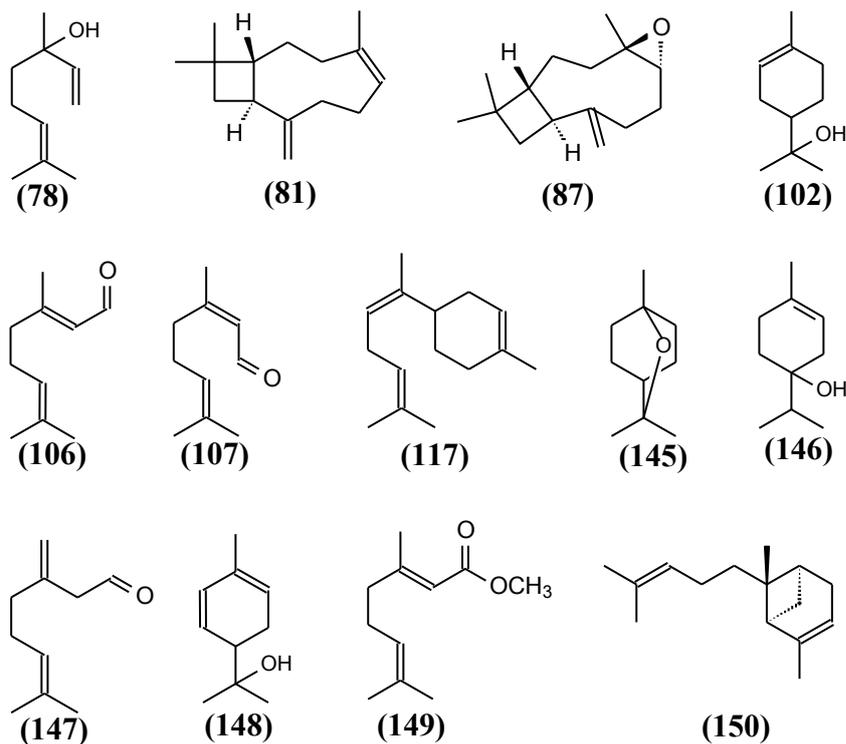


Figura 109. Fórmulas estruturais dos constituintes químicos voláteis identificados em óleos essenciais de folhas de *Myrcia ovata*.

5.3.1. Constituintes químicos voláteis de OEMO-1

A composição química de OEMO-1, o óleo essencial obtido da primeira porção de folhas de *Myrcia ovata* Cambess., foi essencialmente constituído por monoterpenos oxigenados (Tabela 18). Seis constituintes químicos, representando 92,81% do óleo essencial, foram identificados, seus índices de retenção em coluna DB-5 e composição percentual estão listados na Tabela 18. Entre esses, foram identificados cinco monoterpenos oxigenados (91,75%) e um sesquiterpeno oxigenado (1,06%). A análise de OEMO-1 revelou, ainda, que geranial (106) (Figura 116) é o componente mais abundante (50,44%), seguido por seu isômero neral (107) (Figura 115) (35,77%).

Os cromatogramas obtidos dos experimentos em CG/DIC e CG/EM encontram-se nas Figuras 110 e 111, respectivamente. Os espectros de massa e as fórmulas estruturais dos constituintes são mostrados nas Figuras 112 a 117.

Amostra de OEMO-1 foi avaliada em relação à atividade larvicida frente a larvas do mosquito *Aedes aegypti*. O teste foi realizado no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Endemias da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (NUEND), Fortaleza-CE.

Tabela 18. Composição química, índice de retenção calculado através de regressão linear (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/EM ($TR_{CG/EM}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante da hidrodestilação da primeira porção de folhas de *Myrcia ovata* Cambess.(OEMO-1).

Componentes identificados	IR_C	IR_{LIT}	$TR_{CG/EM}$	%
Monoterpenos oxigenados				91,75
1,8-Cineol (145)	1020	1031	11,57	4,12
4-Terpineol (146)	1176	1177	16,98	0,34
α -Terpineol (102)	1190	1188	17,48	1,08
Neral (107)	1245	1235	19,36	35,77
Geranial (106)	1276	1267	20,46	50,44
Sesquiterpeno oxigenado				1,06
Óxido de cariofileno (87)	1575	1583	30,82	1,06
Total				92,81

Equação da reta: $Y = 28,81X + 851,67$

Como pontos para gerar a reta foram utilizados os valores de IK_{LIT} e $TR_{CG/EM}$ dos seguintes constituintes químicos de OEMO-1: 1,8-cineol, neral, geranial e óxido de cariofileno.

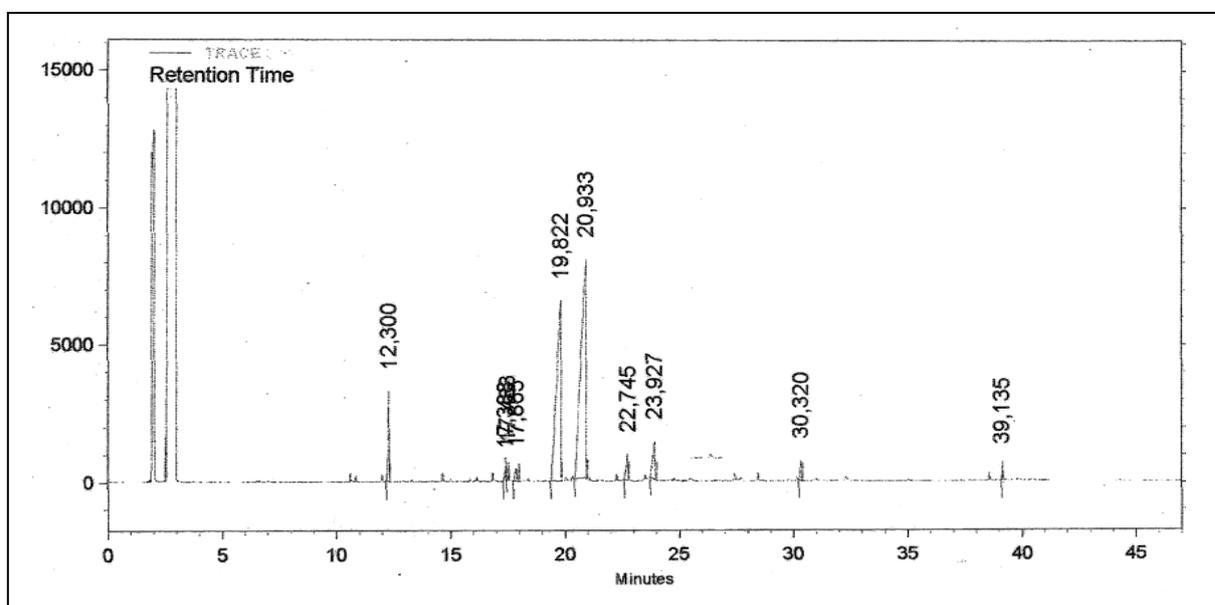


Figura 110. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Myrcia ovata* OEMO-1 obtido no experimento de CG/DIC.

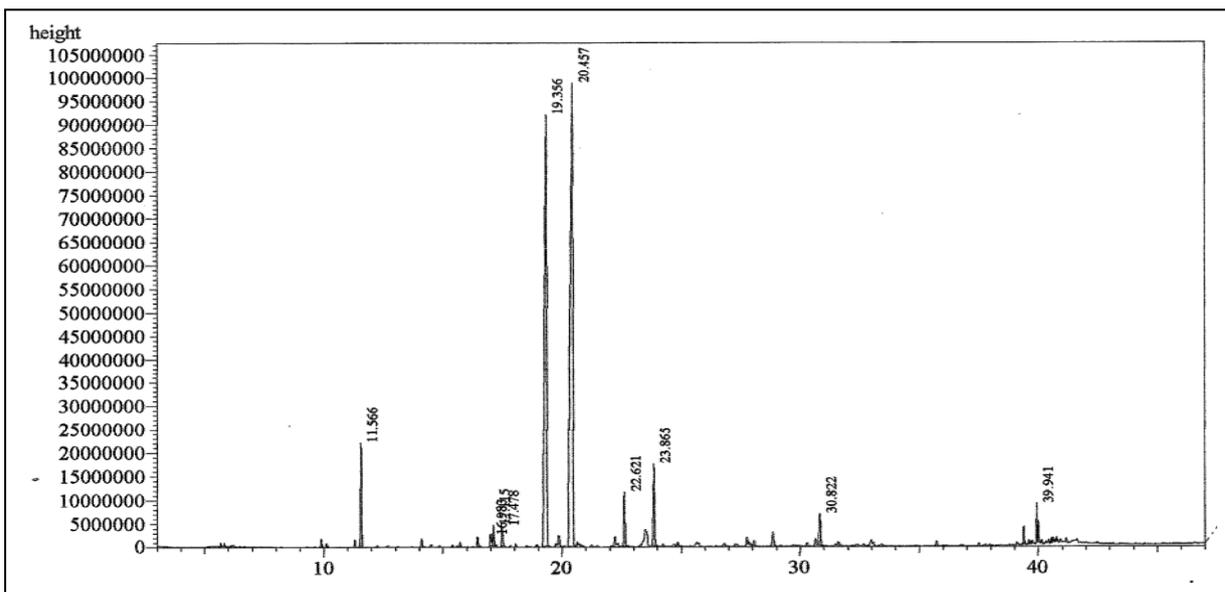


Figura 111. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Myrcia ovata* OEMO-1 obtido no experimento de CG/EM.

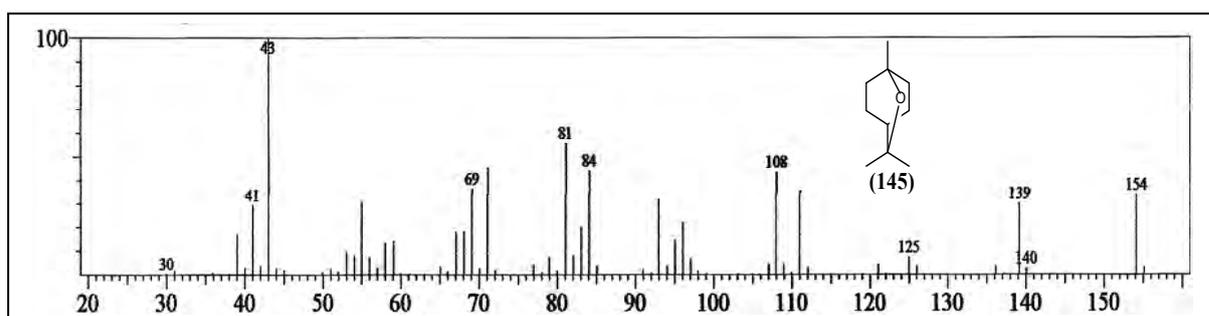


Figura 112. Espectro de massa do 1,8-cineol (145) (Tr = 11,57 min).

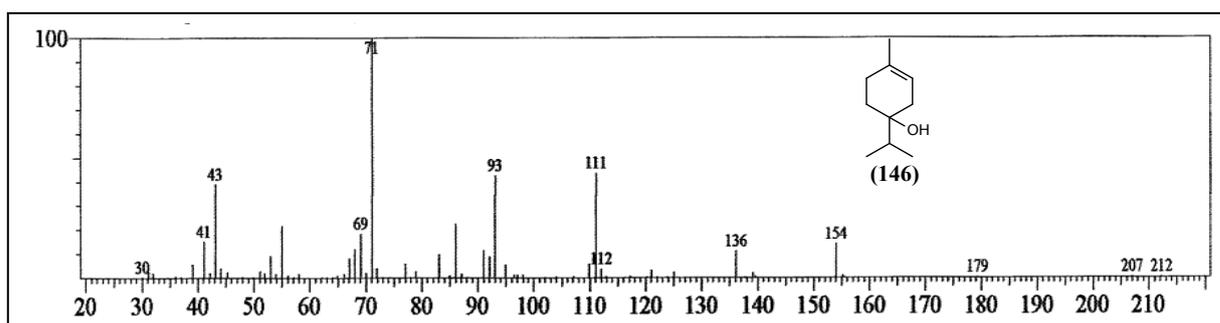


Figura 113. Espectro de massa do 4-terpineol (146) (Tr = 16,98 min).

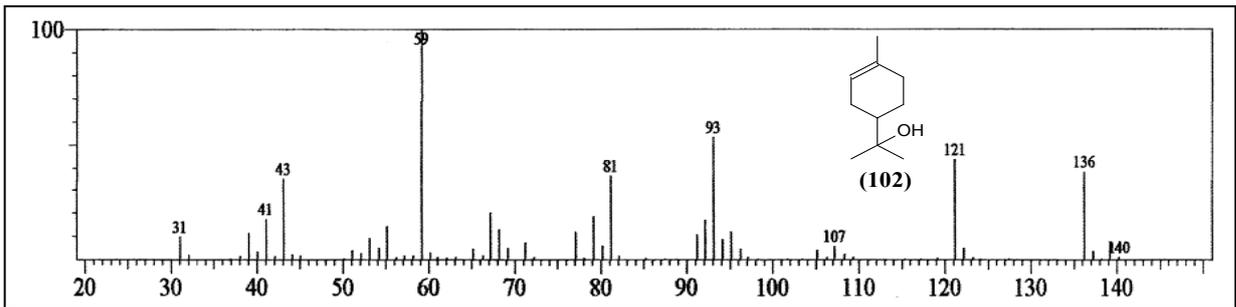


Figura 114. Espectro de massa do α -terpineol (102) (Tr = 17,48 min).

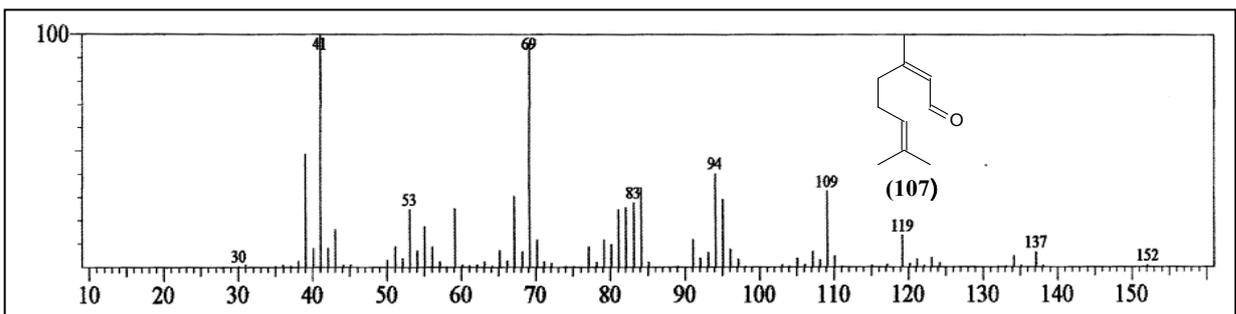


Figura 115. Espectro de massa do neral (107) (Tr = 19,36 min).

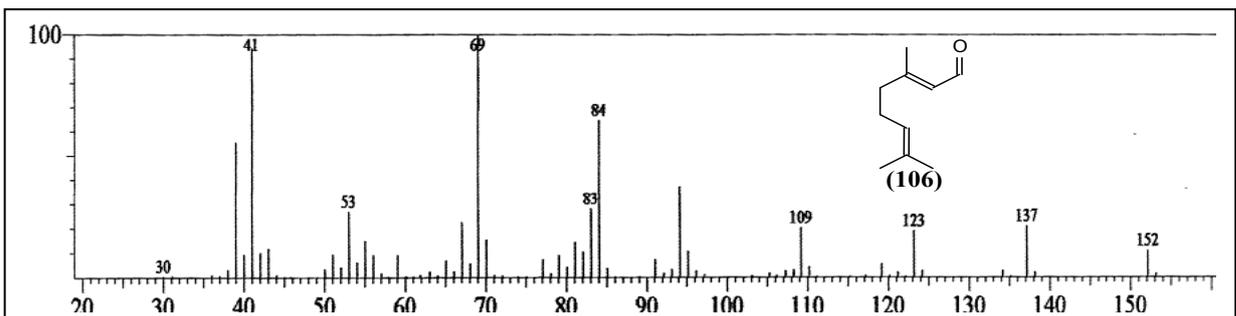


Figura 116. Espectro de massa do geranial (106) (Tr = 20,46 min).

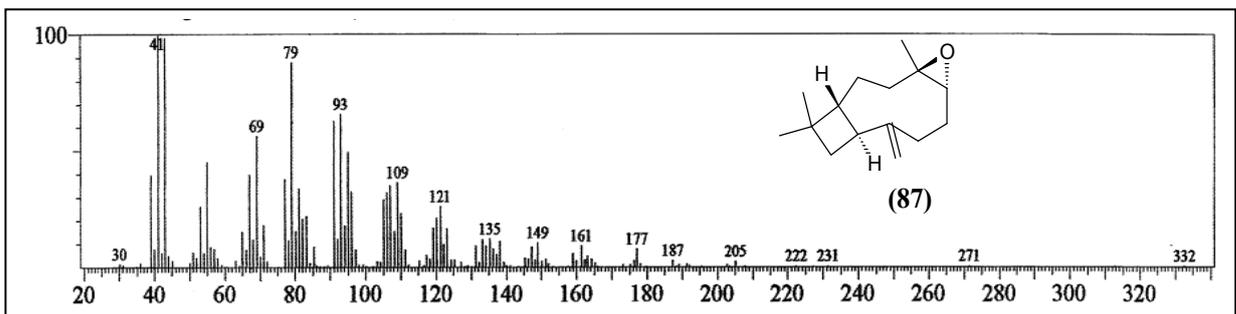


Figura 117. Espectro de massa do óxido de cariofileno (87) (Tr = 30,82 min).

5.3.2. Constituintes químicos voláteis de OEMO-2

Assim como em OEMO-1, na composição química de OEMO-2 (óleo essencial obtido da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata* Cambess. ocorreu a predominância de monoterpenos oxigenados (Tabela 19). Dez compostos, representando 94,67% do óleo essencial foram identificados, seus índices de retenção em coluna Factor Four/VF-5ms e

composição percentual estão listadas na Tabela 19. Destes, foram identificados seis monoterpenos oxigenados (92,93%), três hidrocarbonetos sesquiterpênicos (1,01%) e um sesquiterpeno oxigenado (0,73%). OEMO-2 teve o geranial (**106**) (Figura 124) (51,38%) como componente majoritário, seguido por neral (**107**) (Figura 123) (38,96%).

Os cromatogramas obtidos dos experimentos em CG/DIC e CG/EM encontram-se nas Figuras 119 e 120, respectivamente. Os espectros de massa e as fórmulas estruturais dos constituintes são mostrados nas Figuras 120 a 129.

Amostra de OEMO-2 foi avaliada quanto a atividade carrapaticida contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*. Os ensaios foram executados no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora-MG.

Tabela 19. Composição química, índice de retenção calculado (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/DIC ($TR_{CG/DIC}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante da hidrodestilação de folhas frescas de *Myrcia ovata* Cambess., obtidas da segunda coleta (OEMO-2).

Componentes identificados	IR_C	IR_{LIT}	$TR_{CG/DIC}$	%
Monoterpenos oxigenados				92,93
Linalol (78)	1103	1096	18,73	1,52
<i>Exo</i> -isocitral (147)	1149	1144	20,46	0,72
<i>p</i> -menta-1,5-dien-8-ol (148)	1180	1170	21,71	0,27
Neral (107)	1253	1235	24,50	38,96
Geranial (106)	1284	1267	25,69	51,38
Geraniato de metila (149)	1326	1324	27,19	0,08
Hidrocarboneto sesquiterpênico				1,01
β -Cariofileno (81)	1429	1419	30,78	0,47
α - <i>trans</i> -Bergamoteno (150)	1439	1434	31,11	0,14
(<i>Z</i>)- α -Bisaboleno (117)	1505	1507	32,86	0,40
Sesquiterpeno oxigenado				0,73
Óxido de cariofileno (87)	1595	1583	36,16	0,73
Total				94,67

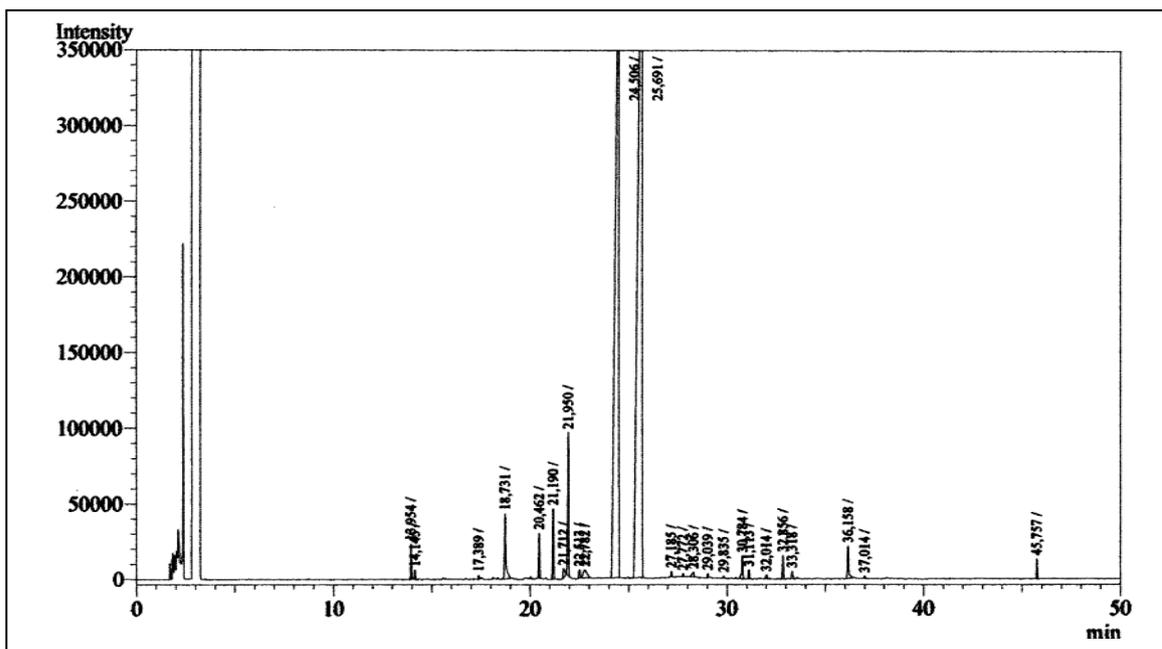


Figura 118. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Myrcia ovata* OEMO-2 obtido no experimento de CG/DIC.

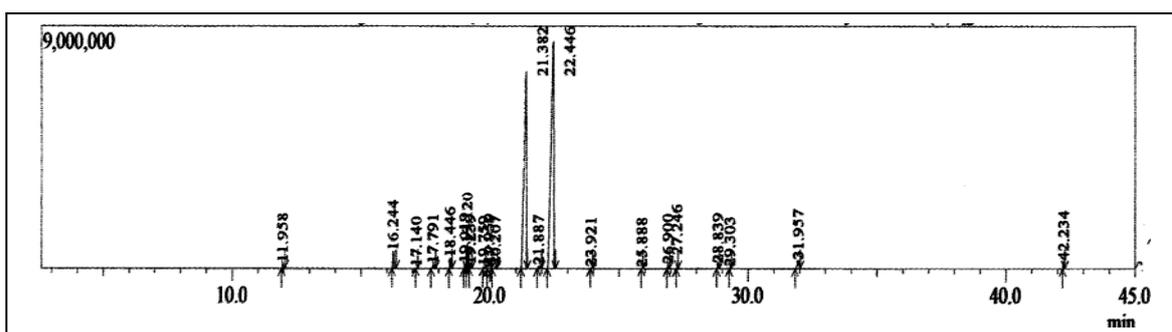


Figura 119. Cromatograma de óleo essencial de folhas *Myrcia ovata* OEMO-2 obtido no experimento de CG/EM.

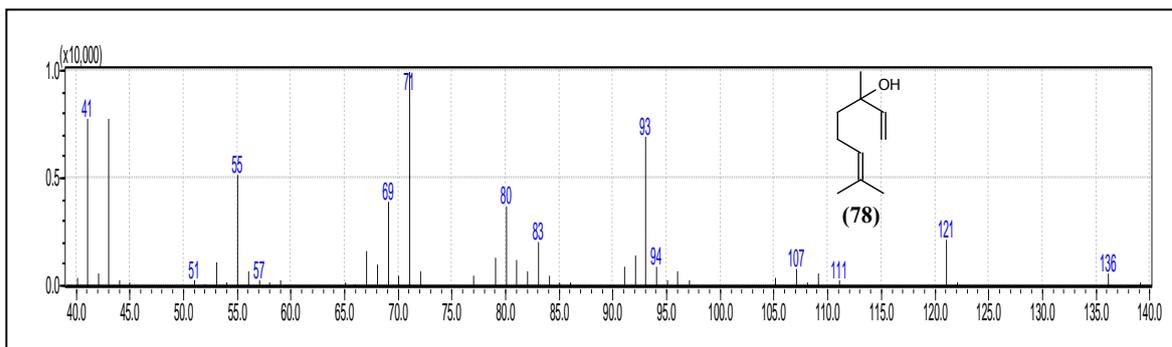


Figura 120. Espectro de massa do linalol (78) (Tr = 16,24 min).

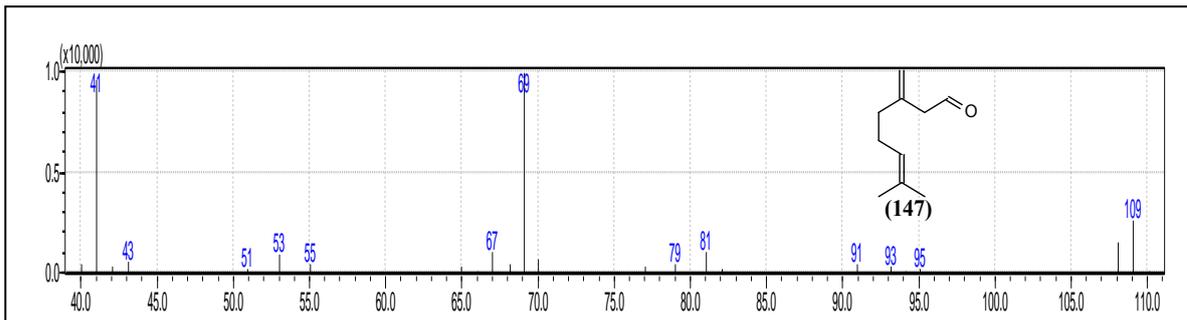


Figura 121. Espectro de massa do *exo*-isocitral (**147**) (Tr = 17,79 min).

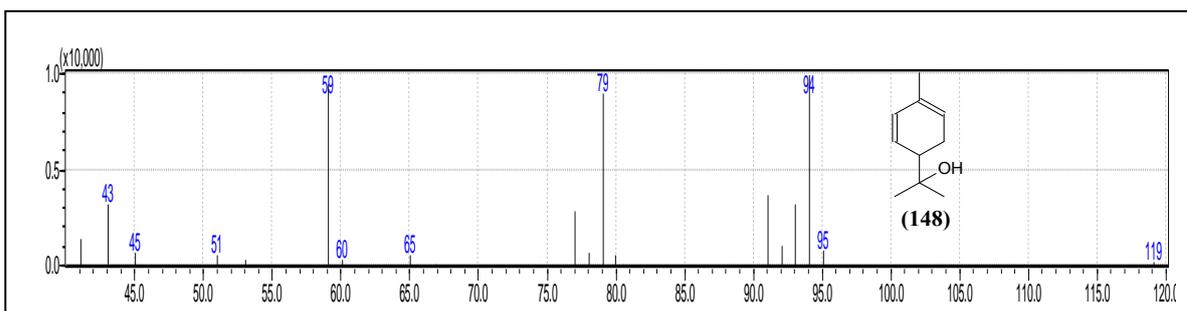


Figura 122. Espectro de massa do *p*-menta-1,5-dien-8-ol (**148**) (Tr = 19,02 min).

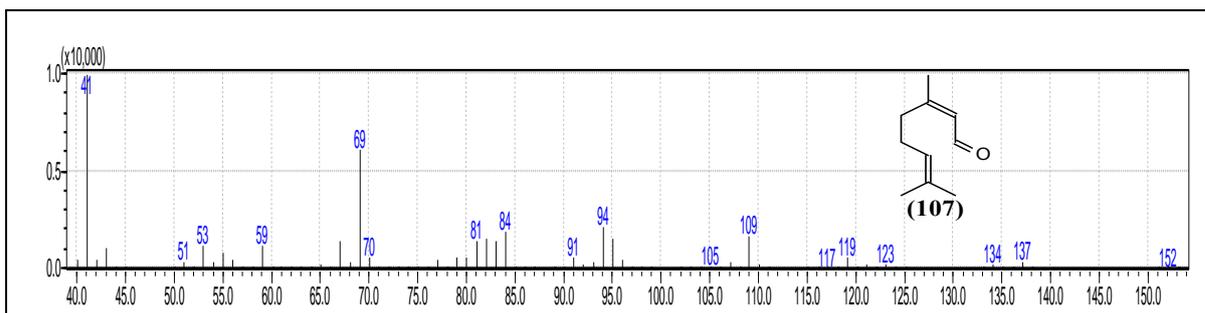


Figura 123. Espectro de massa do neral (**107**) (Tr = 21,38 min).

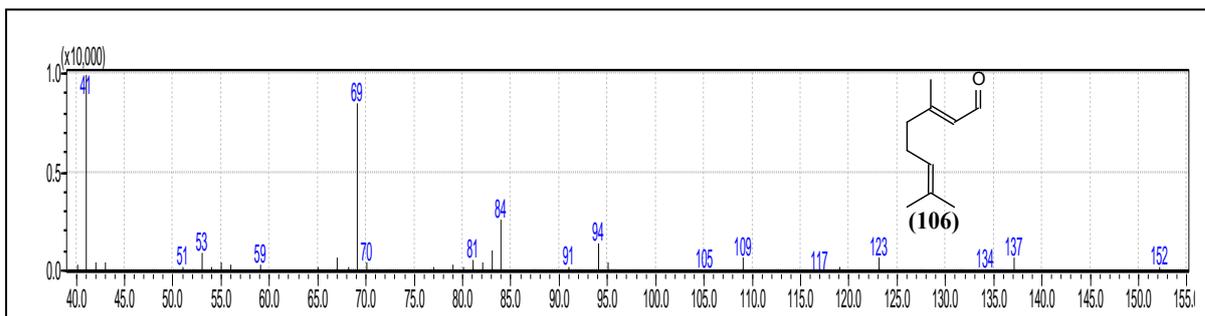


Figura 124. Espectro de massa do geranial (**106**) (Tr = 22,45 min).

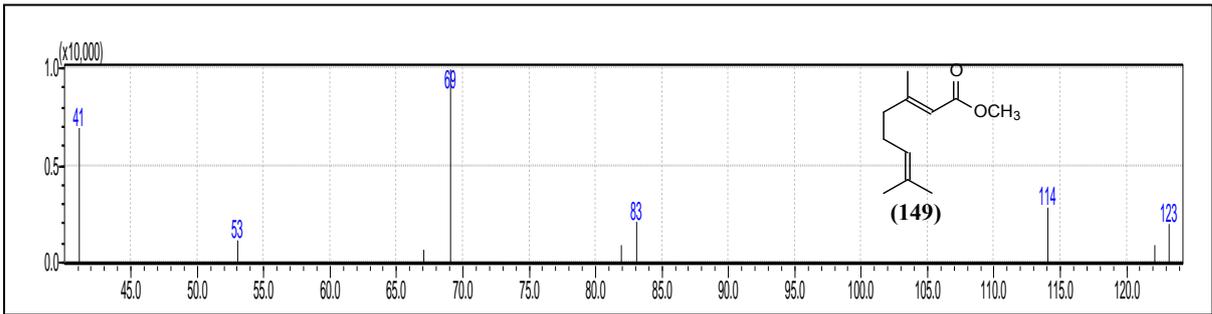


Figura 125. Espectro de massa do geraniato de metila (**149**) (Tr = 23,92 min).

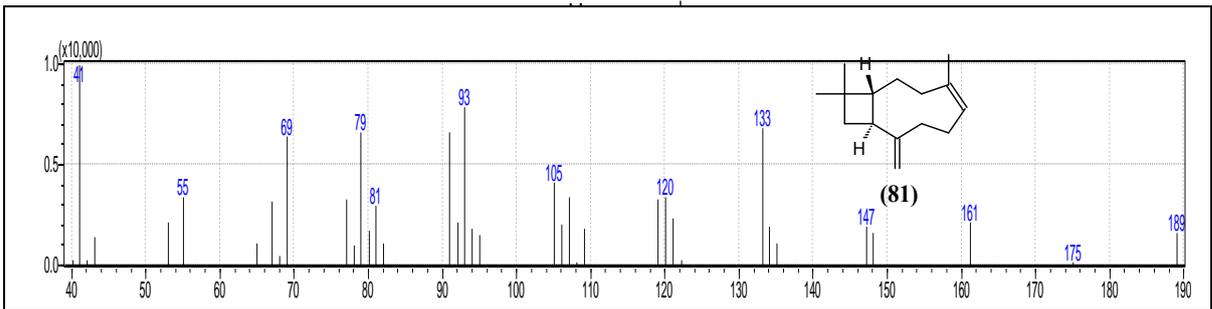


Figura 126. Espectro de massa do β -cariofileno (**81**) (Tr = 26,90 min).

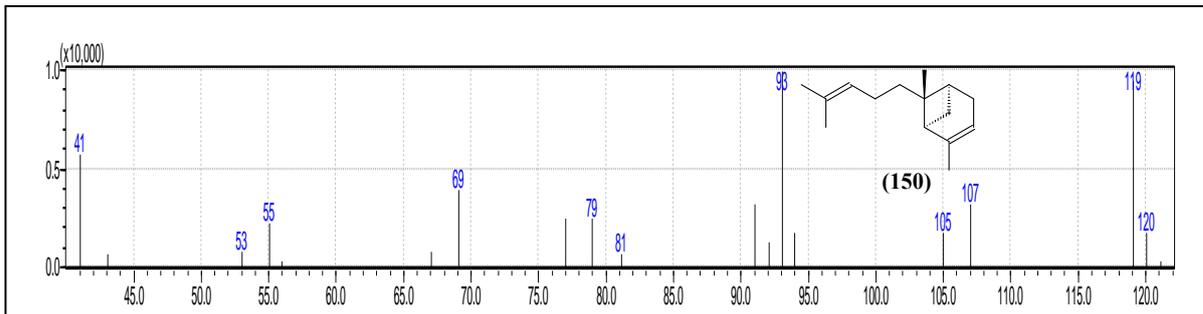


Figura 127. Espectro de massa do α -trans-bergamoteno (**150**) (Tr = 27,25 min).

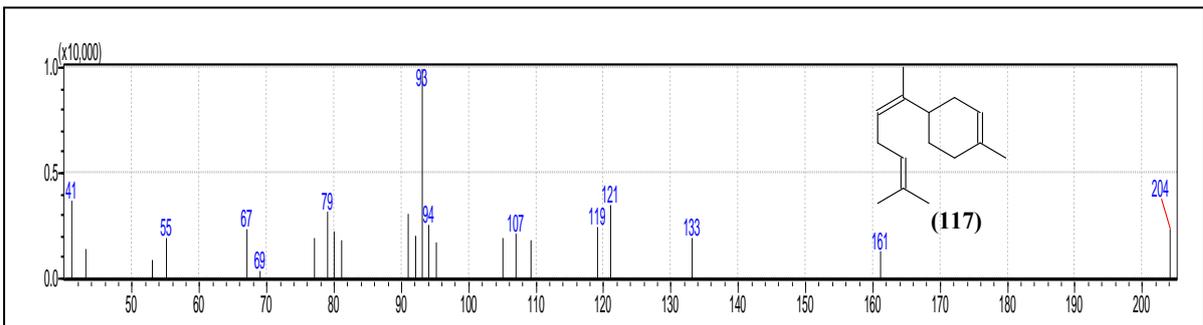


Figura 128. Espectro de massa do (*Z*)- α -bisaboleno (**117**) (Tr = 29,30 min).

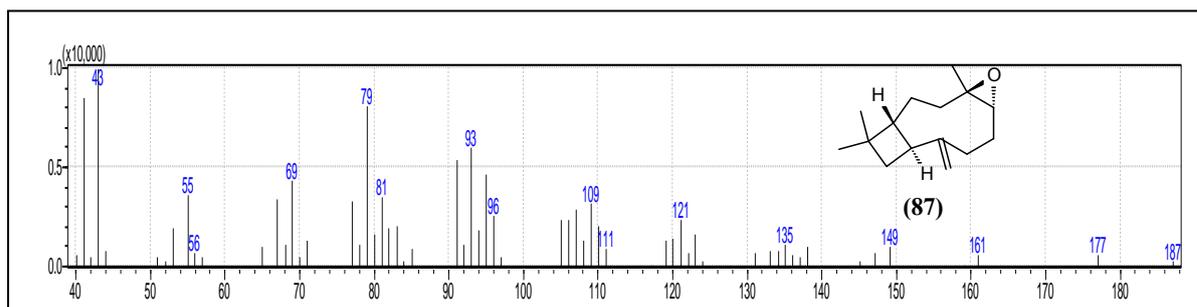


Figura 129. Espectro de massa do óxido de cariofileno (**87**) (Tr = 31,96 min).

Os dois óleos essenciais obtidos por hidrodestilação a partir de folhas de *M. ovata* apresentaram valores de rendimentos próximos, 0,9 e 0,86% (m/m) para OEMO-1 e OEMO-2, respectivamente (Item 4.4, pág. 22).

As análises em CG/EM e CG/DIC revelaram perfis químicos semelhantes para OEMO-1 (Tabela 18, pág. 139) e OEMO-2 (Tabela 19, pág. 142). Os óleos apresentaram altas concentrações de monoterpenos oxigenados (91,75 e 92,93%), sendo OEMO-2 o mais abundante nesta classe de compostos. Geralmente, os sesquiterpenos cíclicos predominam nos óleos voláteis do gênero *Myrcia* (STEFANELLO *et al.*, 2011a), no entanto, isso não foi observado nos óleos obtidos de *M. ovata*.

Os óleos tiveram como componente majoritários o geranial (**106**) (Figura 124, pág. 144) (50,44 e 51,38%), seguido de neral (**107**) (Figura 123, pág. 144) (35,77 e 8,96%), com OEMO-2 apresentando os maiores teores de (**106**) e (**107**) (Tabela 19, pág. 163). Altos teores de citral, mistura isomérica dos aldeídos (**106**) e (**107**), foi constatado também nos óleos de *M. ovata* (86,21 e 90,34%), sendo mais abundante em OEMO-2 (Tabela 19, pág. 142). Além desses constituintes, o sesquiterpeno oxigenado óxido de cariofileno (**81**) (Figura 129, pág. 146) também foi detectado nos dois óleos essenciais analisados, apresentando teores de 0,73 e 1,06% (Tabelas 18 e 19, págs. 139 e 142, respectivamente), sendo mais abundante em OEMO-2.

A literatura relata que OEMO-1 apresentou atividade antimicrobiana frente a microorganismos do trato intestinal, além de inibir biofilmes monomicrobianos de *E. faecalis*, os autores sugeriram que as propriedades aparentadas pelo óleo estavam associadas a presença de citral em sua composição (CANDIDO *et al.*, 2010).

Citral é conhecido na literatura por uma série de propriedades biológicas. Apresenta atividades antitrombótica, antimicrobiana, inseticida e repelente contra insetos e é muito utilizado em tratamentos da tosse em preparações farmacêuticas (SOUSA *et al.*, 2004). Pode, também, ser usado como matéria prima para síntese de insumos industriais de importância (CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993).

Esta mistura de aldeídos pode ser encontrada entre os constituintes de óleos voláteis de outras espécies de Myrtaceae como: *Calyptanthes sintenisii* Kiaersk. (TUCKER *et al.*, 2001), *Melaleuca teretifolia* Endl. (SOUTHWELL *et al.*, 2003), *Myrceugenia rhopaloides* (STEFANELLO *et al.*, 2011a), *Leptospermum petersonii* F. M. Bailey (KIM & PARK, 2012) e *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (PAULA *et al.*, 2012) e nas espécies *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (SOUSA *et al.*, 2004), *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (SILVA *et al.*, 2006), *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. (SI *et al.*, 2012) e *Melissa officinalis* L. (AZAR *et al.*, 2011) pertencentes as famílias Poaceae, Verbenaceae, Lauraceae e Lamiaceae, respectivamente.

5.4.1. Constituintes químicos voláteis de OELS-1

Quinze compostos, representando 99,97% do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. obtido por hidrodestilação (OELS-1) foram identificados; seus índices de retenção em coluna Optima-5 e composição percentual estão listados na Tabela 20. Destes, foram identificados um álcool alifático insaturado (0,38%), dois hidrocarbonetos monoterpênicos (2,34 %), oito monoterpênicos oxigenados (78,71%), um hidrocarboneto sesquiterpênico (2,36%), um sesquiterpeno oxigenado (1,03%) e dois monoglicérides (15,15%). A classe de compostos predominantes em OELS-1 foram os monoterpênicos oxigenados. O monoterpêneo timol (**125**) (Figura 142) foi detectado como componente majoritário (67,60%) do óleo de *L. sidoides* analisado.

Os cromatogramas obtidos dos experimentos em CG/DIC e CG/EM encontram-se nas Figuras 123 e 124, respectivamente. Os espectros de massa e as fórmulas estruturais dos constituintes são mostrados nas Figuras 133 a 147.

Amostra de OELS-1 foi avaliada quanto a atividade carrapaticida contra larvas de *Dermacentor nitens* e larvas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*. Os ensaios foram executados no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora-MG.

Tabela 20. Composição química, índice de retenção calculado (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/DIC ($TR_{CG/DIC}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante da hidrodestilação de folhas frescas de *Lippia sidoides* Cham. (OELS-1).

Componentes identificados	IR_C	IR_{LIT}	$TR_{CG/DIC}$	%
Álcool alifático insaturado				0,38
Oct-1-en-3-ol (151)	981	979	8,21	0,38
Hidrocarbonetos monoterpênicos				2,34
<i>p</i> -Cimeno (123)	1027	1024	9,83	1,82
γ -Terpineno (152)	1060	1059	11,09	0,52
Monoterpênicos oxigenados				78,71
1,8-Cineol (145)	1035	1031	10,10	2,35
<i>Cis</i> -Hidrato de sabineno (153)	1072	1070	11,41	0,25
Ipsdienol (154)	1145	1145	14,93	0,55
4-Terpineol (146)	1181	1177	16,57	0,55
α -Terpineol (102)	1196	1188	16,90	0,51
Timol, metil éter (155)	1230	1235	18,33	0,60
Timol (125)	1296	1290	21,47	67,60
Carvacrol (156)	1300	1299	21,67	6,30
Hidrocarboneto sesquiterpênico				2,36
β -Cariofileno (81)	1415	1419	26,35	2,36
Sesquiterpeno oxigenado				1,03
Óxido de cariofileno (87)	1576	1583	32,77	1,03
Monoglicérides				15,15
2-Monopalmitina (157)	*		61,86	7,15
1-Monoestearina (158)	*		67,06	8,00
Total				99,97

*Monoglicérideo identificado através de comparação visual de seu espectro de massa com aquele fornecido pelo banco de dados (NIST21 e NIST107) do equipamento.

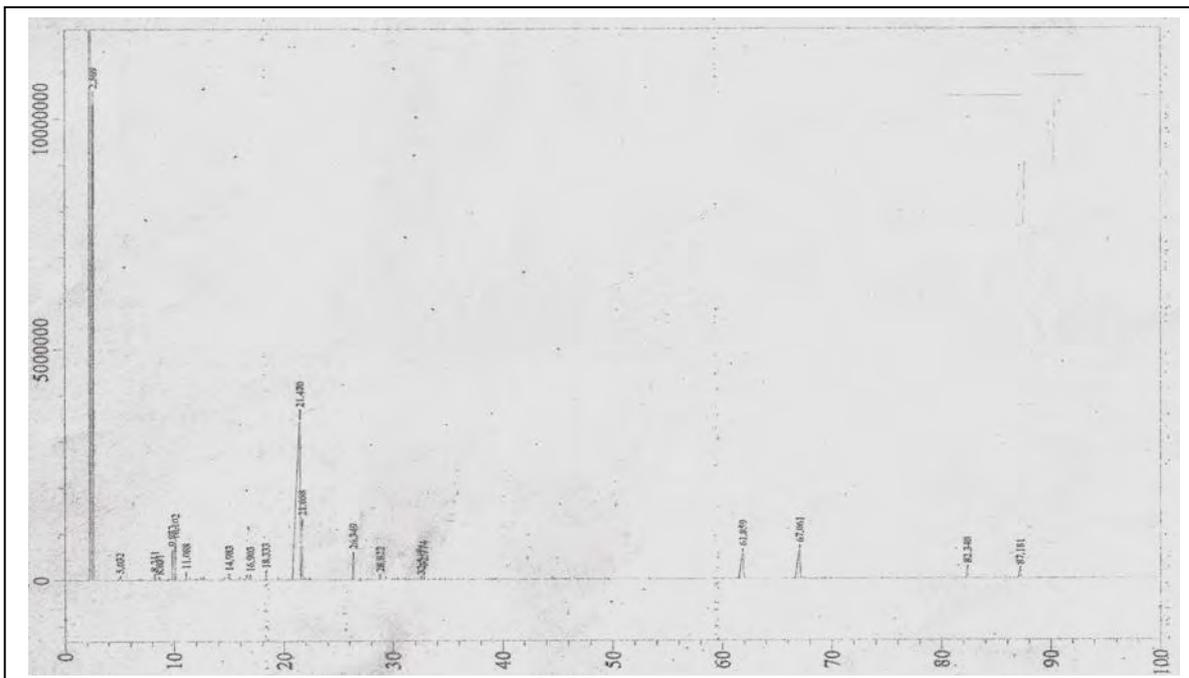


Figura 131. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* OELS-1 obtido no experimento de CG/DIC.

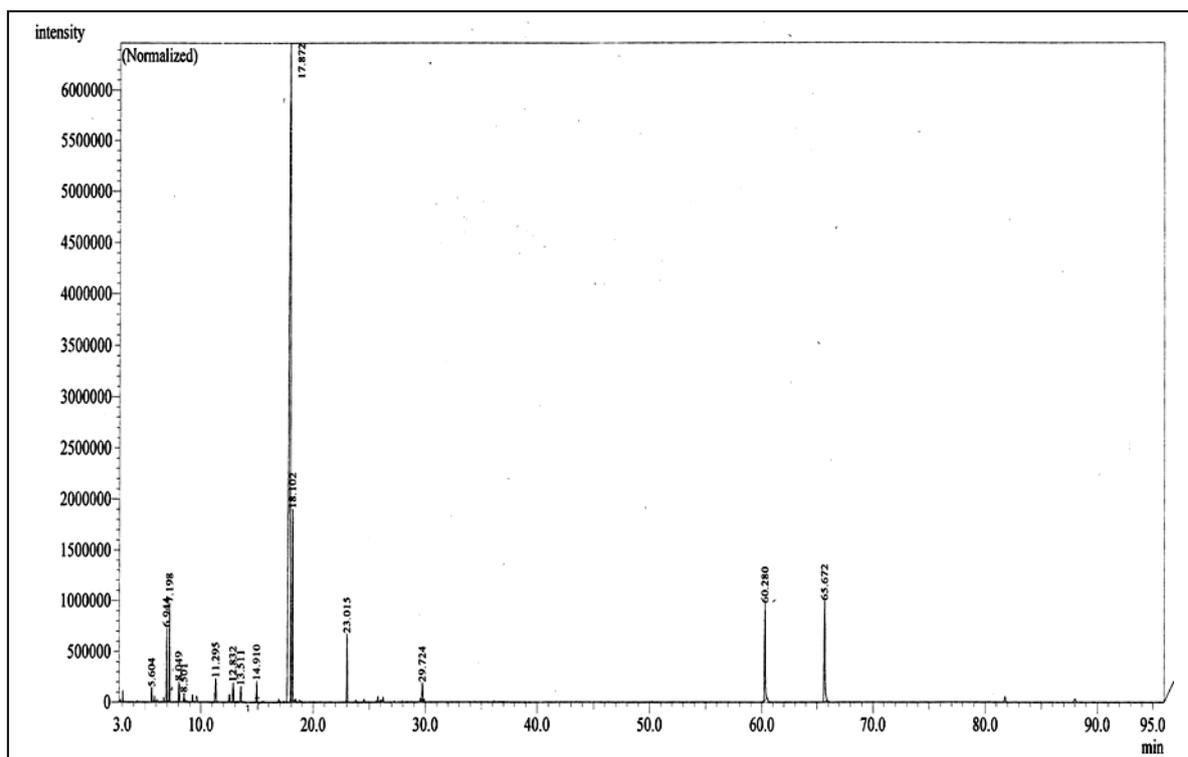


Figura 132. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* OELS-1 obtido no experimento de CG/EM.

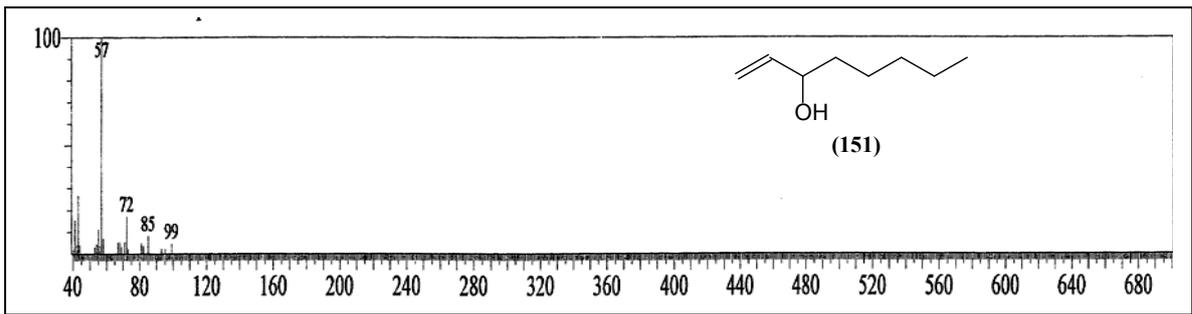


Figura 133. Espectro de massa do oct-1-en-3-ol (151) (Tr = 5,60 min).

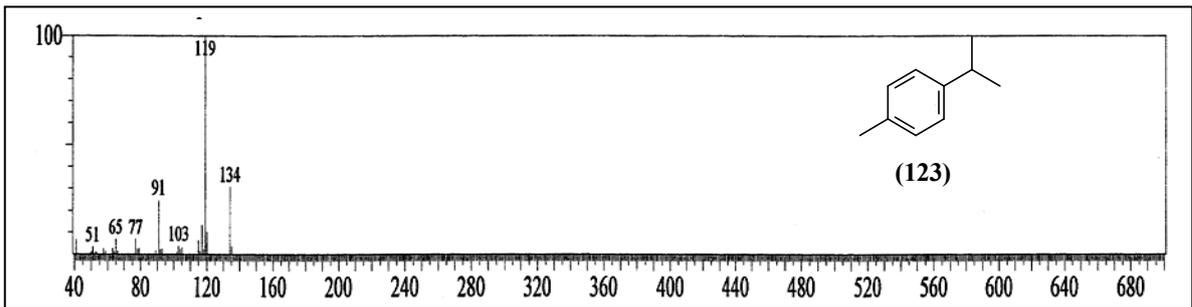


Figura 134. Espectro de massa do *p*-cimeno (123) (Tr = 6,94 min).

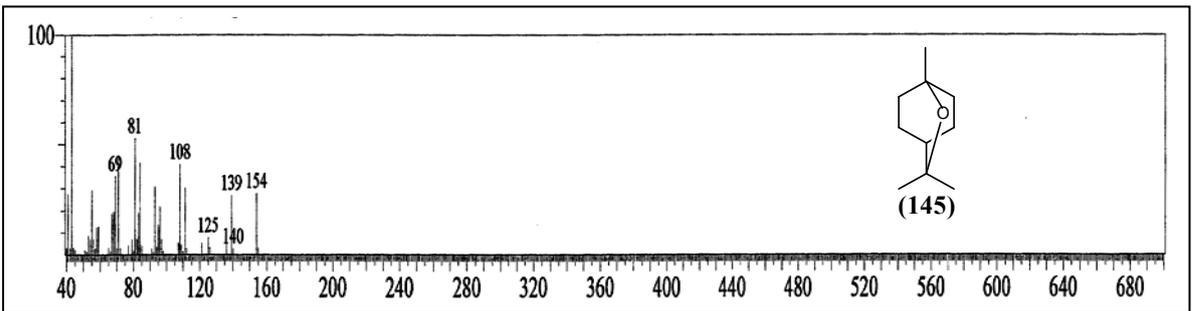


Figura 135. Espectro de massa do 1,8-cineol (145) (Tr = 7,20 min).

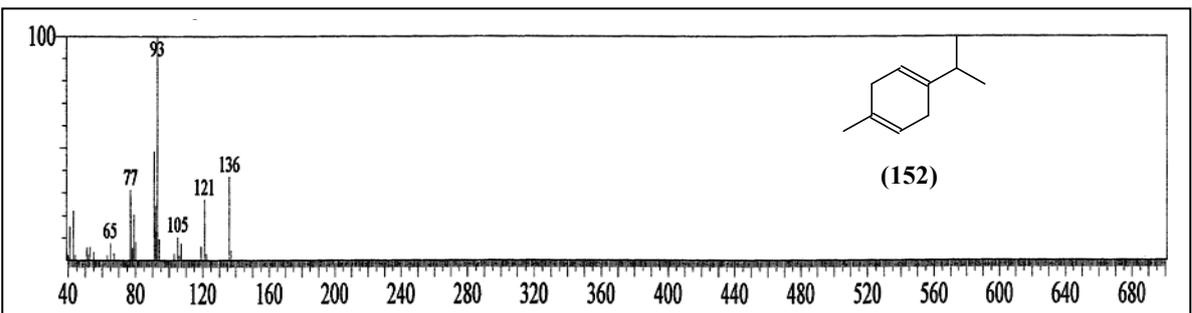


Figura 136. Espectro de massa do γ -terpineno (152) (Tr = 8,05 min).

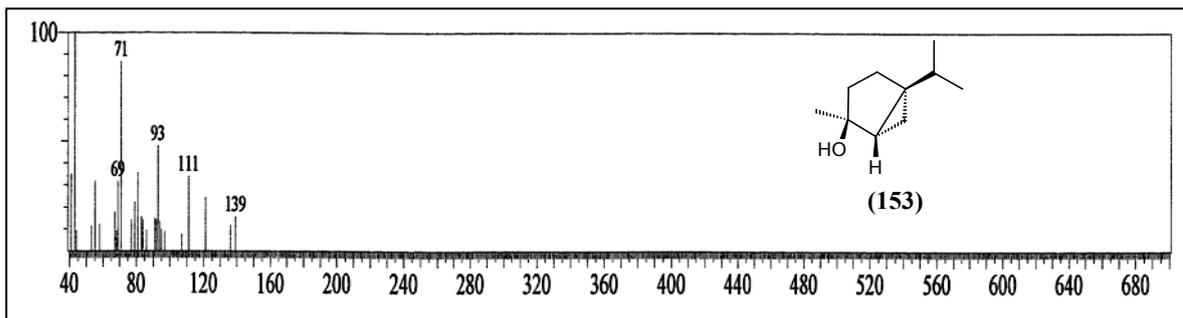


Figura 137. Espectro de massa do *cis*-hidrato de sabineno (**153**) (Tr = 8,50 min).

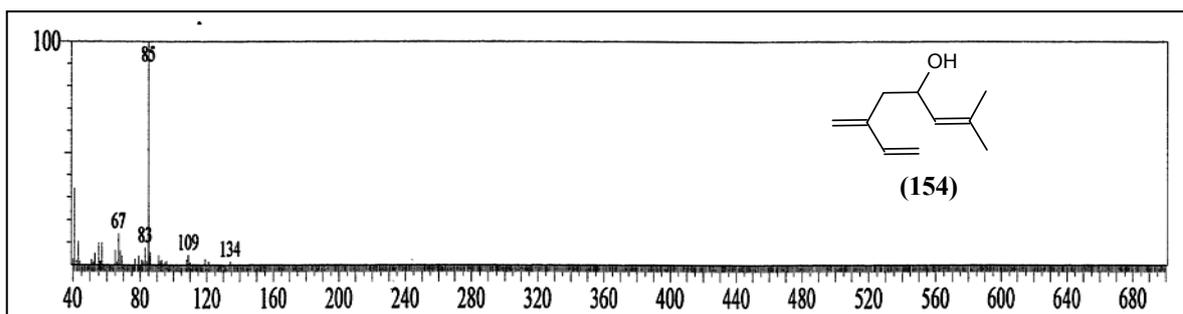


Figura 138. Espectro de massa do ipsdienol (**154**) (Tr = 11,30 min).

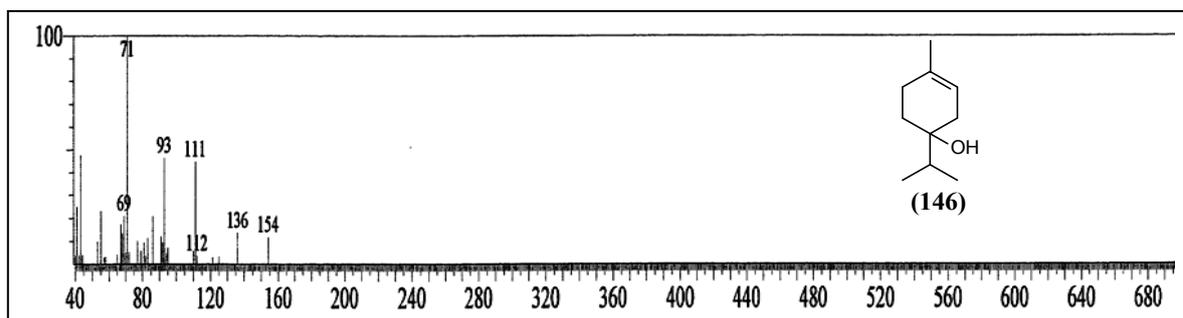


Figura 139. Espectro de massa do 4-terpineol (**146**) (Tr = 12,83 min).

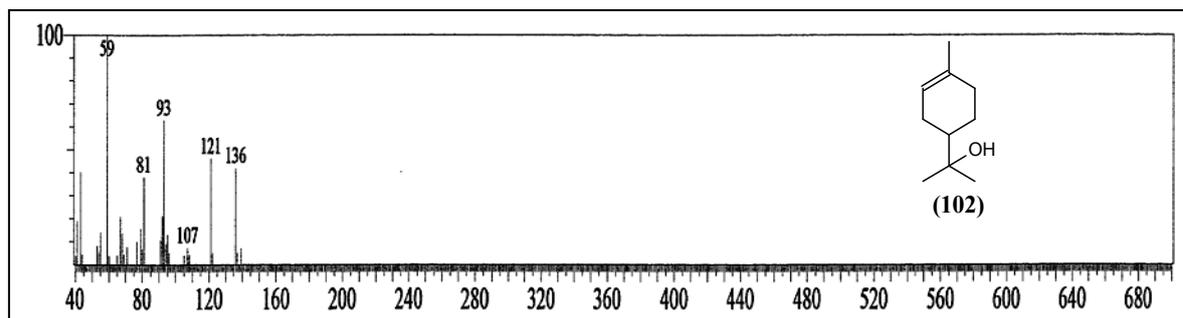


Figura 140. Espectro de massa do α -terpineol (**102**) (Tr = 13,51 min).

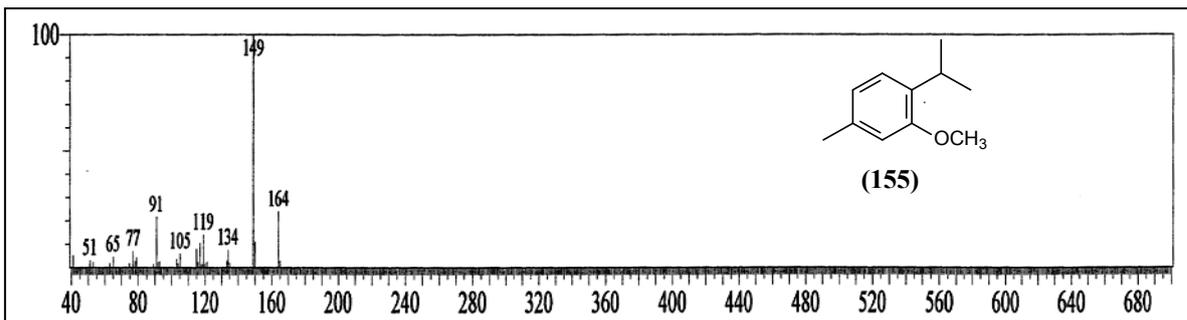


Figura 141. Espectro de massa do timol metil éter (155) (Tr = 14,91 min).

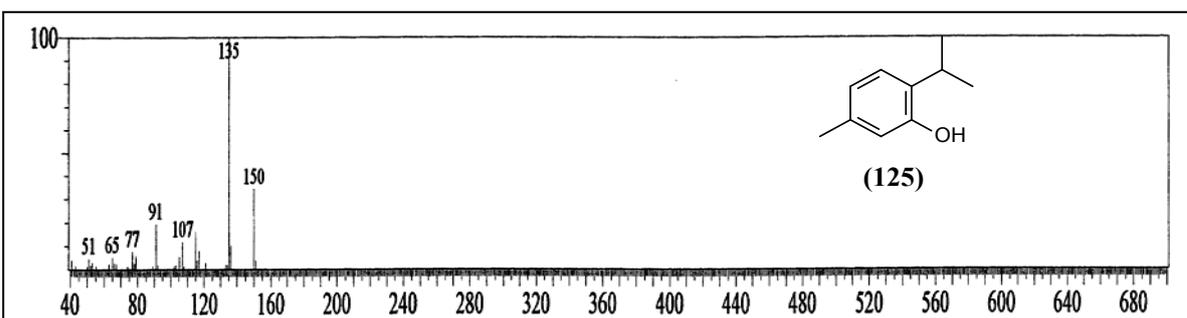


Figura 142. Espectro de massa do timol (125) (Tr = 17,87 min).

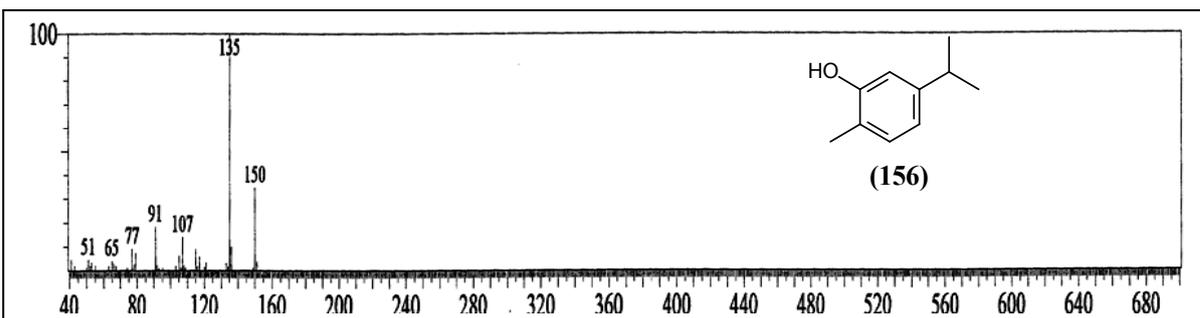


Figura 143. Espectro de massa do carvacrol (156) (Tr = 18,10 min).

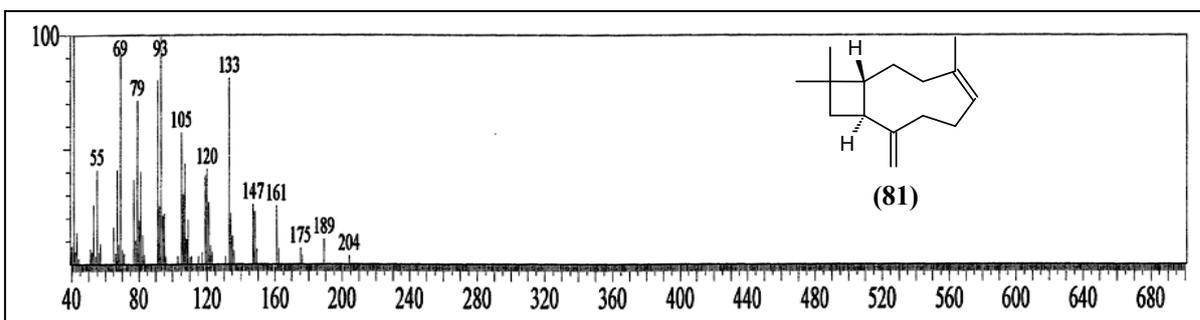


Figura 144. Espectro de massa do β -cariofileno (81) (Tr = 23,02 min).

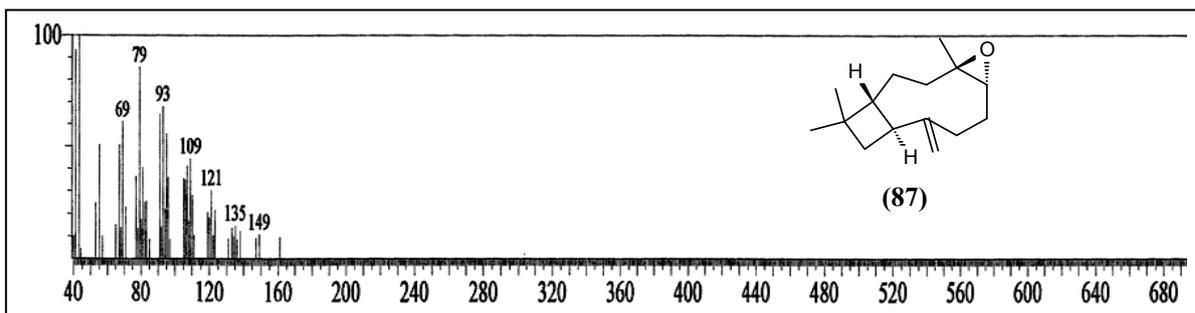


Figura 145. Espectro de massa do óxido de cariofileno (**87**) (Tr = 29,72 min).

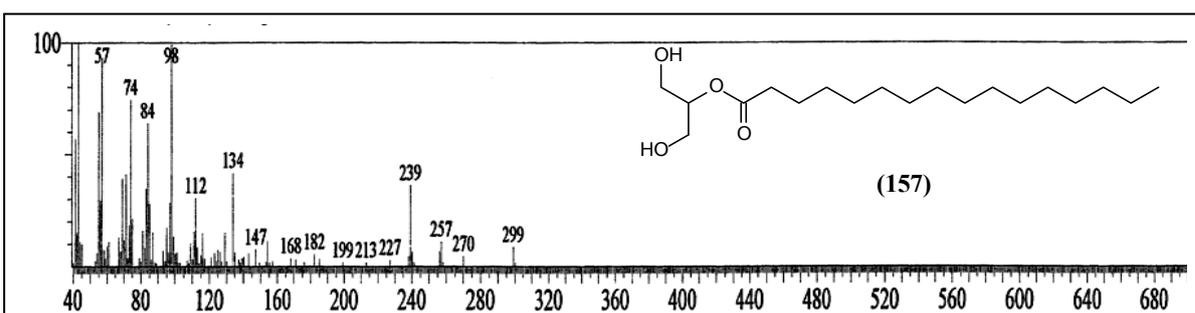


Figura 146. Espectro de massa do 2-monopalmitina (**157**) (Tr = 60,28 min).

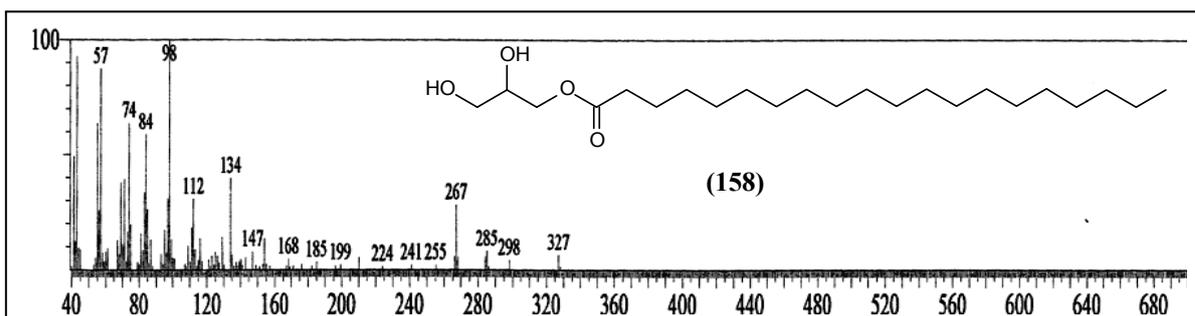


Figura 147. Espectro de massa do 1-monoestearina (**158**) (Tr = 65,67 min).

5.4.2. Constituintes químicos voláteis de OELS-2

Foram identificadas vinte e duas substâncias, representando 98,47% do óleo essencial de folhas de *L. sidoides* obtido através de extração por arraste a vapor (OELS-2); seus índices de retenção em coluna Factor Four/VF-5ms e composição percentual estão listados na Tabela 21. Destes, foram identificados nove hidrocarbonetos monoterpênicos (21,01%), oito monoterpênicos oxigenados (72,21%), quatro hidrocarbonetos sesquiterpênicos (4,70%) e um sesquiterpeno oxigenado (0,55%). Estes dados revelam que os monoterpênicos oxigenados são a classe de compostos mais abundantes em OELS-2. A análise do óleo revelou, ainda, que o timol (**125**) (Figura 168) é o componente majoritário (69,91%) (Tabela 21).

Os cromatogramas obtidos dos experimentos em CG/DIC e CG/EM encontram-se nas Figuras 148 e 149, respectivamente. Os espectros de massa e as fórmulas estruturais dos constituintes são apresentados nas Figuras 150 a 171.

Amostra de OELS-2 foi avaliada quanto a atividade carrapaticida contra larvas e ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* e de *Amblyomma cajennense*. Os ensaios foram executados no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora-MG.

Tabela 21. Composição química, índice de retenção calculado (IR_C), índice de retenção obtido da literatura (IR_{LIT}) (ADAMS, 2007), tempo de retenção obtido por CG/DIC ($TR_{CG/DIC}$), percentagens dos componentes identificados e das classes (%) no óleo essencial resultante de extração por arraste a vapor de folhas frescas de *Lippia sidoides* Cham. (OELS-2).

Componentes identificados	IR_C	IR_{LIT}	$TR_{CG/DIC}$	%
Hidrocarbonetos monoterpênicos				21,01
α -Tujeno (159)	930	930	11,60	0,16
α -Pineno (89)	938	939	11,92	0,74
β -Pineno (90)	986	979	13,95	0,12
Mirceno (93)	994	990	14,33	3,57
δ -(3)-Careno (160)	1012	1011	15,09	0,17
α -Terpineno (161)	1022	1017	15,45	0,78
<i>o</i> -Cimeno (162)	1035	1026	15,95	14,84
<i>E</i> - β -Ocimeno (163)	1052	1050	16,66	0,04
γ -Terpineno (152)	1065	1059	17,19	0,59
Monoterpenos oxigenados				72,21
6,7-Epoximirceno (164)	1095	1092	18,53	0,20
Linalol (78)	1102	1096	18,88	0,23
Ipsdienol (154)	1164	1145	21,22	0,12
4-Terpineol (146)	1188	1177	22,20	0,16
<i>p</i> -Cimen-8-ol (165)	1198	1182	22,62	0,26
α -Terpineol (102)	1202	1188	22,79	0,49
Timol metil éter (155)	1236	1235	24,02	0,84
Timol (125)	1315	1290	26,96	69,91
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos				4,70
α -Ylangeno (166)	1385	1375	29,43	0,11
β -Cariofileno (81)	1433	1419	31,07	4,04
α -Humuleno (112)	1467	1454	32,21	0,21
Viridifloreno (167)	1487	1496	32,88	0,34
Sesquiterpeno oxigenado				0,55
Óxido de cariofileno (87)	1597	1583	36,36	0,55
Total				98,47

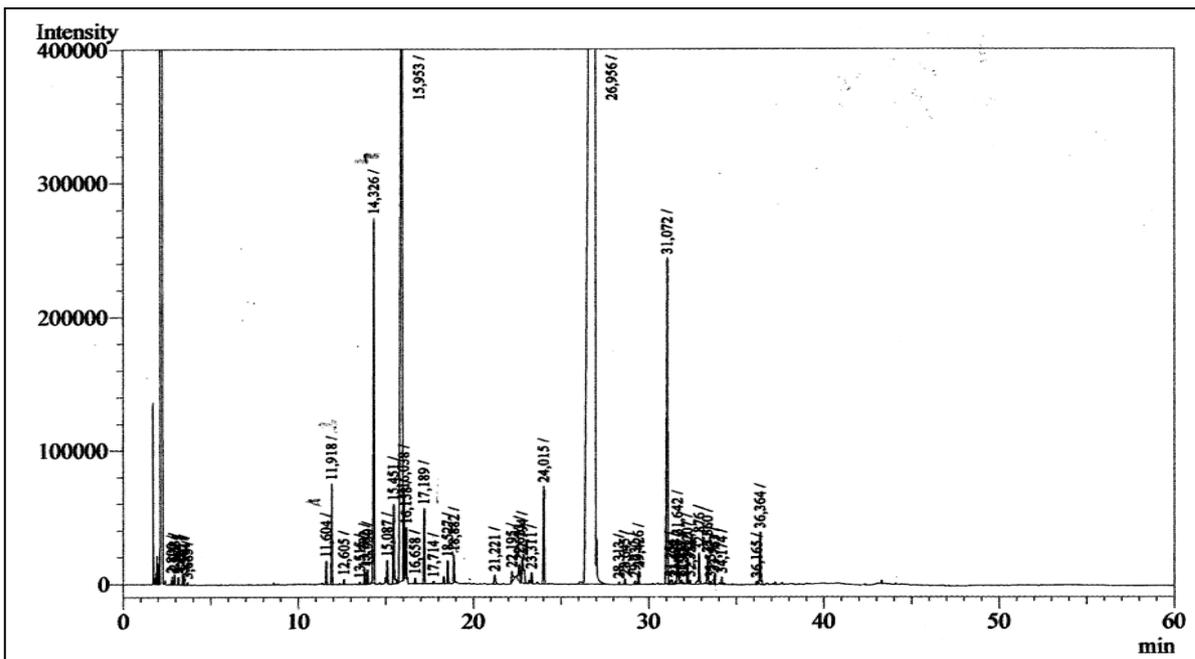


Figura 148. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* OELS-2 obtido no experimento de CG/DIC.

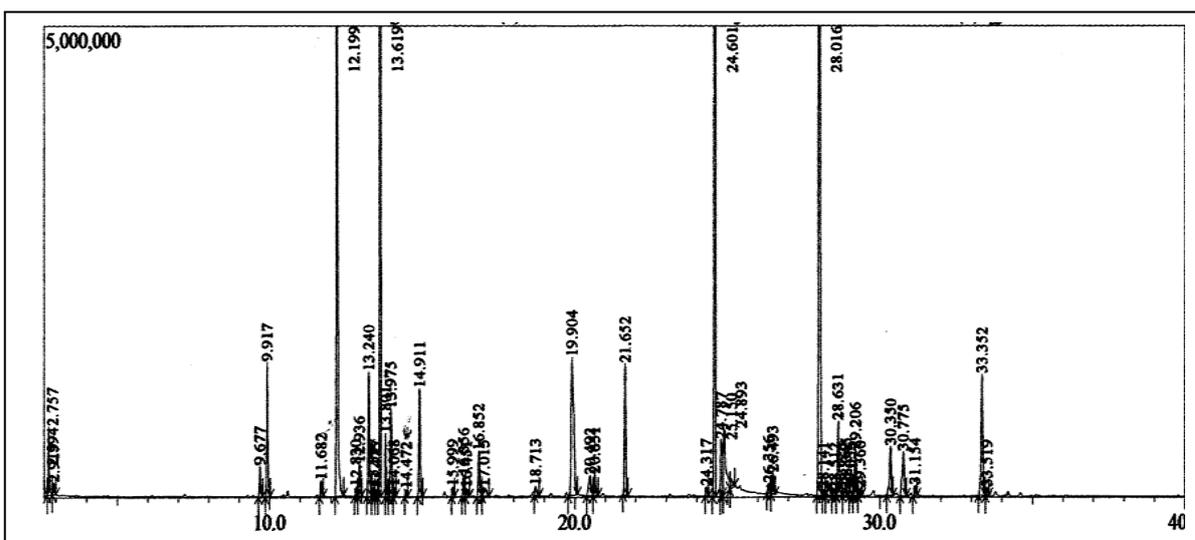


Figura 149. Cromatograma de óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* OELS-2 obtido no experimento de CG/EM.

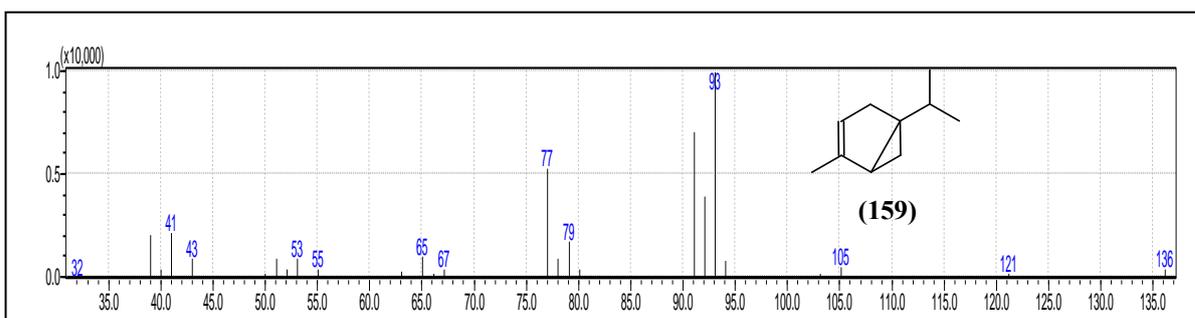


Figura 150. Espectro de massa do α -tujeno (159) (Tr = 9,68 min).

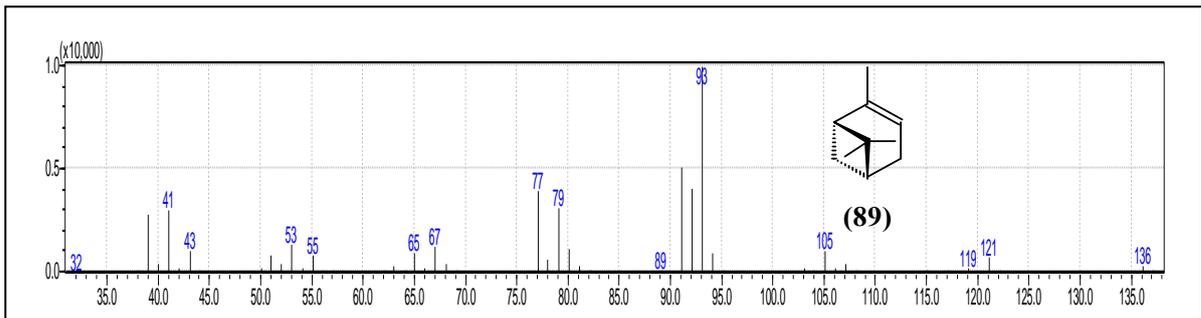


Figura 151. Espectro de massa do α -pineno (**89**) (Tr = 9,92 min).

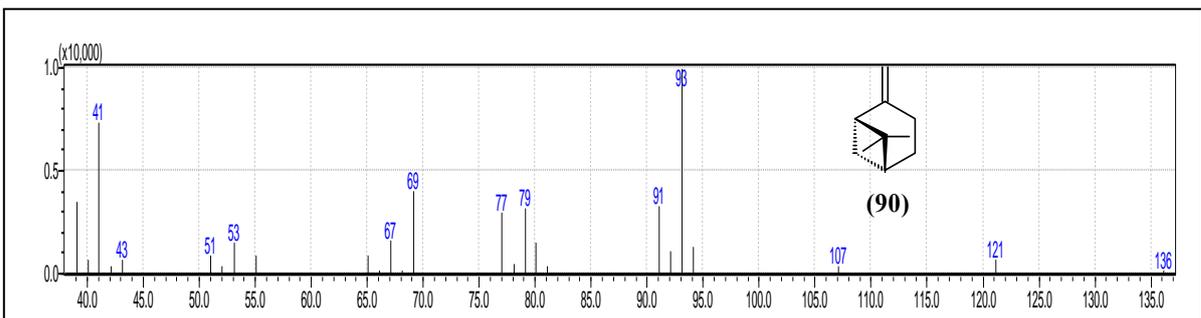


Figura 152. Espectro de massa do β -pineno (**90**) (Tr = 11,68 min).

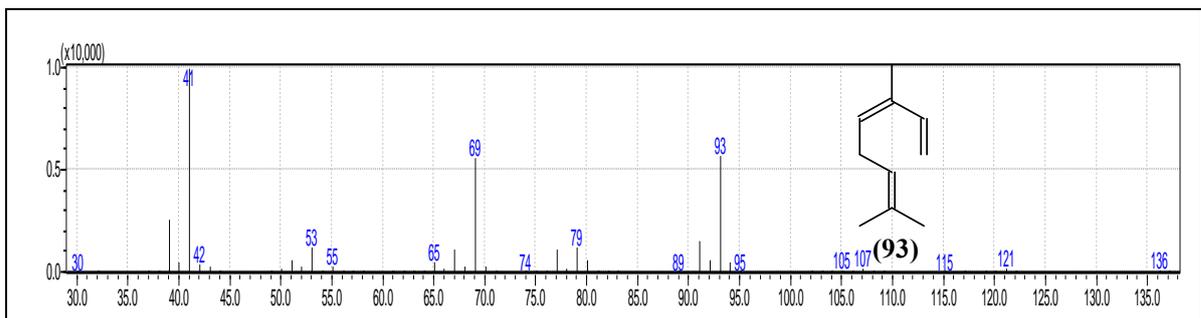


Figura 153. Espectro de massa do mirceno (**93**) (Tr = 12,20 min).

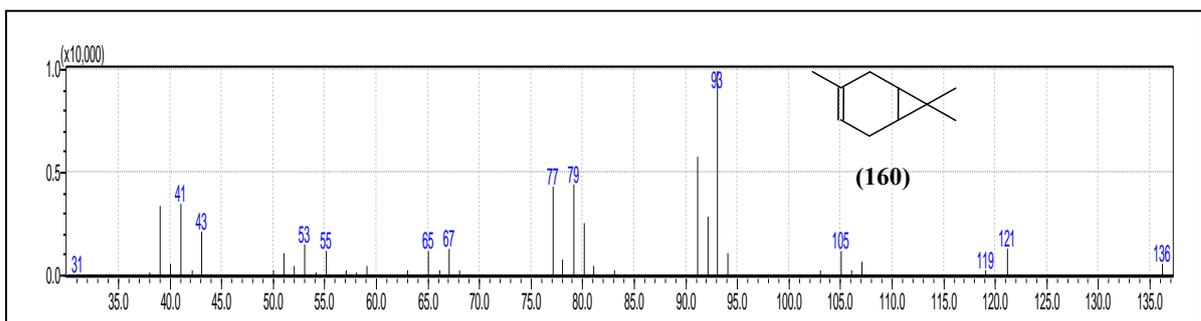


Figura 154. Espectro de massa do δ -(3)-careno (**160**) (Tr = 12,94 min).

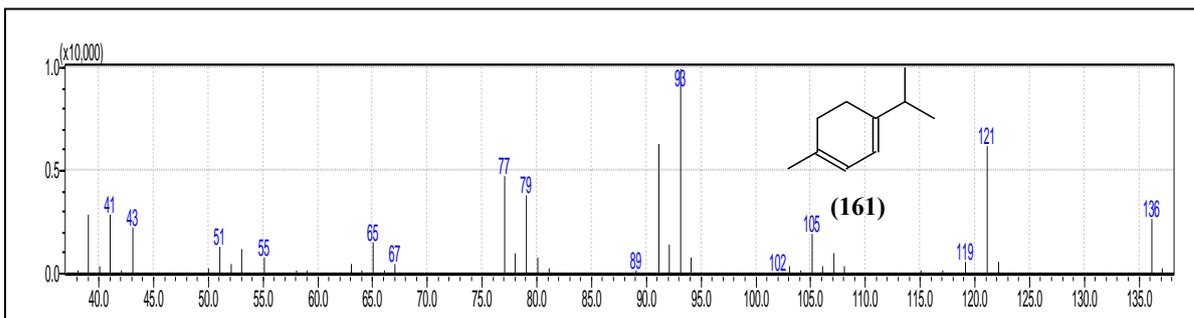


Figura 155. Espectro de massa do α -terpineno (161) (Tr = 13,24 min).

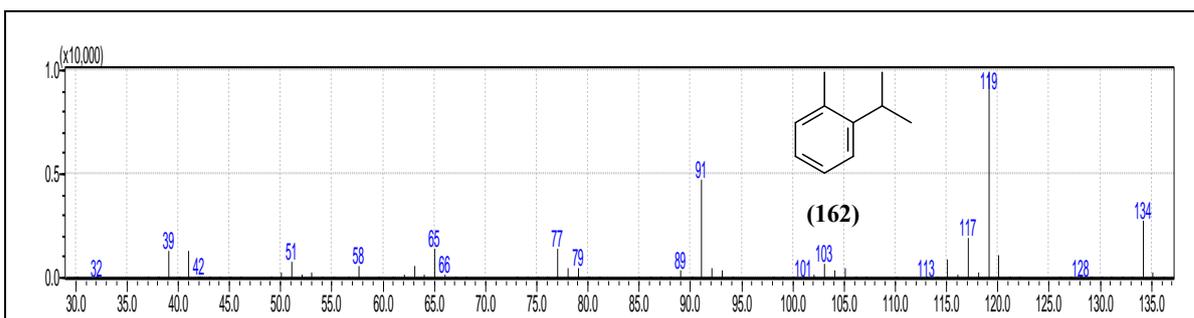


Figura 156. Espectro de massa do *o*-cimeno (162) (Tr = 13,62 min).

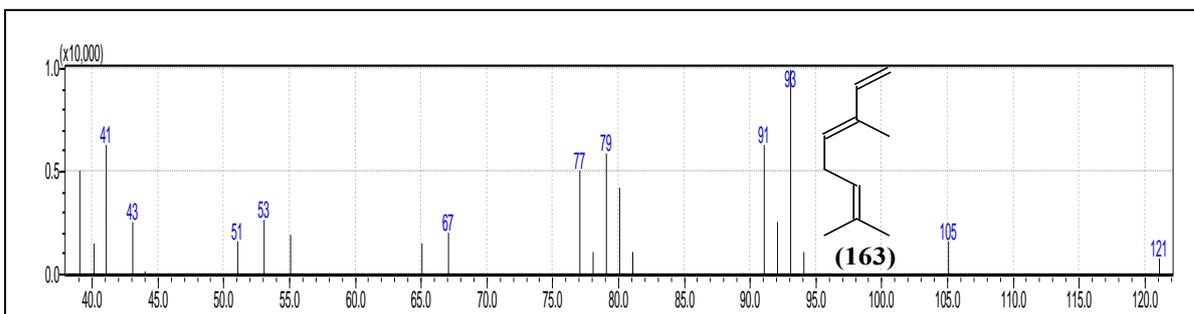


Figura 157. Espectro de massa do *E*- β -ocimeno (163) (Tr = 14,47 min).

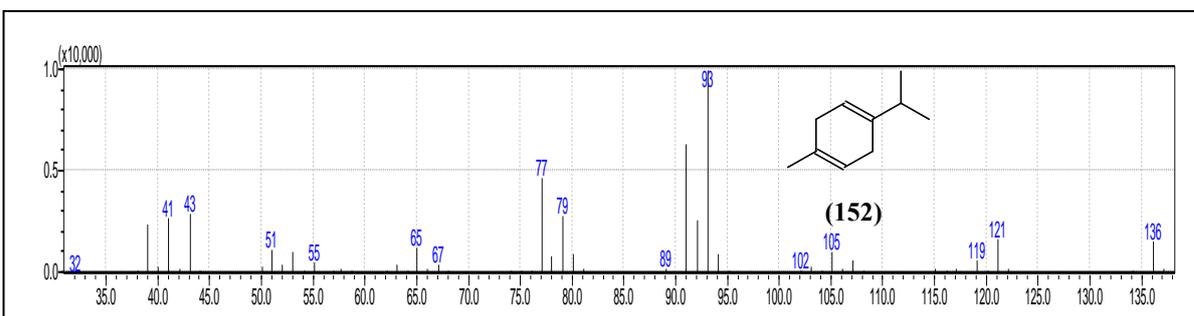


Figura 158. Espectro de massa do γ -terpineno (152) (Tr = 14,91 min).

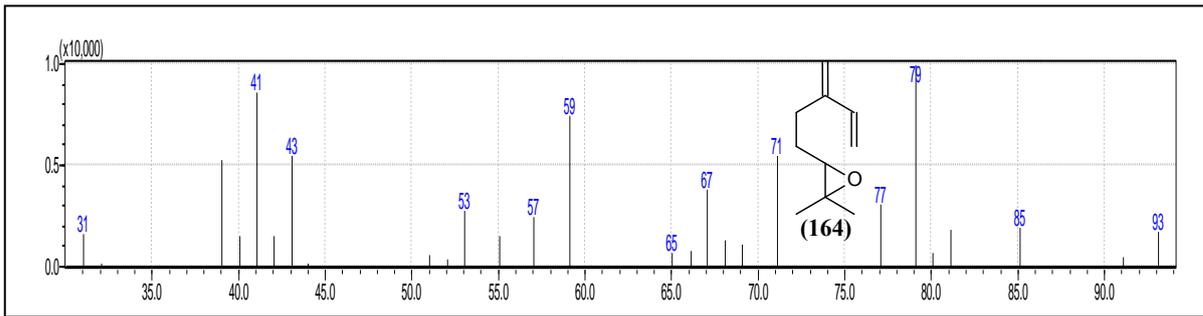


Figura 159. Espectro de massa do 6,7-epoximirceno (**164**) (Tr = 16,45 min).

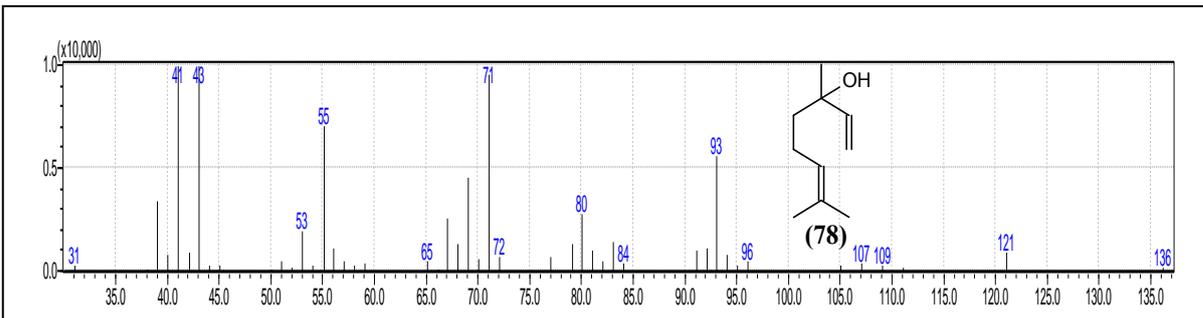


Figura 160. Espectro de massa do linalol (**78**) (Tr = 16,85 min).

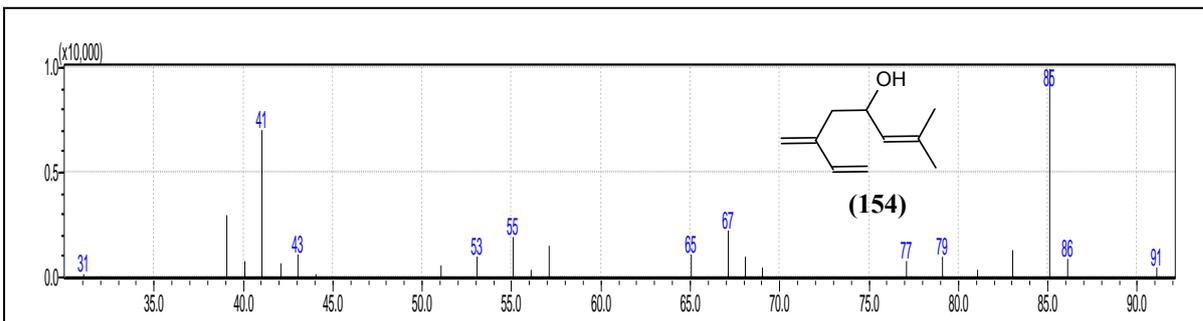


Figura 161. Espectro de massa do ipsdienol (**154**) (Tr = 18,71 min).

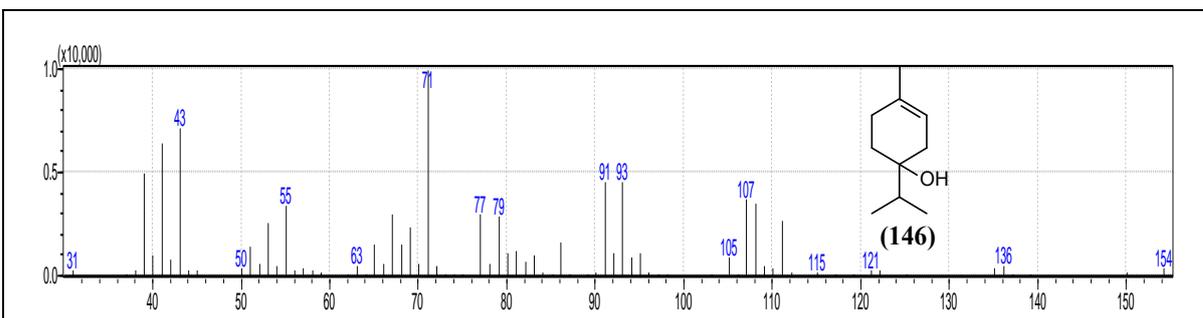


Figura 162. Espectro de massa do 4-terpineol (**146**) (Tr = 19,90 min).

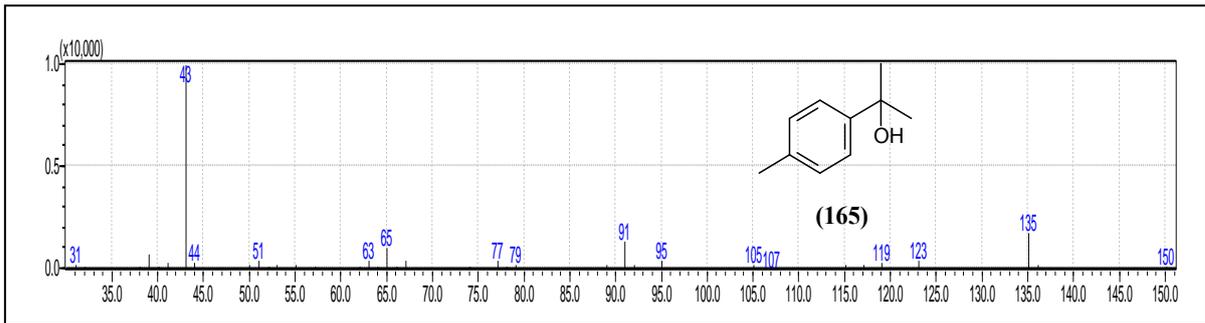


Figura 163. Espectro de massa do *p*-cimen-8-ol (**165**) (Tr = 20,49 min).

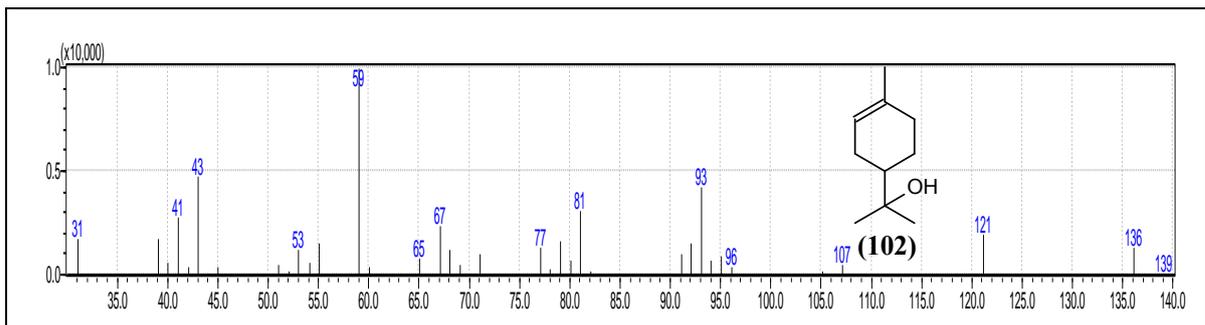


Figura 164. Espectro de massa do α -terpineol (**102**) (Tr = 20,65 min).

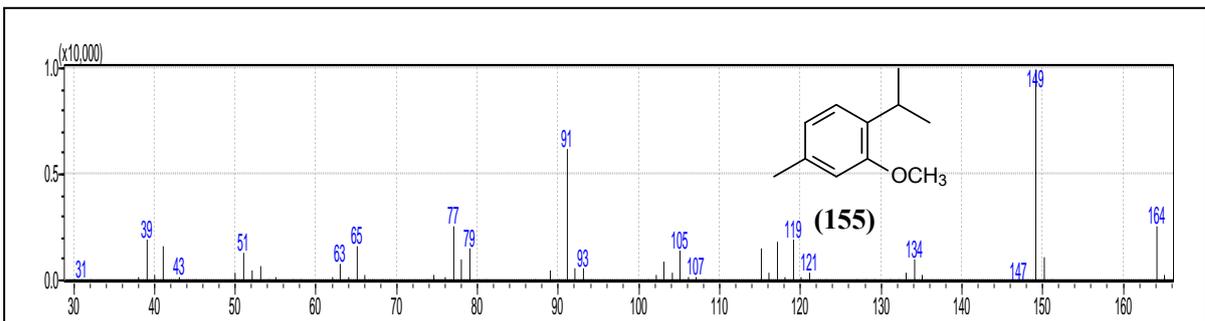


Figura 165. Espectro de massa do timol metil éter (**155**) (Tr = 21,65 min).

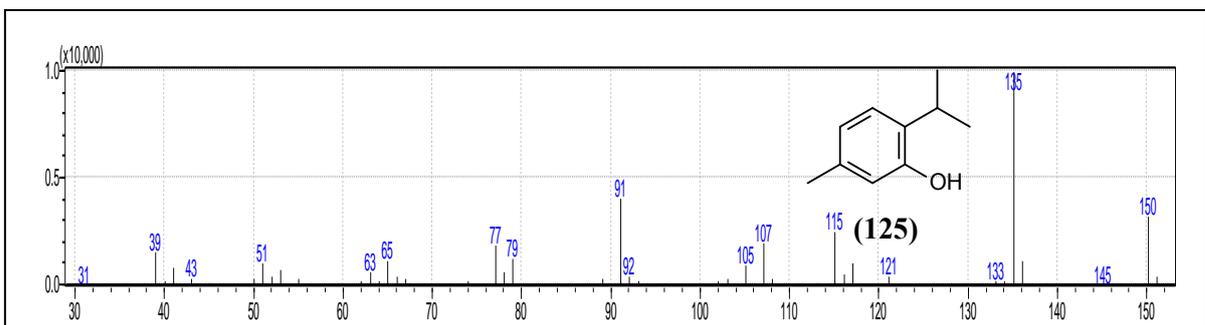


Figura 166. Espectro de massa do timol (**125**) (Tr = 24,60 min).

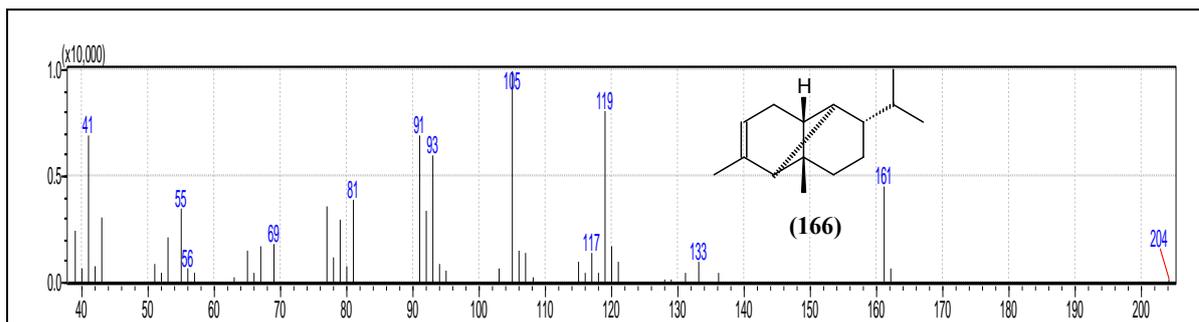


Figura 167. Espectro de massa do α -ylangeno (**166**) (Tr = 26,49 min).

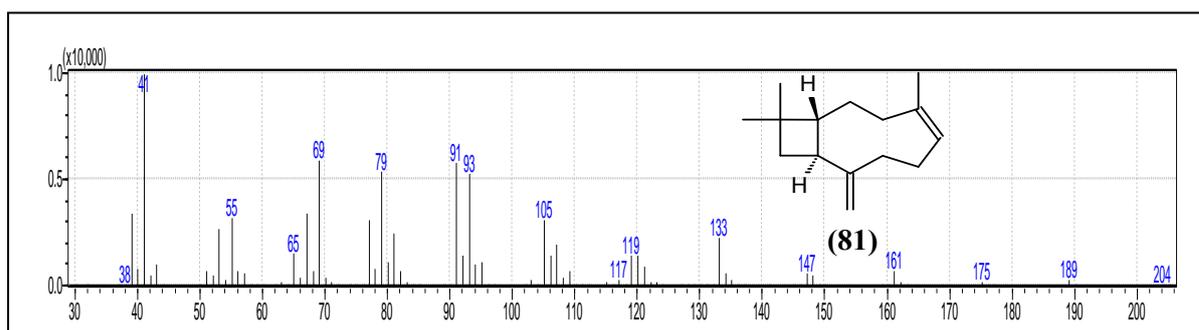


Figura 168. Espectro de massa do β -cariofileno (**81**) (Tr = 28,02 min).

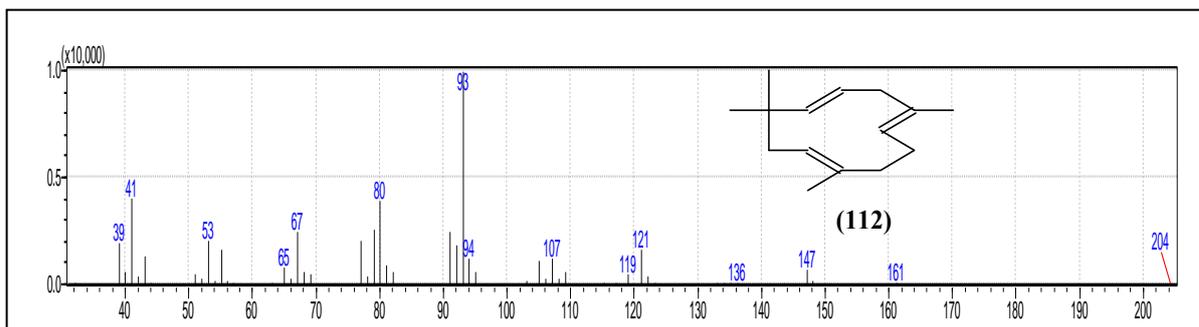


Figura 169. Espectro de massa do α -humuleno (**112**) (Tr = 29,21 min).

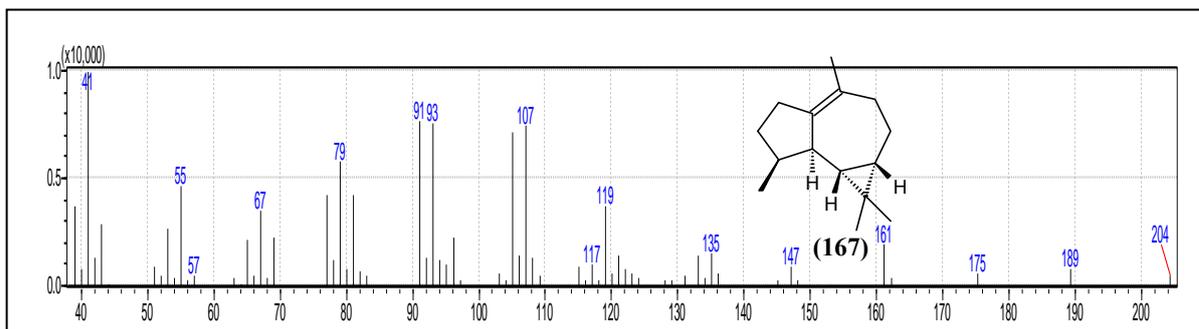


Figura 170. Espectro de massa do viridifloreno (**167**) (Tr = 30,35 min).

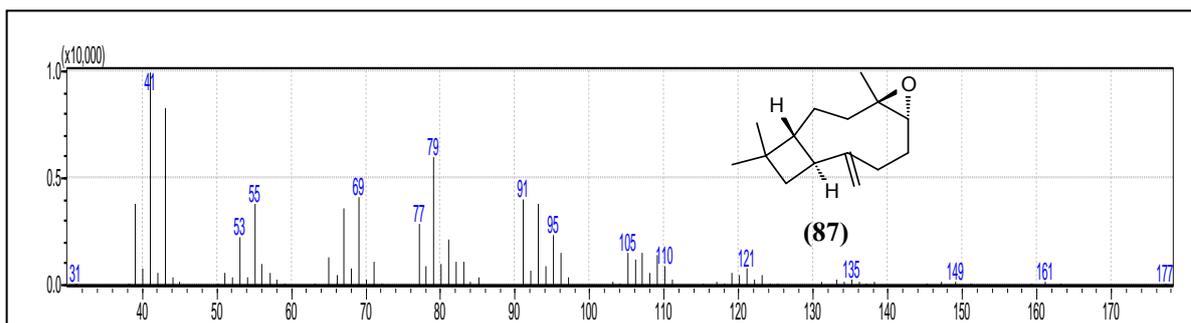


Figura 171. Espectro de massa do óxido de cariofileno (**87**) (Tr = 33,35 min).

Ao comparar os perfis químicos dos óleos essenciais de folhas de *Lippia sidoides* OELS-1 (obtido por hidrodestilação) (Tabela 20, pág. 148) e OELS-2 (extraído por arraste a vapor) (Tabela 21, pág. 154), verificaram-se algumas semelhanças: monoterpenos oxigenados como classe de compostos mais abundantes (78,71 e 72,21%), sendo OELS-1 mais rico nesta classe de substâncias; presença de oito componentes em comum, a saber: γ -terpineno (**152**) (0,52 e 0,59%), ipsdienol (**154**) (0,55 e 0,12%), 4-terpineol (**146**) (0,55 e 0,16%), α -terpineol (**102**) (0,51 e 0,49%), timol metil éter (**155**) (0,60 e 0,84%), timol (**125**) (67,60 e 69,91%), β -cariofileno (**81**) (2,36 e 4,04%) e óxido de cariofileno (**87**) (1,03 e 0,55%) (Figura 130, pág. 147) ocorrendo maiores teores das substâncias (**154**), (**146**), (**102**) e (**87**) em OELS-1 e as demais em OELS-2; e (**125**) como constituinte majoritário, apresentando maior teor deste monoterpeno em OELS-2 (69,91%).

Um estudo realizado com óleos obtidos por hidrodestilação de folhas de *L. sidoides* coletadas em quatro acessos diferentes revelou que os teores dos óleos variaram de 5,35 a 8,0% (m/v) enquanto a percentagem de timol (**125**) presente nestes óleos variou de 7,25 a 70,3% (CAVALCANTI *et al.*, 2010). Lima e colaboradores (2011b) obtiveram, pelo mesmo método, óleo de *L. sidoides* com 1,8% de rendimento (m/m) tendo em sua composição 2,30% de timol (**125**).

Utilizando o método de obtenção por arraste a vapor, Sousa e colaboradores (2002), Calvalcanti e colaboradores (2004) e Camurça-Vasconcelos e colaboradores (2007) obtiveram óleo essencial de *L. sidoides* de três localidades diferentes do nordeste do Brasil com teores de timol (**125**) de 22,37, 80,80 e 59,65 %, respectivamente.

Fatores ambientais, como sazonalidade, ritmo circadiano, estágio de desenvolvimento e idade do vegetal, temperatura, disponibilidade de água, radiação UV e nutrientes do solo, podem alterar a concentração de metabólitos secundários em plantas (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Além das condições edafoclimáticas, diferentes processos de obtenção podem influenciar no teor e na composição de um óleo essencial (SIMÕES & SPITZER, 2010). Estes fatores podem explicar a variação na composição ocorrida entre OELS-1 e OELS-2, e entre a constituição química destes com aquelas relatadas na literatura para o óleo essencial de *L. sidoides*.

Essas discrepâncias observadas nos óleos de *L. sidoides* também foram verificadas nos óleos obtidos de *M. ovata* relatados neste trabalho, assim, as informações acima podem ser úteis para explicar algumas diferenças encontradas quando se compara as composições químicas de OEMO-1 (Tabela 18, pág. 139) e OEMO-2 (Tabela 19, pág. 142).

Os constituintes químicos timol (**125**) e β -cariofileno (**81**), detectados nos óleos essenciais de *L. sidoides* analisados em nosso estudo, são geralmente encontrados no gênero *Lippia* (PASCUAL *et al.*, 2001).

A diferença na composição química existente entre óleos essenciais de determinada espécie vegetal pode influenciar diretamente nas propriedades biológicas. As atividades biológicas anteriormente relatadas para *L. sidoides* (Item 3.2.1, pág. 17) podem estar

relacionadas à presença de timol (**125**) no óleo, que também pode ser encontrado entre os componentes de óleos essenciais de várias espécies do gênero *Lippia* como: *L. adoënsis* Hochst., *L. trifida* C. Gay, *L. seriphioides* A. Gray, *L. organoides* HBK, *L. graveolens* H.B.K., *L. grandis* Martius & Schau. (TERBLANCHE & KORNELIUS, 1996), *L. microphylla* Cham., *L. gracilis* HBK (LEMOS *et al.*, 1992), *L. grata* Schau., *L. alnifolia*, Schau. (CRAVEIRO *et al.*, 1981) e *L. grandifolia* Martius et Shau (MWANGI *et al.*, 1992). nos das espécies *Thymus vulgaris* L., *Monarda punctata* L. pertencentes à família Lamiaceae (SOUSA *et al.*, 2004).

Timol (**125**), além de atividade antimicrobiana (DORMAN & DEANS, 2000; LAMBERT *et al.*, 2001, ADAM *et al.*, 1998; MANOHAR *et al.*, 2001; BOTELHO *et al.*, 2007; NOSTRO *et al.*; 2007), atua como antiprotozoário contra a *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Stephens & Fantham 1910), *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Protozoa: Kinetoplastida), *Leishmania donovani* (Laveran & Mesnil, 1903) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) e *Plasmodium falciparum* (Welch 1897) (Apicomplexa: Haemosporida) (TASDEMIR *et al.*, 2006), larvicida contra larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) (CARVALHO *et al.*, 2003), anti-helmíntico frente o nematoide *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (Nematoda: Trichostrongylidae) (CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007), moluscicida sobre *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca: Gastropoda) (BEZERRA *et al.*, 1981) e acaricida frente ao carrapato *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) (SCORALIK *et al.*, 2012).

6. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

6.1. Introdução

Nos organismos aeróbios, os processos metabólicos produzem continuamente radicais livres com elétron desemparelhado localizado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio, sendo denominados de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou espécies reativas de nitrogênio (ERN), respectivamente. Os radicais livres exercem as funções de produção de energia, fagocitose, controle do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de compostos biológicos relevantes (BARREIROS *et al.*, 2006).

No entanto, se a produção destas espécies químicas superar a capacidade antioxidante em um organismo vivo, ERO e ERN podem reagir com lipídios, proteínas e com o DNA, conduzindo a dano estrutural e/ou funcional nas células, enzimas e material genético (HUSAIN *et al.*, 1987).

Estes danos oxidativos geram, frequentemente, várias patologias em seres humanos, como o câncer, a aterosclerose, a *Diabetes mellitus*, a artrite reumatoide, a distrofia muscular, a catarata, as desordens neurológicas e o processo de envelhecimento (ROCHA *et al.*, 2007).

A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena (por ex., superóxido dismutase), ou são obtidas da dieta alimentar e outras fontes. Destas últimas, as mais conhecidas são: vitamina E, vitamina C, polifenóis, selênio e carotenoides. Os antioxidantes têm a capacidade de estabilizar ou desativar as espécies reativas antes que ataquem os alvos biológicos nas células (SOUSA *et al.*, 2007).

Durante o processamento e a estocagem, os óleos, as gorduras e os alimentos que os contêm estão susceptíveis, durante o processamento e a estocagem, a reações de hidrólises e oxidações que podem alterar, de modo indesejável, as características do produto final. Os antioxidantes sintéticos fenólicos são amplamente utilizados pela indústria de alimentos como inibidores da lipoperoxidação. Entretanto, estas substâncias têm-se apresentadas tóxicas em altas doses (MORAIS *et al.*, 2006)

As plantas biossintetizam vários antioxidantes para regular o estresse oxidativo causado pela ação dos raios solares e do oxigênio, podendo representar fontes de novas substâncias com propriedade antioxidante. Muitos grupos de pesquisa têm estudado a natureza química e a ação de antioxidantes de origem natural (MORAIS *et al.*, 2007).

Visando a busca e a identificação de novos antioxidantes naturais promissores para aplicação nas indústrias farmacêuticas e de alimentos, além de selecionar extratos vegetais e frações obtidas destes que se destaquem pela ação sequestradora de radicais livres para realização de estudo fitoquímico; extratos obtidos de folhas e de caule e galhos de *M. ovata*, bem como frações oriundas destes (Fluxogramas 2 e 8, págs. 24 e 34, respectivamente) e óleo essencial de folhas desta espécie (Fluxograma 1, pág. 23) tiveram suas atividades antioxidante testadas pelo método de sequestro do radical DPPH.

6.2. Resultados e Discussão

A Tabela 22 apresenta os valores de CE_{50} obtidos para cada amostra avaliada. A concentração eficiente CE_{50} é a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (SOUSA *et al.*, 2007). Dentre as amostras analisadas as que apresentaram maior atividade antioxidante, em relação ao padrão vitamina C, foram FAEF-MO ($CE_{50} = 3,06 \cdot 10^{-3}$ mg/mL), seguido por FAECG-MO ($CE_{50} = 3,19 \cdot 10^{-3}$), ECG-MO ($CE_{50} = 3,25 \cdot 10^{-3}$) e FCEF-MO ($CE_{50} = 3,87 \cdot 10^{-2}$ mg/mL).

FAEF-MO, o material mais ativo, forneceu as substâncias astilbina (**135**), quercetina (**136**), 4,5-di-*O*-cafeoilquinato de metila (**137**) e engeletina (**138**) (Figura 172), após sucessivos fracionamentos cromatográficos (Fluxogramas 5, 6 e 7, págs. 29, 30 e 33, respectivamente). A literatura relata a ação antioxidante para estes compostos fenólicos (HAYEK *et al.*, 1997; CHOPRA *et al.*, 2000; ITHARAT *et al.*, 2007; HUNG *et al.*, 2008; PETACCI *et al.*, 2010), o que pode explicar o melhor resultado apresentado por FAEF-MO em relação a essa propriedade.

FAECG-MO, devido ao seu elevado efeito antioxidante (Tabela 22), deverá ser submetida, posteriormente, a estudo fitoquímico com a finalidade de isolamento, purificação e identificação dos constituintes que conferem a essa fração atividade antirradicalar. Os componentes dessa fração podem ter sido os responsáveis pelo poder antioxidante exibido por ECG-MO, extrato que após cromatografia filtrante forneceu FAECG-MO.

Considerando que os flavonoides são compostos fenólicos conhecidos pela sua ação antioxidante (BARREIROS *et al.*, 2006), sugere-se, então, que a atividade antioxidante observada em FCEF-MO (Tabela 22) esteja relacionada com a presença dos flavonoides 6-metilteocrisina (**126**), teocrisina (**127**), 8-metilteocrisina (**128**) (Figura 172) em sua composição (Fluxograma 4, pág. 28). Esses constituintes fenólicos representam aproximadamente 21,58 % da fração. Embora esses compostos também estejam presentes em FHEF-MO juntamente com os flavonoides 2,5-dihidroxi-6-metil-7-metoxiflavanona (**133**), 2,5-dihidroxi-8-metil-7-metoxiflavanona (**134**) (Figura 164) (Fluxograma 3, pág. 27), essa fração foi menos ativa que FCEF-MO e o padrão vitamina C, provavelmente devido ao baixo teor (12,56%) dessas substâncias fenólicas em sua constituição.

Apesar de FHEF-MO e FCEF-MO serem abundantes em flavonoides, essas frações exibiram efeito antirradicalar menor que FAEF-MO, FAECG-MO e ECG-MO (Tabela 22). Este resultado pode ser explicado pelo fato dos flavonoides constituintes de FHEF-MO e FCEF-MO serem monoidroxilados (C-5), além disso, a ausência de dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 somente no caso das substâncias (**133**) e (**134**). De acordo com a literatura, as características estruturais que potencializam a atividade antioxidante em flavonoides, são: a presença de sistema orto-dihidroxi no anel B, a existência de grupo hidroxila na posição 3 do anel heterocíclico C e a presença nesse anel de dupla ligação entre C-2 e C-3, conjugada ao grupo 4-oxo (C-4), geralmente, flavonoides monoidroxilados produzem baixa atividade (BARREIROS *et al.*, 2006; SCOTTI *et al.*, 2007). As características descritas acima estão presentes nas substâncias (**135**), (**136**) e (**138**) isoladas de FHEF-MO, material onde se verificou poder antioxidante mais elevado.

Portanto, os resultados obtidos sugerem que *M. ovata* é uma potencial fonte de agentes antioxidantes e a presença de compostos fenólicos em FAEF-MO vem a reforçar os resultados encontrados. FAECG-MO, por conta de sua propriedade antirradicalar, é uma fração promissora para realização de futuro estudo fitoquímico.

Tabela 22. Atividade antioxidante expressa pela concentração eficiente (CE₅₀) de extratos e frações obtidas de *Myrcia ovata*.

AMOSTRAS	CE ₅₀ ± DP (mg/mL)
OEMO-1	0,72±4,2.10 ⁻³
EF-MO	5,43.10 ⁻³ ±3,2.10 ⁻⁴
FHEF-MO	0,62±1,6.10 ⁻²
FCEF-MO	3,87.10 ⁻² ±3,3.10 ⁻³
FAEF-MO	3,06.10 ⁻³ ±7,4.10 ⁻⁵
FMEF-MO	6,75.10 ⁻³ ±1,1.10 ⁻⁴
ECG-MO	3,25.10 ⁻³ ±6,3.10 ⁻⁵
FDECG-MO	0,19±5,0.10 ⁻³
FAECG-MO	3,19.10 ⁻³ ±1,1.10 ⁻⁴
FMECG-MO	4,47.10 ⁻³ ±9,1.10 ⁻⁵
TROLOX	2,6.10 ⁻³ ±2,3.10 ⁻⁴
VITAMINA C	4,3.10 ⁻² ±1,9.10 ⁻²

OEMO-1 = Óleo essencial de folhas de *M. ovata* obtidas da primeira coleta; EF-MO = Extrato etanólico de folhas de *M. ovata*; FHEF-MO = Fração hexânica obtida do extrato etanólico de folhas de *M. ovata*; FCEF-MO = Fração clorofórmica obtida do extrato etanólico de folhas de *M. ovata*; FAEF-MO = Fração acetato de etila obtida do extrato etanólico de folhas de *M. ovata*; FMF-MO = Fração metanólica obtida do extrato etanólico de folhas de *M. ovata*; ECG-MO = Extrato etanólico de caule de galhos de *M. ovata*, FDECG-MO = Fração diclorometano obtida do extrato etanólico de caule de galhos de *M. ovata*; FAECG-MO = Fração acetato de etila obtida do extrato etanólico de caule de galhos de *M. ovata*; FMECG-MO = Fração metanólica obtida do extrato etanólico de caule de galhos de *M. ovata*.

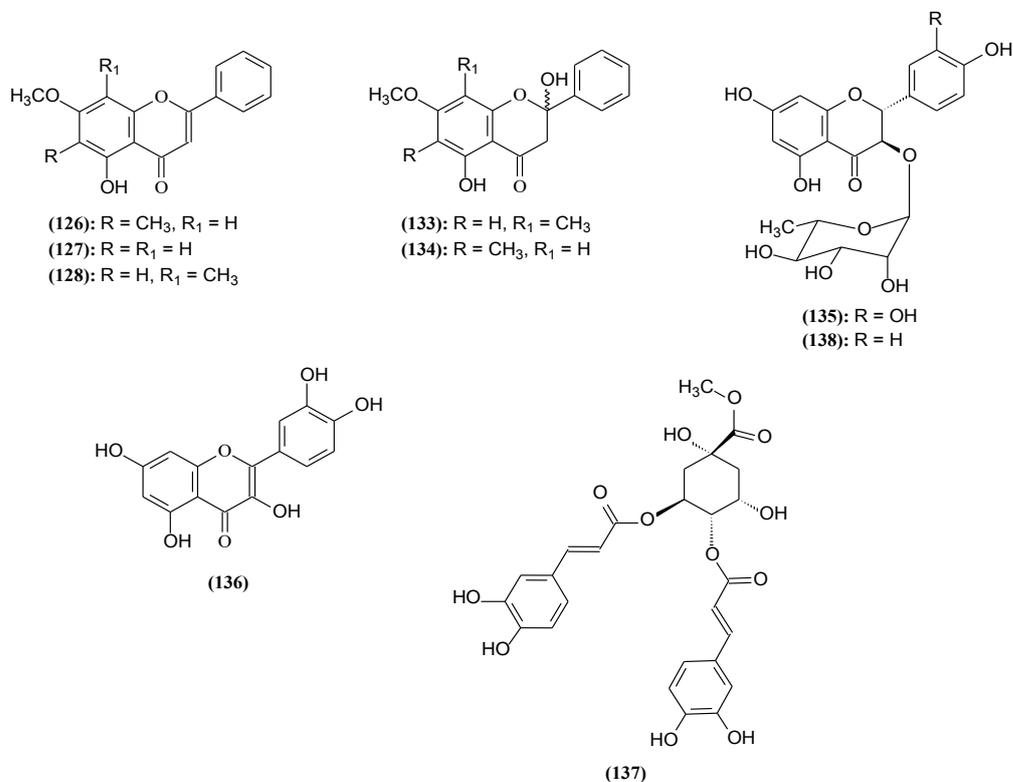


Figura 172. Fórmulas estruturais dos compostos fenólicos obtidos de *Myrcia ovata* Cambess.

7. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

7.1. Considerações sobre Artrópodes Reconhecidos como Pragas da Agricultura e Vetores de Doenças

Os artrópodes são animais invertebrados, de corpo segmentado, membros articulados e toda superfície externa revestida por um exoesqueleto contendo quitina (BRASIL, 2006).

Estima-se que os artrópodes possuem 2,8-10.000.000 de espécies no mundo, destes, apenas aproximadamente 10.000 são reconhecidas como pragas de culturas, cerca de 14% da perda de colheita global e 20% de danos aos grãos armazenados são causados pelos insetos, gerando estimativa de US\$ 100 bilhões em prejuízos por ano. Artrópodes fitófagos são a principal causa desta perda de culturas, estes incluem espécies de insetos das Ordens Coleoptera (besouros), Orthoptera (gafanhotos e grilos) e Lepidoptera (mariposas e borboletas), sendo que está última juntamente com as espécies das Ordens Diptera (moscas verdadeiras), Hemiptera (percevejos), Thysanoptera (tripes) e Acarina (ácaros) são consideradas como pragas importantes. A perda de safras devido aos danos causados por pragas de artrópodes diminui a capacidade de atender a demanda cada vez maior de produção de alimentos para sustento da população mundial (WINDLEY *et al.*, 2012).

Artrópodes também podem atuar como vetores que transmitem moléstias infecciosas de relevância para a saúde humana e veterinária (POHLIT *et al.*, 2011).

Dípteros hematófagos (moscas e mosquitos) são responsáveis por grande variedade de infecções que podem atingir a humanidade, incluindo malária, dengue, febre do Nilo Ocidental, febre amarela, filariose, leishmaniose, encefalite japonesa e tripanossomíase africana (GUBLER, 2009). Outras doenças infecciosas, como a borreliose de Lyme, erliquiose, várias rickettsioses, febre maculosa, tularemia, peste bubônica, doença de Chagas e Bartonella que têm como vetores carrapatos, pulgas, piolhos e triatomíneos (WINDLEY *et al.*, 2012). Destas doenças infecciosas, leishmaniose exemplifica a necessidade de controle de artrópodes transmissores de agente infecciosos, pois considera-se que cerca de 2 milhões de novos casos desta doença ocorrem todos os anos nas zonas endêmicas da América Latina, África, subcontinente indiano, Oriente Médio e a região do Mediterrâneo (READY, 2010).

Enfermidades transmitidas através de artrópodes afetam a pecuária e têm reflexos globais graves para a produção de alimentos de origem animal (ALVES *et al.*, 2012). A peste suína, doença de Akabane, febre efêmera de bovinos, encefalite equina, febre catarral ovina e a febre hemorrágica epizootica têm o potencial de comprometer a saúde dos animais e podem ocasionar sintomas variados: claudicação, cegueira, defeitos congênitos, aborto espontâneo, esterilidade e morte (WINDLEY *et al.*, 2012).

Diante dessa situação, diversas estratégias têm sido empregadas ao longo dos tempos em programas de erradicação e controle de artrópodes que trazem prejuízos a agricultura e a saúde humana e veterinária, como por exemplo, a utilização de praguicidas orgânicos que compreendem os de origem vegetal e os organo-sintéticos (SAITO & LUCCHINI, 1998; VIEGAS JÚNIOR, 2003; VIEIRA *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2012).

7.2. Breve Histórico sobre o Emprego de Pesticidas no Controle de Artrópodes

O emprego de pesticidas é tão antigo quanto à agricultura. Há três mil anos atrás, os romanos, gregos e chineses já conheciam a capacidade do pó de enxofre de controlar insetos (SANTOS *et al.*, 2007).

O uso de plantas como pesticidas tem sido praticado desde tempos imemoriais (KOUL & WALIA, 2009). Na Índia, por volta de 2.000 A.C., já se utilizava inseticidas provenientes de plantas no controle de pragas. No Egito, durante a época dos Faraós, e na China, por volta

do ano de 1.200 A.C., inseticidas de origem vegetal já eram empregados no combate a insetos-praga de grãos armazenados, sendo aplicados diretamente nos grãos ou por fumigação. Já no século XVI os europeus faziam uso de diversas espécies vegetais para efetuarem o controle de insetos (MOREIRA *et al.*, 2006). Nesses relatos pode-se observar que, basicamente, as práticas de controle eram focadas no enfrentamento das pragas agrícolas. No final do século XIX, descobriu-se que certas espécies de insetos e outros artrópodes eram responsáveis pela transmissão de algumas das mais importantes doenças, assim, um enfoque maior foi dado ao combate a esses vetores de patógenos. Para essa finalidade foram utilizadas medidas físicas e aplicação de óleo ou de verde de Paris (acetoarsenito de cobre) nos criadouros (BRAGA & VALLE, 2007).

O uso de inseticidas orgânicos pode ser observado de forma bastante genérica no século XX, segundo três fases: inseticidas orgânicos utilizados entre 1900 a 1950, no período de 1950 até 1970 e nos anos de 1980 em diante (VIEGAS JÚNIOR, 2003).

7.2.1. Breve histórico sobre o emprego de inseticidas orgânicos no controle de pragas e vetores de doenças

7.2.1.1. Inseticidas orgânicos utilizados entre 1900 a 1950

Nos primeiros 50 anos do século XX, produtos naturais de origem inorgânica e orgânica eram bastante empregados no controle de insetos. Dentre os inseticidas orgânicos obtidos de plantas, destacam-se: os alcaloides nicotina (**168**) e *nor*-nicotina (**169**), isolados de espécies de *Nicotiana* L. (Solanaceae); os piretroides piretrina I (**170**) e jasmolina I (**171**), extraídos das flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (Asteraceae), o rotenoide rotenona (**172**), isolado de espécies dos gêneros *Derris* e *Lonchocarpus* (Fabaceae) e o quassinoide quassina (**173**) (Figura 173), obtida do caule de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) (VIEGAS JÚNIOR, 2003, ALMEIDA *et al.*, 2007; GARCEZ *et al.*, 2013).

Nesta época, o Brasil foi um grande produtor e exportador de inseticidas de origem vegetal, como pireto (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), rotenona e nicotina (AGUIAR-MENEZES, 2005).

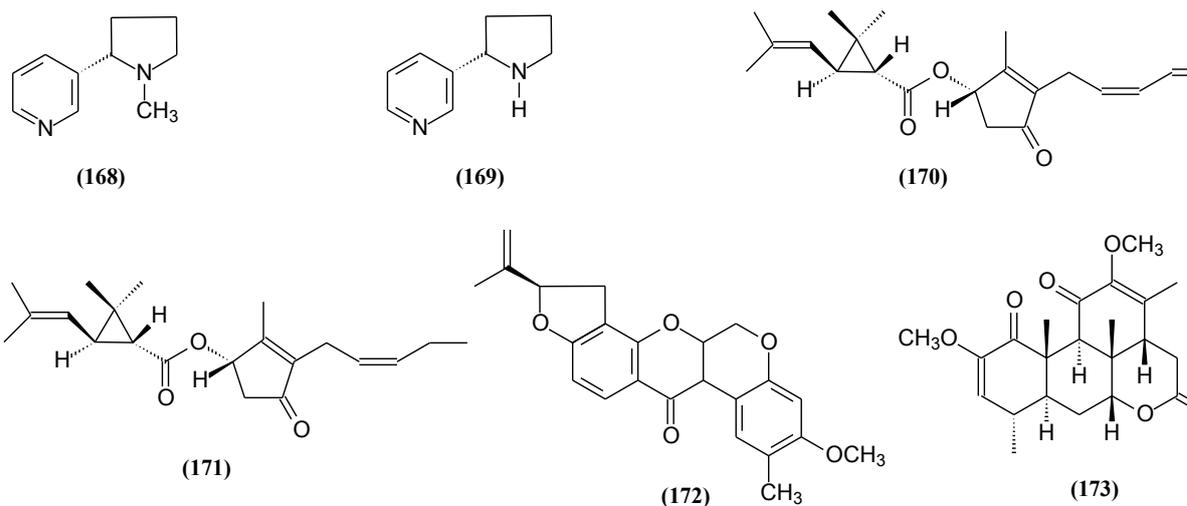


Figura 173. Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos utilizados no período de 1900 até 1950.

7.2.1.2. Inseticidas orgânicos utilizados no período de 1950 até 1970

No período de 1950 a 1970, os inseticidas orgânicos sintéticos substituíram os inseticidas botânicos por conta de variações na eficiência do controle, devido a diferenças na concentração do princípio ativo entre plantas e baixo efeito residual, que conduzia a realização de várias aplicações em períodos curtos (COSTA *et al.*, 2004). Nessa época, passaram a ser utilizados o DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano] (174), HCH (hexacloroexano) (175), aldrin (176), dieldrin (177) e clordano (178) (Figura 174), conhecidos como inseticidas organoclorados, substâncias mais potentes e mais específicas que os fitoinseticidas (VIEGAS JÚNIOR, 2003, GARCEZ *et al.*, 2012).

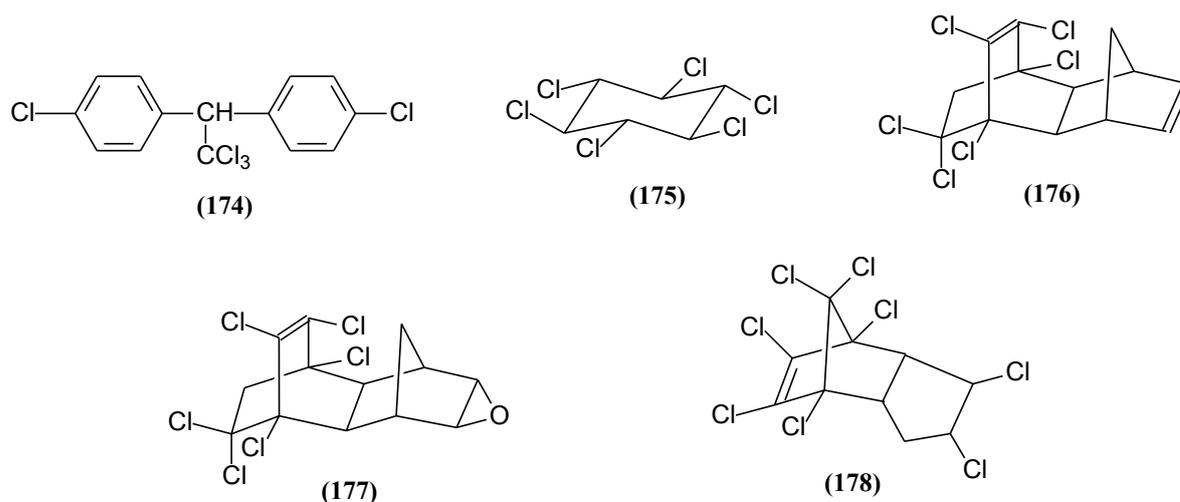


Figura 174. Fórmulas estruturais dos inseticidas orgânicos utilizados no período de 1950 até 1970.

Os pesticidas orgânicos sintéticos, incluindo o DDT, começaram a ser utilizados em grande escala na década de 1940, durante a Segunda Guerra Mundial, com a finalidade de proteger os soldados das regiões tropicais e subtropicais da África e da Ásia, de pragas transmissoras de doenças. Posteriormente o DDT seria empregado no combate a pragas agrícolas (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012).

Em função de sua persistência no meio ambiente os inseticidas organoclorados têm sido responsabilizados como agentes poluidores. Acumulam-se nos tecidos adiposos do homem, causam redução de fertilidade em animais e desequilíbrios biológicos na natureza, ressaltando que muitas espécies de insetos se tornaram resistentes a esses inseticidas sintéticos (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

Em 1962, escritora Rachel Carson em seu livro “Silent Spring” (Primavera Silenciosa) denomina o DDT de “elixir da morte” e faz uma denúncia pública sobre os efeitos adversos causados pela a ação desse pesticida em aves. Além disso, Carson descreve como o DDT penetrava na cadeia alimentar e se acumulava nos tecidos gordurosos dos animais, inclusive nos dos homens, com risco de causar câncer e alterações genéticas (JARDIM *et al.*, 2009).

“Silent Spring” desencadeou o surgimento de um novo paradigma, resultando em mudanças nas concepções dos cientistas e, como consequência, em seus trabalhos investigativos. Assim, a comunidade científica passou a procurar entender melhor o processo de interação inseto-planta e, desta forma, respeitar mais os mecanismos de adaptação da natureza (VIEGAS JÚNIOR, 2003; JARDIM *et al.*, 2009).

7.2.1.3. Inseticidas orgânicos utilizados nos anos de 1980 em diante

A partir da década de 1980 em diante, novos pesticidas passaram a ser planejados e sintetizados levando-se em consideração a maior seletividade a pragas específicas, procurando preservar os demais animais do mesmo habitat, incluindo predadores naturais dos insetos. A biodegradabilidade foi outra importante propriedade almejada no desenvolvimento da nova geração de pesticidas (VIEIRA *et al.*, 2010). Baseados nestes requisitos foram sintetizados inseticidas orgânicos das classes dos organofosforados, carbamatos e piretroides (GARCEZ *et al.*, 2013).

Os organofosforados foram desenvolvidos durante a Segunda Guerra Mundial para serem empregados como armas químicas. Este grupo de pesticidas apresenta maior toxicidade contra insetos em relação aos organoclorados, mas possui maior biodegradabilidade, portanto, é imprescindível um maior número de aplicações para obter o mesmo efeito que o dos organoclorados. Além disso, mesmo em doses relativamente baixas os organofosforados são mais tóxicos para os vertebrados que os organoclorados. Parathion (**179**), clorlotion (**180**) e temephos (**181**) (Figura 175) são alguns exemplos de inseticidas organofosforados (BRAGA & VALLE, 2007; DOS SANTOS *et al.*, 2007; BRAIBANTE & ZAPPE, 2012).

Ao contrário dos organofosforados, os praguicidas carbamatos foram desenvolvidos a partir de produto de origem vegetal. Em 1925 foi determinada a fórmula estrutural do princípio ativo das sementes de *Physostigma venenosum* Balf. (Fabaceae). A substância isolada, conhecida como eserina, que possui em sua fórmula estrutural o grupo carbamato (-NH(CO)O-), é responsável pelas propriedades medicinais e tóxicas da planta. Após a elucidação estrutural da eserina, foram sintetizados análogos com atividade inseticida. O carbaril (**182**), propoxur (**183**) e aldicarb (**184**) (Figura 175) são exemplos de inseticidas carbamatos. (SANTOS, 2002; BRAIBANTE & ZAPPE, 2012).

Assim como ocorreu na obtenção dos pesticidas carbamatos, os produtos naturais foram empregados como protótipo para o desenvolvimento dos piretroides sintéticos. Em relação aos piretróides naturais, os sintéticos possuem a vantagem de serem fotoestáveis. Dentre os novos inseticidas desta classe estão a aletrina (**185**), fenotrina (**186**) e fenvalerato (**187**) (VIEIRA *et al.*, 2001) (Figura 175).

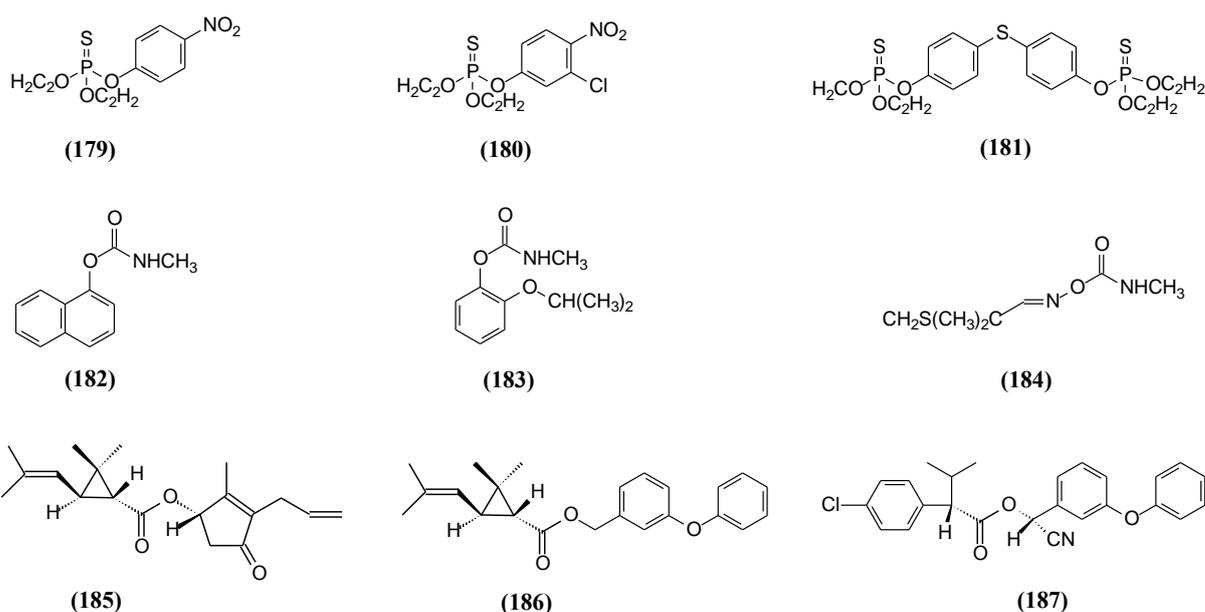


Figura 175. Fórmulas estruturais de inseticidas orgânicos utilizados no período de 1980 em diante.

Inseticidas/acaricidas sintéticos, incluindo hidrocarbonetos clorados, ésteres organofosforados, carbamatos e piretroides sintéticos continuam a contribuir para a produção mundial de alimentos nas últimas décadas e para prevenção e controle de doenças e em humanos e animais (VIEGAS JÚNIOR, 2003; MACIEL *et al.*, 2010; ALVES, 2012). No entanto, a ampla utilização dessas substâncias traz algumas consequências danosas para o meio ambiente, como: poluição das águas subterrâneas, eutrofização do rio, erosão do solo, uso excessivo de água, desenvolvimento de ervas daninhas, surgimento de populações de artrópodes-pragas resistentes ao controle químico, fitotoxicidade, efeito sobre outros organismos não-alvo, bloqueio do sistema de controle biológico de inimigos naturais, ocasionando surtos de insetos-praga. Além disso, podem causar impacto negativo na saúde com intoxicações humanas e suas doenças relacionadas (BORGES *et al.*, 2007; CORREA & SALGADO, 2011; BOULOGNE *et al.*, 2012).

Por conta desses fatores e pelo custo elevado para o desenvolvimento de praguicidas sintéticos, surgiu a necessidade de modificar a maneira de combater os artrópodes-praga, sendo retomadas as investigações nas diversas áreas, dentre elas, a obtenção de biopesticidas a partir de plantas (SAITO & LUCCHINI, 1998; MACIEL *et al.*, 2010).

7.3. Considerações sobre Produtos Naturais de Origem Vegetal com Atividades contra Artrópodes

As plantas possuem um arsenal de estratégias de defesa contra artrópodes herbívoros, com a finalidade reduzir a perda de tecido fotossintético. Os vegetais desenvolveram dois tipos de defesa contra artrópodes, a direta e a indireta. Participam da defesa direta órgãos como tricomas e espinhos além de substâncias como sílica, metabólitos secundários, enzimas e proteínas, que prejudicam diretamente a performance desses organismos. Na defesa indireta estão envolvidas substâncias biossintetizadas pela planta, que auxiliam no recrutamento de inimigos naturais desses herbívoros (SIMAS *et al.*, 2004)

As fitotoxinas ou aleloquímicos, substâncias orgânicas de baixo peso molecular geralmente biossintetizadas pelo metabolismo secundário de plantas, são responsáveis pela defesa química contra microorganismos, moluscos, espécies vegetais concorrentes e artrópodes. Além de extremamente úteis na defesa, os metabólitos secundários de plantas exercem as funções de atração de polinizadores, proteção contra raios UV, estocagem e transporte de nitrogênio, entre outras (PINTO *et al.*, 2002; WINK, 2010). Os metabólitos especiais envolvidos na defesa química das plantas pertencem a três categorias: compostos fenólicos, substâncias nitrogenadas e terpenoides. (CHEN, 2008). Nas plantas, as fitotoxinas podem exercer seu controle sobre os insetos agindo como: inseticida, repelente, redutor da digestibilidade dos tecidos vegetais ou de deposição de ovos, ovicida, larvicida, atraentes de parasitas e predadores do inseto fitófago (REGNAULT-ROGER, 1997; GATEHOUSE, 2002; MELLO & SILVA-FILHO, 2002; CORREA *et al.*, 2008; MAZID *et al.*, 2011).

Portanto, as propriedades biológicas apresentadas pelas fitotoxinas podem tornar os produtos naturais provenientes de plantas fontes promissoras de biopesticidas, podendo substituir os pesticidas sintéticos existentes ou serem utilizados juntamente com esses, bem como servirem como precursores para o desenvolvimento de derivados com atividade anti-artrópode otimizada. Os praguicidas botânicos são conhecidos por possuir ação e degradação rápidas, toxicidade baixa a moderada para mamíferos, maior seletividade e baixa fitotoxicidade (CORREA & SALGADO, 2011). Essas vantagens tornam a obtenção de metabólitos secundários de espécies vegetais o alvo de intensas pesquisas realizadas no mundo todo. De fato, extratos, óleos essenciais e aleloquímicos puros obtidos de espécies vegetais têm sido investigados visando à obtenção de novos agentes ativos contra artrópodes-praga (KOUL & WALIA, 2009).

Em pesquisa bibliográfica realizada em artigos publicados de 1923 a 2010, 656 espécies de plantas em todo o mundo, distribuídas em 110 famílias, foram identificadas como tendo atividade inseticida significativa. Essa revisão revelou ainda que dentre essas famílias botânicas, as seis mais citadas na literatura foram Lamiaceae, Fabaceae, Asteraceae, Solanaceae, Rutaceae e Rosaceae (BOULOGNE *et al.*, 2012).

7.3.1. Obtenção de produtos naturais de origem vegetal e métodos para avaliação de suas atividades contra artrópodes

Na procura pelo desenvolvimento de novas substâncias ativas baseados em produtos naturais, estudos são realizados para selecionar, isolar e desenvolver fitoquímicos com atividade pesticida. Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos de origem natural contra artrópodes (MACIEL *et al.*, 2010). Geralmente, a pesquisa inicia-se pela escolha da espécie vegetal. As plantas podem ser escolhidas de forma aleatória e submetidas a um ou mais ensaios de atividades sobre artrópodes com a finalidade de refinar a escolha de espécies promissoras que serão utilizadas em investigações mais minuciosas. Também podem ser selecionadas a partir de observações acidentais do próprio pesquisador ou de outras pessoas, de relatos da literatura científica e de informações etnobotânicas. O terceiro critério de escolha pode ser uma combinação das duas abordagens anteriores (CHAIEB, 2011). Em seguida, são obtidos extratos brutos das plantas preparados com diversos solventes. Posteriormente, os extratos ativos são submetidos a fracionamentos cromatográficos e as frações resultantes são testadas, repetindo-se o processo até a obtenção do(s) composto(s) ativo(s) (SIMÕES & SPITZER, 2010).

Os extratos obtidos contêm complexa mistura de compostos bioativos. Se a concentração letal ou outro parâmetro biológico excepcionalmente baixo é detectado, o extrato pode ser fracionado para extrair o constituinte químico responsável pelo efeito. Frações obtidas do mesmo extrato podem ter diferentes propriedades anti-artrópodes, pois pode ser constituído de diferentes fitoquímicos. No entanto, alguns compostos, quando testados de forma isolada, apresentam baixa eficácia, sugerindo ação sinérgica entre os constituintes do extrato, indicando que a associação destas substâncias é a responsável pela atividade biológica observada (MACIEL *et al.*, 2010).

A elucidação estrutural de metabólitos secundários de plantas isoladas é realizada através do uso em conjunto de técnicas espectrais [espectrometria do infravermelho (IV), de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H), de ressonância magnética nuclear de C-13 (RMN ¹³C) e de massa (EM)] aliados a outras técnicas mais sofisticadas de RMN (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998).

A seleção do bioensaio mais adequado para determinar a atividade do extrato vegetal ou de fitoquímico isolado em artrópode depende dos seus hábitos a serem combatidos (SIMÕES & SPITZER, 2010). Os testes de toxicidade têm como foco a mortalidade do artrópode tratado que é contado após um período de tempo desde o início da realização do ensaio. Esses testes podem ser: por contato (aplicação tópica, pulverização, teste com papel de filtro, fumigação etc.), por ingestão (natural ou artificial), por introdução artificial e de campo. Nos testes de comportamento, o objetivo é de identificar alterações de comportamento no artrópode na presença do extrato de plantas ou fitoconstituente puro. Nesta categoria dois tipos de ensaios podem ser realizados: testes de atividade fagoinibidora e de repelência. Outros experimentos são utilizados para avaliar a propriedade atrativa de produtos naturais de origem vegetal sobre artrópodes. Os ensaios fisiológicos buscam determinar o efeito desses materiais frente ao artrópode em relação ao crescimento, ganho de peso, duração da fase de desenvolvimento, fertilidade e fecundidade, anatomia e morfologia (CHAIEB, 2011).

Constituintes químicos isolados de extratos que já possuem atividades biológicas comprovadas no controle de artrópodes, também podem ser submetidos à avaliação para elucidar seus mecanismos e sítio de ação (RATTAN, 2010).

Várias fases de investigações para determinar as propriedades de óleos essenciais de plantas e seus componentes contra artrópodes são similares a aquelas utilizadas para os extratos vegetais e seus constituintes. Para obtenção de óleo essencial, além de extração por solvente orgânico, podem ser empregados outros métodos, como a hidrodestilação, a técnica de arraste a vapor d'água, prensagem, CO₂ supercrítico e extração por microondas. A determinação da composição química de óleos essenciais geralmente é realizada a partir de dados fornecido por CG/DIC (análise quantitativa) e CG/EM (análise qualitativa) (LAHLOU, 2004).

7.3.2. Extratos vegetais com atividades contra artrópodes

Os extratos vegetais são preparações concentradas, obtidas de plantas, frescas ou secas, por meio de um dissolvente apropriado, seguido de evaporação total ou parcial e ajustagem do concentrado a padrões previamente estabelecidos. Há algumas décadas vários extratos de plantas têm sido avaliados quanto ao seu efeito contra importantes insetos que causam danos na agricultura. Atualmente, esses produtos naturais estão sendo mais avaliados para uso em proteção de plantas, devido às suas possíveis características eco-amigáveis (KOUL & WALIA, 2009). Além disso, a literatura relata a ação de extratos de plantas sobre artrópodes vetores de doenças negligenciadas em humanos (POHLIT *et al.*, 2011).

Vários trabalhos descrevem a propriedades praguicidas dos extratos obtidos de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), conhecido popularmente como nim indiano. A biotividade apresentada pelos extratos dessa planta está associada à presença de limonoides em sua composição (MARANGONI *et al.*, 2012).

Prates (2003) relata que o extrato aquoso de folhas de nim a 1,0% produziu 100% de mortalidade na lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) inseto considerado praga da cultura do milho. Em outro estudo, verificou-se que a concentração de 0,1 g/mL do extrato diclorometano das folhas de *A. indica* reduziu em 17 dias o tempo de sobrevivência do cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Wasmann, 1896) (Isoptera: Rhinotermitidae) apresentando mortalidade superior a 70% a partir do sétimo dia (INÁCIO & CARVALHO, 2012). Abdel-Shafy e Zayed (2002) investigando a atividade carrapaticida do extrato da semente de nim sobre ovos, estágios imaturos e adultos de *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844) (Acarina: Ixodidae), concluíram que o extrato teve efeito significativo no controle dessa espécie de carrapato quando usado nas concentrações de 1,6 e 3,2%. O extrato aquoso das sementes de *A. indica*, nas concentrações de 2,5 e 5% foi eficaz no controle de até 100% dos estágios imaturos ativos e de fêmeas adultas do ácaro verde da mandioca, *Mononychellus tanajoa* (Bondar, 1938) (Acari: Tetranychidae) (GONÇALVES *et al.*, 2001).

Viglianco e colaboradores (2008) verificaram que 10 mg/mL de extrato clorofórmico de folhas de *Solanum argentinum* Bitter et Lillo (Solanaceae) causou elevada deterrência alimentar (96%) em *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763) (Coleoptera: Curculionidae), enquanto o seu extrato hexânico, na concentração de 0,3 mg/cm², apresentou atividade repelente frente a esse inseto (63% em média) que é conhecido por causar danos a diversos tipos de cereais.

Innocent e colaboradores (2008) relataram que o extrato diclorometano da casca da raiz de *Lantana viburnoides* ssp. *viburnoides* var. *kisi* (A. Rich) Verdc (Verbenaceae) apresentou potente efeito larvicida contra a larva do vetor da malária (72 h, CL₅₀ = 7,70 ppm), *Anopheles gambiae* Giles s. s. (Diptera: Culicidae).

O tratamento com 50 µg do extrato etanólico da casca da raiz de *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) foi responsável pela mortalidade de 95% de ninfas de *Rhodnius milesi* Carcallo, Rocha, Galvão & Jurberg, 2001 (Hemiptera: Reduviidae), um dos vetores da doença de Chagas (COELHO *et al.*, 2006).

Segundo Vasconcelos e colaboradores (2009), o extrato etanólico de raízes de *Tephrosia toxicaria* (Sw.) Pers (Fabaceae) exibiu atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) (CL₅₀ = 47,9 ppm) assim como as frações hexano, clorofórmio e acetato de etila (CL₅₀ = 13,8–95,5 ppm) obtidas desse extrato.

O extrato etanólico das sementes da *Annona muricata* L. (Annonaceae) na concentração de 2% mostrou 100% de eficácia contra fêmeas ingurgitadas do carrapato do boi, *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). Obteve-se ainda, com esse extrato, a inibição da eclosão de larvas dessa espécie de carrapato (BROGLIO-MICHELETTI *et al.*, 2009).

7.3.3. Óleos essenciais de plantas com atividades contra artrópodes

Os óleos essenciais são definidos como qualquer óleo volátil que têm componentes aromáticos e que dão odor característico, sabor ou aroma a uma planta. Com base na biossíntese, os constituintes químicos de óleos podem ser divididos em duas classes. Na primeira encontram-se os derivados dos terpenoides, formados pelas vias do ácido mevalônico-acetato e do metil eritritol fosfato; e na segunda situam-se os derivados do fenilpropanoide, compostos aromáticos formados pela via do ácido chiquímico (DEWICK, 2009).

Um levantamento da literatura sobre o potencial biopesticida de óleos essenciais a partir do ano de 2000, revelou que as plantas das famílias Myrtaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae e Rutaceae são altamente direcionadas para atividades contra insetos de ordens específicas como Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Isoptera e Hemiptera. Os óleos essenciais de plantas têm sido investigados em relação às atividades repelentes, fumegante, larvicida e adulticida contra os insetos das ordens acima (TRIPATHI *et al.*, 2009).

Como os óleos essenciais são misturas complexas de numerosas moléculas, seus efeitos biológicos são o resultado de um sinergismo entre todas as moléculas ou de seus constituintes majoritários (MACIEL *et al.*, 2009).

Palacios e colaboradores (2009) investigaram a toxicidade de 12 óleos essenciais, obtidos de plantas utilizadas na alimentação, contra *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) adulta. Dentre os óleos testados, o da casca do fruto de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae) apresentou maior atividade inseticida com CL₅₀ igual a 3,9 mg/dm³.

Olivero-Verbel e colaboradores (2010) constataram a atividade repelente dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (Poaceae) e *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae) sobre *Tribolium castaneum* (Herbst., 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), praga de produtos alimentícios armazenados. As doses médias repelentes após 4 h de exposição foram de 0,021 e 0,084 mL/L para *C. citratus* e *E. citriodora*, respectivamente.

Shukla e colaboradores (2012) relataram a atividade fago-inibidora dos óleos essenciais de flores de *Eupatorium adenophorum* Spreng e das partes aéreas de *Artemisia nilagirica* (C.B. Clarke) Pamp (Asteraceae) em *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera: Curculionidae), uma grande praga de coqueiros e palmeiras. Na concentração de 1000 ppm e após 96 h, estes óleos afetaram significativamente a alimentação normal dos adultos de *R. ferrugineus*.

O óleo essencial de flores *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae) na concentração de 1% (p/p), apresentou alta repelência (81,94 e 84,73%) em relação às pragas de grãos

armazenados, *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Silvanidae) e *Tribolium castaneum*, respectivamente (AL-JABR, 2006).

Larvas dos mosquitos vetores de doenças, *Anopheles stephensi* (Liston, 1901), *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) (Diptera: Culicidae) tratadas com 3 mL/m² de óleo essencial de folhas de *Mentha piperita* Linn (Lamiaceae) resultou em 85–100% de mortalidade (ANSARI *et al.*, 2000). Kumar e colaboradores (2011) verificaram que o óleo de *M. piperita*, na concentração de 27,86 µg/cm², inibiu o desenvolvimento de pupas de *Musca domestica* para a fase adulta durante o período de observação de 6 dias.

Além de relatos sobre a atividade biocida de óleos essenciais frente a insetos, a literatura descreve a ação desses produtos naturais contra outros tipos de artrópodes, como, por exemplo, ácaros e carrapatos.

O óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) exibiu potente atividade acaricida sobre fêmeas adultas da praga agrícola *Tetranychus urticae* (Koch, 1836). (Acari: Tetranychidae), com CL₅₀ 0,010 µL/L de ar (CAVALCANTI *et al.*, 2010).

Em teste de atividade carrapaticida, larvas de *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae) foram tratadas com óleos essenciais de folhas de cinco espécies *Cunila* (Lamiaceae) nas concentrações de 2,5; 5 e 10 µL/mL. Os óleos de *C. angustifolia* e *C. incana* causaram 100% na menor concentração (APEL *et al.*, 2009).

7.3.4. Metabólitos secundários puros de plantas com atividades contra artrópodes

Diversos trabalhos descrevem as propriedades anti-artrópode de substâncias puras obtidas a partir de extratos vegetais ou de óleos essenciais de plantas (KOUL & WALIA, 2009; POHLIT *et al.*, 2011).

A revisão bibliográfica feita em artigos publicados de 1923 a 2010, revelou que 119 compostos químicos possui atividade inseticida. Desses, 43 substâncias são terpenoides, 38 são alcaloides, 21 são compostos fenólicos e as nove restantes pertencem a outras classes de compostos (BOULOGNE *et al.*, 2012).

O monoterpeneo 1,8-cineol (**145**) (Figura 176), constituinte majoritário do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* mostrou elevada atividade inseticida contra *Musca domestica* (L.) (CL₅₀ = 3,3 mg/dm³) (PALACIOS *et al.*, 2009).

O tratamento oral com 25 µg/mL de precoceno II (**188**) (Figura 176) em ninfas do 1º estágio de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae), levou a formação de adultos (100%), enquanto no teste de aplicação tópica, 10 µg/µL dessa substância provocou a morte de todos os insetos (JURBERG *et al.*, 1984). O fenilpropanoide (**188**), um dos componentes do óleo essencial de folhas de *Ageratum conyzoides* Linn (Asteraceae), é inibidor de hormônios antijuvenis de insetos, provocando alteração no processo de metamorfose e levando à formação de adultos precoces, estéreis e moribundos (adultos) (OKUNADE, 2002; SOUSA *et al.*, 2004)

Em teste de fumigação com *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera, Bostrichidae), *Sitophilus oryzae* (L.) e *Tribolium castaneum* Herbst., o monoterpeneo (-)-mentol (**189**) (Figura 176) apresentou alta toxicidade frente a estes insetos com valores de DL₉₉ de 8,4; 7,9; 7,9 e 28,1 mg/L, respectivamente (AGGARWAL *et al.*, 2001). Esse monoterpeneo é um dos constituintes majoritários do óleo essencial de folhas de *Mentha piperita* Linn (ANSARI *et al.*, 2000).

O fenilpropanoide trans-cinamaldeído (**190**) (Figura 176) na menor concentração (2,5 µL/mL) testada resultou em morte de aproximadamente 99% das larvas dos carrapatos *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*. (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae). O óleo essencial da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Nees.: Lauraceae) possui alto teor de fenilpropanoide (**190**) (SENRA *et al.*, 2013a).

A cadina-4,10(15)-dien-3-ona (**191**) (Figura 176), sesquiterpeno obtido a partir de folhas de *Hyptis verticillata* Jacq. (Lamiaceae), provou ser um eficiente inseticida frente à *Cylas formicarius* (Fabricius, 1798) (Coleoptera: Brentidae), uma praga destrutiva de plantações de tomate. Numa dose de 3,6 mg/g de inseto após 98 h, foi observado 90% mortalidade (PORTER *et al.*, 1995).

O sesquiterpeno *E*-nerolidol (**91**) (Figura 176), isolado de cascas secas de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms (Fabaceae), demonstrou efeito larvicida frente a larvas *Aedes aegypti* (L.) com CL₅₀ igual a 17,0 ppm (SIMAS *et al.*, 2004).

Em experimento de inibição de crescimento, o diterpeno *cis*-desidrocrotonina (**192**) (Figura 176), utilizado em ensaio de dieta artificial, apresentou DE₅₀ = 30 ppm para dois insetos-praga, *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1844) (Lepidoptera: Gelechidae) e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae). O diterpeno (**192**) foi isolado de cascas do caule de *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae) (KUBO *et al.*, 1991).

Khalequzzaman e Nahar (2008) observaram a atividade inseticida da substância azadirachtina (**193**) (Figura 176) contra adultos do afídeo *Aphis gossypii* Glover (24 h, CL₅₀ = 0,34 µg.cm⁻²). De acordo com Vieira e colaboradores (2001), azadirachtina (**193**), composto obtido das sementes de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), pertence ao grupo dos limonoides, maiores representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida. Segundo Viegas Júnior (2003), essas substâncias podem ser encontradas em espécies das famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae e são conhecidas por causarem efeitos biológicos em insetos, seja interferindo no crescimento, seja através da inibição de alimentação.

O quassinóide chaparrinona (**194**) (Figura 176), isolado a partir das partes aéreas de *Quassia* sp. aff. *Bidwillii* (Simaroubaceae), mostrou ação acaricida frente à *Tetranychus urticae* (Koch, 1836). (Acari: Tetranychidae) (LATIF *et al.*, 2000). Os quassinóides constituem uma classe de substâncias encontradas quase que exclusivamente em plantas da família Simaroubaceae e, quimicamente são considerados triterpenos biodegradados com alto padrão de oxigenação. Vários desses fitoquímicos apresentam propriedades inseticida e fagoinibidora (ALMEIDA *et al.*, 2007)

Estudos fitoquímicos realizados com frutos secos de *Piper nigrum* Linn (Piperaceae) e raízes de *Rollinia leptopetala* R. E. Fries (Annonaceae) e *Tephrosia toxicaria* Pers (Leguminosae) resultaram no isolamento da amida piperina (**195**), do alcaloide liriodenina (**196**) e do rotenoide 12a-hidroxi- α -toxicarol (**197**) (Figura 176), respectivamente. Em testes com larvas do mosquito *Aedes aegypti* (L.), as substâncias (**195**), (**196**) e (**197**) apresentaram elevada atividade larvicida com valores de CL₅₀ de 5,1; 3,6 e 3,2 ppm, nessa ordem (PARK *et al.*, 2002; FEITOSA *et al.* 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2012).

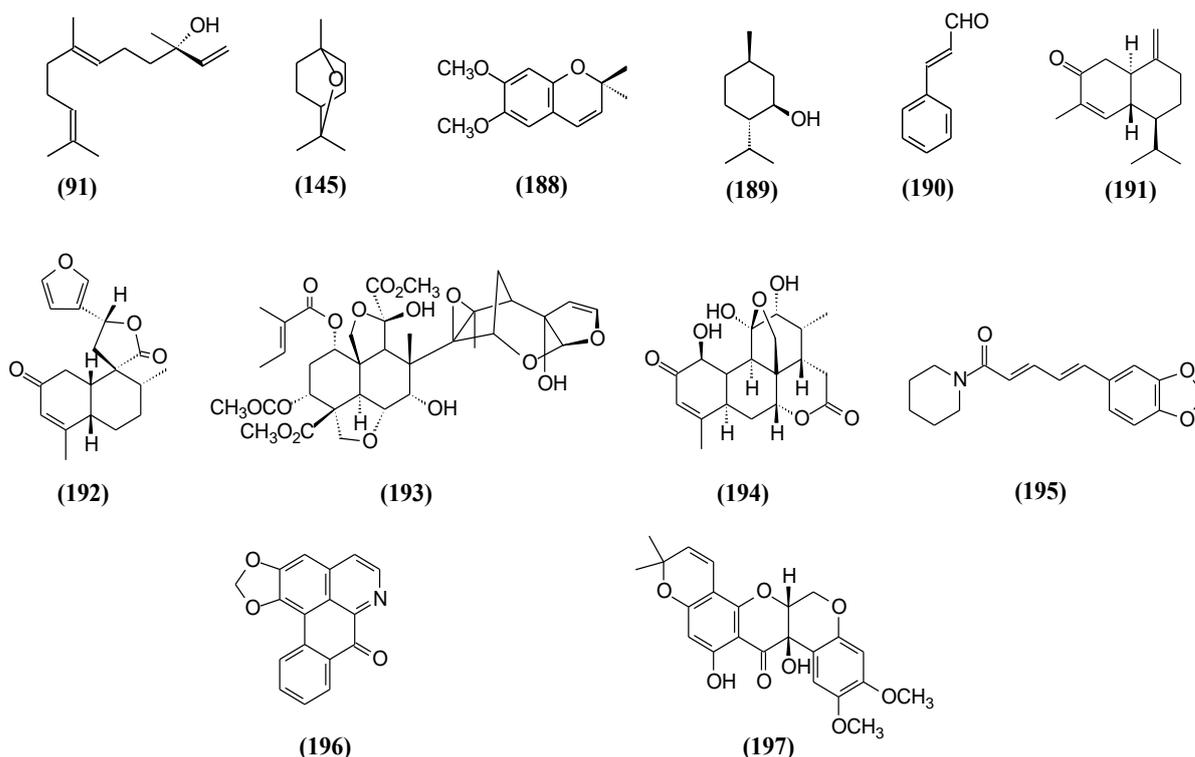


Figura 176. Fórmulas estruturais de compostos do metabolismo secundário de plantas com atividades contra artrópodes.

7.3.5. Modo de ação dos produtos naturais em artrópodes

As espécies de plantas mais tipicamente conhecidas sintetizam uma grande variedade de compostos de defesa moderadamente tóxicos ou um pequeno número de substâncias altamente tóxicas. Os insetos herbívoros se alimentam de uma grande variedade de espécies de plantas, onde pode ser encontrado substâncias potencialmente tóxicas com efeitos relativamente não-específicos sobre uma ampla gama de alvos moleculares. Esses alvos podem ser proteínas (enzimas, receptores, moléculas sinalizadoras, canais iônicos e proteínas estruturais), ácidos nucleicos, biomembranas e outros componentes celulares (RATTAN, 2010).

No mecanismo de ação de metabólitos secundários de plantas em insetos estão envolvidas uma série de desordens fisiológicas, como: a inibição da acetilcolinesterase, atividade sobre as membranas de células nervosas, bloqueios dos receptores octopamina, dos canais de cálcio e dos canais de cloreto (Cl⁻) acoplados a receptores GABA (ácido γ -aminobutírico), além de interrupção de troca iônica de sódio e potássio, inibição da respiração celular, distúrbio no equilíbrio hormonal, interrupção dos eventos moleculares da morfogênese etc. (GHOSH *et al.*, 2012).

Em relação ao modo de ação de fitoquímicos em ácaros e carrapatos existem poucos trabalhos que discutem este assunto. A literatura relata que para esses artrópodes os produtos naturais de origem vegetal podem agir: bloqueando os receptores octopamina, impedindo a respiração celular, inibindo a acetilcolinesterase, removendo as ceras cuticulares (gerando estresse hídrico), bloqueando os espiráculos (resultando em asfixia), interferindo na atividade secretora das glândulas salivares e produzindo desenvolvimento incompleto de oócitos e alterações morfológicas causadas pela desorganização das organelas, membranas celulares e córion (interferência na reprodução) (MENDOZA MEZA & TABORDA, 2010; ARNOSTI *et al.*, 2011; DENARDI *et al.*, 2011; ELLSE & WALL, 2013)

7.3.6. Perspectivas de desenvolvimento de produtos naturais para o controle de artrópodes

Baseando-se no grande número de trabalhos que vem mostrando resultados significativos dos efeitos de fitoquímicos frente a artrópodes, pode-se afirmar que as espécies vegetais se constituem, provavelmente, numa fonte praticamente inesgotável para obtenção de praguicidas de origem vegetal que são conhecidos por oferecerem menor risco à saúde humana e ao ambiente. Nesse cenário, a grande diversidade da flora brasileira apresenta um imenso arsenal químico formado por substâncias orgânicas bioativas com uma enorme variedade de fórmulas estruturais, sendo, portanto, promissor para obtenção de compostos com atividades anti-artrópode. No entanto, para alcançar essa meta é necessário investir em pesquisas com plantas nativas que visem à obtenção e o desenvolvimento de biopesticidas e seus análogos sintéticos com propriedades úteis para o controle de artrópodes considerados pragas agrícolas e vetores de moléstias que vêm assolando o nosso país.

Atualmente, existe um mercado promissor para os bioinseticidas obtidos de plantas (KOUL & WALIA, 2009; DAYAN *et al.*, 2009). Entretanto, para a inclusão definitiva e segura de produtos de origem vegetal no mercado são necessários estudos sobre mecanismos de ação, fitotoxicidade, real segurança a mamíferos e outros vertebrados, entre outras investigações (CORREA & SALGADO, 2011).

7.4. Atividade Larvicida sobre *Aedes aegypti*

7.4.1. Introdução

Doenças transmitidas por mosquitos causam morbidade significativa, mortalidade e a prejuízos econômicos para a humanidade (MASSEBO *et al.*, 2009). O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) é o principal vetor da febre amarela, dengue e febre hemorrágica da dengue (FHD) (LIMA *et al.*, 2011a). Estas infecções transmitidas por mosquitos são encontrados em regiões tropicais e sub-tropicais de todo o mundo, predominantemente em áreas urbanas e semi-urbanas.

A incidência global da dengue tem crescido dramaticamente em todo o mundo nas últimas décadas, há cerca de 2,5 bilhões de pessoas em risco (WHO, 2009). Recentemente, no Brasil, a incidência de dengue tem aumentado significativamente. Um total de 4.243.049 de casos desta enfermidade foram relatados entre 1981 e 2006, incluindo 5.817 casos de síndrome de choque da dengue (SSD) e FHD, e um total de 338 casos fatais (NOGUEIRA *et al.*, 2007).

Atualmente, não há nenhum tratamento com droga ou vacina disponível para dengue e, no momento, o único método de prevenção da transmissão é o controle de seu vetor (CHUNG *et al.*, 2009). O controle baseia-se na destruição de criadouros por meio de inseticidas sintéticos. No entanto, o uso contínuo destas substâncias resulta na seleção de mosquitos resistentes (MELO-SANTOS *et al.*, 2010). Além disso, são tóxicos e contaminam solo, água e ar (DHARMAGADDA *et al.*, 2005). Os produtos naturais podem ser uma alternativa aos inseticidas sintéticos, porque são eficazes, biodegradáveis, eco-amigáveis e seguros para o meio-ambiente (SREELATHA *et al.*, 2010).

A literatura relata que óleos essenciais de plantas possuem atividade larvicida contra *Ae. aegypti* (SANTOS *et al.*, 2006, 2007; ARRIAGA *et al.*, 2007; CHENG *et al.*, 2009; CHUNG *et al.*, 2009; FEITOSA *et al.*, 2009; AGUIAR *et al.*, 2010; MAGALHÃES *et al.*, 2010).

Considerando essas informações, o óleo essencial obtido da primeira coleta de folhas de *Myrcia ovata* Cambess. (OEMO-1) (Item 4.4, pág. 22) foi submetido a ensaio de atividade larvicida frente a *Ae. aegypti*.

7.4.1. Resultados e discussão

Soluções contendo OEMO-1, em seis diferentes concentrações e em triplicata, foram individualmente testadas frente a 50 larvas de *Ae. aegypti*. Os dados obtidos neste ensaio foram úteis para o cálculo de CL₅₀ (concentração da amostra capaz de matar 50 % da população de larvas). Amostras que apresentam valores de CL₅₀ < 100 ppm são consideradas ativas (CHENG *et al.*, 2003) e constituem-se fortes candidatos de combate ao mosquito. Os valores de CL₅₀ obtidos para o Temephos[®] (controle positivo) e OEMO-1 foram 1,4 e 192,1 µg/mL, respectivamente. OEMO-1 contém os monoterpênos neral (**107**) (35,8%) e geranial (**106**) (50,4%) (Figura 109, pág. 138) como os principais constituintes (Tabela 18, pág. 139). Similarmente, Albuquerque e colaboradores (2007) constataram que o óleo essencial de *Pectis apodocephala* Baker (Asteraceae), rico em geranial (**106**) (42,9 – 44,5%) e neral (**107**) (33,2 – 34,2%), apresentou toxicidade contra larvas de *Ae. aegypti*, com CL₅₀ 195,0 µg/mL. A literatura relata que estes monoterpênos oxigenados isolados da casca de *Magnolia salicifolia* Siebold & Zucc. Maxim. (Magnoliaceae) na concentração de 100 ppm causaram 100% de mortalidade em larvas do quarto estágio de *Ae. aegypti*, após 24 horas (KELM *et al.*, 1997). Portanto, a moderada atividade larvicida do óleo volátil de *M. ovata* pode ser atribuído a mistura isomérica dos aldeídos (**106**) e (**107**).

As informações divulgadas neste trabalho em relação à composição química de OEMO-1 e sua atividade larvicida contra larvas de *Ae. aegypti*, encontram-se publicadas no African Journal of Biotechnology (LIMA *et al.*, 2011a).

7.5. Atividade Inseticida frente à *Rhodnius prolixus*

7.5.1. Introdução

Rhodnius prolixus (Stal, 1859) é um inseto de hematófago, pertencente à subfamília Triatominae, família Reduviidae. Esses insetos são vetores do protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), parasito e agente etiológico da doença de Chagas, também conhecido como *Tripanossomíase Americana*. Essa enfermidade é endêmica em grandes áreas da América do Sul e da América Central (GARCIA *et al.*, 2007) e é considerada importante problema de saúde nesses continentes. Afeta quase 10 milhões de pessoas na América Latina e cerca de 60 milhões as pessoas vivem em áreas de alto risco, com cerca de 300.000 novos casos por ano (WHO, 2010). A infecção crônica da doença de Chagas é responsável pela morte de aproximadamente 14.000 pessoas por ano, enquanto a infecção aguda é assintomática.

Até o momento, não existe qualquer vacina preventiva nem qualquer tratamento contra as fases crônicas dessa moléstia. Nesse contexto, métodos para eliminar o vetor da doença de Chagas têm sido desenvolvidos como estratégia para prevenir essa enfermidade. Um dos métodos empregado para o controle de triatomíneos é a utilização de inseticidas. No entanto, o uso contínuo de pesticidas sintéticos como piretroides e deltametrina leva à resistência do organismo alvo e poluição ambiental (SFARA *et al.*, 2006; WHO, 2010; CORREA & SALGADO, 2011).

Produtos naturais sintetizados por plantas, como os metabólitos secundários, são uma alternativa eficiente aos inseticidas sintéticos. O efeito de óleos essenciais de origem vegetal e de seus constituintes puros no controle de insetos triatomíneos é amplamente divulgado na

literatura (FOURNET *et al.*, 1996, LAURENT *et al.*, 1997, MELLO *et al.*, 2007, GOMES & FAVERO 2011, 2013, LÓPEZ *et al.*, 2011, SAINZ *et al.*, 2012).

Vários estudos têm relatado a ampla gama de atividades biológicas do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. incluindo propriedades antimicrobiana (LACOSTE *et al.*, 1996, BOTELHO *et al.*, 2007, VERAS *et al.*, 2012), tripanossomicida (RONDON *et al.*, 2012), carrapaticida (GOMES *et al.*, 2012) e inseticida (CARVALHO *et al.*, 2003, CAVALCANTI *et al.*, 2004, LIMA *et al.*, 2013). Geralmente, o componente mais abundante do óleo essencial de *L. sidoides* pode ser o timol (**125**) ou seu isômero carvacrol (**156**) (Figura 178) (CAVALCANTI *et al.*, 2004, CAVALCANTI *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2011b; GOMES *et al.*, 2012). Ambos têm elevada atividade contra bactérias (ULTEE *et al.*, 2000, GALLUCCI *et al.*, 2010), fungos (CHAMI *et al.*, 2005, KLARIC *et al.*, 2007), protozoários (TASDEMIR *et al.*, 2006, ESCOBAR *et al.*, 2010), moluscos (RADWAN *et al.*, 2008, FERREIRA *et al.*, 2009), carrapatos (CARVALHO *et al.*, 2010, MONTEIRO *et al.*, 2010, DAEMON *et al.*, 2012a) e insetos (KNIO *et al.*, 2008; PANDEY *et al.*, 2009).

Portanto, realizou-se a investigação do efeito biocida do óleo essencial de folhas de *L. sidoides* obtido por arraste a vapor (OELS-2) (Item 4.4, pág. 22), timol (**125**) e carvacrol (**156**) sobre ovos e ninfas de quarto estágio de *R. prolixus*.

7.5.2. Resultados

7.5.2.1. Atividade ninficida

Com a finalidade de estabelecer a concentração letal 50 (CL₅₀) do carvacrol (**156**), timol (**125**) e OELS-2, experimentos ninficidas preliminares foram realizados. Os grupos tratados com 10 e 50 µg/cm² de OELS-2 mostraram que não houve diferença estatística (p>0,05) em comparação com o grupo controle. O efeito do tratamento com o óleo sobre a mortalidade de insetos foi observado apenas nos grupos tratados com 100 µg/cm², a maior dose testada (Tabela 23). Por outro lado, o tratamento com 50 µg/cm² dos monoterpenos carvacrol (**156**) ou timol (**125**) resultou em alta porcentagem de mortalidade de *R. prolixus* (73,3 e 100%, respectivamente). Ambos os resultados foram significativamente diferentes (p<0,05) do controle (Tabela 23). Além disso, ninfas tratadas com 10 µg/cm² de timol também resultou em uma alta porcentagem de mortalidade (73,3%) após 24 horas de exposição. Os valores de CL₅₀ para OELS-2, carvacrol (**156**) e timol (**125**) foram 54,48; 32,98 e 9,38 µg/cm², respectivamente (Tabela 24).

Tabela 23. Porcentagem média de mortalidade de ninfas de 4º estágio de *Rhodnius prolixus* tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* obtido por arraste a vapor (OELS-2), timol (**125**) e carvacrol (**156**), após 24 horas de exposição em condições laboratoriais ($27^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $65\% \pm 5$ UR).

Grupos	% Mortalidade (Média \pm EPM)
Controle	3,0 \pm 3,0 ^a
Acetona 100%	0,0 \pm 0,0 ^a
OELS-2	
10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0,0 \pm 0,0 ^a
50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	0,0 \pm 0,0 ^a
100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	100,0 \pm 0,0 ^b
Timol (125)	
10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	73,3 \pm 3,0 ^a
50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	100,0 \pm 0,0 ^b
100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	100,0 \pm 0,0 ^b
Carvacrol (156)	
10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	3,0 \pm 3,0 ^b
50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	73,3 \pm 0,0 ^b
100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	100,0 \pm 0,0 ^b

As letras representam diferenças entre os insetos tratados e o controle, uma vez que $p > 0,05$ não é considerado estatisticamente significativo.

Tabela 24. Valores de concentração letal 50 (CL_{50}) do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* obtido por arraste a vapor (OELS-2), timol (**125**) e carvacrol (**156**) para o controle de ninfas de 4º estágio de *Rhodnius prolixus*.

Tratamentos	CL_{50} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Intervalo de confiança
OELS-2	54,48	52,19-56,87
Timol (125)	9,38	7,88-11,17
Carvacrol (156)	32,98	28,98-38,38

7.5.2.2. Atividade ovicida

O tratamento de ovos de *R. prolixus* com 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ carvacrol (**156**) e timol (**125**) causou uma inibição significativa ($p < 0,05$) no percentual de ninfas eclodidas (50 e 23,3%, respectivamente) em comparação com os grupos controle (96,7%) (Figura 177). No entanto, a porcentagem de ninfas eclodidas de ovos tratados com 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de carvacrol (**156**) (83,3%) ou timol (**125**) (90%) foi similar aos grupos controle, enquanto o tratamento com 10 ou 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de OELS-2 não afetou a taxa de eclosão (80 e 90%, respectivamente). Neste caso, a

inibição da eclosão foi observada apenas em grupos tratados com 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ do óleo essencial com resultado semelhante aos dos grupos controle (Figura 177).

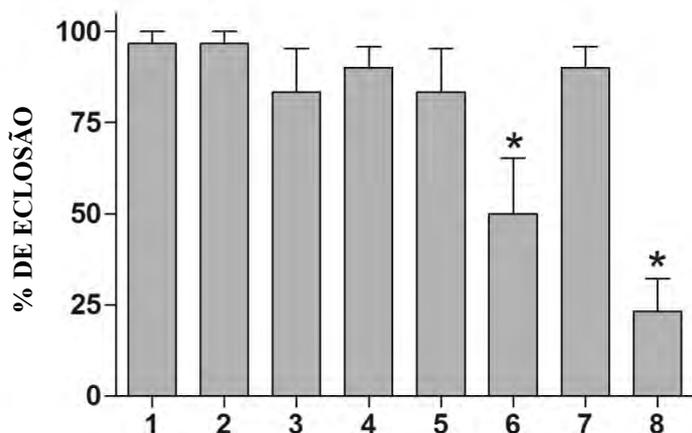


Figura 177. Percentagem de ninfas eclodidas de ovos de *Rhodnius prolixus*, 15 dias após exposição ao óleo essencial e monoterpenos, Controle (1); acetona 100% (2); OELS-2 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (3); OELS-2 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (4); carvacrol (156) 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (5); carvacrol (156) 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (6); timol (125) 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (7) e timol (125) 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (8). Os valores representam as médias \pm EPM; n=30 insetos.

7.5.3. Discussão

No teste de atividade ninficida, após 24 h de exposição, OELS-2, óleo de *Lippia sidoides* com 69,91% de timol (125) em sua constituição (Tabela 21, pág. 154), resultou em CL_{50} de 54,48 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Enquanto o timol (125) puro (Figura 178) causou efeito deletério contra ninfas de *R. prolixus* atingindo CL_{50} de 9,38 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, indicando que este composto fenólico é mais tóxico ao triatomíneo que OELS-2 (Tabela 24).

A CL_{50} obtida para OELS-2 (54,48 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) equivale a aproximadamente a 38,09 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de timol (125) que é um valor de concentração superior ao CL_{50} desse monoterpeno puro (9,38 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). A comparação desses dados sugere que os vários constituintes do óleo podem ter agido antagonicamente sobre as ninfas de *R. prolixus*. Em alguns casos, a propriedade biológica do óleo essencial pode ser conferida à ação sinérgica ou antagônica de seus vários constituintes (BURT, 2004; BAKKALI *et al.*, 2008). Portanto, o monoterpeno timol (125), apesar de ser o componente majoritário do óleo, não determinou sozinho o efeito ninficida apresentado por OELS-2.

A literatura não relata nenhuma investigação de atividade anti-inseto do óleo essencial de *L. sidoides* em triatomíneos, porém existe um relato de elevada atividade repelente em adultos de *R. prolixus*, ocasionada pela ação do óleo essencial de *Thymus zygis* Loefl. ex L. (Lamiaceae), que como o óleo de *L. sidoides* é rico em timol (125) (74%) (SAINZ *et al.*, 2012). De acordo com os relatos de vários trabalhos publicados, o monoterpeno (125) exibiu elevada toxicidade contra vários insetos (HUMMELBRUNNER & ISMAN, 2001; PANDEY *et al.*, 2009; PAVELA, 2010; PAVELA, 2011). Em triatomíneos, estudos recentes descreveram que o tratamento de *Triatoma infestans* (Klug, 1834) e *R. prolixus* com timol (125) causou efeitos de hiperatividade e knock-down em ninfas dessas espécies de insetos, enquanto o efeito de repelência foi observada apenas em ninfas de *T. infestans* (MORETTI *et al.*, 2013).

Ainda no ensaio de atividade ninficida, foi observado também efeito considerável de carvacrol (**156**) (Figura 180) contra *R. prolixus*, apresentando uma CL_{50} de 32,98 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, sendo mais potente contra esse inseto, em comparação com OELS-2 (CL_{50} 54,48 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). No entanto, o tratamento com o carvacrol (**156**) resultou em menor mortalidade de ninfas de *R. prolixus* quando comparado com a obtida pela ação do seu isômero timol (**125**) (CL_{50} 9,38 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Tabela 24). A elevada atividade inseticida de timol (**125**) em comparação com o carvacrol (**156**) está descrita na literatura (SINGH *et al.*, 2009; ERLER & CETIN 2009; PALACIOS *et al.*, 2009). Em triatomíneos, Moretti e colaboradores (2013) mostraram que o tratamento de ninfas de *R. prolixus* e *Triatoma infestans* com carvacrol causou um decréscimo na atividade locomotora, repelência e efeito knock-down.

Estes resultados sugerem que em *R. prolixus*, o tratamento ninficida com o monoterpene (**125**) e (**156**) por si só é mais eficiente do que o tratamento realizado com a mistura de diferentes monoterpene e sesquiterpene encontrados na composição química de OELS-2. De fato, os testes de exposição mostraram que a atividade de timol (**125**) foi 5,8 vezes mais letal do que OELS-2 e 3,5 vezes mais letal do que o carvacrol (**156**). Observou-se, ainda, que o tratamento das ninfas com carvacrol (**156**) foi 1,7 vezes mais letal do que OELS-2. Karpouhtsis e colaboradores (1998) descrevem o efeito inseticida de timol (**125**), carvacrol (**156**) e de óleos essenciais de plantas em que estes compostos fenólicos são abundantes. Vários estudos indicam associação próxima entre as atividades inseticidas de timol (**125**) e carvacrol (**156**) e a capacidade de bloquear os sistemas GABA (ácido gama-aminobutírico) e/ou octopaminérgicos de artrópodes (PRIESTLEY *et al.*, 2003; RATTAN, 2010; TONG & COATS, 2010)

A propriedade ovicida de óleos essenciais frente a ovos de vetores da doença de Chagas está bem descrita na literatura. Vários óleos essenciais obtidos a partir de diferentes espécies de plantas como, por exemplo, *Eryngium* sp. (Apiaceae), *Tagetes pusilla* Kunth e *T. minuta* L. (Asteraceae), inibiram a taxa de eclosão de ninfas durante testes de exposição (LAURENT *et al.*, 1997). No entanto, verificou-se que o tratamento com OELS-2 não foi eficaz na inibição da eclosão de ninfas de ovos de *R. prolixus* (Figura 177). Este resultado difere daqueles obtidos em testes ovicidas desenvolvidos com óleo de *L. sidoides* em diferentes espécies de insetos (MACIEL *et al.*, 2009;. LIMA *et al.*, 2013).

Além dos óleos essenciais, a literatura descreve que os seus constituintes puros também podem ter efeito ovicida contra insetos vetores. Por exemplo, entre 12 constituintes de óleos essenciais testados, o sesquiterpene *E*-nerolidol (**91**) (Figura 176, pág. 176) apresentou maior atividade ovicida sobre ovos de *T. infestans* (LAURENT *et al.*, 1997). No presente estudo, a eclosão de ninfas de ovos de *R. prolixus* foi consideravelmente inibida após 15 dias de exposição a 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de timol (**125**) seguido por carvacrol (**156**) na mesma concentração, resultando em 76,7 e 50% de inibição, respectivamente (Figura 177). O efeito ovicida de timol (**125**) em ovos de outros invertebrados tem sido descrita em vários trabalhos (CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2009). Resultados semelhantes aos divulgados neste trabalho foram obtidos por Singh e colaboradores (2011) ao constatarem que o timol (**125**) foi mais ativo na inibição da eclosão de larvas de ovos de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Pyralidae) que seu isômero carvacrol (**156**).

O fato da composição de ovos de insetos ser formado por muitas camadas, permite que o embrião sobreviva mesmo durante períodos longos e adversos. No entanto, substâncias lipofílicas, como os constituintes do óleo essencial, por exemplo, são capazes de endurecer a membrana do ovo e impedir o processo de eclosão por interferência no equilíbrio da água e trocas gasosas (LIMA *et al.*, 2013).

Comparando os resultados das atividades ninficida e ovicida obtidos após os tratamentos com o óleo e os monoterpene, verificamos que as ninfas do quarto estágio de *R. prolixus* foram mais suscetíveis a exposição a esses produtos naturais do que os ovos desse

inseto. A maior susceptibilidade de ninfas de *T. infestans* e de larvas de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) em relação aos ovos desses insetos, foi também observado após serem submetidos a tratamentos com produtos naturais (LAURENT *et al.*, 1997; MACIEL *et al.*, 2009).

A elevada tolerância observada em ovos tratados com produtos naturais em comparação com as ninfas, pode ser explicada pelo fato do sistema nervoso do embrião do inseto ainda não está bem desenvolvido. A baixa permeabilidade da superfície externa do ovo no início da embriogênese é outro fator que pode explicar a maior tolerância dos ovos frente aos fitoquímicos avaliados nesse estudo (STAMOPOULOS *et al.*, 2007, MACIEL *et al.*, 2009).

Conforme apresentado neste trabalho, o timol (**125**) mostrou-se mais eficiente que o carvacrol (**156**) tanto em relação à propriedade ninficida como a ovicida. As fórmulas estruturais desses compostos fenólicos são semelhantes, embora possuam a mesma fórmula química e peso molecular, eles diferem quanto à posição do grupo hidroxila no anel aromático, portanto são isômeros de posição (Figura 178). A posição relativa do grupo hidroxila no anel aromático pode ter influenciado na variação do potencial biocida apresentado por estes monoterpenos sobre ninfas e ovos de *R. prolixus*. Modificações estruturais em monoterpenoides podem levar a um aumento da atividade biológica dessas substâncias (KUMBHAR & DEWANG, 1999). Em teste de atividade larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), o monoterpeno (+)- α -pineno (**89**) mostrou-se mais potente que seu isômero (+)- β -pineno (**90**), sugerindo que a posição da dupla ligação no sistema é relevante para a atividade biológica observada (Figura 178) (SIMAS *et al.*, 2004).

Os resultados do presente estudo sugerem que os monoterpenos timol (**125**) e carvacrol (**156**), bem como o óleo essencial de *L. sidoides* OELS-2, são fontes promissoras para o desenvolvimento de inseticidas botânicos úteis no controle de *R. prolixus*.

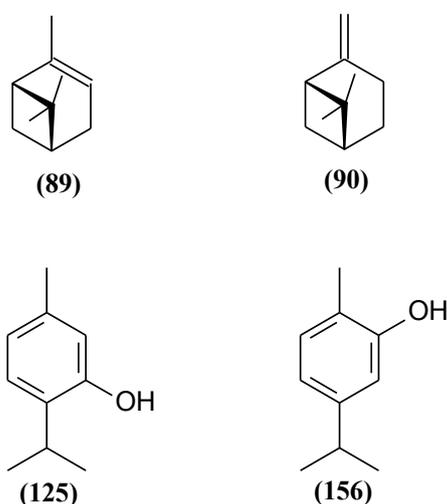


Figura 178. Fórmulas estruturais de monoterpenos com atividade inseticida.

7.6. Atividade Carrapaticida frente à *Rhipicephalus microplus*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense*

7.6.1. Introdução

Do ponto de vista econômico, *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888), conhecido vulgarmente como carrapato dos bovinos, é o principal ixodídeo na região Neotropical,

centralizando a atenção de centros de pesquisas, universidades e indústria (MARTINS *et al.*, 2006). Essa relevância se dá pelos prejuízos econômicos decorrentes do seu parasitismo, que somente no Brasil chegam a dois bilhões de dólares anualmente (GRISI *et al.*, 2002) e pela dificuldade de manejo, uma vez que a maioria dos produtos carrapaticidas sintéticos disponíveis apresenta eficácia inferior a 75% (FURLONG *et al.*, 2007). Esse ectoparasita pode prejudicar a produção de carne e leite devido às injúrias provocadas nos animais. Durante a hematofagia, os carrapatos inoculam toxinas que promovem alterações fisiológicas nos animais infectados. Podendo ainda ocorrer a transmissão de agentes infecciosos, principalmente *Anaplasma* sp. e *Babesia* sp., responsáveis pela Tristeza Parasitária Bovina (TPB). *R. microplus* pode ainda reduzir a qualidade do couro do animal devido às cicatrizes ocasionadas na pele do hospedeiro durante a sua alimentação (CAMPOS *et al.*, 2002).

Dermacentor nitens (Neumann, 1897), conhecido popularmente como carrapato-da-orelha-do-cavalo, tem os equinos como hospedeiro preferencial, parasitando principalmente o pavilhão auricular. Entretanto, em grandes infestações pode parasitar outros locais do corpo do animal (GUIMARÃES *et al.*, 2001; GUGLIELMONE *et al.*, 2006). Este carrapato tem sido apontado como vetor do protozoário *Babesia caballi*, o agente causador da babesiose equina. Seu parasitismo ocasiona stress ao animal, perda de sangue e peso, predisposição a miíases além de atuar como vetor de patógenos (GUGLIELMONE *et al.*, 2006; LABRUNA & MACHADO, 2006).

Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) é um carrapato de origem africana que se estabeleceu em todo o globo devido ao transporte de canídeos entre países e continentes (DANTAS-TORRES, 2008). No Brasil, sua importância veterinária vai além dos transtornos causados aos seus hospedeiros, tais como intenso prurido, espoliação sanguínea e anemia, pois também é vetor do protozoário *Babesia canis* e bactérias como *Ehrlichia canis* e do gênero *Rickettsia* (DANTAS-TORRES, 2008). A principal forma de controle de *R. sanguineus* é através do uso tópico de carrapaticidas nos hospedeiros. Entretanto, devido ao uso indiscriminado de algumas bases químicas, já existe relato de populações resistentes a alguns produtos disponíveis (BORGES *et al.*, 2007).

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) é um carrapato originário do continente americano distribuído do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina (GUGLIELMONE *et al.*, 2006), parasitando principalmente equinos e capivaras, embora seus estágios imaturos possuam baixa especificidade, sendo encontrados também em pequenos animais como aves e roedores, além de humanos (GUIMARÃES *et al.*, 2001). No Brasil, está associado como principal vetor do agente etiológico da febre maculosa, tornando-se deste modo um problema de saúde pública. Índícios de resistência às principais bases químicas de carrapaticidas já foram relatados para esta espécie (FREITAS *et al.*, 2011).

Diante da possibilidade iminente de resistência devido ao uso descontrolado de carrapaticidas sintéticos, além do aumento de preocupação com as questões ambientais, medidas alternativas de controle têm ganhado espaço nos dias atuais. No que se refere ao combate a carrapatos através do contato, substâncias de origem vegetal têm se mostrado promissoras (COSKUN *et al.*, 2008; BORGES *et al.*, 2011; POHLIT *et al.*, 2011; MONTEIRO *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2012).

A literatura relata que os óleos essenciais de plantas e seus constituintes puros estão associados a diversas atividades biológicas, tais como efeitos antivirais, antimicrobianos, anti-helmínticos, fungicidas, moluscicidas e inseticidas (HENRIQUE *et al.*, 2007; HAMID *et al.*, 2011). Além desses efeitos biológicos, estudos relatam que os óleos essenciais apresentam atividade carrapaticida sobre diferentes espécies e estágios de carrapatos (MARTINS, 2006; TUNÓN *et al.*, 2006; CETIN *et al.*, 2009; PIRALI-KHEIRABADI, 2009; PIRALI-KHEIRABADI & SILVA, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2010).

Dessa forma, realizou-se a avaliação da atividade carrapaticida de óleos essenciais de folhas de *L. sidoides* obtidos por hidrodestilação (OELS-1) e arraste a vapor (OELS-2) (Item 4.4, pág. 22), sendo o primeiro testado frente a larvas de *D. nitens* e larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* e o segundo testado contra larvas e ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus* e *A. cajennense*. Além disso, o óleo volátil obtido da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata* (OEMO-2) (Item 4.4, pág. 22) teve o seu poder acaricida avaliado contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

7.6.2. Resultados

7.6.2.1. Bioensaios com larvas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com óleo essencial de *Myrcia ovata* OEMO-2

Os resultados dos testes carrapaticidas de OEMO-2 frente a larvas de *R. microplus* são apresentados na Tabela 25. A mortalidade das larvas de *R. microplus* tratadas com a concentração de 1,3 e 2,5 mg/mL foi nula, assim como observado para o controle. Na concentração de 5,0 mg/mL de OEMO-2 a mortalidade foi de 20%, apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$) para o controle. Nas demais concentrações, a taxa de mortalidade chegou a 100%, diferindo ($p < 0,05$) do controle e dos demais tratamentos. O valor de CL_{50} obtido para OELM-2 foi de 5,85 mg/mL (Tabela 29).

Tabela 25. Média de mortalidade de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata* (OEMO-2), em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{RH} > 80 \pm 10\%$).

Tratamentos	Média de mortalidade (%) \pm desvio padrão
Controle – tween 80 (3%)	0,0 ^a \pm 0,0
1,3 mg/mL	0,0 ^a \pm 0,0
2,5 mg/mL	0,0 ^a \pm 0,0
5,0 mg/mL	20,0 ^b \pm 9,2
10,0 mg/mL	100 ^c \pm 0,0
15,0 mg/mL	100 ^c \pm 0,0
20,0 mg/mL	100 ^c \pm 0,0

Médias seguidas de letras diferentes na coluna apresentam diferenças significativas em nível de 5%.

7.6.2.2. Bioensaios com larvas de *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens* tratadas com óleo essencial de *Lippia sidoides* OELS-1

Os resultados relativos aos testes carrapaticidas realizados com OELS-1 em larvas de *R. microplus* e *D. nitens* estão registrados na Tabela 26. No teste de pacote de larvas realizado com OELS-1 frente a *R. microplus*, a mortalidade do grupo tratado com a concentração de 2,5 $\mu\text{L/mL}$ foi de 0,5%, sendo estatisticamente similar ($p > 0,05$) ao observado para o controle, que foi de 0,4%. Entretanto, nos demais grupos tratados, a mortalidade observada apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle, sendo constatadas taxas de 100% nas duas maiores concentrações (15,0 e 20,0 $\mu\text{L/mL}$). Para *D. nitens*, a mortalidade foi nula no grupo tratado com 2,5 $\mu\text{L/mL}$ de OELS-1 e controle ($p > 0,05$). Nos demais tratamentos, as taxas de mortalidade apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle, no entanto, taxa de 100% só foi observada no grupo tratado com a maior concentração (Tabela 26).

Comparando as taxas de mortalidade de larvas das duas espécies testadas com OELS-1, podemos constatar valores superiores ($p < 0,05$) encontrados para *R. microplus* nos grupos tratados com as concentrações de 10,0 e 15,0 $\mu\text{L/mL}$ (Tabela 26). Os valores referentes à concentração letal responsável pela mortalidade de 50% da população de indivíduos (CL_{50}) para larvas de *R. microplus* e *D. nitens* foram de 5,6 e 11,1 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente (Tabela 29).

Tabela 26. Média de mortalidade de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, *Dermacentor nitens* tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de *Lippia sidoides* (OELS-1), em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{RH} > 80 \pm 10\%$).

Tratamentos	Média de mortalidade (%) \pm desvio padrão	
	<i>Rhipicephalus microplus</i>	<i>Dermacentor nitens</i>
Controle– tween 80 (2%)	0,4 ^{aA} \pm 1,3	0,0 ^{aA} \pm 0,0
2,5 $\mu\text{L/mL}$	0,5 ^{aA} \pm 1,5	0,0 ^{aA} \pm 0,0
5,0 $\mu\text{L/mL}$	38,6 ^{bA} \pm 38,4	11,7 ^{bA} \pm 12,7
10,0 $\mu\text{L/mL}$	96,7 ^{cA} \pm 4,6	32,1 ^{bB} \pm 35,8
15,0 $\mu\text{L/mL}$	100 ^{cA} \pm 0,0	59,6 ^{bcB} \pm 22,5
20,0 $\mu\text{L/mL}$	100 ^{cA} \pm 0,0	100 ^{cA} \pm 0,0

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna (letra minúscula) ou linha (letra maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

7.6.2.3. Bioensaios com larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense* tratadas com óleo essencial de *Lippia sidoides* OELS-2

Os resultados referentes aos testes carrapaticidas de OELS-2 sobre larvas e ninfas de *R. sanguineus* não ingurgitadas são apresentados nas Tabela 27. Não houve mortalidade nos grupos controle de larvas e ninfas. Como pode ser observado, para ambas os estágios testados, mortalidade significativamente diferente do grupo controle ($p < 0,05$) foi obtida com uma concentração de 50 $\mu\text{L/mL}$ do óleo, alcançando mais de 96% de mortalidade nas diluições em 15,0 e 20,0 $\mu\text{L/mL}$. Para as larvas e ninfas tratadas com essas mesmas concentrações de OELS-2, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) (Tabela 27).

Para *A. cajennense* também não houve nenhuma mortalidade de larvas e ninfas nos grupos de controle (Tabela 28). Desde a menor concentração de OELS-2 (2,5 $\mu\text{L/mL}$), observou-se diferença significativa de mortalidade de larvas em relação ao grupo controle ($p > 0,05$). A concentração de 20,0 $\mu\text{L/mL}$ do óleo causou mortalidade de 100%, diferindo significativamente de todos os outros tratamentos ($p < 0,05$). Sobre ninfas, diferenças estatísticas entre o grupo controle e tratamentos começou com 10,0 $\mu\text{L/mL}$, com mortalidade de 64,8% e matando 94% das ninfas com tratamento de 20,0 $\mu\text{L/mL}$ de OELS-2 (Tabela 28).

A comparação dos percentuais de mortalidade de larvas e ninfas tratadas nas mesmas concentrações revelou que as concentrações de 2,5; 5,0 e 10,0 $\mu\text{L/mL}$ de OELS-2 resultaram em maior mortalidade de larvas ($p < 0,05$) de ambas as espécies, enquanto, nas demais concentrações (15,0 e 20,0 $\mu\text{L/mL}$) a mortalidade para ambos os estágios foi similar ($p > 0,05$) (Tabelas 27 e 28). Os valores de CL_{50} para larvas e ninfas de *R. sanguineus* foram de 4,9 e 5,4 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente, enquanto que para larvas e ninfas de *A. cajennense*, esses valores foram, nessa ordem, 3,4 e 8,1 $\mu\text{L/mL}$ (Tabela 29).

Tabela 27. Média de mortalidade de larvas e ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido por arraste vapor de folhas de *Lippia sidoides* (OELS-2), em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{RH}>80\pm 10\%$).

Tratamentos	Média de mortalidade (%) \pm desvio padrão	
	Larvas não ingurgitadas	Ninfas não ingurgitadas
Controle- Tween 80 (3%)	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0
2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$	20,6 ^{abA} \pm 19,5	12,0 ^{abA} \pm 14,0
5,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	47,8 ^{bcA} \pm 8,6	50,0 ^{bcA} \pm 26,5
10,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	73,6 ^{ca} \pm 29,0	76,0 ^{cdA} \pm 29,5
15,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	99,5 ^{da} \pm 1,6	96,0 ^{da} \pm 8,4
20,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	99,0 ^{da} \pm 1,7	96,1 ^{da} \pm 8,1

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna (letra minúscula) ou linha (letra maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Tabela 28. Média de mortalidade de larvas e ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido por arraste vapor de folhas de *Lippia sidoides* (OELS-2), em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{RH}>80\pm 10\%$).

Tratamentos	Média de mortalidade (%) \pm desvio padrão	
	Larvas não ingurgitadas	Ninfas não ingurgitadas
Controle- Tween 80 (3%)	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0
2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$	41,9 ^{ba} \pm 20,5	0,0 ^{ab} \pm 0,0
5,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	63,3 ^{bcA} \pm 22,2	32,8 ^{abB} \pm 21,1
10,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	77,8 ^{ca} \pm 38,4	64,8 ^{bcB} \pm 14,5
15,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	82,5 ^{ca} \pm 7,6	71,1 ^{bcA} \pm 20,3
20,0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	100,0 ^{da} \pm 0,0	94,0 ^{ca} \pm 9,7

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna (letra minúscula) ou linha (letra maiúscula) não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância.

Tabela 29. Valores de concentração letal 50 (CL₅₀) dos óleos essenciais OEMO-2, OELS-1 e OELS-2 frente a larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, *Dermacentor nitens* e larvas e ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense*.

Óleos essenciais testados	Espécies de carrapatos	Estágios	CL ₅₀ *	Intervalo de confiança	Valor de p
OEMO-2**	<i>Rhipicephalus microplus</i>	Larva	5,9	3,7 – 9,1	< 0,05
OELS-1***	<i>Rhipicephalus microplus</i>	Larva	5,6	5,0 – 6,3	< 0,01
	<i>Dermacentor nitens</i>	Larva	11,1	9,4-13,1	< 0,01
OELS-2****	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Larva	4,9	4,2 – 5,9	< 0,05
		Ninfa	5,4	4,6 – 6,4	< 0,05
	<i>Amblyomma cajennense</i>	Larva	3,4	2,4 – 4,8	< 0,05
		Ninfa	8,1	7,0 – 9,5	< 0,05

*O valor de CL₅₀ obtido para OEMO-2 está em mg/mL, enquanto que para os demais óleos os valores estão em µL/mL.

** Óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata*.

*** Óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de *Lippia sidoides*.

**** Óleo essencial obtido por arraste a vapor de folhas de *Lippia sidoides*.

7.6.2.4. Bioensaios com fêmeas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com óleo essencial de *Myrcia ovata* OEMO-2

No teste de imersão realizado com fêmeas de *R. microplus*, os tratamentos com OEMO-2 não afetaram significativamente os parâmetros biológicos avaliados (peso da massa de ovos, índice de produção de ovos e a percentual de eclosão de larvas) (Tabela 30). Os valores dos percentuais de controle alcançados nos grupos tratados com OEMO-2 nas concentrações 10,0; 20,0; 40,0; 60,0 e 80,0 mg/mL foram 21,9; 20,3; 19,5; 21,3 e 61,7%, respectivamente (Figura 179).

Tabela 30. Peso da fêmea antes da postura (mg), peso de massa de ovos (mg), índice de produção de ovos (% IPO) e percentual de eclosão de larvas (%) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratados com diferentes concentrações do óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata* (OEMO-2), sob condições de laboratório (27±1°C e UR 80±10%).

Tratamentos	Peso da fêmea antes da postura (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	Índice de produção de ovos (% IPO)	Percentual de eclosão de larvas (%)
Controle*	232,2 ^a ±17,3	111,4 ^a ±30,1	94,4 ^a ±4,2	94,4 ^a ±4,2
10 mg/mL	235,9 ^a ±46,3	104,8 ^a ±33,7	79,8 ^a ±24,4	79,8 ^a ±24,4
20 mg/mL	233,9 ^a ±22,7	108,7 ^a ±14,2	76,9 ^a ±21,8	76,9 ^a ±21,8
40 mg/mL	234,5 ^a ±24,9	98,3 ^a ±30,9	86,8 ^a ±21,5	86,8 ^a ±21,5
60 mg/mL	233,6 ^a ±17,8	108,7 ^a ±21,1	76,6 ^a ±21,7	76,6 ^a ±21,7
80 mg/mL	234,3 ^a ±23,1	83,2 ^a ±29,3	48,0 ^a ±46,8	48,0 ^a ±46,8

Médias seguidas de letras diferentes na coluna apresentam diferenças significativas em nível de 5%.

*Tween 80 (2 %).

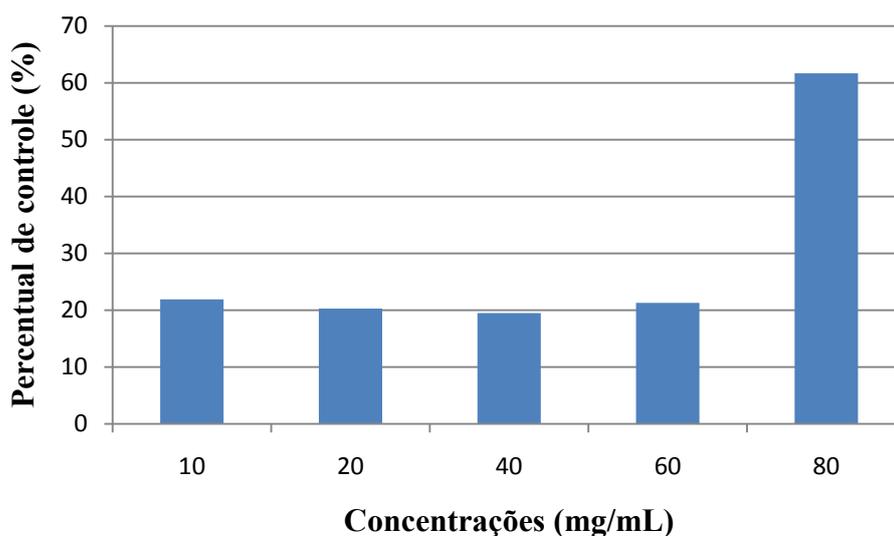


Figura 179. Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido por hidrodestilação da segunda coleta de folhas de *Myrcia ovata* (OEMO-2), sob condições de laboratório (27 ± 1 °C e RH > $80\pm 10\%$).

7.6.2.5. Bioensaios com fêmeas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com óleo essencial de *Lippia sidoides* OELS-1

No teste de imersão realizado com fêmeas de *R. microplus*, OELS-1 na concentração de 40,0 $\mu\text{L/mL}$ causou redução significativa no peso da massa de ovos (66,3 mg) e índice de produção de ovos (24,3%), uma vez que os valores observados para os grupos tratados foram significativamente inferiores aos observados para o grupo controle (126,7 mg e 46,9%, respectivamente). Nas concentrações de 60,0 e 80,0 $\mu\text{L/mL}$ a redução foi total (0,0%) (Tabela 31).

A viabilidade dos ovos foi afetada nos tratamentos com 10,0; 20,0 e 40,0 $\mu\text{L/mL}$, uma vez que o percentual de eclosão dos grupos tratados (35,3; 30,5 e 24,3%, respectivamente) apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao controle (Tabela 31). Essa análise não foi realizada nos grupos imersos nas maiores concentrações do óleo (60 e 80 $\mu\text{L/mL}$) devido à ausência de postura. (Tabela 31). Os valores referentes aos percentuais de controle obtidos nos grupos tratados com OELS-1 nas concentrações 10,0; 20,0 e 40,0 $\mu\text{L/mL}$ foram, nesta ordem, de 54, 57 e 72%, chegando a 100% nas concentrações de 60,0 e 80,0 $\mu\text{L/mL}$ (Figura 180).

Tabela 31. Peso da fêmea antes da postura (mg), peso de massa de ovos (mg), índice de produção de ovos (% IPO) e percentual de eclosão de larvas (%) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratados com diferentes concentrações do óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de *Lippia sidoides* (OELS-1), sob condições de laboratório (27 ± 1 °C e $RH > 80\pm 10\%$)

Tratamentos	Peso da fêmea antes da postura (mg)	Peso de massa de ovos (mg)	Índice de produção de ovos (% IPO)	Percentual de eclosão de larvas (%)
Controle	273,3 ^a ±22,1	126,7 ^a ±23,9	46,9 ^a ±6,5	91,1 ^a ±8,0
10 µL/mL	270,5 ^a ±26,3	93,4 ^a ±50,6	35,3 ^{ab} ±19,7	56,0 ^b ±39,5
20 µL/mL	270,9 ^a ±15,0	83,9 ^{ab} ±49,3	30,5 ^b ±17,7	58,3 ^b ±26,0
40 µL/mL	269,6 ^a ±13,4	66,3 ^b ±64,1	24,3 ^b ±23,4	47,0 ^b ±41,9
60 µL/mL	270,8 ^a ±26,3	0,0 ^c ±0,0	0,0 ^c ±0,0	-
80 µL/mL	270,8 ^a ±37,4	0,0 ^c ±0,0	0,0 ^c ±0,0	-

Médias seguidas de letras diferentes na coluna apresentam diferenças significativas em nível de 5%.
*Tween 80 (2 %).

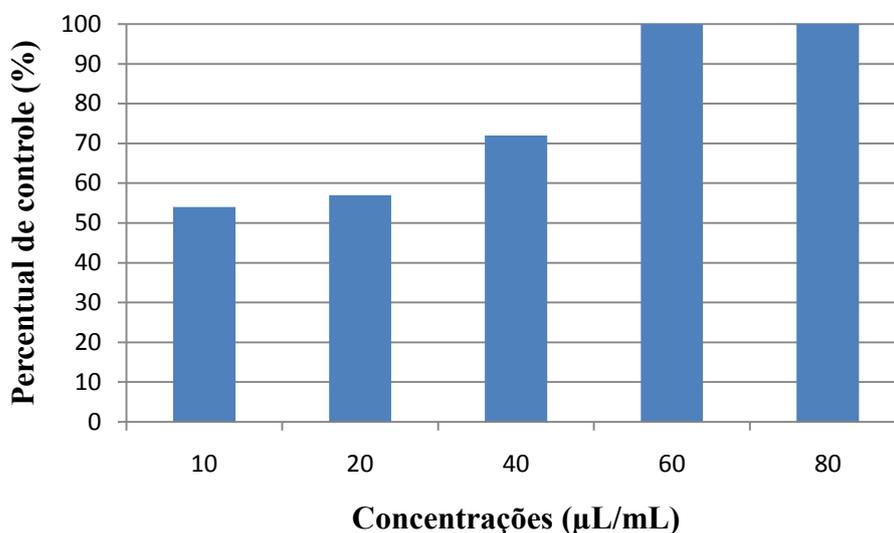


Figura 180. Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial obtido da hidrodestilação de folhas de *Lippia sidoides* (OELS-1), sob condições de laboratório (27 ± 1 °C e $RH > 80\pm 10\%$).

7.6.3. Discussão

O óleo essencial de *M. ovata* OEMO-2, utilizado nos ensaios de atividade carrapaticida descrito em nosso estudo, apresentou 90,34% de citral na sua composição, desta percentagem, 51,38 % é constituído de geranial (106) e 38,96% de neral (107) (Figura 109, pág. 158) (Tabela 19, pág.142). No teste com larvas de *R. microplus*, esse óleo causou 100% de mortalidade a partir da concentração de 10,0 mg/mL (10,6 µL/mL) (Tabela 25). A literatura menciona que o óleo essencial de *M. ovata* possui ação antimicrobiana e inseticida, e relata que essas propriedades biológicas podem estar relacionadas com a presença de citral, em sua composição (CÂNDIDO *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2011a). Em relação a propriedades biocidas do citral, estudos revelam que essa mistura isomérica dos aldeídos (106) e (107) mostrou as seguintes atividades: antimicrobiana (GUENTHER, 1950; PATTNAIK *et al.*, 1996), leishmanicida (MACHADO *et al.*, 2012), repelente contra insetos (VARTAK *et al.*, 1994), inseticida (YANG *et al.*, 2005) e acaricida (ELLIS & BAXENDALE, 1997). Essas propriedades biológicas também foram constatadas no óleo essencial de *Cymbopogon*

citratus, também rico em citral (PATTNAIK *et al.*; 1996; WANNISSORN *et al.*, 1996; MENDOZA MEZA & TABORDA, 2010; FRANZ *et al.*, 2011; MACHADO *et al.*, 2012). Além destas atividades, o óleo volátil *C. citratus* mostrou efeito carrapaticida frente a *R. microplus*, produzindo nas larvas 98,8% de mortalidade com a maior diluição do óleo, 1:8 (v/v) (125 µL/mL) (CHUNGSAMARNYART & JIWAJINDA, 1992). Portanto, com base nestes dados, pode-se sugerir que a atividade acaricida apresentada por OEMO-2 contra as larvas de *R. microplus*, esteja associada a presença de alta percentagem de citral em sua composição.

O valor de CL₅₀ obtido para OELM-2 foi de 5,85 mg/mL (6,20 µL/mL) (Tabela 29) indicando menor poder carrapaticida frente a larvas de *R. microplus* do que o apresentado por OELS-1 sobre larvas de carrapato da mesma espécie (CL₅₀ = 5,59 µL/mL) (Tabela 29).

O óleo essencial de *L. sidoides* é conhecido por ter um grande leque de propriedades biológicas (Item 3.2.1., pág. 17), assim como também o monoterpene oxigenado timol (**125**) (Item 5.4.2., pág. 162) que, geralmente, é o componente mais abundante nesse óleo. Em nosso estudo, verificou-se elevadas percentagens desse monoterpene na constituição química dos óleos de *L. sidoides* OELS-1 (67,60%) (Tabela 20, pág. 148) e OELS-2 (69,91%) (Tabela 21, pág. 154).

Com relação a estudos do efeito do timol (**125**) sobre carrapatos, foi demonstrado que esse monoterpene apresenta atividade sobre larvas e fêmeas de *R. microplus* (NOVELINO *et al.*, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2010) larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (Mendes *et al.*, 2011) e *Rhipicephalus sanguineus* (DAEMON *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2010) e larvas de *D. nitens* (DAEMON *et al.*, 2012a).

Daemon e colaboradores (2012a) avaliaram o potencial acaricida do timol (**125**) contra a *D. Nitens* e encontraram taxas de mortalidade de 90 e 99% nos grupos tratados com este monoterpene em concentrações de 15,0 e 20,0 mg/mL. No presente estudo, a concentração de 20,0 µL/mL de OELS-1, equivalente a 13,7 mg/mL de timol (**125**), alcançou 100% de mortalidade de larvas de *D. Nitens* (Tabela 26), resultado superior ao relatado por aqueles autores que utilizaram o timol (**125**) puro em seus testes. Isto pode estar relacionado com a sinergia ou o efeito aditivo deste composto fenólico com outras substâncias presentes em OELS-1, que também podem possuir atividade carrapaticida. Entre estas, podemos citar o carvacrol (**156**), isômero do monoterpene (**125**) (Figura 178, pág. 183), a quarta substância mais abundante (6,30%) observada na constituição química de OELS-1 (Tabela 20, pág. 148).

Em recente publicação o carvacrol (**156**) em sua menor concentração testada (2,5 µL/mL) causou 100% de mortalidade em larvas de *D. Nitens* (SENRA *et al.*, 2013a). Em nosso trabalho 1,3 µL/mL deste monoterpene está presente na maior concentração de OELS-1 (20,0 µL/mL) que foi responsável por 100 % de percentual de controle de larvas de *D. Nitens* (Tabela 26). Além disso, suas atividades biocida e repelente foram verificadas contra as seguintes espécies de carrapato: *R. turanicus* (Pomerantzev, 1940), *Ixodes scapularis* (Say, 1821), *Amblyomma americanum* (Linnaeus, 1758) e *Hyalomma marginado* (Kock, 1844) (COSKUN *et al.*, 2008; CETIN *et al.*, 2009; DOLAN *et al.*, 2009; CETIN *et al.*, 2010), enquanto Ntalli e colaboradores (2011) observaram que a associação de timol (**125**) e carvacrol (**156**) resultou em efeito sinérgico sobre o nematoide *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949.

Com relação ao teste com larvas de *R. microplus*, nenhum efeito sinérgico ou aditivo foi constatado, uma vez que a mortalidade observada com a concentração de 15,0 µL/mL de OELS-1, equivalente a 10,0 mg/mL de timol (**125**), foi similar ao observado por Scoralik e colaboradores (2012) e Daemon e colaboradores (2012b) que relataram taxas de 99% na concentração de 10,0 mg/mL deste monoterpene (Tabela 26). Esse fato pode estar relacionado com a sensibilidade de *R. microplus* ao timol (**125**), uma vez que essa espécie foi apontada como mais sensível a esta substância do que outras espécies de carrapatos (MENDES *et al.*,

2011; DAEMON *et al.*, 2012b), fato corroborado no presente estudo devido a maior susceptibilidade de *R. microplus* ao OELS-1. Assim, a exposição apenas ao timol (**125**) já resultaria em alta mortalidade de larvas de *R. microplus*. Portanto, a ação carrapaticida apresentada por OELS-1 frente a larvas de *R. microplus* pode ser devido ao alto teor de substância (**125**) na composição deste óleo. Geralmente, o constituinte majoritário é o responsável pela atividade biológica do óleo essencial. No entanto, esta pode ser atribuída à ação sinérgica ou antagônica de vários componentes (BURT, 2004; BAKKALI *et al.*, 2008). As larvas dessa espécie de carrapato foram mais sensíveis a OELS-1 do que as de *D. Nitens*, uma vez que foram verificadas altas taxas de mortalidade (>95%) para *R. microplus*, a partir da concentração de 10,0 µL/mL (Tabela 26), e menor valor de CL₅₀ (Tabela 29).

Nos ensaios realizados com OELS-2 contra larvas de *R. sanguineus* e *A. cajennense*, a presença de elevada percentagem de timol (**125**) na composição desse óleo (Tabela 21, pág. 154) pode ter determinado também a atividade carrapaticida deste óleo. No teste com larvas, observou-se que a mortalidade de *R. sanguineus* foi superior a 90%, a partir da concentração 15,0 µL/mL de OELS-2 (Tabela 27), aproximadamente 10,0 mg/mL de timol (**125**), enquanto para as larvas de *A. cajennense* a mortalidade foi maior que 90% somente na concentração 20,0 µL/mL do óleo (Tabela 28), cerca de 13,1 mg/mL de timol (**125**). Daemon e colaboradores (2012a) avaliaram o efeito acaricida do timol (**125**) puro frente a larvas de *R. sanguineus*, constatando mortalidade de 96,5; 95,9 e 98,1% nos grupos tratados nas concentrações 10,0; 15,0 e 20,0 mg/mL, respectivamente. Timol (**125**) também foi submetido a teste de atividade larvicida sobre o carrapato *A. cajennense*, resultando na mortalidade de 97,6; 93,5 e 94,5% nos grupos tratados com soluções do monoterpeno nas concentrações 10,0; 15,0 e 20,0 mg/mL (MENDES *et al.*, 2011). A comparação destes dados demonstra que OELS-2, apresentou eficácia semelhante ao timol (**125**). Com base nos valores CL₅₀ obtidos (Tabela 29), concluiu-se que as larvas de *A. cajennense* apresentaram maior sensibilidade a OELS-2 do que as de *R. sanguineus*.

No teste com ninfas, OELS-2 na maior concentração testada, 20,0 µL/mL, em torno de 13,14 mg/mL de timol (**125**), produziu 100 e 94% de mortalidade em *R. sanguineus* (Tabela 27) e *A. cajennense* (Tabela 28), respectivamente. Resultados inferiores aos obtidos por Senra e colaboradores (2013b) que conseguiram 100% de mortalidade de ninfas de *R. sanguineus* e *A. cajennense* a partir das concentrações de 2,5 e 10,0 mg/mL de timol (**125**), respectivamente. A análise desses dados revela que os constituintes do óleo podem ter agido antagonicamente sobre as ninfas de *R. sanguineus*, já para as ninfas da outra espécie de carrapato testadas, o timol (**125**) foi o responsável pelo efeito carrapaticida apresentado por OELS-2. A comparação dos valores de CL₅₀ (Tabela 29) revelou que as ninfas de *R. sanguineus* são mais sensíveis a OELS-2 do que as de *A. cajennense*.

Os valores de CL₅₀ obtidos para as larvas e ninfas de *A. cajennense* mostraram que as larvas foram mais sensíveis (Tabelas 29). Estudos com produtos químicos sintéticos também demonstraram que as larvas desse carrapato são mais sensíveis do que as ninfas (PINHEIRO, 1987). De acordo com Oba e Dell'Porto (1982), a penetração do inseticida varia de acordo com a espessura da camada de lipídios na cutícula, que podem variar de acordo com a fase de desenvolvimento e espécie do artrópode. Portanto, as diferenças de suscetibilidade entre as fases encontradas no presente estudo podem estar relacionadas com a composição e/ou espessura da cutícula (SONENSHINE, 1993).

No teste com fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, OELS-1 atingiu eficácia superior a 95% sendo esta percentagem somente obtida a partir da concentração de 60,0 µL/mL [aproximadamente 38,12 mg/mL de timol (**125**)] (Figura 180, pág. 190) resultado inferior ao constatado por Monteiro e colaboradores (2010) que relataram que a concentração de 10,0 mg/mL de timol (**125**) resultou em eficácia de 98 %. A comparação desses dados sugere que efeito carrapaticida exibido por OELS-1 nesse teste esteja relacionado à ação antagônica dos

componentes do óleo. OEMO-2, em sua o maior concentração testada (80,0 mg/mL – aproximadamente 84,5 µL/mL), produziu apenas 61,7% de percentual de controle (Figura 179, pág. 189) indicando que OELS-1 possui maior poder carrapaticida contra fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* do que o óleo essencial de *M. ovata*.

No presente estudo, as propriedades carrapaticidas apresentadas por OELS-1, OELS-2 e OEMO-2 indicam que esses óleos essenciais de plantas são bons candidatos para o desenvolvimento de agentes químicos de origem vegetal úteis no controle de carrapatos.

As informações apresentadas neste trabalho em relação à composição química de OELS-1 e sua atividade carrapaticida contra larvas de *D. nitens* e larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, encontram-se publicadas na revista Parasitology Research (GOMES *et al.*, 2012).

8. CONCLUSÃO

O estudo químico de *Myrcia ovata* conduziu a identificação de quatro flavonoides C-metilados e dois flavonoides glicosilados que são substâncias inéditas no gênero. A presença dos flavonoides C-metilados confirmou a classificação da espécie, uma vez que estas substâncias são consideradas marcadores quimiotaxonômicos da família Myrtaceae. Esta investigação levou, também, a identificação de metabólitos inéditos na família, a saber, o derivado de ácido clorogênico (**137**) e o sesquiterpeno 7-hidroxicadalenal (**140**). Deste último, apesar de já ser registrado na literatura, obteve-se, pela primeira vez, a atribuição de dados espectrométricos de RMN ^1H e ^{13}C .

Os constituintes fenólicos identificados em FAEF-MO (fração acetato de etila obtida do extrato etanólico de folhas de *M. ovata*) são os responsáveis pelo elevado poder antioxidante apresentado por este material, diferenciando-se das demais frações analisadas quanta a esta propriedade.

Duas extrações para obtenção de óleos essenciais de folhas de *M. ovata* forneceram, com altos rendimentos, os óleos OEMO-1 e OEMO-2 que apresentaram como componentes majoritários os monoterpenos oxigenados geranial (**106**) e neral (**107**), mistura de aldeídos conhecida como citral. A atividade larvicida apresentada por OELM-1 contra larvas de *Aedes aegypti* (L.) e o efeito carrapaticida exibido por OELM-2 sobre larvas e fêmeas de *Rhipicephalus microplus* podem estar relacionados ao teor de citral na composição dos óleos de *M. ovata* obtidos.

O timol (**125**) foi o componente majoritário detectado nos óleos essenciais de folhas *Lippia sidoides* obtidos pelo processo de hidrodestilação (OELS-1) e por arraste a vapor (OELS-2). Esse monoterpeno pode ser o responsável pelas atividades carrapaticidas exibida por OELS-1 frente a larvas de *R. microplus* e de OELS-2 contra larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* e larvas de *Rhipicephalus sanguineus*. No caso de *Dermacentor nitens* o efeito carrapaticida apresentado por OELS-2 contra larvas dessa espécie de carrapato pode estar associado à ação sinérgica ou aditiva dos constituintes do óleo. Já as propriedades carrapaticidas apresentadas por OELS-1 e OELS-2 sobre fêmeas de *R. microplus* e ninfas de *R. sanguineus*, respectivamente, podem estar relacionadas ao efeito antagônico dos componentes de cada óleo.

OELS-2 foi ativo, também, contra ninfas do triatomíneo *Rhodnius prolixus* e inativo frente a ovos desse inseto, no entanto, seu componente mais abundante o timol (**125**) e seu isômero carvacrol (**156**) mostraram tanto atividade ninficida como ovicida, sendo estes efeitos mais pronunciados para o timol (**125**). Sugere-se que o efeito biocida apresentada por OELS-2 frente a ninfas de *R. prolixus* esteja relacionado a ação antagônica dos constituintes do óleo.

As propriedades inseticidas/carrapaticidas verificadas nos óleos essenciais de *L. sidoides* e *M. ovata*, bem como nos monoterpenos timol (**125**) e carvacrol (**156**), tornam esses produtos naturais possíveis fontes para o desenvolvimento de novas alternativas para o controle de carrapatos e de triatomíneos (vetores de doença de Chagas), podendo ser utilizados sozinhos ou juntamente com pesticidas sintéticos para o manejo integrado desses artrópodes.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-BAKY, H. H.; EL-BAROTY, G. S. Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L). *IJIB*. v. 3, n. 3, p. 202-208, 2008.

ABDEL-SHAFY, S.; ZAYED, A. A.. In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Vet. Parasitol.*, v. 106, n. 1, p. 89-96, 2002.

ADAM, K.; SIVROPOULOU, A.; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J Agric Food Chem*, v. 46, n. 5, p. 1739–1745, 1998.

ADAMS, R. P. *Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, USA, 2007.

AGGARWAL, K. K.; TRIPATHI, A. K.; AHMAD, A.; PRAJAPATI, V.; VERMA, N.; KUMAR, S.. Toxicity of 1-menthol and its derivative against four storage insects. *Insect Sci. Appl.*, v. 21, n. 3, p. 229–235, 2001.

AGUIAR, J. C. D.; SANTIAGO, G. M. P.; LAVOR, P. L.; VERAS, H. N. H.; FERREIRA, Y. S.; LIMA, M. A. A.; ARRIAGA, A. M. C.; LEMOS, T. L. G.; LIMA, J. Q.; DE JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BRAZ-FILHO, R.. Chemical constituents and larvicidal activity of *Hymenaea courbaril* fruit peel. *Nat. Prod. Commun.* v. 5, n. 12, p. 1977-1980, 2010.

AGUIAR, L. B. M.; MATOS, F. J. A. Atividade antibiótica de plantas medicinais da flora nordestina. *Ciência e Cultura*, v. 35, 1983.

AGUIAR-MENEZES, E. L. *Inseticidas Botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Rio de Janeiro (Documentos, 205), 58p, 2005.

ALARCÓN, L. D.; PEÑA, A. E.; GONZALES, N.; QUINTERO, A.; MEZA, M.; USUBILLAGA, A.; VELASCO, J. Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrcia fallax* (Rich.) DC. from Venezuela. *Rev Soc Quim Peru*, v. 75, n. 2, p.221-227, 2009.

ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; COSTA, S. M. O.; BANDEIRA, P. N.; SANTIAGO, G. M. P.; ANDRADE-NETO, M.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.. Nematicidal and larvicidal activities of essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. *An. Acad. Bras. Cienc.* v. 79, n. 2, p. 209-213, 2007.

ALENCAR, J. W., CRAVEIRO, A. A., MATOS, F. J. A., MACHADO, M. I. L. Kovats indexes simulation in essential oil analysis. *Quim. Nova*, v. 13, n. 4, p. 282-284, 1990.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.. Kovats indexes as a preselection routine in mass-spectra library searches of volatiles. *J. Nat. Prod.*, v. 47, n. 5, p. 890-892, 1984.

ALI, S. M., ILYAS, M. Biomimetic approach to biflavonoids: oxidative coupling of 2'-hydroxychalcones with I₂ in alkaline methanol. *J. Org. Chem.*, v. 51, n. 26, p. 5415-5417, 1986.

AL-JABR, A. M.. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Sci J King Faisal Univ*, v. 7, n. 1, p. 14-27, 2006.

ALMEIDA, M M B, ARRIAGA, Â M C, SANTOS, A K L D, LEMOS, TELMA L. G., BRAZ-FILHO, R, & VIEIRA, I J. C. (2007). Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década. *Quím Nova*, v.30, n. 4, p. 935-951, 2007.

ALMEIDA, M. C. S., ALVES, L. A., SOUZA, L. G. S., MATOS, M. C., OLIVEIRA, M. C. F., LEMOS, T. L. G., BRAZ-FILHO, R. Flavonóides e outras substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes. *Quim. Nova*. v. 33, n. 9, p.1877-1881, 2010.

ALMEIDA, M. F. O.; MELO, A. C. R.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. A.; SOUZA, A. D. L.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; AMARAL, A. C. F.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L. P.. Chemical constituents and Leishmanicidal activity of *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). *Quím. Nova*, v.34, n.7, pp. 1182-1187, 2011.

ALVES, W. V.; LORENZETTI, E. R.; GONÇALVES, F. C.. Utilização de acaricidas a base de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: uma contribuição para a produção e desenvolvimento sustentável. *RBAS*, v.2, n.2, p.14-25, 2012.

AMARAL, A. C. F., KUSTER, R. M., DE SANTANA BESSA, W., BARNES, R. A., KAPLAN, M. A. C.; WESSJOHANN, L. A. Flavonoids and other phenolics from leaves of two *Marliera species* (Myrtaceae). *Bioch Syst and Ecol*.v. 29, p. 653-654, 2001.

ANDRADE, G. S.; GUIMARÃES, A. G.; SANTANA, M. T.; SIQUEIRA, R. S.; PASSOS, L. O.; MACHADO, S. M. F.; RIBEIRO, A. DE S.; SOBRAL, M., ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.. Phytochemical screening, antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Myrcia pubiflora* in mice. *Rev bras farmacogn*, v. 22, n. 1, p. 181-188, 2012.

ANSARI, M. A.; VASUDEVAN, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. K.. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresour Technol*, v. 71, n. 3, p. 267-271, 2000.

ANTONISAMY, P.; DURAI PANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetracantha* Lam. in mouse and rat models. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 63, n.8, p.1070-1077, 2011.

APEL, M. A.; RIBEIRO, V. L.; BORDIGNON, S. A.; HENRIQUES, A. T.; VON POSER, G.. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol Res*, v. 105, n. 3, p. 863-868, 2009.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, D.; FURQUIM, K. C. S.; CHIERICE, O. G.; NETO, S. C.; BECHARA, G. H.; SAMPIERI, B. R.; CARMARGO-MAHTIAS, M. I.. Effects of *Ricinus communis* oil esters on salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Exp Parasitol*, v. 127, n. 2, p. 569-574, 2011.

ARRIAGA, A. M. C.; RODRIGUES, F. E. A.; LEMOS, T. L. G.; DE OLIVEIRA, M. C. F.; LIMA, J. Q.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R.; MAFEZOLI, J.. Composition and larvicidal activity of essential oil from *Stemodia maritima* L. *Nat. Prod. Commun.*, v. 2, n. 12, p. 1237-1239, 2007.

AWAD, A. B.; CHINNAM, M.; FINK, C. S.; BRADFORD, P. G.. β -sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine*, v. 14, n. 11, p. 747-754, 2007.

AZAMBUJA, P.; GARCIA, E. S.; MELLO, C. B.; FEDER, D.. Immune responses in *Rhodnius prolixus*: influence of nutrition and ecdysone. *J Insect Physiol*, v. 43, n. 6, p. 513-519, 1997.

AZAR, P.A.; PORAHAM-DARVASARI, A.; SHARIFAN, A.; SABER-TEHRANI, M.; SOLEIMANI, A. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Melissa officinalis* L. *Asian J. Chem.*, v. 23, n.3, p. 1381-1383, 2011.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M.. Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem. Toxicol.*, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008

BALACHANDRAN P, GOVINDARAJAN R. Cancer an Ayurvedic perspective. *J. Pharmacol Res*, v. 51, n.1, p.19-30, 2005.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M; DAVID, J. P.. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quím. Nova*, v.29, n.1, p. 113-123, 2006.

BARROSO, G. M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*, Imprensa da Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, v.2, 1991.

BASNET, P.; MATSUSHIGE, K.; HASE, K.; KADOTA, S.; NAMBA, T.. Four di-O-caffeoyl quinic acid derivatives from propolis. Potent hepatoprotective activity in experimental liver injury models. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 19, n. 1, p. 1479-1484, 1996.

BELLETTI, N.; NDAGIJIMANA, M.; SISTO, C.; GUERZONI, M.E.; LANCIOTTI, R.; GARDINI, F. Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agr. Food Chem.*, v. 52, n. 23, p. 6932-6938, 2004.

BENNETT, G. F.. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). I Influence of tick size on egg production. *Acarol.*, v. 16, n. 1, p. 52-61, 1974.

BERG, O.K.. Myrtaceae. *In Fl. Bras.* (C.F.P. Martius, A.G. Eichler & I. Urban, eds.) F. Fleischer, Lipsiae, v.14, n.1, p.116, 1857.

BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*, v.17, n. 3/4, p. 80-82, 2005.

BEZERRA, P.; FERNANDES, A. G.; CRAVEIRO, A. A.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L.; VIANA, G. S. B.; MATOS, F. F.; ROUQUAYROL, M. Z. Composição química e atividade de óleos essenciais de plantas do nordeste – Gênero *Lippia*. *Ciência e Cultura*. v. 33, p. 1-14, 1981.

BHASKAR, A. A.; LGNACIMUTHU, S.; PAULRAJ, G. M.; AL-NUMAIR, K. S. Chemopreventive potential of β -sitosterol in experimental colon cancer model, an in vitro and in vivo study. *BMC Complement. Altern. Med.*, v. 10, n. 24, p. 1472-6882, 2010.

BORGES, L. M. F.; SOARES, S. F.; FONSECA, I. N.; CHAVES, V. V.; LOULY, C. C. B.. Resistência acaricida em larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de Goiânia, GO, Brasil. *Rev Patol Trop*, v. 36, n. 1, p. 87-95, 2007.

BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D. DE; BARBOSA, C. DA S.. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 20, n. 2, p. 89-96, 2011.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G.; LEMOS, T. L.; MATOS, F. J.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH, J.; RAO, V. S.; BRITO, G. A.. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz J Med Biol Res*, v. 40, n.3, p. 349-356, 2007.

BOULOGNE, I.; PETIT P., OZIER-LAFONTAINE, H.; DESFONTAINES, L.; LORANGER-MERCIRIS, G.. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environ Chem Lett*, v. 10, n. 4, p. 325-472, 2012.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: Inseticidas, mecanismo de ação e resistência. *Epidemiol Serv Saúde*, v.16, n. 4, p.279-93, 2007.

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A Química dos Agrotóxicos. *QNesc*, v. 34, n. 1, p. 10-15, 2012.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. *Manual de saneamento*. 3. ed. rev. Brasília: FUNASA, 2006. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/eng_saneam2.pdf> Acesso em: 14 ago. 2013.

BRAZ-FILHO, R. Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de um pacatubano. *Quím. Nova*, v. 17, n. 5, p. 405-445, 1994.

BRITO, N. R.; LANETTI, R. A.. *A saúde pelas plantas e ervas do mundo inteiro*, Ed. Ouro: Rio de Janeiro, 1996.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; VALENTE, E. C. N.; SOUZA, L. A.; DIAS, N. DA S.; ARAÚJO, A. M. N.. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 18, n.4, p. 44-48, 2009.

BURDEN, R. S.; KEMP, M. S.. Sesquiterpene phytoalexins from *Ulmus glabra*. *Phytochemistry*, v. 23, n. 2, p. 282-285, 1984.

BURT, S.. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CALIXTO, J. B. Biopirataria: A diversidade biológica na mira da indústria farmacêutica. *Ciência Hoje*, v. 28, n. 167, p. 36-43, 2000.

CAMPOS, R. N. S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SANTOS, G. R. A.; RONE, M. N. B.. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. *Arch. Zootec.*, v. 61, p. 67-78. 2012.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., BEVILAQUA, C. M. L., MORAIS, S. M., MACIEL, M. V., COSTA, C. T. C., MACEDO, I. T. F., OLIVEIRA, L. M. B., BRAGA, R. R., SILVA, R. A., VIEIRA, L. S., Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Vet. Parasitol.* 148, n. 3-4, 288–294, 2007.

CÂNDIDO, C. S.; PORTELLA, C. S. A.; LARANJEIRA, B. J.; SILVA, S. S.; ARRIAGA, A. M. C.; SANTIAGO, G. M. P.; GOMES, G. A.; ALMEIDA, P. C.; CARVALHO, C. B. M. Effects of *Myrcia ovata* Cambess. essential oil on planktonic growth of gastrointestinal microorganisms and biofilm formation of *Enterococcus faecalis*. *Braz. J. Microbiol.*, v. 41, n.3, p. 621-627, 2010.

CARVALHO, A. F.; MELO, V. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I.; BANTIM, M. B.; RABELO, E. F..Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 4, p. 569–571, 2003.

CATALAN, C. A. N.; LAMPASONA, M. E. P.. The chemistry of the genus *Lippia* (Verbenaceae) In KINTZIOS, S. E. (ed.). *Oregano: The Genera Origanum and Lippia. Medicinal and Aromatic Plants—Industrial Profiles*, 1st edn. London: Taylor and Francis, p. 127–149, 2002.

CAVALCANTI, E. S. B.; MORAIS, S. M. DE; LIMA, M. A. A.; SANTANA, E. W. P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 99, n.5, p. 541-544, 2004.

CAVALCANTI, S. C. H.; NICULAU, E. DOS S.; BLANK, A. F.; CÂMARA, C. A. G.; ARAÚJO, I. N.; ALVES, P. B. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Bioresour Technol.*, v.101, n.2, p. 829-832, 2010.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quim Nova*, v. 21, n. 1, p. 99–105, 1998.

CERQUEIRA, M. D. D.; SOUZA-NETA, L. C.; PASSOS, M. D. V. M.; LIMA, E. D. O.; ROQUE, N. F.; MARTINS, D.; GUEDES, M. L. S.; CRUZ, F. G.. Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils. *J Braz Chem Soc*, v.18, n. 5, p. 998-1003, 2007.

CERQUEIRA, M. D. *Estudo fitoquímico de Myrcia rotundifolia (Berg.) Legrand. (Myrtaceae)*. 2002. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2002.

CERQUEIRA, M. D.; MARQUES, E. J.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; CRUZ, F. G.; GUEDES, M. L. S. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). *Quim Nova*, v. 32, n.6, p. 1544-1548, 2009.

CETIN, H.; CILEK, J. E.; AYDIN, L.; YANIKOGLU, A.. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* against *Rhipicephalus turanicus*. *Vet. Parasitol.* v. 160, n. 3-4, p. :359–361, 2009.

CETIN, H.; CILEK, J. E.; OZ, E., AYDIN, L.; DEVECI, O.; YANIKOGLU, A. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and γ -terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol*, v. 170, n. 3-4, p. 287-290, 2010.

CHAIEB, I. Research on insecticidal plants in Tunisia: review and discussion of methodological approaches. *TJPP*, v. 6, n. 2, p. 109-125, 2011.

CHAMI, N.; BENNIS, S.; CHAMI, F.; ABOUSSEKHRA, A.; REMMAL, A.. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo. *Oral Microbiol Immunol*, v. 20, n. 2, p. 106–111, 2005.

CHEN, M. S. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science*, v. 15, n. 2, p. 101-114, 2008.

CHENG, S. S.; CHANG, H.; CHANG, S.; TSAI, K. CHEN, W. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Biores. Technol.*, v. 89, n. 1, p. 99-102, 2003.

CHENG, S. S.; HUANG, C. G.; CHEN, Y. J.; YU, J. J.; CHEN, W. J.; CHANG, S. T. Chemical composition and larvicidal activities of leaf essential from eucalyptus species. *Bioresour. Technol.*, v. 100, n. 1, p. 452-456, 2009.

CHOPRA, M.; FITZSIMONS, P. E.; STRAIN, J. J.; THURNHAM, D. I.; HOWARD, A. N.. Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clin Chem*, v. 46, n. 8, p. 1162-1170, 2000.

CHUNG, I. M.; SEO, S. H.; KANG, E. Y.; PARK, S. D.; PARK, W. H.; MOON, H. I. Chemical composition and larvicidal effects of essential oils of *Dendropanax morbifera* against *Aedes aegypti* L. *Biochem. Syst. Ecol.*, v. 37, n. 4, p. 470-473, 2009.

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. *Kasetsart Journal*, National Science, v.26, n. 5, p.46-51, 1992.

CINTRA, P.; MALASPINA, O.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. *J. Brazil. Chem. Soc.*, v.13, n. 1, p.115-118, 2002.

CINTRA, P.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Oral toxicity of chemical substances found in *Dimorphandra mollis* (Caesalpiniaceae) against honeybees (*Apis mellifera*) Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, v.45, n.1, p.141-149, 2005a.

CINTRA, P.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; BUENO, F. C. Astilbin toxicity to leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, v.45, n.2, p.1-7, 2005b.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates. Nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric*, v. 79, n. 3, p. 362-372, 1999.

CLIFFORD, M. N.. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J Sci Food Agric*, v. 80, n. 7, p. 1033-1043, 2000.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E., ESPÍNDOLA, L. S.. Insecticidal activity of cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. *Neotrop Entomol*; v. 35, n. 1, p. 133–138, 2006.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N.. The leaf oil composition of *Myrcia splendens* from Monteverde, Costa Rica *J Essent Oil-Bearing Plants*, v. 11, n. 1 p. 41-44. 2008

COMINO, C.; LANTERI, S.; PORTIS, E.; ACQUADRO, A.; ROMANI, A.; HEHN, A.; LARBAT, R.; BOURGAUD, F.. Isolation and functional characterization of a cDNA coding a hydroxycinnamoyltransferase involved in phenylpropanoid biosynthesis in *Cynara cardunculus* L. – *BMC Plant Biol*, v. 7, p. 1-14, 2007.

CORREA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N.. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Rev Bras Plantas Med*, v. 13, n. 4, 2011.

CORREA, P. G.; PIMENTEL, R. M. DE M.; CORTEZ, J. S. DE A.; XAVIER, H. S.. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais brasileiras. *Cienc. Cult.*, v. 60, n. 3 p. 54-57, 2008.

COSKUN, S.; GIRISGIN, O.; KÜRKCÜOĞLU, M.; MALYER, H.; GIRISGIN, A. O.; KIRIMER, N.; BASER, K. H.. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). *Parasitol. Res.*, v. 103, n.2, p. 259–261, 2008.

- COSTA, A. F. *Farmacognosia*. 2 ed. Lisboa: Fundação Calauste Gulbenkian,. 135p. 1994.
- COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M.. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biol Leopold*, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.
- COSTA, P. M.. *Triterpenos, saponinas e flavonóides isolados de Licania arieanae e Eschweilera longipes*.. 2003. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2003.
- COSTA, S. M. O.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; BRAZ-FILHO, R.. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 12 (Supl.), p. 66-67, 2002.
- CRANCHI, D. C. *Isolamento e Determinação Estrutural de Metabólitos Secundários de Pinus strobus var. chiapensis (Martinez)*. 1994. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1994.
- CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. de A.; ALENCAR, J. W. de; MACHADO, M. I. L. *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: Ed. da UFC, 1981.
- CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e a química fina. *Quím. Nova*, v. 16 n. 3, p. 224-228, 1993.
- CRONQUIST, A. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University: New York, 1981.
- CRUZ, A. V. de M.; KAPLAN, M. A. C.. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. *Floresta Ambiente*, v. 11, n.1, p. 47 - 52, 2004.
- D'AMOUR, F. E., SMITH, D. L., A method for determining loss of pain sensation, *J. Pharmacol. Exp Ther.*, v. 72, n. 1, p. 74–79, 1941.
- DAEMON, E.; MATURANO, R.; MONTEIRO, C. M. O.; SCORALIK, M.; MASSONI, T.. Acaricidal activity of hydroethanolic formulations of thymol against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. *Vet. Parasitol.*, v. 186, n. 3-4, p. 542-545, 2012a.
- DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; ROSA, L. S.; CLEMENTE, M. A.; ARCOVERDE, A.. Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.*, v. 105, n. 2, p. 495–497, 2009.
- DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M.; MATURANO, R.; SENRA, T. O.; CALMON, F.; FAZA, A.; DE AZEVEDO PRATA, M. C.; GEORGOPOULOS, S. L.; DE OLIVEIRA, L. F.. Spectroscopic evaluation of thymol dissolved by different methods and influence on acaricidal activity against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res*, v. 111, n. 5, p. 1901-1906, 2012b.

DANTAS-TORRES, F.. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet Parasitol*, v. 152, n. 3-4, p. 173–185, 2008.

DAVIES, K. M.; SCHWINN, K.E.. Molecular biology and biotechnology of flavonoid biosynthesis. In: ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. (eds). *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press, Taylor & Francis Group. pp:143-218, 2006.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O.. *Natural products in crop protection. Bioorg Med Chem*, v.17, n. 12, p. 4022–4034, 2009.

DE CERQUEIRA, M. D.; DE SOUZA-NETA, L. C.; GUEDES, M. L. S.; RIVELINO, ROBERTO ; CRUZ, F. G.. Myrciaine, a new nicotinic ester from *Myrcia blanchetiana* (Myrtaceae). *Tetrahedron lett*, v. 54, n. 11, p. 1421-1423, 2013.

DE CERQUEIRA, M. D.; SOUZA-NETA, L. C.; PASSOS, M. G. V. M.; LIMA, E. O.; ROQUE, N. F.; MARTINS, D.; GUEDES, M. L. S.; CRUZ, F. G. Seasonal variation and antimicrobial et al; Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 18, n. 5, p. 998-1003, 2007.

DE MEDEIROS, M. DAS G. F.; DA SILVA, A. C.; CITÓ, A. M. DAS G. L.; BORGES, A. R.; DE LIMA, S. G.; LOPES, J. A. D.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; MEDEIROS, M. G. F.. In vitro antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Parasitol. Int.*, v. 60, n. 3, p. 237-241, 2011.

DEGENHARDT, J.; KOLLNER, T. G.; GERSHENZON, J.. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, v. 70, n. 15–16, p. 1621–1637, 2009.

DELGADO, G.; OLIVARES, M. S.; CHÁVEZ, M. I.; RAMÍREZ-APAN, T.; LINARES, E.; BYE, R.; ESPINOZA-GARCÍA, F. J.. Antiinflammatory constituents from *Heterotheca inuloides*. *J Nat Prod*, v. 64, n. 7, p. 861–864, 2001.

DENARDI, S. E.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, P. R.; MATHIAS, M. I. C.. Ultrastructural analysis of the oocytes of female *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari-Ixodidae) ticks subjected to the action of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) – *Ultrastruct Pathol*, v. 36, n. 1, p. 56-67, 2011.

DESCHNER, E. E.; RUPERTO, J.; WONG, G.; NEWMARK, H. L.. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. *Carcinogenesis*, v. 12, n. 7, p. 1193-1196, 1991.

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*, 3rd ed., Jonh Wiley & Sons Ltd: United Kingdom, 539 p., 2009.

DHARMAGADDA, V. S. S.; NAIK, S. N.; MITTAL, P. K.; VASUDEVAN, P.. Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresour. Technol.*, v. 96, n. 11, p. 1235-1240, 2005.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2. ed. São Paulo: Editora Universidade Estadual Paulista, 2002. 604p.

DOLAN, M.; JORDAN, R. A.; SCHULZE, T. L.; SCHULZE, C. J.; CORNELL, M.; RUFFOLO, D.; SCHMIDT, J. P.; PIESMAN, J.; KARCHESY, J.. Ability of Two Natural Products, Nootkatone and Carvacrol, to Suppress *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in a Lyme Disease Endemic Area of New Jersey. *J Econ Entomol*, v. 102, n. 6, p. 2316-2324, 2009.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, v. 88, n. 2, p.308-316, 2000.

DOS SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L; DACOSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. *Quím. Nova*, v.30, n.1 p. 159-170, 2007.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, v. 82, p. 47-95, 2002.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H.. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory test of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, v. 66, n. 1, p. 130–133, 1973.

ELLIS, M. D.; BAXENDALE, F. P. Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) and their honey bee (Hymenoptera: Apidae) hosts when applied as fumigants. *J. Econ. Entomol.*, v. 90, n. 5, p. 1087–1091, 1997.

ELLSE, L. WALL, R.. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. *Med Vet Entomol*, 2013 doi: 10.1111/mve.12033.

ERLER, F.; CETIN, H.. Components from the essential oils from two *Origanum* species as larvicides against *Euproctis chrysorrhoea* (Lepidoptera: Lymantriidae). *J Agr Urban Entomol*, v. 26, n. 1, p. 31-40, 2009.

ESCOBAR, P.; MILENA LEAL, S.; HERRERA, L. V.; MARTINEZ, J. R.; STASHENKO, E.. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippiaspp* essential oils and their major components. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 105, n.2, 184-190, 2010.

FANG, J. M.; JAN, S. T.; CHENG, Y. S. Terpenoids from *Calocedrus formosana*. *Phytochemistry*, v. 26, n. 3, p. 853–854, 1987.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M.. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.*, v.18, n.1, p. 23-36, 2006.

FEHLBERG, I. *Terpenos e fenilpropanoídes de Myrcia guianensis (Myrtaceae)*. 2012. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

FEITOSA, E. M. A., ARRIAGA, Â. M. C., SANTIAGO, G. M. P., LEMOS, T. L. G. DE, OLIVEIRA, M. C. F. DE, VASCONCELOS, J. N., LIMA, J. Q., MALCHER, G. T.,

- NASCIMENTO, R. F., BRAZ-FILHO, R.. Chemical composition and larvicidal activity of *Rollinia leptopetala* (Annonaceae). *J Braz Chem Soc*, v. 20, n. 2, p. 375-378, 2009.
- FERREIRA, A. C. F.; NETO, J. C.; DA SILVA, A. C. M.; KUSTER, R. M.; CARVALHO, D. P. Inhibition of thyroid peroxidase by *Myrcia uniflora* flavonoids. *Chem. Res. Toxicol.*, v. 19, n. 3, 351-355, 2006.
- FERREIRA, P.; SOARES, G. L. G.; D'AVILA, S.; BESSA, E. C. DE A.. The influence of caffeine and thymol on the survival, growth and reproduction of *Subulina octona* (Brugüière, 1789) (Mollusca, Subulinidae). *Braz arch biol technol*, v. 52, n. 4, p. 945-952, 2009.
- FERRY, D. R.; SMITH, A.; MALKHANDI, J.; FYFE, D. W.; DE TAKATS, P. G.; ANDERSON, D.; BAKE, R. J.; KERR, D. J. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res*, v. 2, n. 4, p. 659-668, 1996.
- FINNEY, D. S.. *Probit analysis*, 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge, 1971.
- FLEISCHER, T. C.; WAIGH, R. D.; WATERMAN, P.G. Bisabolene sesquiterpenes and flavonoids from *Friesodielsia enghiana*, *Phytochemistry*, v. 44, n. 2, p.315-318, 1997.
- FONTENELLE, G. B.; COSTA, C. G.; MACHADO, R. D. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia L.* (Myrtaceae). *Bot Journ Linnean Soc*, v. 115, n. 2, p. 111-133, 1994.
- FONTENELLE, R. O. DOS S.. *Efeito antifúngico de óleos essenciais de Lippia sidoides Cham., Croton argyrophyloides Muell., Croton zenhteneri Pax et Hoffm., Croton nepetaefolius Baill. e de seus principais constituintes contra dermatófitos e Candida spp. isolados de cães*, 2008. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.
- FOSSEN, T.; ANDERSEN, O. M. *Em Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications: Spectroscopic Techniques Applied to Flavonoids*; ANDERSON, O. M.; MARKHAM, K. R., eds. Taylor & Francis: New York, p. 37-142, 2006.
- FOURNET, A.; ROJAS DE ARIAS, A.; CHARLES, B.; BRUNETON, J.. Chemical constituents of essential oils of Muña, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas disease vectors. *J Ethnopharmacol* v. 52, n. 3, p. 145-149, 1996.
- FRACHEBOUD, M.; ROWE, J. W.; SCOTT, R. W.; FANEGA, S. M.; BUHL, A. J.; TODA, J. K.. New sesquiterpenes from yellow wood of slippery elm. *For Prod J*, v. 18, n. 2, p. 37-40, 1968.
- FRANZ, A. R.; KNAACK, N.; FIUZA, L. M.. Toxic effects of essential plant oils in adult *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera, Curculionidae). *Rev. Bras. Entomol.*, v. 55, n.1, p. 116-120, 2011.

- FREITAS, E. P. S.; GARCIA-ZAPATA, M. T. A.; FERNANDES, F. F.. Monitoring of resistance or susceptibility of adults and larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) to synthetic acaricides in Goiás. Brazil. *Exp. Appl. Acarol.* v. 52, n. 2, p. 1–14, 2011.
- FURLONG, J.; MARTINS, J. R.; PRATA, M. C. A.. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *A Hora Vet.*, v. 27, n. 159, p. 1–7, 2007.
- GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. *Rev. Brasil. Malariol. D. Trop.* v.37, p.29-36, 1985.
- GALLUCCI, N.; OLIVA, M.; CAREZZANO, E.; ZYGADLO, J.; DEMO, M.. Terpenes antimicrobial activity against slime producing and non-producing staphylococci. *Mol Med Chem*, v. 21, p. 132-136, 2010.
- GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C.. Substâncias de origem vegetal com atividade larvívica contra *Aedes aegypti*. *Rev Virtual Quím*, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.
- GARCIA, E. S.; J. D. MACARINI; M. L. GARCIA; F. B.. Ubatuba Feeding of *Rhodnius prolixus* in the laboratory. *An Acad Bras Cienc*, v. 47, n. 3-4, p. 537-545, 1975.
- GARCIA, E.; RATCLIFFE, N.; WHITTEN, M.; GONZALEZ, M.; AZAMBUJA, P.. Exploring the role of insect host factors in the dynamics of *Trypanosoma cruzi* – *Rhodnius prolixus* interactions. *J Insect Physiol*, v. 53, n. 1, p.11-21, 2007.
- GATEHOUSE, J.. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytologist*, v. 156, n. 2, p. 145-169, 2002.
- GHOSH, A; CHOWDHURY, N; CHANDRA, G.. *Plant extracts as potential mosquito larvicides*. *Indian J Med Res*, v.135, n. 5, p. 581-98, 2012.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P.. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quím Nova*, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOMES, G. A.; ALMEIDA, M. C. S.; GODOI DE, F. A.; CARVALHO, M. G.; BRAZ FILHO, R.; SANTIAGO, G. M. P.; LEMOS, T. L. G.. Atividade antioxidante e flavonas de *Myrcia ovata* Cambess. In: *34^a Reunião Anual da Sociedade brasileira de Química*, 2011, Florianópolis. Química Para Um Mundo Melhor, 34a RASBQ. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2011. v. único. p. QPN-011.
- GOMES, G. A.; MONTEIRO, C. M. O.; SENRA, T. O. S.; ZERINGOTA, V.; CALMON, F.; MATOS, R. S., GOIS; R. W., DA S.; DAEMON, E.; SANTIAGO, G. M. P.; CARVALHO, M. G.. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from on larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.*, v. 111, n. 6, p. 2423-2430, 2012.
- GOMES, S. P.; FAVERO, S.. Assessment of the insecticidal potential of *Eucalyptus urograndis* essential oil against *Rhodnius neglectus* Lent (Hemiptera: Reduviidae). *Neotrop Entomol*, v. 42, n.2, p. 1-6, 2013.

GOMES, S. P.; FAVERO, S.. Avaliação de óleos essenciais de plantas aromáticas com atividade inseticida em *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Sci Health Sci*, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2011

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S.. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eclat. Quím.* v.36, n.1, p. 64-77, 2011.

GONÇALVES A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set., 2005.

GONCALVES, M. E. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B.. Efeito de extratos vegetais sobre estágios imaturos e fêmeas adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). *Neotrop Entomol*, v.30, n.2, p. 305-309, 2001.

GOTTLIEB, O. R.; SILVA, M. L.; MAIA, J. G. S. Eucalyptin from *Eugenia* and *Myrcia* species. *Phytochemistry*, v. 11, n. 3, p. 1185-1185, 1972.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B.. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil (Economic impact of the main infestation in cattle in Brazil). *A Hora Vet.*, v. 21, n. 125, p. 8–10, 2002.

GUBLER, D. J.. Vector-borne diseases. *Rev Sci Tech*, v. 28, n. 2, p. 583-588, 2009.

GUENTHER, E. *The essential oils*. New York: Van Nostrand Company, 1950.

GUGLIELMONE, A. A.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R. S.; ESTRADA,-PEÑA, A.. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (eds) *Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies*. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 115–138, 2006.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M.. *Ectoparasitos de importância veterinária*. Plêiade/FAPESP, São Paulo, 2001.

GUNATILAKA, A. A. L. Triterpenoids and steroids of Sri Lanka plants: a review of occurrence and chemistry. *J. Natn. Sci. Coun. Sri Lanka*, v.14, n. 1, p. 1-54, 1986.

GUPTA, M. B.; NATH, R.; SRIVASTAVA, N.; SHANKER, K.; KISHOR, K., BHARGAVA, K. P.. Anti-inflammatory and antipyretic activities of beta-sitosterol. *Planta Med.*, v. 39, n. 2, p. 157-163, 1980.

GÜVENALP, Z.; DEMIREZER, L. Ö.. Flavonol Glycosides from *Asperula arvensis*. L. *Turk J Chem.*, v. 29, n. 2, p. 163-169, 2005.

HÄBERLEIN, H.; TSCHIERSCHE, K. P.; SCHÄFER, H. L. Flavonoids from *Leptospermum scoparium* with affinity to the benzodiazepine receptor characterized by structure activity relationships and in vivo studies of a plant extract. *Pharmazie*, v. 49, n. 12, p. 912-922, 1994.

HAMID, A. A.; AIYELAAGBE, O. O.; USMAN, L. A. Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. *IJCR*, v. 33, n. 2, p.86-98, 2011.

HAYEK, T.; FUHRMAN, B., VAYA, J., ROSENBLAT, M., BELINKY, P.; COLEMAN, R.; ELIS, A.; AVIRAM, M.. Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 17, n. 6, p. 2744-2752, 1997.

HE, J. X.; FUJIOKA, S.; LI, T. C.; KANG, S. G.; SETO, H.; TAKATSUTO, S.; YOSHIDA, S.; JANG, J. C. Sterols regulate development and gene expression in Arabidopsis. *Plant Physiol*, v. 131, n. 3, p. 1258–1269, 2007.

HECHT, S. M. *US pat.* 280086, 1981.

HEGAZI, A. G.; ABD EL HADY, F. K.. Egyptian propolis: 3. antioxidant, antimicrobial activities and chemical composition of propolis from reclaimed lands *Z. Naturforsch.*, v.57, n. 3-4, p.395-397, 2002.

HENRIQUE, A. T.; SIMÕES-PIRES, C. A.; APEL, M. A.. Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V. (eds). *Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia*, 1st ed. Itajaí: UNIVALI, 2009.

HENRIQUES, A. T.; SOBRAL, M.; BRIDI, R.; VÉRIN, P.; MENUT, C.; LAMATY, G.; BESSIÈRE, J. M.. Essential oils from five southern brazilian species of *Myrcia* (Myrtaceae). *J Essent Oil Res* v.9, n. 1, p. 13-18, 1997.

HUANG, H.; CHENG, Z.; SHI, H.; XIN, W.; WANG, T. T. Y.; YU, L. L.. Isolation and characterization of two flavonoids, engeletin and astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties *J. Agric. and Food Chem.*, v. 59, n. 9, p. 4562-4569, 2011.

HUMMELBRUNNER, A. L.; ISMAN, M. B.. Acute, sublethal, antifeedant and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cut worm (Lepidoptera: Noctuidae). *J Agric Food Chem*, v. 49, n. 2, p. 715–720, 2001.

HUNG, T. M.; THUONG, P. T.; YOUN, U.; ZHANG, X. F.; MIN, B. S.; WOO, M. H.; LEE, H. K.; BAE, K. H.. Antioxidant activities of phenolic derivatives from *Dipsacus asper* Wall. (II). *Nat. Prod. Sci.*, v. 14, n. 2, p. 107-112, 2008.

HUNSKAAR, S., BERGE, O. G., HOLE, K. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic and indomethacin in the formalin test. *Pain* v. 25, n. 1, p. 125–132, 1986.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of Flavonoids. *Phytochem.*, v. 26, n. 9, p. :2489-2491; 1987.

IBRAHIM, D. Antimicrobial activity of the essential oil of the local serai, *Cymbopogon citratus*. *J. Bioscience.*, v. 3, n. 1-2, p. 87-90, 1992.

INACIO, M. DE F.; CARVALHO, M. G. DE.. Atividade inseticida de extratos diclorometano e metanólico de *Azadirachta indica* (A. JUSS), *Melia azedarach* (L.) e *Carapa guianenses* (AUBL.) (Meliaceae) sobre cupim subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera, Rhinotermitidae). *Biosci J*, v. 28, n. 5, p. 676-683, 2012

INCA. *Câncer*. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/>. Acessado em: 30/04/2010.

INNOCENT, E.; JOSEPH, C. C.; GIKONYO, N. K.; MOSHI, M. J.; NKUNYA, M. H. H.; HASSANALI, A.. Mosquito larvicidal constituents from *Lantana viburnoides* sp *viburnoides* var. *kisi* (A. Rich) Verdc (Verbenaceae). *J Vector Borne Dis*, v. 45, p. 240–244, 2008.

ITHARAT, A.; KEJIK, R.; TEWTRAKUL, S.; WATANAPEROMSKUL, C.. Antioxidant and anti-HIV-1 integrase compounds from *Smilax corbularia* Kunth. *Planta Med.*, v.73, n. 9, 996-997, 2007.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. DE A.; QUEIROZ, S. C. DO N. DE. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - Um enfoque às maçãs. *Quím Nova*, v.32, n.4, p. 996-1012, 2009.

JIMÉNEZ, D.; ARAQUE, M.; ROJAS, L.; CORDERO, A.; BRICEÑO, B.. Componentes volátiles y actividad antibacteriana del vástago de *Myrcia splendens*. *Rev Fac Farm*, v. 54, n. 1, p. 7-11, 2012.

JOLY, A. B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 12ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

JURBERG, J.; COSTA, J. M.; GONÇALVES, T. C. M.; GARCIA, E. DE S.; AZAMBUJA, P. DE. Efeitos morfogenicos de precoceno II em ninfas de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera - Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 79, n. 4, 1984

KARAN, S. K.; MISHRA, S. K.; PAL, D. K; MONDAL, A.. Isolation of β , sitosterol and evaluation of antidiabetic activity of *Aristolochia indica* in alloxan induced diabetic mice with reference to in-vitro antioxidant activity. *J Med. Plant Res.*, v. 6, n. 7, p. 1219-1223, 2012

KARPOUHTSIS, I.; PARDALI, E.; FEGGOU, E.; KOKKINI, S.; SCOURAS, Z. G.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P.. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *J Agric Food Chem* v. 46, n. 3, p. 1111-1115. 1998.

KELM, M. A.; NAIR, M. G.; SCHUTZKI, R. A.. Mosquitocidal compounds from *Magnolia salicifolia*. *Int. J. Pharmacogn.*, v. 35, n. 2 , p. 84-90, 1997.

KHALEQUZZAMAN, M.; NAHAR, J.. Relative toxicity of some insecticides and azadirachtin against four crop infesting aphid species. *Univ J Zool Rajshahi Univ*, v. 27, p. 31-34, 2008.

KIM, E.; PARK, I. –K. Fumigant antifungal activity of Myrtaceae essential oils and constituents from *Leptospermum petersonii* against three *Aspergillus* species. *Molecules*, v. 17, n. 9, p 10459-10469, 2012.

KIPROP, A. K.; KIPRONO, P. C.; RAJAB, M. S.; KOSGEI, M. K.. Limonoids as larvicidal components against mosquito larvae (*Aedes aegypti* Linn.). *Z Naturforsch C*; v. 62, n. , p. 826–828, 2007.

KLARIC, M. S.; KOSALEC, I.; MASTELIC, J.; PIECKOVA, E.; PEPELJNAK, S.. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Lett Appl Microbiol*, v. 44, n. 1, p. 36–42. 2007.

KNIO, K. M.; USTA, J.; DAGHER, S.; ZOURNAJIAN, H.; KREYDIYYEH, S.. Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresour Technol*, v. 99, n. 4, p. 763-768, 2008.

KOJIMA, H.; SATO, N; HATANO, A.; OGURA, H.. Sterol Glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KOSHIRO, Y; JACKSON, M. C.; KATAHIRA, R.; WANG, M. L.; NAGAI, C.; ASHIHARA, H.. Biosynthesis of chlorogenic acids in growing and ripening fruits of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* plants. *Z Naturforsch C.*, v. 62, n. 9-10, p. 731–742, 2007.

KOSTER, R., ANDERSON, M., DE BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, v. 18, p. 412-416, 1959.

KOUL, O.; WALIA, S. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. *CAB Rev: Perspectives Agric Vet Sci Nutr Nat Res*, v. 4, n. 49, p. 1-30, 2009.

KUBO, I., ASAKA, Y.; SHIBATA, K.. Insect growth inhibitory nor-diterpenes, *cis*-dehydrocrotonin and *trans*-dehydrocrotonin, from *Croton cajucara*. *Phytochemistry* v. 30, n. 8, p. 2545-2546, 1991.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly, *Musca domestica*. *Med Vet Entomol*, v. 25, n. 3, p. 302-310, 2011.

KUMBHAR, P. P., DEWANG, P. M. Some thymol derivative as pest control agents. *Pestol*, v. 23, n. 1, p. 27-29, 1999.

LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z.. Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H.. (eds) *Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies*. Vox/ICTTD-3/ Butantan, São Paulo, p 155–164, 2006.

LACOSTE, E.; CHAUMONT, J. P.; MANDIN, D.. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. application to the cutaneous microflora. *Ann. Pharm. Francaise* v. 54, n.5, p. 228-30, 1996.

LAHLOU, M.. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res*, v. 18, n. 6, p. 435-48, 2004.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, v.91, n.3, p.453–462, 2001.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia*, v.49, n.4, p.508-536, 1997.

LATIF, Z.; CRAVEN, L.; HARTLEY, T. G.; KEMP, B. R.; POTTER, J.; RICE, M. J.; WAIGH, R. D.; WATERMAN, P.G.. An insecticidal quassinoid from the new Australian species *Quassia* sp. aff. *bidwillii*. *Biochem Syst Ecol*, v. 28, n. 2, p. 183-184, 2000.

LAURENT, D.; VILASECA, L. A.; CHANTRAINE, J. M.; BALLIVIAN, C.; SAAVEDRA, G.; IBANEZ, R.. Insecticidal activity of essential oils on *Triatoma infestans*. *Phytother Res*, v. 11, n. 4, p. 285-290, 1997.

LEE, H. J.; LEE, J. Y.; KIM, S. M.; NHO, C. W.; JUNG, S. H.; SONG, D. G.; KIM, C. Y.; PAN, C. H.. Inhibitory Effects of Dicafeoylquinic Acids from *Artemisia dubia* on Aldo-keto Reductase Family 1B10. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chemi.*, v. 53, n. 6, p. 826-830, 2010.

LEMOS, T. L. G., MONTE, F. J. Q., MATOS, F. J. A., ALENCAR, J. W., CRAVEIRO, A. A., BARBOSA, R. C. S. B., LIMA, E. O., Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. *Fitoterapia*, v. 63, n. 2, p. 266–268, 1992.

LEMOS, T. L. J; MATOS, F. J. A.; MATOS, F. J. A.; CRAVEIRO, A. A.; MECHESENEY, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants. *Phytother. Res.*, v. 4, n.2, p. 82-84, 1990.

LIMA, G. P. G.; SOUZA, T. M.; PAULA FREIRE, G.; FARIAS, D. F.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S.; MORAIS, S. M.; CARVALHO, A. F. U.. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L.. *Parasitol Res* v. 112, n. 5, p. 1953-1958, 2013.

LIMA, M. A. A.; OLIVEIRA, F. F. M. DE; GOMES, G. A., LAVOR, P. L.; SANTIAGO G. M. P.; NAGAO-DIAS, A. T., ARRIAGA, A. M. C., LEMOS, T. L. G. AND CARVALHO, M. G. DE. Evaluation of larvicidal activity against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) of the essential oils of plants species from Brazil. *Afr. J. Biotechnol.*, v.10, n. 55, p. 11716-11720, 2011a.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, L. G. L.. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Ciênc Agrotec* v. 35, n. 4, p. 664-671, 2011b.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. *Quím Nova*, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LÓPEZ, S. B.; LÓPEZ, M. L.; ARAGÓN, L. M.; TERESCHUK, M. L.; SLANIS, A. C.; FERESIN, G. E.; ZYGADLO, J. A.; TAPIA, A. A.. Composition and anti-insect activity of essential oils from *Tagetes* L. species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata*

Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. *J Agric Food Chem*, v. 59, n. 10, p. 5286-5292, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 544p, 2008.

LUCAS FILHO, M. D. *Estudo fitoquímico de espécies do gênero Erythroxylum com potencial atividade vasodilatadora e inibidora da enzima conversora de angiotensina*. 2009. 139p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2009.

MACHADO, M.; PIRES, P.; DINIS, A. M.; SANTOS-ROSA, M.; ALVES, V.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; SOUSA, M. C. Monoterpenic aldehydes as potential anti-Leishmania agents: Activity of *Cymbopogon citratus* and citral on *L. infantum*, *L. tropica* and *L. major*. *Exp. Parasitol.*, v. 130, n. 3, p. 223–231. 2012.

MACIEL, M. DO V.; MORAIS, S. M. DE; BEVILAQUA, C. M. L.; ALBUQUERQUE E SILVA, R.; BARROS, R. S.; SOUSA, R. N. DE; SOUSA, L. C. DE; BRITO, E. S. DE; SOUZA NETO, M. A. DE. Atividade inseticida dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Coriandrum sativum* sobre *Lutzomyia longipalpis*. *Ciência Animal*, v. 19, n. 1/2, p. 77-87, 2009.

MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; AMÓRA, S. S. A.. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. *Rev. bras. plantas med.*, v. 12, n. 1, p. 105-112, 2010.

MAGALHÃES, L. A. M.; LIMA, M. P.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R.; PINTO, A. C. S., TADEI, W. P.. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of essential oils from four *Guarea* species. *Molecules*, v. 15, n.8., p. 5734-5741, 2010.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some salient features. *Phytochemistry*, v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MALHEIROS, A.; NIERO, R. Principais aspectos químicos e biológicos de terpenos. In: YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V. (eds). *Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia*, 2ed. Itajaí: UNIVALI, 2009.

MANN, A.; IBRAHIM, K.; OYEWALE, A. O.; AMUPITAN, J. O.; FATOPE, M. O.; OKOGUN, J. I. Antimycobacterial Friedelane-terpenoid from the Root Bark of *Terminalia avicennioides*. *Am. J. Chem.*, v. 1, n. 2, p. 52-55, 2011.

MANOHAR, V.; INGRAM, C.; GRAY, J.; TALPUR, N. A.; ECHARD, B. W.; BAGCHI, D.; PREUSS, G. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Mol Cell Biochem* v. 228, n. 1-2, p. 111–117, 2001.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F. de ; GARCIA, F. R. M.. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. *Revista de Ciências Ambientais*, v. 6, n. 2, p. 95-112, 2012.

- MARTINS, J. R. S.; FURLONG, J.; LEITE, R. C. Controle de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (eds) *Carrapatos de importância médica veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies*. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 145–153, 2006.
- MARTINS, R. M.; GONZALEZ, F. H. D.. Use of Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) (Panicoidideae) as an acaricide against the tick *Boophilus microplus* Canestrini. *Rev Bras Pl Med*. v.9, n. 4, p. 1–8, 2007.
- MASSEBO, F; TADESSE, M.; BEKELE, T.; BALKEW, M.; GEBRE-MICHEL, T. Evaluation on larvicidal effects of essential oils of some local plants against *Anopheles arabiensis* Patton and *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) in Ethiopia. *Afr. J. Biotechnol.* v. 8, n. 17, p. 4183-4188,. 2009.
- MATOS, F. J. A.; OLIVEIRA, F. *Lippia sidoides* Cham. – Farmacognosia, química e farmacologia. *Rev. Bras. Farm.*, v. 79, n. 3-4, p. 84-87, 1998.
- MATSUDA, H.; NISHIDA, N.; YOSHIKAWA, M. Antidiabetic Principles of Natural Medicines. V. Aldose Reductase Inhibitors from *Myrcia multiflora* DC. (2): Structures of Myrciacitrins 3, IV, and V. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 50, n.3, p. 429-431, 2002.
- MAYER, R. Flavonoids from *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry*, v. 29, n. 4, p. 1340-1342, 1990.
- MAZID, M.; KHAN, T. A.; MOHAMMAD, F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, v. 3, n. 2, p. 232-249, 2011.
- MELLO, C. B.; UZEDA, C. D.; BERNARDINO, M. V.; MENDONÇA-LOPES, D.; KELECOM, A.; FEVEREIRO, P. C. A.; GUERRA, M. S.; OLIVEIRA, A. P.; ROCHA, L. M.; GONZALEZ, M. S.. Effects of the essential oil obtained from *Pilocarpus spicatus* Saint-Hilaire (Rutaceae) on the development of *Rhodnius prolixus* nymphae. *Rev Bras Farmacogn*, v. 17, n. 4, p.:514-520, 2007.
- MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C.. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Braz. J. Plant Physiol.*, v. 14, n. 2, 2002.
- MELO, J. I. M.; ALVES, I. M. ; SOUZA, R. T. M. ; BARBOSA, L. M. M. A. ; ANDRADE, W. M.. Verbenaceae sensu lato em um trecho da Estação Ecológica Raso da Catarina, Bahia, Brasil. *Revista Caatinga*, v. 23, n.3, p. 41-47, 2010.
- MELO-SANTOS, M. A. V.; VARJAL-MELO, J. J. M.; ARAÚJO, A. P.; GOMES, T. C. S.; PAIVA, M. H. S.; REGIS, L. N.; FURTADO, A. F.; MAGALHÃES, T.; MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; AYRES, C. F. J.. Resistance to the organophosphate temephos: Mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. *Acta Trop.*, v. 113, n. 2, p. 180-189, 2010.
- MENDES, A. S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; BRITO, F. C.; MASSONI, T.. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.*, v. 183, n. 1-2, p. 136–139, 2011.

- MENDOZA MEZA, D. L.; TABORDA, M.. Composición química y actividad acaricida del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* stapf contra el acaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari:Pyroglyphidae). *Biosalud*, v. 9, n. 2, p. 21-31, 2010.
- MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; SILVA, A. M. R.; MATURANO, R.; AMARAL, C.. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.*, v. 106, n. 3, p. 615–619, 2010.
- MONTEIRO, C. M.; MATURANO, R.; DAEMON, E.; CATUNDA-JUNIOR, F. E.; CALMON, F.; SENRA, T. DE S; FAZA, A.; DE CARVALHO, M. G.. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. *Parasitol Res.*, v. 111, n. 3, p. 1295-300. 2012.
- MORAIS, S. M., CATUNDA JUNIOR, F. E. A., SILVA, A. R. A., NETO, J. S. M.. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. *Quím. Nova*, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.
- MORAIS, S. N. Oxidantes naturais. In: Morais SN, Braz-Filho R.. *Produtos Naturais-Estudos químicos e biológicos*. Fortaleza: EdUECE, p. 47-62, 2007.
- MORCIA, C.; MALNATI, M.; TERZI, V.. In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, v. 29, n. 3, p. 415–422, 2012.
- MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C.; SILVA, M. E.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa: Epamig/CTZM, p. 89-120, 2006.
- MORETTI, N. A.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A.. Behavioral and Toxicological Responses of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to 10 Monoterpene Alcohols. *J Med Entomol*, v. 50, n. 5, p. 1046-1054, 2013.
- MORIARITY, D. M.; BANSALA, A.; COLE, R. A.; TAKAKU, S.; HABER, W. A.; SETZER, W. N.. Selective cytotoxic activities of leaf essential oils from Monteverde, Costa Rica. *Nat Prod Commun*, v. 2, n. 12, p. 1263-1268, 2007.
- MOTTA NETO, R.; MATOS, F. J. A.; ANDRADE, V S.; MELO, M. C. N. DE; CARVALHO, C B. M.; GUIMARÃES, S. B.; PESSOA, O. D. L.; SILVA, S L.; SILVA, S F. R.; VASCONCELOS, P R. L.. O óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae, em ratos diabeticos. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 20, n. 2, p. 261-266, 2010.
- MUSTAFA, K.; KJAERGAARD, H. G.; PERRY, N. B.; WEAVERS, R. T. Hydrogen-bonded rotamers of 2',4',6'-trihydroxy-3'-formyldihydrochalcone, an intermediate in the synthesis of a dihydrochalcone from *Leptospermum recurvum*. *Tetrahedron*, v. 59, n. 32, p. 6113-6120, 2003a.

MUSTAFA, K.; PERRY, N. B.; WEAVERS, R. T. 2-Hydroxyflavanones from *Leptospermum polygalifolium* subsp. *polygalifolium* Equilibrating sets of hemiacetal isomers, *Phytochemistry*, v. 64, n.7, p. 1285-1293, 2003b.

MWANGI, J. W.; ADDAE-MENSAH, I.; MURIUKI, G.; MUNAVU, R.; LWANDE, W.; HASSANALI, A.. Essential oils of *Lippia* species in Kenya. IV. Maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellancy and larvicidal activity. *Intern. J. Pharmacognosy*, v. 30, n.1, p. 9–16, 1992.

NABETA, K.; MOTOTANI, Y.; TAZAKI, H.; OKUYAMA, H.. Biosynthesis of sesquiterpenes of cadinane type in cultured cells of *Heteroscyphus planus*. *Phytochemistry*, v. 35, n. 4, p. 915-920, 1994.

NAKAMURA, M.; MONTEIRO, S.; BIZARRI, C.; SIANI, A.; RAMOS, M.. Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast. *Biochem Syst Ecol*, v. 38, n. 6, p. 1170-1175, 2010.

NEITZ, W. O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S.. Laboratory investigations on the life caroo paralysis tick *Ixodes rubidicundus* (Neumann, 1904). *Ondersp. J. Vet Res.*, v. 38, n. 3, p. 215–224, 1971.

NIGGEWEG, R.; MICHAEL, A. J.; MARTIN, C.. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nat Biotech*, v. 22, n. 4, p. 746–754, 2004.

NOGUEIRA, R. M. R.; DE ARAÚJO, J. M. G.; SCHATZMAYR, H. G. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006. *Pan Am. J. Public Health*, v. 22, n. 5, p. 358-363, 2007.

NOSTRO, A.; ROCCARO, A. S.; BISIGNANO, G.; MARINO, A.; CANNATELLI, A.; PIZZIMENTI, F. C.; CIONI, P. L.; PROCOPIO, F.; BLANCO, A. R. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Med Microbiol*. v. 56, n. 4, p. 519–523, 2007.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G.. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. *Parasitol. Res.*, v. 101, n. 3, p. 809–811, 2007.

NTALLI, N. G.; FERRARI, F.; GIANNAKOU, I.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. *Pest Manag Sci*, v. 67, n. 3, p. 341–351, 2011.

OBA, M. S. P., DELL'PORTO, A.. Piretróides: A química moderna a serviço da produtividade. *Agroquim* v. 18, p. 20-26, 1982.

OKUNADE, A. L.. *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) (Review) *Fitoterapia*, v. 73, n. 1, p. 1-17, 2002.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M.. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Quím. Nova*, v. 34, n. 6, p.. 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, D. R.; LEITAO, G. G.; SANTOS, S. S.; BIZZO, D. H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, C. S.; ALVIANO, D. S.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximina, Brazil. *J. Ethnopharmacol.* v. 108, n. 1, p. 103-108, 2006.

OLIVEIRA, M. C. C.; CARVALHO, M. G.. Flavonóides das flores de *Stiffitia chrysantha* Mikan., *Quim. Nova*, v. 22, n. 2, p. 182-184, 1999.

OLIVERO-VERBEL, J.; NERIO, L. S.; STASHENKO, E. E. Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citrates* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. *Pest Manag Sci.*, v. 66, n. 6, p. 664–668, 2010.

ONAWUNMIA, G. O; YISAK, W. A.; OGUNLANA, E. O.. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *J. Ethnopharmacol.*, v. 12, n. 3, p. 279-286, 1984.

PALACIOS, S. M.; BERTONI, A.; ROSSI, Y.; SANTANDER, R.; URZÚA, A.. Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca Domestica* L.. *Molecules*, v. 14, n. 5, p. 1938-1947, 2009a.

PANDEY, S. K.; UPADHYAY, S.; TRIPATHI, A. K.. Insecticidal and repellent activities of thymol from the essential oil of *Trachyspermum ammi* (Linn) Sprague seeds against *Anopheles stephensi*. *Parasitol Res*, v. 105, n. 2, p. 507–512, 2009.

PARK, I. K.; LEE, S. G.; SHIN, S. C.; PARK, J. D.; AHN, Y. J.. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. *J. Agric. Food Chem*, v. 50, n. 7, p. 1866–1870, 2002.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SANCHEZ-MATA, D.; VILLAR, A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J. Ethnopharmacol.*, v.76, n. 3, p.201-214, 2001.

PATTNAIK, S., SUBRAMANYAM, V. R., KOLE, C. R.; SAHOO, S. Antibacterial activity of essential oil of *Cymbopogon*: inter and intra- specific differences. *Microbios*, v. 84, n. 341, p. 239-45, 1996.

PAULA, J. A. M. DE; SILVA, M. DO R. R.; COSTA, M. P.; DINIZ, D. G. A.; SÁ, F A. S.; ALVES, S. F.; COSTA, E. A.; LINO, R. C.; PAULA, J. R.. Phytochemical Analysis and Antimicrobial, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Activities of Two Chemotypes of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Myrtaceae). *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, v. 2012, p. 1-15, 2012.

PAVELA, R.. Acute and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the larvae of *Spodoptera littoralis*. *J Biopes*, v. 3, n. 3, p. 573-578, 2010.

PAVELA, R.. Insecticidal properties of phenols on *Culex quinquefasciatus* Say and *Musca domestica* L. *Parasitol Res*, v. 109, n. 6, p. 1547-1553, 2011.

PEREIRA, L.B.; PETACCI, F.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA,M.F.G.F.; MALASPINA, O.; CORREA, A. G. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis*

(Benth.) against *Anticarsia gemmatalis* Hübner and *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Pest Manag. Sci.*, v.58, n. 5, p.503-507. 2002.

PEREIRA, M. A.; GRUBBS, C. J.; BARNES, L. H.; LI, H.; OLSON, G. R.; ETO, I.. Effects of the phytochemicals, curcumin and quercetin, upon azoxymethane-induced colon cancer and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary cancer in rats. *Carcinogenesis*, v. 17, n. 6, p. 1305-1311, 1996.

PEREZ-VIZCAINO, F.; IBARRA, M.; COGOLLUDO, A. L.; DUARTE, J.; ZARAGOZA-ARNAEZ, F.; MORENO, L., LÓPEZ-LÓPEZ, G.; TAMARGO, J.. Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther*, v. 302, n. 1, p. 66-72, .2002.

PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; BRUNETTI, I. L.; KHALIL, N. M. Inhibition of peroxidase activity and scavenging of reactive oxygen species by astilbin isolated from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Biol. Res.*, v.43, n.1, p.63-74, 2010.

PIGNATELLI, P.; PULCINELLI, F. M.; CELESTINI, A.; LENTI, L.; GHISELLI, A.; GAZZANIGA, P. P., VIOLI, F.. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide. *Am J Clin Nutr*, v. 72, n. 5, p. 1150-1155, 2000.

PIMENTA, M. R.; FERNANDES, L. S.; PEREIRA, U. J.; GARCIA, L. S.; LEAL, S. R.; LEITÃO, S. G.; SALIMENA, F. R.; VICCINI, L. F.; PEIXOTO, P. H. P. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). *Rev. bras. Bot.*, v. 30, n. 2, p. 211-220, 2007.

PINHEIRO, V. R. E.,. Avaliação do efeito carrapaticida de alguns piretróides sintéticos sobre o *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). *Hora Vet* v. 7, p. 20-26, 1987.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. DA S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. DE A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quím. Nova*, v. 25, supl. 1, 2002.

PIRALI-KHEIRABADI, K.; RAZZAGHI-ABYANEH, M.; HALAJIAN, A.. Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globulus* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus annulatus* in vitro. *Vet. Parasitol.*, v. 162, n. 3-4, p. :346–349, 2009.

PIRALI-KHEIRABADI, K.; SILVA, J. A. T.. *Lavandula angustifolia* essential oil as a novel and promising natural candidate for tick (*Rhipicephalus* [Boophilus] *annulatus*) control. *Exp Parasitol*; v. 126, n. 2, p. 184–186, 2010.

PLAZAS, M.; ANDÚJAR, I.; HURTADO, M.; VILANOVA, S., GRAMAZIO, P.; HERRAIZ, F. J.. Breeding for chlorogenic acid content in eggplant: interest and prospects. *Not Bot. Hort. Agrobot. Cluj*; v. 41, n. 1, p. 26-35, 2013.

POHLIT, A. M.; REZENDE, A. R.; LOPES BALDIN, E.; LOPES, N. P.; NETO, V. F. Plant extracts, isolated phytochemicals, and plant-derived agents which are lethal to arthropod vectors of human tropical diseases - a review. *Planta Med.*, v. 77, n. 6, p. 618-630, 2011.

PORTER, R. B. R.; REESE, P. B.; WILLIAMS, L. A. D.; WILLIAMS, D. J.. Acaricidal and insecticidal activities of cadina-4, 10 (15)-dien-3-one. *Phytochemistry*, v. 3, n. 40, p. 735-738, 1995.

PRATES, H. T.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M.. Atividade de extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. *Pesq. agropec. bras.*, v.38, n.3, p. 437-439, 2003.

PRIESTLEY, C. M.; WILLIAMSON, E. M.; WAFFORD, K. A.; SATELLE, D. B.. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br J Pharmacol*, v. 140, n. 8, p. 1363-1372, 2003.

RADWAN, M. A.; EL-ZEMITY, S. R.; MOHAMED, S. A.; SHERBY, S. M.. Potential of some monoterpenoids and their new N-methyl carbamate derivatives against *Schistosomiasis* snail vector, *Biomphalaria alexandrina*. *Ecotoxicol Environ Saf*, v. 71, n. 3, 889-894, 2008.

RAHUMAN, A. A.; GOPALAKRISHNAN, G.; VENKATESAN, P.; GEETHA, K.. Isolation and identification of mosquito larvicidal compound from *Abutilon indicum* (Linn.) Sweet. *Parasitol. Res.*, v. 102, n. 5, p. 981-988, 2008.

RATTAN, R. S.. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot*, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

RAZDAN, T. K.; HARKAR, S.; QADRI, B.; QURISHI, M. A.; KHUROO, M. A. Lupene derivatives from *Skimmia laureola*. *Phytochemistry*, v.27, n. 6, p.1890-1892, 1988.

READY, P. D.. Leishmaniasis emergence in Europe. *Euro Surveill*. v. 15, n. 10, p. 41-51, 2010.

REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integ. Pest. Manag. Rev.*, v. 2, n. 1, p.25-34, 1997.

RIBEIRO, V. L. S.; SANTOS, J. C.; BORDIGNON, S. A. L.; APEL, M. A.; HENRIQUES, A. T.; POSER, G. L.. Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozygis ringens* on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Bioresour. Technol.* v. 101, n. 7, p. 2506–2509, 2010.

ROCHA, F. D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA, V. L.. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. *Rev. bras. Farmacogn.*, v.17, n.4, p. 631-639, 2007.

RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; ACCIOLY, M. P.; MORAIS, S. M.; ANDRADE-JÚNIOR, H. F.; CARVALHO, C. A.; LIMA, J. C.; MAGALHÃES, H. C. R.. In vitro efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. *Rev Bras Parasitol Vet* v.21, n. 3, p. 1984-2961, 2012.

SÁ, F. A. S.; BORGES, L. L.; PAULA, J. A. M.; SAMPAIO, B. L.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.. Essential oils in aerial parts of *Myrcia tomentosa*: composition and variability. *Rev bras farmacogn*, v. 22, n. 6, p. 1233-1240, 2012.

SAINZ, P.; SANZ, J.; BURILLO, J.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; BAILÉN, M.; MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A.. Essential oils for the control of reduviid insects. *Phytochem Rev*, v. 11, n.4, p. 361-369, 2012.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. *Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente*. Jaguariúna: Embrapa, 46p, 1998.

SALDANHA, L. L.. *Prospecção química e avaliação das atividades antioxidante e alelopática de Myrcia bella Cambess*. 2013 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu, 2013a.

SALDANHA, L. L.; VILEGAS, W.; DOKKEDAL, A. L.. Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* Cambess. using FIA-ESI-IT-MSⁿ and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. *Molecules*, v. 18, n. 7, p. 8402-8416, 2013b.

SALVADOR, M. J.; SARTORI, F. T.; SACILOTTO, A. C. B. C.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; VICHNEWSKI, W.. Bioactivity of flavonoids isolated from *Lychnophora markgravii* against *Leishmania amazonensis* amastigotes. *Z Naturforsch C*, v. 64c, n. 7-8, p. 509-512, 2009.

SANTOS, F. C. C.; VOGEL, F. S. F. Avaliação in vitro da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.14, n.4, p.712-716, 2012.

SANTOS, H. S., SANTIAGO, G. M. P.; DE OLIVEIRA, J. P. P.; ARRIAGA, A. M. C.; MARQUES, D. D.; LEMOS, T. L. G.. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Croton zehntneri*. *Nat. Prod. Commun.* v. 2, n. 12, p. 1233-1236, 2007.

SANTOS, J. S.; MELO, J. I. M.; ABREU, M. C.; SALES, M. F.. Verbenaceae sensu stricto. na região de Xingó: Alagoas e Sergipe, Brasil. *Rodriguésia* v. 60, n. 4, p. 985-998. 2009

SANTOS, P. *A química dos insecticidas* (Parte I). *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química*, n.85, p. 43-47, 2002.

SANTOS, R. A. DOS. *Estudo fitoquímico e atividade alelopática de Myrcia guianensis*. 2005. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6^a ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, p. 403-434, 2010.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *Calycorectes*, *Campomanesia*, *Eugenia* and *Hexachlamys* species. *Fitoterapia*, v. 16, n. 4, p. 373-374, 1995.

SCHRÖDER, J.; RAIBER, S.; BERGER, T.; SCHMIDT, A.; SCHMIDT, J.; SOARES-SELLO, A. M.; BARDSHIRI, E.; STRACK, D.; SIMPSON, T. J.; VEIT, M.; SCHRÖDER, G.. Plant polyketide synthases: a chalcone synthase-type enzyme which performs a

condensation reaction with methylmalonyl-CoA in the biosynthesis of C-methylated chalcones. *Biochemistry*, v.37, n. 23, p.8417-8425, 1998.

SCORALIK, M., DAEMON, E., MONTEIRO, C. M. O., MATURANO, R.. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. *Parasitol Res*, v. 110, n. 2, p. 645-648, 2012.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. DA S.; VELASCO, M. V. R.; MENEZES, C. M. DE S.; FERREIRA, E I.. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Rev Bras Cienc Farm*, v. 43, n. 2, p. 153-166, 2007.

SEN, A.; DHAVAN, P.; SHUKLA, K. K; SINGH, S; TEJOVATHI, G.. Analysis of IR, NMR and Antimicrobial Activity of β -Sitosterol Isolated from *Momordica charantia*. *Sci. Secure J. Biotech.*, v. 1, n. 1, p. 9-13, 2012.

SENRA, T. O. S.; ZERINGÓTA, V.; MONTEIRO, C. M. O.; CALMON, F.; MATURANO, R.; GOMES, G. A.; FAZA, A.; CARVALHO, M. G.; DAEMON, E. Assessment of the acaricidal activity of carvacrol, (E)-cinnamaldehyde, trans-anethole and linalool on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res*, v. 112, n. 4, p. 1461–1466, 2013a.

SENRA, T. O.; CALMON, F.; ZERINGÓTA, V.; MONTEIRO, C. M.; MATURANO, R.; DA SILVA MATOS R.; MELO, D.; GOMES. G. A.; DE CARVALHO, M. G.; DAEMON, E.. Investigation of activity of monoterpenes and phenylpropanoids against immature stages of *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res.*, v. 112, n. 10, p. 3471-6, 2013b.

SESHADRI, T. R.; VASISHITA, K. Polyphenols of the leaves of *Psidium guajava* quercetin, gajaverin, leucocyanidin and amritoside. *Phytochemistry*, v. 4, n. 6, p. 989-992, 1965.

SFARA, V.; ZERBA, E. M.; ALZOGARAY, R. A.. Toxicity of pyrethroids and repellency of diethyltoluamide in two deltamethrin-resistant colonies of *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* v. 1001, p. 89-84, 2006.

SHEFER, S.; SALEN, G.; NGUYEN, L.; BATA, A. K.; PACKIN, V.; TINT, G. S.; HAUSER, S.. Competitive inhibition of bile acid synthesis by endogenous cholestanol and sitosterol in sitosterolemia with Xanthomatosis. *J. Clin. Invest.*, v. 82, n. 6, p. 1833-1839, 1988.

SHUKLA, P.; VIDYASAGAR, P. S. P. V.; ALDOSARI, S. A.; ABDEL-AZIM, M.. Antifeedant activity of three essential oils against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *Bull Insectology*, v. 65, n. 1, p. 71-76, 2012.

SI, L.; CHEN, Y.; HAN, X.; ZHAN, Z.; TIAN, S.; CUI, Q.; WANG, Y. Chemical composition of essential oils of *Litsea cubeba* harvested from its distribution areas in China. *Molecules*, v. 17, n. 6, p. 7057–7066, 2012.

SILVA, A DO N; UETANABARO, A. P.; LUCCHESI, A. M.. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Myrcia alagoensis* (Myrtaceae). *Nat Prod Commun*, v. 8, n. 2, p. 269-71, 2013.

SILVA, A. DO N.. *Estudo da composição química e da atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de espécies do gênero Myrcia DC. (Myrtaceae)*. 2010. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

SILVA, N. A.; OLIVEIRA, F. F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, R. A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N.E.Br.] cultivada no sul da Bahia. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.8, n.3, p.52-55, 2006.

SILVA, P. D. *Estudo fitoquímico e avaliação das atividades antimicrobianas e antiparasitárias dos flavonóides isolados de Myrcia hiemalis (Myrtaceae)*. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2007.

SILVA, V. C. DA; ALVES, A. N; SANTANA, A. DE; CARVALHO, M. G. DE; SILVA, S. L. DA C. E.; SCHRIPEMA, J.. Constituintes fenólicos e terpenóides isolados das Raízes de *Andira fraxinifolia* (FABACEAE). *Quim Nova*, v.29, n. 6, p. 1184-1186, 2006.

SILVA, V. C.; CARVALHO, M. G.; SILVA, T. M. S.; BRAZ FILHO, R. New iodine derivatives of flavonol and isoflavone. *An Acad Bras Cienc*, v. 81, n. 1, p. 1-8, 2009.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. M.. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue - atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. *Quim Nova*, v. 27, n. 1, p.46-49, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010.

SINGH, R.; KOUL, O.; RUP, P. J.; JINDAL, J.. Toxicity of some essential oil constituents and their binary mixtures against *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Pyralidae). *Int. J. Trop. Insect Sci*, v. 29, n. 2, p.93–101, 2009.

SLADE, D.; FERREIRA, D.; MARAIS, J. P. J. Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids. *Phytochemistry*, n. 66, v. 18, p. 2177-2215, 2005.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C., SOUZA, M., MAZINE, F., LUCAS, E. 2010. Myrtaceae in *Lista da Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB010736>).

SONENSHINE, D. E. *Biology of Ticks*, v. 2, New York: Oxford University, 465p, 1993.

SOUSA, C. M. DE M.; SILVA, H. R. E.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. DA; ARAÚJO, D. S; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B.

DE M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quím. Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O; MATOS, F. J.A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.. *Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de Plantas Medicinais Brasileiras*, Ed. UFC, 445p, 2004.

SOUSA, V. C., LORENZI, H.; *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*, Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

SOUTHWELL, I. A.; RUSSELL, M.; SMITH, R. L., BROPHY, J. J.; DAY, J.. *Melaleuca teretifolia* chemovars: new australian sources of citral and 1,8-cineole. *J. Essent. Oil Res.*, v. 15, n. 5, p. 339-441, 2003.

SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A.; SANTOS, L. S.; GUILHON, G. M. P.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M.S.P.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.

SOUZA, A. DE. *Variações na composição química de óleos voláteis em Myrtaceae*. 2009. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SPRATT, D. A.; PRATTEN, J.; WILSON, M.; GULABIVALA, K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root isolates. *Int. Endod. J.* v. 34, n. 4, p. 300-307, 2001.

SREELATHA, T.; HYMAVATHI, A.; MURTHY, J. M.; RANI, P. U.; RAO, J. M.; BABU, S. K.. Bioactivity-guided isolation of mosquitocidal constituents from rhizomes of *Plumbago capensis* Thunb. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 20, n.9, p. 2974-2997, 2010.

STAMOPOULOS, D. C.; DAMOS, P.; KARAGIANIDOU, G.. Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Stored Prod Res* v. 43, n. 4, p. 571-577, 2007.

STEFANELLO, M. É. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI JR, A.; SIMIONATTO, E. L.. Composição e variação sazonal do óleo essencial de *Myrcia obtecta* (O. Berg) Kiaersk. var. *obtectata*, Myrtaceae. *Rev bras farmacogn*, v. 20, n.1, p. 82-86, 2010.

STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI, A.; SIMIONATTO, E. L.. Essential oil composition of *Myrcia laruotteana* Camb. *J Essent Oil Res*, v. 19, n. 5, p. 466-467, 2007.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from neotropical Myrtaceae: Chemical diversity and biological properties. *Chem Biodivers.*, v.8, n. 1, p. 73-94, 2011a.

STEFANELLO, M. É. A.; RIVA, D.; SIMIONATTO, E. L.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; SALVADOR, M. J.. Chemical composition and cytotoxic activity of essential oil from *Myrcia laruotteana* fruits. *J Essent Oil Res*, v. 23, n. 5, p. 7-10, 2011b.

STENHAGEN, E.; ABRAHAMSON, S.; MCLAFFERTY, E. W. *Registry of Mass Spectra Data*. John Willey & Sons, New York, 1974.

STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P.. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *B. microplus* (Can.). *Bull. Entomol. Res.*, v. 53, n. 3, p. 563–578, 1962.

TASDEMIR, D.; KAISER, M.; DEMIRCI, F.; BASER, K. H. C.. Essential oil of Turkish *Origanum onites* L. and its main components, carvacrol and thymol show potent antiprotozoal activity with out cytotoxicity. *Planta Med*, v. 72, n. 11, p. 1006, 2006.

TENORIO, A. I. S.; VARGAS, D.; ESPINOSA, A.; DÍAZ, A.; GUPTA, M. P. Chemical composition of leaf essential oils of *Calypttranthes microphylla* B. Holts & M.L., *Myrcia* aff *fosteri* Croat and *Eugenia octopleura* Krug & Urb from Panama. *J Essent Oil Res*, v. 23, n. 5, p. 29-33, 2011.

TERBLANCHÉ, F. C., KORNELIUS, G.. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) - A literature review. *J. Essent. Oil Res.*, v. 8, n. 5, p.471–485, 1996.

TONG, F.; COATS, J. R. Effects of monoterpenoid insecticides on [³H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and ³⁶Cl⁻ uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pestic Biochem Phys*, v. 98, n. 3, p. 317-24, 2010.

TRAUTWEIN, E. A.; DEMONTY, I. Phytosterols: Natural compounds with established andemerging health benefits. *OCL*, v. 14, n. 5, p. 255–266, 2007.

TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; AHMAD, A., AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P.. Piperitenone oxide as toxic, repellent, and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Anophelinae). *J Med Entomol*, v. 41, n. 4, p. 691–698, 2004.

TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P. R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacognosy Phytother.*, v. 1, n. 5, p. 52-63, 2009.

TRONCOSO, N. S.. Los géneros de Verbenáceas de Sudamérica extratropical (Argentina, Chile, Bolivia, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil). *Darwiniana*, v. 18, n. 3-4, p. 295-412, 1974.

TUCKER, A. O.; MACIARELLO, M. J.; SALYWON, A. M., LANDRUM, L. R.. Volatile leaf oil of *Calypttranthes sintenisii* Kiaersk. (Myrtaceae) of Puerto Rico. *J. Essent. Oil Res.*, v. 13, n. 6, p. 427-428. 2001.

TUNÓN, H.; THORSELL, W.; MIKIVER, A.; MALANDER, I. Arthropod repellency, especially tick (*Ixodes ricinus*), exerted by extract from *Artemisia abrotanum* and essential oil from flowers of *Dianthus caryophyllum*. *Fitoterapia* v. 77, n. 4, p. 257–261, 2006.

ULTEE, A.; SLUMP, R. A.; STEGING, G.; SMID, E. J.. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *J Food Prot*, v. 63, n. 5, p. 620–624, 2000.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D.. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. *J Chromatogr.* v. 11, p. 463-471, 1963.

VARTAK, P. H.; TUN GIKAR, V. B.; SHARMA, R. N.. Comparative repellent properties of certain chemicals against mosquitoes house flies and cockroaches using modified techniques. *J. Commun. Dis.*, v. 26 , n. 3, p. 156–160, 1994.

VASCONCELOS, J. N., LIMA, J. Q., LEMOS, T. L. G., OLIVEIRA, M. C. F., ALMEIDA, M. M. B., ANDRADE-NETO, M.; MAFEZOLI, J.; ARRIAGA, A. M. C.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R.. Estudo químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers. *Quim Nova*, v. 32, n. 2, p. 382–386, 2009.

VASCONCELOS, J. N.; SANTIAGO, G. M. P.; LIMA, J. Q.; MAFEZOLI, J.; LEMOS, T. L. G.; SILVA, F. R. L.; LIMA, M. A. S.; PIMENTA, A. T. A.; BRAZ-FILHO, R.; ARRIAGA, A. M. C.; CESARIN-SOBRINHO, D.. Rotenoids from *Tephrosia toxicaria* with larvicidal activity against *Aedes aegypti*, the main vector of dengue fever. *Quím Nova*, v. 35, n. 6, p. 1097-1100, 2012.

VELÍŠEK, J.; DAVÍDE, J.; CEJPEK, K.. Biosynthesis of food constituents: natural pigments. Part 2– a Review. *Czech J Food Sci*, v. 26, n. 2, p. 73–98, 2008.

VELLUZ, L.; LEGRAND, M.; GROSJEAN, M.. *Optical circular dichroism: principles, measurements and applications*. Verlag Chemie, GMBH, Academic Press Inc., New York and London., p. 5-182, 1965.

VERAS, H. N. H.; RODRIGUES, F. F. G.; COLARES, A. V.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. M.. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. *Fitoterapia*, v. 83, n. 3, p. 508-512. 2012.

VERMA, A. K.; JOHNSON, J. A.; GOULD, M. N.; TANNER, M. A.. Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and N-nitrosomethylurea induced mammary cancer by dietary flavonol quercetin. *Cancer Res*, v. 48, n. 20, p. 5754-5788, 1988.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quím Nova*, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, C. V.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W.. Inseticidas de origem vegetal. In: FERREIRA, J. T. B., CORRÊA, A. G.; VIEIRA, C. V., orgs.. *Produtos naturais no controle de insetos*. 1ª ed. São Carlos: EdUFSCar, p. 23-45, 2001.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; ANDREI, C. C.. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1102p, 2010.

VIGLIANCO, A. I.; NOVO, R. J.; CRAGNOLINI, C. I.; NASSETTA, M.; CAVALLO, ALICIA. Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Córdoba

(Argentina) against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *BioAssay*, v. 3, n. 4, p. 1-6, 2008.

WANG, Z.; YEATS, T.; HAN, H.; JETTER, R.. Cloning and characterization of oxidosqualene cyclases from *Kalanchoe daigremontiana*: enzymes catalyzing up to 10 rearrangement steps yielding friedelin and other triterpenoids. *J Biol Chem*, v. 285, n.39, p. 29703-12, 2010.

WANI, M. C.; TAYLOR, H. L.; WALL, M. E.; COGGON, P. Plant antitumor agent. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 93, n.9, p. 2325-2327, 1971.

WANNISSORN, B.; JARIKASEN, S.; SOONTRONTANASART, T.. Antifungal activity of lemon grass oil and lemon grass cream. *Phytother. Res.*, v. 10, n. 7, p. 551-554, 1996.

WHO. Programmes and Projects. Fact sheets. No. 340/ JUNE. WHO (2010) Distribution of cases of *Trypanosoma cruzi* infection, based on official estimates and status of vector transmission (2006–2009) 2010.
<http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_chagas_2009.png> Sep. 2013.

WINK, M. Introdução. In: WINK, M. (ed.) *Annual plant reviews: Functions and biotechnology of plant secondary metabolites*. 2 ed., A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, United Kingdom, v. 39, 410p, 2010.

WINDLEY, M. J.; HERZIG, V.; DZIEMBOROWICZ, S. A.; HARDY, M. C.; KING, G. F.; NICHOLSON, G. M.. Spider-Venom Peptides as Bioinsecticides. *Toxins*; v. 4, n. 3, p.191-22, 2012.

WIRASATHIEN, L.; PENGSUPARP, T.; SUTTISRI, R.; UEDA, H.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K. Inhibitors of aldose reductase and advanced glycation end-products formation from the leaves of *Stelechocarpus cauliflorus* R. E. Fr. *Phytomedicine*, v. 14, n. 7-8, p. 546–550, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*, WHO, Switzerland. 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, *Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever*. Fact sheet. p. 11, 2009.

YAN, Y.; KOHLI, A.; KOFFAS, M. A. Biosynthesis of natural flavanones in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* v.71, n. 9, p.5610–5613, 2005.

YANG, P.; MA, Y.; ZHENG, S. Adulticidal activity of five essential oils against *Culex pipiens quinquefasciatus*. *J. Pestic. Sci.*, v. 30 n. 2, p. 84–89, 2005.

YOSHIKAWA, M.; SHIMADA, H.; NISHIDA, N. LI, Y., TOGUCHIDA, I.; YAMAHARA, J.; MATSUDA, H. Antidiabetic Principles of Natural Medicines. II. Aldose Reductase and α -Glucosidase Inhibitors from Brazilian Natural Medicine, the Leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Structures of Myrciacitrins I and II and Myrciaphenones A and B. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 46, n.1, p. 113-119, 1998.

YOSHIKUNI, Y.; MARTIN, V. J. J.; FERRIN, T. E.; KEASLING, J. D.. Engineering cotton (+)-delta-cadinene synthase to an altered function: Germacrene D-4-ol synthase. *Chem Biol*, v.13, n. 1, p. 91–98, 2006.

ZOGHBI, M. D. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; DA SILVA, M. H. L.; CARREIRA, L. M. M.; MAIA, J. G. S. Essential oils from three *Myrcias* species. *Flavour Fragr J*, v. 18, n. 5, p. 421–424, 2003.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides.. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, p. 577-614, 2010.