

UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Avaliação de óleos essenciais das espécies
brasileiras *Baccharis trimera* (Less.) DC) e *Mimosa
verrucosa* Benth contra *Ctenocephalides felis felis***

Nayana de Figueiredo Pereira

2022



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

Avaliação de óleos essenciais das espécies brasileiras *Baccharis trimera* (Less.) DC) e *Mimosa verrucosa* Benth contra *Ctenocephalides felis felis*

NAYANA DE FIGUEIREDO PEREIRA

Sob a Orientação do Professor
Douglas Siqueira de Almeida Chaves

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra em Química**, Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração em Química.

Seropédica, RJ
Julho de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P436a Pereira, Nayana de Figueiredo, 1994-
Avaliação de óleos essenciais das espécies
brasileiras Baccharis trimera (Less.) DC) e Mimosa
Pereia verrucosa Benth contra Ctenocephalides felis felis /
Nayana de Figueiredo Pereira. - Seropedica, 2022.
76 f.: il.

Orientador: Douglas Siqueira de Almeida Chaves.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Pós-graduação em química, 2022.

1. Óleos essenciais. 2. Ectoparasitas. 3. Plantas
brasileiras. I. Chaves, Douglas Siqueira de Almeida,
1981-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Pós-graduação em química III. Título.

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

NAYANA DE FIGUEIREDO PEREIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestra em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 22/07/2022

Douglas Siqueira de Almeida Chaves
(Dr.) UFRRJ (Orientador)

Cristiano Jorge Riger
(Dr.) UFRRJ

Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura
(Dr.^a) UFG



Emitido em 2022

TERMO N° 853/2022 - PPGQ (12.28.01.00.00.60)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 27/07/2022 08:36)

CRISTIANO JORGE RIGER
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DBQ (11.39.00.24)
Matricula: 1844240

(Assinado digitalmente em 27/07/2022 16:47)

DOUGLAS SIQUEIRA DE ALMEIDA CHAVES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
ICBS (12.28.01.22)
Matricula: 1705075

(Assinado digitalmente em 29/07/2022 15:54)

VERIDIANA MARIA BRIANEZI DIGNANI DE
MOURA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 161.899.768-83

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:
853, ano: 2022, tipo: TERMO, data de emissão: 27/07/2022 e o código de verificação: 68e9cd19e3

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me ajudou a chegar até aqui, me dando saúde e forças para superar todas as dificuldades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves, que sempre acreditou em mim, me incentivou e explorou meu melhor.

À professora Dra. Yara Peluso, ao Diefrey Campos e ao colega Daniel Falcão, pela disponibilidade e todo suporte com os experimentos *in vitro* no laboratório do Departamento de Ciências Farmacêuticas.

À professora Dra. Rosane Nora e a colega Cristiane Alves pelo auxílio indispensável para as análises cromatográficas no laboratório do Departamento de Química Orgânica.

Ao professor Dr. Cristiano Riger e a colega Nathalia Camargo pela disposição e acompanhamento com as análises de toxicidade no laboratório do Departamento de Química.

Às colegas Bianca Augusto e Débora Pereira pelo companheirismo e compartilhamento de conhecimento.

A todos professores com que tive a oportunidade de aprender.

Aos meus pais, Aurelina de Figueiredo e Naldo Pereira, que sempre me apoiaram e me incentivaram a estudar. Sempre presentes em todos os momentos.

Ao meu marido, Gustavo Pires, que assim como meus pais sempre esteve presente e me encorajando.

À minha irmã, Nara Pereira, que está sempre ao meu lado sendo minha melhor amiga.

A todos meus amigos e familiares, que sempre entenderam minha ausência e compartilharam todos os momentos.

A todos aqueles que, de alguma maneira, participaram da minha trajetória e colaboraram com essa conquista.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

PEREIRA, Nayana de Figueiredo. **Avaliação de óleos essenciais das espécies brasileiras *Baccharis trimera* (Less.) DC) e *Mimosa verrucosa* Benth contra *Ctenocephalides felis felis*.** 2022. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

As pulgas da espécie *Ctenocephalides felis felis* são os ectoparasitas mais encontrados nos cães e gatos, podendo causar reações e danos mais graves. Estudos comprovam que o Brasil apresenta uma crescente na população de cães e gatos compondo estruturas familiares, e em caso de manifestações de ectoparasitas nos pets, esse convívio acarreta transmissão aos humanos. Assim, a busca por meios que diminuam as contaminações vem aumentando consideravelmente. Alguns óleos essenciais já vêm sendo utilizados como uma alternativa para o controle desses ectoparasitas, visto que são produtos naturais que causam menos agressões ao meio ambiente. Com isso, o presente estudo tem como objetivo identificar os compostos dos óleos essenciais das espécies brasileiras *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa* Benth, avaliar a atividade *in vitro* frente ao ectoparasita *C. felis felis* em todas etapas de desenvolvimento e avaliar a toxicidez a partir do modelo eucarioto de *Saccharomyces cerevisiae* para determinar a ação pulicida. Ambos os óleos essenciais apresentaram compostos terpênicos, sendo os componentes majoritários encontrados pela análise de cromatografia gasosa no óleo essencial de *B. trimera* foram o acetato de carquejila (33,0%), o β -pineno (5,5%), o β -elemeno (5,9%), o γ -muruleno (5,6) e o álcool cariofileno (7,0%) e no óleo essencial de *M. verrucosa* foram o β -pineno (14,2%), o α -pineno (10,7%), o sabineno (9,5%), o *E*-cariofileno (13,8%) e o γ -himacheleno (8,1%). Os ensaios de toxicidade demonstraram uma baixa toxidez para ambos os óleos sob concentração de 0,2 mg/mL, não apresentaram dano na mitocôndria e demonstraram crescimento celular regular à curva de controle. Os ensaios *in vitro* apresentaram 100% de eficácia frente à todas as fases do ciclo de vida das pulgas *C. felis felis*, sendo o óleo essencial de *B. trimera* ideal contra a as pulgas adultas (800 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$; CL₅₀= 369,22 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) em 24 e 48h e o óleo essencial de *M. verrucosa* ideal contra as larvas das pulgas (791,2 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$; CL₅₀ = 266,29 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL₅₀ = 240,54 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) em 24 e 48h, respectivamente. É um estudo com resultados satisfatórios e com potencial para desenvolvimento de produtos alternativos a partir dos óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa* no controle contra *Ctenocephalides felis felis*.

Palavras-chave: Óleos essenciais. Ectoparasitas. Plantas brasileiras.

ABSTRACT

PEREIRA, Nayana de Figueiredo. **Evaluation of essential oils from the Brazilian species *Baccharis trimera* (Less.) DC) and *Mimosa verrucosa* Benth against *Ctenocephalides felis felis*.** 2022. Dissertation (Master in Chemistry). Institute of Chemistry, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

Fleas of the species *Ctenocephalides felis felis* are the most common ectoparasites found in dogs and cats and can promote reactions and damage. Studies show that Brazil has a growing population of dogs and cats composing family structures, and in case of manifestations of ectoparasites in pets, this coexistence causes transmission to humans. Thus, the search for ways to reduce contamination has increased considerably. Some essential oils have already been used as an alternative for the control of these ectoparasites, since they are natural products that cause less aggression to the environment. With this, the present study aims to identify the compounds of the essential oils of the Brazilian species *Baccharis trimera* and *Mimosa verrucosa* Benth, to evaluate the *in vitro* activity against the ectoparasite *C. felis felis* in all stages of development and to evaluate the toxicity from the model eukaryote of *Saccharomyces cerevisiae*. Both essential oils presented terpenic compounds, the major components found by gas chromatography analysis in the essential oil of *B. trimera* were carquejila acetate (33.0%), β -pinene (5.5%), β -elemene (5.9%), γ -murulene (5.6) and caryophyllene alcohol (7.0%) and in *M. verrucosa* essential oil were β -pinene (14.2%), α -pinene (10.7%), sabinene (9.5%), E-caryophyllene (13.8%) and γ -himachelene (8.1%). Toxicity tests showed low toxicity for both oils at a concentration of 0.2 mg/mL, showed no damage to the mitochondria and showed regular cell growth to the control curve. The *in vitro* assays showed 100% efficacy against all phases of the life cycle of *C. felis felis* fleas, with *B. trimera* essential oil being ideal against adult fleas (800 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$; LC_{50} = 369 .22 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) at 24 and 48h and the essential oil of *M. verrucosa* ideal against flea larvae (791.2 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$; LC_{50} = 266.29 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ and LC_{50} = 240 .54 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) at 24 and 48h, respectively. It is a study with satisfactory results and with potential for the development of alternative products from the essential oils of *Baccharis trimera* and *Mimosa verrucosa* in the control against *Ctenocephalides felis felis*.

Key words: Essential oils; Ectoparasites; Brazilian plants.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC..... | 6 |
| Figura 2: Estruturas químicas dos compostos encontrados na espécie <i>Baccharis trimera</i> | 7 |
| Figura 3: <i>Mimosa verrucosa</i> Benth..... | 8 |
| Figura 4: Visão simplificada das principais rotas de biossíntese dos grupos de metabólitos secundários e suas conexões com o metabolismo primário. | 9 |
| Figura 5: Estrutura de dois exemplos de monoterpenos. | 10 |
| Figura 6: Estrutura básica da lactona diterpênica. | 10 |
| Figura 7: Exemplos de monoterpeno e sesquiterpeno. | 11 |
| Figura 8: Estágios do ciclo de vida das pulgas..... | 13 |
| Figura 9: <i>Ctenocephalides felis felis</i> | 14 |
| Figura 10: Ciclo de vida de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 15 |
| Figura 11: Leveduras de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> VL3 em suspensão celular. | 16 |
| Figura 12: Fluxo do cromatógrafo gasoso..... | 18 |
| Figura 13: Fluxo do cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas. | 19 |
| Figura 14: Cromatograma do óleo essencial da <i>Baccharis trimera</i> obtido a partir de uma coluna capilar de sílica fundida similar a DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)..... | 27 |
| Figura 15: Cromatograma do óleo essencial de <i>Mimosa verrucosa</i> obtido a partir de uma coluna capilar de sílica fundida similar a DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)..... | 28 |
| Figura 16: Diluição em placa de 96 poços para verificação das concentrações tóxicas..... | 32 |
| Figura 17: Concentrações em mg/mL de resazurina com óleos essenciais de <i>Baccharis trimera</i> e <i>Mimosa verrucosa</i> | 32 |
| Figura 18: Viabilidade e Danos na Ativação Mitocondrial..... | 33 |
| Figura 19: Absorbância versus tempo de avaliação das células <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 34 |
| Figura 20: Estrutura química dos compostos majoritários do OE de <i>B. trimera</i> | 35 |
| Figura 21: Estrutura química dos compostos majoritários do OE de <i>Mimosa verrucosa</i> | 36 |
| Figura 22: Espectro da espécie <i>Baccharis trimera</i> nas eluições 1 a 4..... | 54 |
| Figura 23: Espectro da espécie <i>Baccharis trimera</i> nas eluições 5 a 9. | 55 |
| Figura 24: Espectro da espécie <i>Baccharis trimera</i> nas eluições 10 a 14..... | 56 |
| Figura 25: Espectro da espécie <i>Baccharis trimera</i> nas eluições 15 a 19..... | 57 |
| Figura 26: Espectro da espécie <i>Baccharis trimera</i> nas eluições 20 a 25..... | 58 |
| Figura 27: Espectro da espécie <i>Baccharis trimera</i> nas eluições 26 a 30..... | 59 |
| Figura 28: Espectro da espécie <i>Mimosa verrucosa</i> nas eluições 1 a 5..... | 60 |
| Figura 29: Espectro da espécie <i>Mimosa verrucosa</i> nas eluições 6 a 10..... | 61 |
| Figura 30: Espectro da espécie <i>Mimosa verrucosa</i> nas eluições 11 a 15..... | 62 |
| Figura 31: Espectro da espécie <i>Mimosa verrucosa</i> nas eluições 16 a 20..... | 63 |
| Figura 32: Espectro da espécie <i>Mimosa verrucosa</i> nas eluições 21 a 25..... | 64 |
| Figura 33: Espectro da espécie <i>Mimosa verrucosa</i> nas eluições 26 a 30..... | 65 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Composição química do óleo essencial de <i>Baccharis trimera</i> | 27 |
| Tabela 2: Composição química do óleo essencial de <i>Mimosa verrucosa</i> | 29 |
| Tabela 3: Mortalidade nas fases do ciclo de vida (ovo, larva, pupa e adulta) da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> com óleo essencial de <i>Baccharis trimera</i> | 30 |
| Tabela 4: Mortalidade nas fases do ciclo de vida (ovo, larva, pupa e adulta) da pulga com óleo essencial de <i>Mimosa verrucosa</i> | 30 |
| Tabela 5: Mortalidade eficaz no ciclo de vida da pulga com óleo essencial de <i>Baccharis trimera</i> e de <i>Mimosa verrucosa</i> | 31 |
| Tabela 6: Concentração letal 50 dos OE <i>Baccharis trimera</i> e <i>Mimosa verrucosa</i> contra <i>C. felis felis</i> | 31 |
| Tabela 7: Unidades formadoras de colônias em meio YPD após tratamentos com os óleos essenciais de <i>Baccharis trimera</i> e <i>Mimosa verrucosa</i> | 33 |
| Tabela 8: Unidades formadoras de colônias em meio YPGLY após tratamentos com os óleos essenciais de <i>Baccharis trimera</i> e <i>Mimosa verrucosa</i> | 33 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1 | Plantas Medicinais | 3 |
| 2.2 | Famílias Botânicas | 4 |
| 2.2.1 | <i>Asteraceae</i> | 4 |
| 2.2.2 | <i>Fabaceae</i> | 5 |
| 2.3 | Gêneros das Plantas | 5 |
| 2.3.1 | <i>Baccharis</i> | 5 |
| 2.3.2 | <i>Mimosa</i> | 6 |
| 2.4 | Espécies das Plantas | 6 |
| 2.4.1 | <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC. | 6 |
| 2.5 | Metabólitos Secundários | 8 |
| 2.5.1 | Terpenos | 9 |
| 2.6 | Óleos Essenciais | 11 |
| 2.7 | <i>Ctenocephalides felis felis</i> | 12 |
| 2.8 | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 15 |
| 2.9 | Cromatografia Gasosa | 17 |
| 2.10 | Importância da implantação de novos métodos de tratamento de ectoparasitas | 19 |
| 3 | JUSTIFICATIVA | 21 |
| 4 | OBJETIVOS | 23 |
| 4.1 | Gerais | 23 |
| 5 | METODOLOGIA | 24 |
| 5.1 | Seleção das espécies | 24 |
| 5.2 | Análise dos óleos essenciais por CG-FID e CG-EM | 24 |
| 6 | RESULTADOS | 27 |
| 6.2 | Componentes e caracterização química dos óleos essenciais | 27 |
| 6.2 | Mortalidade contra as pulgas <i>Ctenocephalides felis felis</i> em diferentes estágios do ciclo de vida | 30 |
| 6.3 | Avaliação da toxidez dos óleos essenciais | 32 |
| 6.3.1 | <i>Viabilidade celular e impacto na funcionalidade mitocondrial</i> | 32 |
| 6.3.2 | <i>Controle de crescimento celular</i> | 34 |
| 7 | DISCUSSÕES | 35 |
| 7.1 | Componentes e caracterização química dos óleos essenciais | 35 |
| 7.2 | Mortalidade contra as pulgas <i>Ctenocephalides felis felis</i> em diferentes estágios do ciclo de vida | 36 |
| 7.3 | Avaliação da toxidez dos óleos essenciais | 38 |
| 7.3.1 | <i>Viabilidade celular e impacto na funcionalidade mitocondrial</i> | 38 |
| 7.3.2 | <i>Controle do crescimento celular</i> | 39 |
| 8 | CONCLUSÕES | 41 |
| 9 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 42 |
| 10 | PERSPECTIVAS FUTURAS | 53 |
| 11 | ANEXOS | 54 |

1 INTRODUÇÃO

Historicamente cada civilização fazia uso dos óleos essenciais de acordo com suas crenças e costumes. Sabe-se que os povos egípcios e chineses foram os principais responsáveis por utilizarem e propagarem os óleos essenciais na medicina e na cosmética (IBERIAN COOPERS LTD., 2021).

No Brasil, o surgimento de óleos essenciais ocorreu no final do século 20 com a exploração extrativista de essências nativas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*). Nesta mesma época foram registradas a produção de óleo essencial de capim-limão, palmarosa e erva-cidreira (OLIVEIRA, 2016). Embora a indústria de óleos essenciais em nosso país tenha passado por muitos avanços ainda se encontra em processo de desenvolvimento (CARVALHO, 2021).

O estudo sobre a composição de voláteis de espécies brasileiras é muito excipiente, não valorizando o conhecimento químico de nossa flora. Em pesquisa feita no site ReFlora, *B. trimer*a (Carqueja-Amarga), com atividade antimicrobiana apresentada devido aos seus compostos majoritários, e *M. verrucosa* (Jurema Branca), com atividade antioxidante e citotóxica apresentadas por seus metabólitos, são espécies nativas e pioneiras do Brasil. Sendo assim, a existência de poucos trabalhos sobre a composição de voláteis de espécies brasileiras traz o grande interesse em desenvolver trabalhos utilizando plantas nativas.

As propriedades medicinais dos óleos essenciais são muito exploradas na medicina popular, como anti-inflamatórios, expectorantes e analgésicos, assim como, exploradas na medicina veterinária (BATISTA et al., 2016; DOS SANTOS et al., 2020) uma vez que o convívio de humanos com cães e gatos tem aumentado.

Os casos dermatológicos apresentam grande prevalência em pequenos animais, sendo a razão mais comum para serem levados ao médico veterinário. O maior órgão do corpo é a pele, que funciona como uma barreira entre o animal e o meio ambiente e fornece proteção contra diversos tipos de lesões (SCOTT et al., 2011). As ocorrências mais comuns são doenças cutâneas alérgicas, como dermatite atópica canina, alergia alimentar e dermatite alérgica à picada de pulga; doenças cutâneas parasitárias, como sarna sarcóptica, demodicose e trombiculose; doenças parasitárias sistêmicas, como leishmaniose; doenças endócrinas, como hipotireoidismo e hiperadrenocorticism; neoplasias cutâneas, como carcinoma espinocelular e linfoma epitelotrópico; e outras dermatopatias de origem infecciosa, como dermatite a *Malassezia spp.* e dermatofitose (PEREIRA, 2013).

Existe uma enorme variedade de espécies de plantas que podem ser usadas em animais com fins medicinais, propiciando um tratamento eficaz e barato, muitas das quais também são utilizadas em humanos (BOELTER, 2010; PAIVA et al., 2010; LIMA et al., 2012; SILVA et al., 2013; FURTADO et al., 2016).

O interesse e o uso de plantas bioativas e medicinais nas criações de animais vem aumentando consideravelmente devido a um conjunto de fatores: o alto custo dos medicamentos sintetizados, a resistência crescente às drogas químicas, a preocupação com resíduos tóxicos destes medicamentos nos alimentos e no ambiente e, ao desenvolvimento dos sistemas orgânicos e de base agroecológica de produção animal. Este contexto vem impulsionando fortemente o uso de plantas ou seus extratos tanto na prevenção, com plantas bioativas, quanto na recuperação da saúde dos animais, com plantas medicinais (ESCOSTEGUY, 2018).

Os produtos à base de plantas com atividade ectoparasiticida têm mostrado resultados significativos *in vitro* nos últimos anos (ELLSE & WALL, 2014). A diversidade dessas plantas, aliada às suas propriedades de biodegradabilidade, baixo custo de produção, baixa toxicidade e baixo desperdício ambiental, confirma o potencial de uso desses produtos de controle de parasitas (CHAGAS et al., 2012).

O uso de plantas medicinais para tratamento de doenças é oficialmente reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (MELO et al., 2017), aplicando a fitoterapia na medicina veterinária com a possibilidade de serem empregadas novas substâncias, nas quais os patógenos não tiveram contato, evitando assim a resistência aos fármacos (REGNER, 2020).

Em 2006, foi editado o Decreto nº 5813 que instituiu a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, com uma série de propostas para ampliação e desenvolvimento dessa terapêutica em vários níveis, buscando aumentar o aproveitamento da biodiversidade brasileira, estimular a indústria farmacêutica, inclusive do setor veterinário, gerar renda por cadeias produtivas, dentre várias outras propostas.

Na área veterinária, a regulação está a cargo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que possui a atribuição legal para regulamentar a produção de produtos veterinários, inclusive os de origem vegetal.

O uso de óleos essenciais e voláteis vem sendo utilizado para o controle de pulgas em animais de estimação. Trabalhos prévios publicados pelo grupo do Laboratório chefiado pelo Dr. Douglas S. Chaves demonstram o estudo de cinética de extração de óleos essenciais, toxidez e ação pulicida, sendo uma excelente e promissora fonte de novos fármacos, menos tóxicos, para o combate destes ectoparasitas (DOS SANTOS CAVALCANTI et al., 2015; BATISTA et al., 2016; DOS SANTOS et al., 2020; NASCIMENTO et al., 2020).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas Medicinais

Com registros datando desde 60.000 anos a.C, estando presentes em diversas culturas, como a Egípcia, Hindu, Persa, Grega e os povos da América pré-colombiana, as plantas medicinais podem ser consideradas uma das formas mais antigas de práticas terapêuticas (ROCHA et al., 2015, SARAIVA et al., 2015).

Desde a pré-história, o homem já fazia uso dos recursos naturais para realização de suas atividades básicas, como a alimentação. Entre esses recursos estão as plantas, que sempre foram utilizadas com essa finalidade, que ao longo do tempo passaram a ser utilizadas na confecção de roupas, em construções, como abrigo, ferramentas, entre outros. Acredita-se que o uso medicinal das plantas tenha tido início mediante observações de suas características únicas, como modificações estruturais durante às estações do ano, e seu poder de regeneração mediante injúrias (ROCHA et al., 2015).

A história afirma que na Idade Média, a partir da inserção de novas plantas de caráter fitoterápico e o desenvolvimento de novas tecnologias a partir da incorporação da medicina grega e indiana, os árabes foram capazes de ao longo dos anos estabelecer sua medicina a níveis mais complexos, se consolidando como referência para as gerações posteriores (ALMEIDA, 2011; SAAD, 2014). Ainda no que concerne à complexidade da medicina árabe, essa se deu principalmente pela incorporação de medicamentos compostos, ou seja, foram introduzidos juntamente às plantas medicinais, os medicamentos de origem animal, mineral ou outros medicamentos vegetais (PETROVSKA, 2012).

E todo avanço relativo às práticas terapêuticas até o início da Idade Moderna baseavam-se em observação e proximidade com a natureza, no entanto o Renascentismo foi capaz de recuperar influências da antiguidade greco-romana a partir da consolidação de valores, como o antropocentrismo, humanismo e individualismo, resultando em avanços de cunho econômico, político, social e técnico-científico (COSTA, 2017).

A associação dos conhecimentos indígenas, europeus e africanos no Brasil foi responsável pela transformação da fitoterapia em uma prática sociocultural, integrando a cultura popular brasileira (IBIAPINA et al., 2014).

Em meados de 1940, em decorrência das grandes demandas oriundas das indústrias do ocidente, no momento privadas de suas tradicionais fontes de suprimento por conta da Segunda Guerra Mundial, a produção de óleos essenciais no Brasil passou a ser realizada de maneira mais organizada. Essa organização incluiu, por exemplo, a introdução de outras culturas para obtenção de óleos tais como: menta, laranja, canela sassafrás, eucalipto, capim-limão, patchouli, e outros, voltada, basicamente, para o mercado externo. Nas décadas seguintes, contudo, empresas internacionais produtoras de perfumes, cosméticos, e produtos farmacêuticos e alimentares passaram a se instalar no país, contribuindo para a solidificação e desenvolvimento do nosso mercado interno (SEBRAE, 2019).

Planta medicinal é definida como uma espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos, sendo denominada planta fresca, quando coletada no momento do uso, e planta seca, quando submetida à secagem, a qual também chamamos de droga vegetal (GARLET, 2019). As plantas medicinais representam fator de grande importância para a manutenção das condições de saúde das pessoas, pois segundo a Organização Mundial da Saúde, 80% da população mundial recorrem aos saberes tradicionais, utilizando como um dos recursos as plantas medicinais (BONIL; BUENO, 2017).

O uso de plantas medicinais ou dos fitoterápicos pode ser eficaz no tratamento de muitas doenças, desde que sejam observados alguns critérios, tais como: identificação

das espécies, indicação conforme quadro clínico e preparação adequada (BETTEGA et al., 2011; GARLET, 2019). Essa intensificação da utilização de plantas medicinais está associada, entre outros fatores, à dificuldade de acesso aos medicamentos alopáticos e à crença popular de que o natural é inofensivo (PRETTI, 2018). As plantas medicinais apresentam seus pontos positivos e podem ser recomendadas no tratamento de patologias, já que apresentam uma rápida absorção pelo organismo e também possui formas ecológicas de cultivo (ALMEIDA et al., 2021).

A busca por produtos naturais ficou cada vez maior porque tais medicamentos não possuem efeitos colaterais, ou apresentam poucos, e são eficientes em casos que a medicina não foi capaz de atingir os resultados esperados (SARTORELLI, 2015). A diversidade biológica e o seu patrimônio genético constitui um grande potencial para medicamentos e de matrizes alimentares. Possui princípios ativos de potencial funcional para uso na medicina, com propriedades farmacológicas que atuam nas biomoléculas, sendo repassado de geração a geração (BURTET et al., 2022). As plantas medicinais além de serem utilizadas na medicina para tratamento de diversas doenças possuem alguns princípios ativos que podem causar diferentes efeitos sobre os insetos, atuando principalmente na agricultura orgânica como repelentes (BALBINA SILVA; PELLI, 2022).

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, onde mais de 25 mil espécies de plantas, algas e fungos nativos são endêmicas, o que representa 55% do total das espécies nativas brasileiras, que chegam a 46,9 mil. Sendo que a Mata Atlântica é o bioma onde existem mais espécies (35,5% da flora brasileira), seguida pela Amazônia (27,8%) e o Cerrado (27,3%), seguidos pela Caatinga (4,9%), Pampa (2,8%) e Pantanal (3,6%) (FLORA, 2021).

1.2 Famílias Botânicas

1.2.1 *Asteraceae*

É a maior família de angiospermas, compreendendo 25 mil espécies pertencentes a 1.600 gêneros dispostos em 17 tribos e três subfamílias (KOC et al., 2015). No Brasil, a família está representada por aproximadamente 300 gêneros e cerca de 2000 espécies (GIRARDELI, 2014).

A forma das folhas da espécie varia muito, enquanto a maioria é grande, outras são pequenas e espinhosas, e algumas são inexistentes, sendo sua função assumida por um caule verde. A maioria das folhas é coberta por um indumento e pelos de todos os comprimentos e cores. A maioria tem um cacho plano de pequenas flores de várias cores (ACHIKA et al., 2014; MUNIM et al., 2017).

A maioria dos membros da família *Asteraceae* tem aplicações terapêuticas e tem uma longa história na medicina tradicional. Alguns são cultivados há mais de 3000 anos para fins médicos e comestíveis, mais comuns em regiões áridas e semiáridas de áreas subtropicais, mas são conhecidas e distribuídas por todo o mundo. Os membros da família *Asteraceae* apresentam uma ampla gama de atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes e hepatoprotetoras (ACHIKA et al., 2014).

As espécies de *Asteraceae* foram caracterizadas por produzirem numerosos metabólitos secundários como polifenóis, flavonóides, diterpenóides e lactonas sesquiterpênicas. Esses metabólitos são dissolvidos ou suspensos na seiva do látex ou colocados em tricomas específicos, encontrados em órgãos vegetais, ou seja, folha, caule, flores, sementes e frutos (SALAPOVIC et al., 2013; JACHULA et al., 2018).

Muitas espécies de *Asteraceae* demonstram várias atividades farmacológicas, que

são atribuídas aos seus componentes fitoquímicos, incluindo óleos essenciais, lignanas, saponinas, compostos polifenólicos, ácidos fenólicos, esteróis e polissacarídeos (KOC et al., 2015).

1.2.2 *Fabaceae*

Fabaceae representa a terceira maior família de angiospermas, com 770 gêneros e aproximadamente 19500 espécies (LPWG, 2017). As *Fabaceae* compreendem também a maior família de plantas do Brasil, com ampla distribuição e uma estimativa de 2.834 espécies distribuídas por todo o domínio fitogeográfico da Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado, Pampa e Pantanal (BFG, 2015). Estão entre as plantas mais valorizadas em todo o mundo (LPWG 2017). No Brasil, é a família mais bem representada com 2.807 espécies agrupadas em 222 gêneros (15 endêmicos) abundantes em quase todos os biomas e ecossistemas do país (BFG 2015).

Os fitoquímicos desta família têm importância industrial e farmacológica (PASTORINO et al., 2018; BATIHA, 2020). Esta família é uma grande fonte de fitoquímicos, a saber, flavonóides, lectinas, saponinas, alcalóides, carotenóides e ácidos fenólicos, que possuem propriedade anticancerígena, e o uso desses fitoquímicos vem aumentando ao longo do tempo (EL-FEKI, 2018; SEBASTIÃO, 2020).

No entanto, os fitoquímicos desta família não foram explorados massivamente por seu efeito no crescimento de células cancerígenas. Portanto, mais pesquisas são necessárias no futuro para explorar o potencial dos fitoquímicos da família *Fabaceae* contra o câncer e descobrir novos medicamentos contra esta doença. Vários pesquisadores têm trabalhado em aspectos anticancerígenos das plantas medicinais da família *Fabaceae*.

1.3 Gêneros das Plantas

1.3.1 *Baccharis*

É o maior grupo dentro do clado *Angiosperma* e a família *Asteraceae*, pois possui cerca de 1600 a 2000 gêneros e 23600 a 30000 espécies (FUNK et al., 2009; JEFFREY, 2021; PANERO, 2021). Segundo Heiden (2014), o gênero *Baccharis* é um dos mais representativos e importantes de *Asteraceae*, no qual abrange 433 espécies, enquanto 500 espécies são consideradas por Malagarriga (1977). Este gênero é extremamente diversificado em sua morfologia, abrangendo essencialmente pequenas ervas ou arbustos e excepcionalmente árvores (HEIDEN, 2014).

No Brasil, o gênero *Baccharis* está entre os maiores em quantidades de gêneros da família *Asteraceae*, com 115 espécies nativas das 179 espécies presentes (CASOTI, 2017; FLORA, 2021; HEIDEN, 2014). Como possuem ampla quantidade de espécies, são capazes de florescer em diversos meses do ano, e dependendo da espécie, podem persistir floridas por dois a oito meses (HEIDEN et al., 2014). Estas espécies estão distribuídas por muitos ecossistemas, com maior domínio na Floresta Atlântica, Cerrado e Pampa, e nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do país (BFG, 2015; FLORA, 2021).

No gênero *Baccharis* existem espécies de uso medicinal, normalmente são conhecidas através do mesmo nome popular. Muitas destas geralmente são conhecidas no Brasil e países vizinhos como carquejas (espécies com caule alado ou cladódios) e vassouras (espécies com caules e folhas), sendo utilizadas popularmente com fins terapêuticos similares (BUDEL et al., 2005, 2018). Centenas de espécies do gênero *Baccharis*, além do uso como ervas medicinais, são utilizadas como plantas alimentícias, corantes, plantas ornamentais e agentes aromatizantes (CASOTI, 2017).

1.3.2 *Mimosa*

É o segundo maior gênero da família *Fabaceae* (SIMON et al., 2011), sendo encontrada principalmente na América do Sul (Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina) e no Centro-Sul do México (BARNEBY 1991; LEWIS et al., 2005).

No Brasil existem, aproximadamente, 323 espécies (DUTRA & MORIM, 2010), das quais 38 ocorrem na caatinga (QUEIROZ, 2009).

As plantas desse gênero possuem algumas propriedades medicinais e já vêm sendo utilizadas desde muitos anos atrás, por indígenas e na medicina popular, devido à presença de compostos fenólicos e metabólitos secundários presentes em sua composição como terpenos, flavonoides, taninos, esteroides e saponinas, conferindo a elas atividades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes e citotóxicas que caracterizam a sua atividade biológica (ROMANOSKI; FONSECA, 2017; SILVA et al., 2020).

1.4 Espécies das Plantas

1.4.1 *Baccharis trimera* (Less.) DC.

Baccharis trimera (**Figura 1**) é conhecida popularmente como carqueja, possui diversas utilidades terapêuticas, onde muitas delas já vêm sendo utilizadas como fitoterápicos ao longo de muitos anos e dentre as ações farmacológicas existentes já estudadas, pode-se destacar a sua ação hepatoprotetora, digestiva, diurética, antioxidante, seu potencial antimicrobiano e inseticida (KARAM et al, 2013; ALONSO; DESMARCHELIER, 2015).



Figura 1: *Baccharis trimera* (Less.) DC.

Fonte: UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas (2015).

A composição química dessa espécie apresenta diversos metabólitos secundários como flavonoides, saponinas, taninos e lactonas diterpênicas e em seu óleo essencial são encontradas em sua composição o carquejol, acetato de carquejila, nerolidol, β -pineno e espatulenol (**Figura 2**) (MORAIS; CASTANHA, 2011).

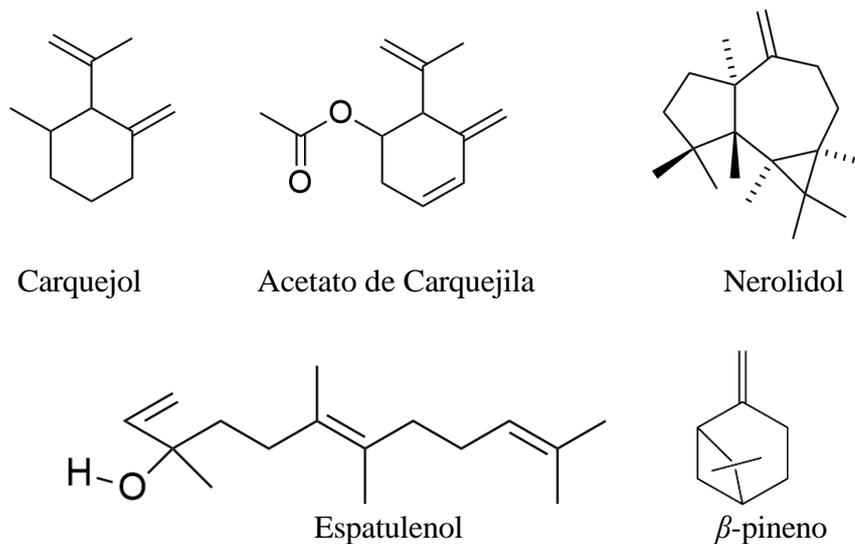


Figura 2: Estruturas químicas dos compostos encontrados na espécie *Baccharis trimera*.

De acordo com SUZUKI et al. (2017) os principais compostos encontrados no óleo essencial desta espécie são o β -pineno que é um monoterpene bicíclico e o acetato de carquejila, onde ambos apresentaram atividade antimicrobiana. Ainda segundo SUZUKI et al. (2017) os altos valores comerciais dos óleos essenciais de *B. trimera* que são produzidos no Brasil estão diretamente relacionados ao alto teor de acetato de carquejila presente no óleo, devido às condições ambientais existentes no país.

Segundo SILVA et al. (2012) os enantiômeros positivos dos isômeros do pineno, ou seja, o (+) α - pineno e (+) β - pineno, demonstraram atividade bactericida e antifúngica sobre todos as bactérias e fungos testados. Ainda de acordo com SILVA et al. (2012) dentre os microrganismos testados a *Candida Albicans* foi altamente suscetível aos enantiômeros, tendo 100% de mortalidade após 1h, enquanto a bactéria *Staphylococcus aureus* sofreu o efeito bactericida após 6h. O que demonstrou uma promissora estratégia para uma formulação antimicrobiana potente contra a formação de biofilme de *C. albicans*.

1.4.2 *Mimosa verrucosa* Benth

M. verrucosa (Figura 3) é uma espécie endêmica do Brasil, que se encontra presente de maneira majoritária nos biomas de caatinga e no Nordeste do Brasil, possui também outros nomes populares como carcará, cassaco, jurema da flor rosa, jurema, saia-velha, entre outros, e é caracterizada por ser uma planta do tipo arbustiva, árvore, erva ou trepadeira (DOURADO; CONCEIÇÃO; SANTOS SILVA, 2013; LORENZI, 2014; ROMANOSKI; FONSECA SANTOS, 2017).



Figura 3: *Mimosa verrucosa* Benth.

Fonte: Reflora, Flora do Brasil (2020).

Segundo ROMANOSKI e FONSECA (2017) o extrato etanólico das folhas de *Mimosa verrucosa* apresentou uma boa atividade antioxidante e o extrato das raízes apresentou uma ótima atividade citotóxica, que demonstram uma boa opção de estudo de isolamento dos metabólitos responsáveis por essas atividades.

Os metabólitos secundários detectados em extratos vegetais da espécie desempenham diferentes papéis na planta, como crescimento, defesa contra os raios ultravioleta, contra ataques de patógenos e predadores e atração de polinizadores; Sendo rica em compostos fenólicos, principalmente flavonoides, que são encontrados nas folhas, esteroides e saponinas nos ramos e raízes e taninos nos caules.

1.5 Metabólitos Secundários

As plantas formam várias substâncias que são usadas em sua própria manutenção, como a fotossíntese, transporte de solutos e a respiração, os quais são chamados de metabólitos primários. Tais compostos se distribuem universalmente nas plantas, ocorrendo com os aminoácidos, nucleotídeos, lipídeos, carboidratos, antocianinas e a clorofila. No caso do metabolismo secundário, os compostos não são necessários para todas as plantas, e derivam do metabolismo primário gerando os produtos naturais. Sua distribuição ocorre de forma restrita entre espécies, gêneros ou família botânica, sendo as principais classes de flavonóides, alcalóides, terpenóides, lignóides, policetídeos, entre outros. A descoberta dessas substâncias para o desenvolvimento de fármacos representou um grande passo, pois muitas plantas são utilizadas por produzir metabólitos secundários com funções farmacológicas variadas, como antiinflamatória, antitumoral, antifúngica e antiparasitária (SARTORELLI, 2015).

Os metabólitos secundários conhecidos são classificados em três grandes grupos: compostos fenólicos, alcaloides e terpenos (TAIZ & ZEIGER, 2017). Toda essa gama de substâncias é sintetizada a partir de quatro vias metabólicas principais: via do acetato-malonato (ácido malônico), via do acetato-mevalonato (ácido mevalônico), via do metileritritol fosfato (MEP) e a via do ácido chiquímico, sendo todas provenientes do metabolismo primário (DEWICK, 2002) (**Figura 4**). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico e ácido mevalônico. Os terpenos são produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do MEP (no cloroplasto). Os alcaloides são provenientes de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). Flavonoides, taninos e ligninas fazem parte dos compostos fenólicos; óleos essenciais, saponinas, carotenoides e a maioria dos fitorreguladores são terpenos; nicotina, cafeína e vincristina são alguns

exemplos de alcaloides (PERES, 2004; BABY, 2015).

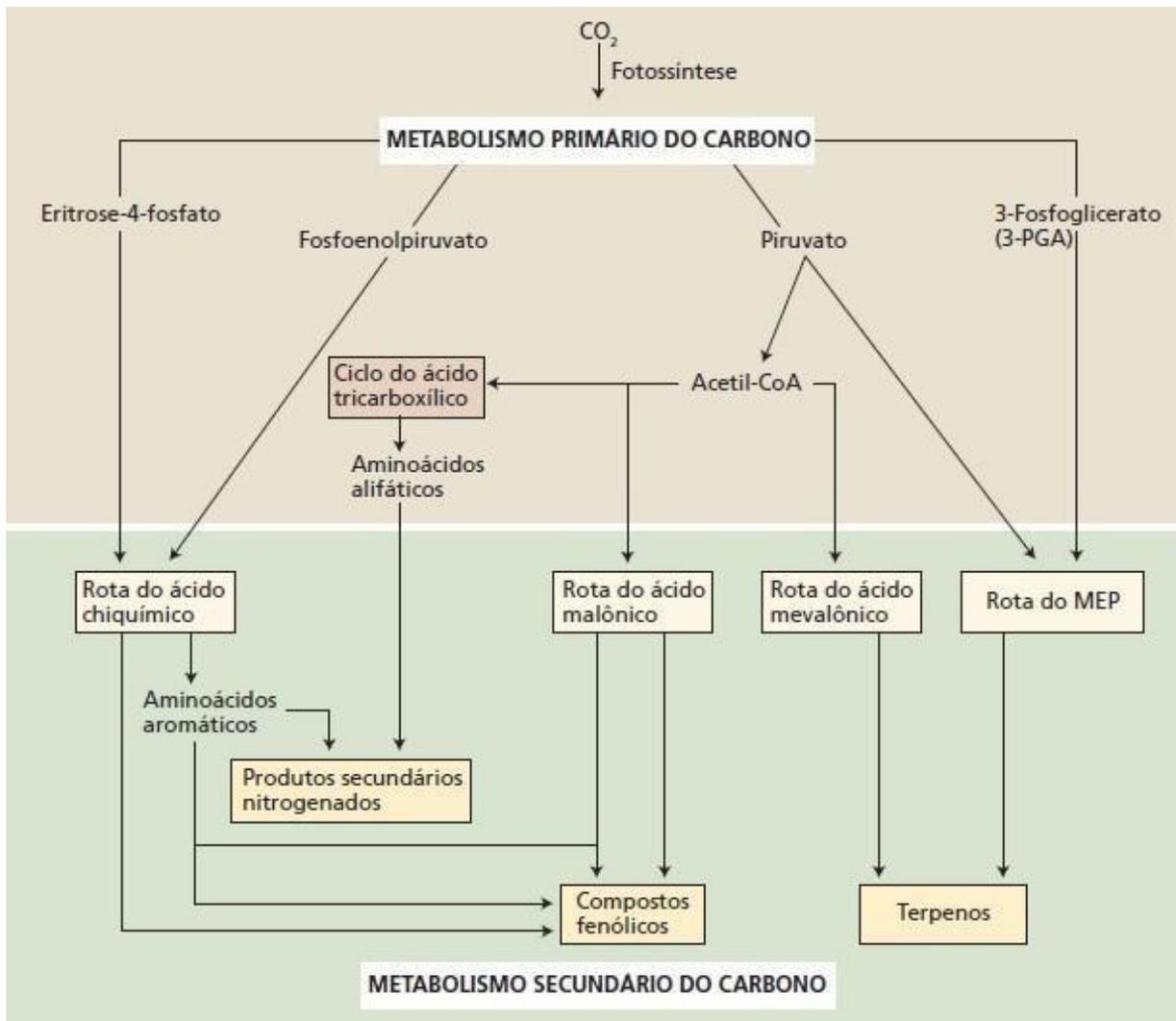


Figura 4: Visão simplificada das principais rotas de biossíntese dos grupos de metabólitos secundários e suas conexões com o metabolismo primário.

Fonte: Taiz e colaboradores (2017).

Nas plantas, é atribuído aos metabólitos secundários a ação tóxica e/ou repelente, sendo portanto, uma estratégia de defesa contra herbivoria (FARIAS, 2012). Dentre os compostos secundários destacam-se os alcaloides, flavonoides, cumarinas, taninos, quinonas e óleos essenciais, como sendo grupos de compostos com atividade biológica (SANDES & DI BLASI, 2000; VEIGA-JUNIOR et al., 2005; CARVALHO 2014). O crescente interesse na possível aplicação de metabólitos secundários para manejo de pragas estimula os pesquisadores a estudar fontes naturais de compostos biologicamente ativos (MEINWALD, 2001; REGNAULT-ROGER et al., 2012).

1.5.1 Terpenos

Abrangem grande variedade de substâncias de origem vegetal e têm importância ecológica como defensivos das plantas. Os terpenos são formados através da justaposição sucessiva de isopentenilpirofosfato (IPP-C5), que dá origem a todos os terpenos, que são

os monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40).

Os monoterpenos costumam ser substâncias voláteis devido seu baixo peso molecular, são responsáveis pela fragrância das plantas, com função de atrair polinizadores e repelir insetos. Como exemplo, o limoneno e o mirceno (**Figura 5**), que são monoterpenos simples, com função de proteger as plantas que os produzem, atuando a partir da inibição da acetilcolinesterase.

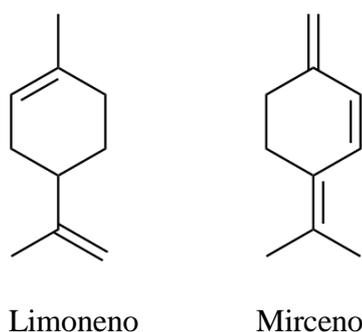


Figura 5: Estrutura de dois exemplos de monoterpenos.

Muitos sesquiterpenos também são voláteis como os monoterpenos. Eles têm a função de defesa da planta contra pragas e doenças e também atuam como antibiótico natural da planta, em resposta à infecções microbianas.

Os diterpenos podem ser derivados pelas vias do mevalonato e da desoxixilulose fosfato, são um importante hormônio vegetal responsável pela germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão das frutas de muitas espécies vegetais. E as modificações extensas do esqueleto principal são responsáveis pela geração de diterpenos altamente oxidativos com uma ou mais porções de lactonas. As lactonas diterpênicas (**Figura 6**) são compostos ativos nas plantas medicinais.

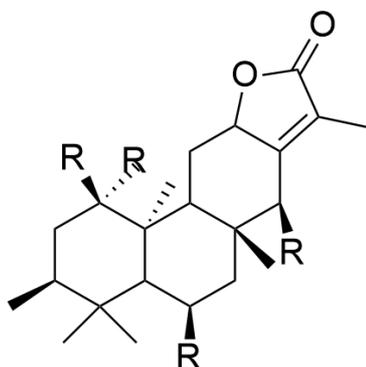


Figura 6: Estrutura básica da lactona diterpênica.

Os tetraterpenos são compostos lipossolúveis que desempenham importante papel nas plantas, fazendo a antena de captação de luz nos fotossistemas. Além disso, são importantes antioxidantes e dissipadores de radicais livres gerados pela fotossíntese, conferindo as cores amarelas, alaranjadas e avermelhadas das plantas.

1.6 Óleos Essenciais

O termo óleo é dado devido ao seu aroma, pois ocorre nas glândulas das plantas ou entre as células em forma líquida, sendo imiscíveis em água. Já a palavra essencial é derivada do latim “quinta essência”, sugerindo que o óleo seja o quinto elemento, sendo a terra, o fogo, o vento e a água os quatro primeiros elementos (RODRIGUES, 2002).

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de monoterpenos (C₁₀) - hidrocarbonetos de fórmula C₁₀H₁₆, constituído por duas unidades isopreno, podendo ser cíclicos ou ramificados; sesquiterpenos (C₁₅) que constituem hidrocarbonetos C₁₅H₂₄, formados por três unidades isopreno, podendo ser cíclicos ou ramificados; e diterpenos (C₂₀) que podem ser acíclicos, mono e bicíclicos, e seus produtos oxigenados são os alcoóis, aldeídos, cetonas e compostos aromáticos (fenilpropanóides), principalmente fenóis e éteres (LIMA et al., 2003) (**Figura 7**). Os óleos essenciais são encontrados em cerca de 2000 espécies distribuídas em 60 famílias do reino vegetal. Dentre as famílias estão a *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Myristicaceae*, *Piperaceae*, *Rutaceae*, entre outras.

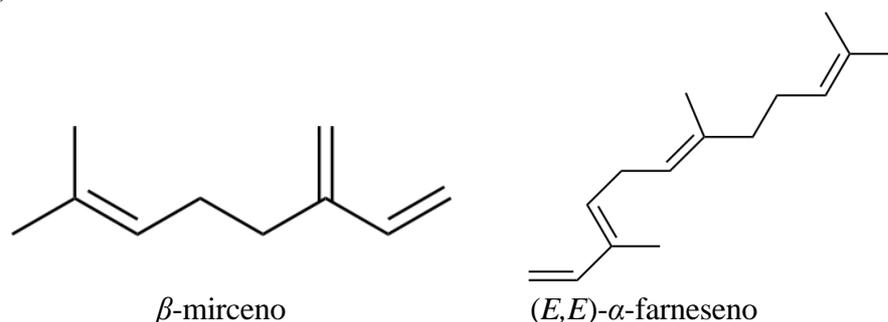


Figura 7: Exemplos de monoterpeno e sesquiterpeno.

Os óleos essenciais são constituídos por inúmeras substâncias individuais que, dependendo de sua concentração, podem ser divididas em componentes principais (20-95%), secundários (1-20%) e traços (menos de 1%). A Organização Internacional para Padronização (ISO) define um óleo essencial como um produto fabricado por destilação de água ou vapor, por processamento mecânico de cascas de frutas cítricas ou por destilação seca (STICHER et al., 2015). Os óleos essenciais são descritos como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríficas e líquidas, instáveis na presença de luz, calor, umidade e metais. Suas principais características são o cheiro e o sabor (FERNANDES; FAVERO, 2014).

A quantidade de óleo varia de 0,01 a 10%. A variabilidade depende do quimiotipo, ciclo vegetativo, fatores extrínsecos, como tipo de cultura, temperatura, umidade relativa, incidência da luz, colheita, secagem e armazenamento (RODRIGUES, 2006).

Os óleos essenciais são compostos voláteis produzidos pelas plantas para a sua sobrevivência, pois são substâncias químicas que exercem as funções de defesa e de atração de polinizadores, além de inibir a ação de alguns herbívoros. Alguns protegem contra o ataque de bactérias ou fungos, outros são conhecidos por serem alelopáticos. Os componentes majoritários são os sesquiterpenóides e monoterpenóides, os quais são altamente voláteis e contribuem para a fragrância ou essência das plantas que os produzem. Possuem ação gastrointestinal (RIAZ; KHAN; QAZI, 2020), atividade citotóxica (TIAN et al., 2020), antiparasitária (AZADBAKHT et al., 2020), antinociceptiva (HERNANDEZ-LEON et al., 2020), ação anti-inflamatória (MATULYTE et al., 2020), estimulante do

sistema respiratório (LIU et al., 2020), ajudam melhorando quadros de ansiedade e depressão (SOHRABI et al. 2017), possuem atividade antioxidante (GHANIMA et al., 2020) e atividade antitumoral (XIE et al., 2020). A atividade antimicrobiana tem maior destaque, pois os óleos essenciais apresentam o potencial de inibir o crescimento de bactérias (SAMBA et al. 2020), fungos (FERRÃO et al., 2020) e vírus (ALHAJJ; QASEM; AL-MUFARREJ, 2020).

As atividades biológicas dos óleos essenciais têm sido largamente pesquisadas nas últimas décadas, pois são empregados nas indústrias alimentícias, bebidas, produtos de higiene pessoal, cosméticos, perfumes, produtos de limpeza e pela indústria farmacêutica como fonte de novos ativos (NASCIMENTO e PRADE, 2019).

Devido à qualidade dos constituintes de óleos voláteis, a composição dos produtos de extração por vapor d'água pode diferir da mistura inicial do constituinte. Durante o processo de aquecimento, a acidez e a temperatura podem provocar hidrólise dos ésteres, rearranjos, isomerização, racemização e oxidação, com perdas significativas nos valores de tais substâncias (RODRIGUES, 2006).

O método de extração de óleos essenciais de destilação por arraste a vapor é o método mais aplicado a nível mundial e viável economicamente. Pode ser utilizado para extração de óleos de diversos vegetais, tais como: folhas, raízes, ramos, gramíneas, sementes e um pequeno grupo de flores (AZAMBUJA, 2018). Nesse método, água é aquecida até sua vaporização, o vapor é conduzido sob pressão para a massa vegetal onde o calor abre as paredes celulares do material facilitando a retirada do óleo contido em suas células. O vapor d'água então arrasta o óleo essencial, devido sua maior pressão de vapor, e segue por tubos até um condensador onde é condensado e o extrato final é depositado em um vaso florentino onde a diferença de densidade separa o óleo essencial do hidrolato naturalmente (TISSORT, SCARPA e WINKEL, 2014).

A extração com solventes orgânicos é feita em geral com solventes apolares (éter, éter de petróleo ou diclorometano) que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos, além dos óleos voláteis. Nesta operação, a separação dos componentes depende da diferença da distribuição dos componentes entre os líquidos imiscíveis. A solução de alimentação representa uma fase e o solvente a ser usado para efetuar a operação representa a segunda fase. A transferência de massa do soluto líquido ocorre da solução de alimentação para a fase solvente (USP, 2007).

Após a extração, purificação e concentração, os óleos essenciais devem ser analisados qualitativamente e quantitativamente, de forma geral pela cromatografia gasosa. A investigação do perfil químico do óleo essencial envolve a cromatografia gasosa acoplada com a espectrometria de massas. Este sistema de análise é vantajoso visto que a cromatografia gasosa apresenta alta seletividade e eficiência de separação de substâncias do óleo essencial, fornece ainda o tempo de retenção das diferentes substâncias da amostra, e que acoplada com a espectrometria de massas torna-se possível obter informações estruturais, massa molar e aumento adicional da seletividade através dos espectros de massa, proporcionando uma caracterização química com maior confiabilidade (DUDAREVA; PICHERSKY; GERSHENZON, 2004).

1.7 *Ctenocephalides felis felis*

De acordo com MAGALHÃES e colaboradores (2016) a presença de animais domésticos se torna cada dia mais frequente no convívio do lar de muitas pessoas, com uma grande parcela os considerando como membros da família. Esse aumento do número de animais de estimação em casa traz uma problemática, visto que são alvos de ectoparasitas, o que pode trazer diversas doenças parasitárias e aumentar o risco de

transmissão dessas doenças aos humanos. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), o Brasil tem a segunda maior população de cães e gatos de todo o mundo e é o terceiro país em população total de animais de estimação. Com isso, existe uma crescente preocupação em diminuir essa transmissão de doenças entre animais e humanos, através do controle e eliminação destes ectoparasitas.

Os ectoparasitas são um dos maiores responsáveis por doenças graves em animais de pequeno porte, causando problemas dermatológicos e vetores de agentes patogênicos como vírus, bactérias e protozoários. As pulgas são pequenos insetos pertencentes à *Ordem Siphonaptera*, não possuem asas, têm coloração castanha a preta, corpo achatado lateralmente e um aparelho bucal adaptado para picar e sugar, além de um terceiro par de pernas para saltar (ZORZENON; JUNIOR, 2006). Elas se alimentam do sangue de animais vertebrados, sendo mais comumente os animais mamíferos (AZRIZAL-WAHID; SOFIAN-AZIRUN; LOW, 2020 *apud* DOBLER; PFEFFER, 2011).

O ciclo de vida da pulga (**Figura 8**) passa por quatro estágios de desenvolvimento, considerando condições controladas de temperatura, umidade e alimentação. Em geral, o ciclo vital do ovo ao adulto pode demorar de 12 a 14 dias ou pode atingir até 180 dias, dependendo da espécie. Sob as condições normais de uma casa, um ciclo de vida completo demora de 3 a 6 semanas.

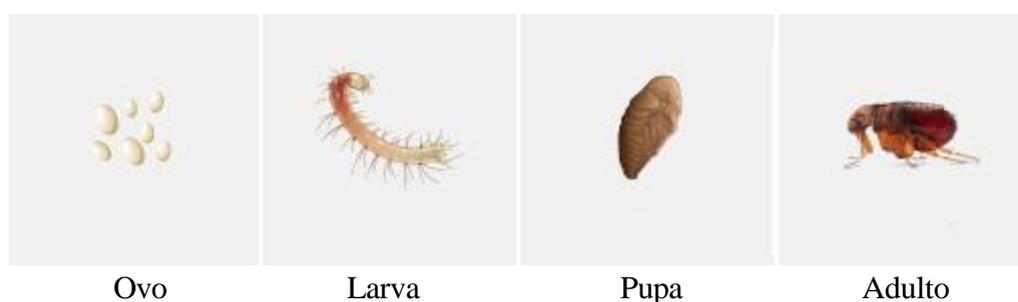


Figura 8: Estágios do ciclo de vida das pulgas.

Fonte: BAYER, Controle de pulgas em ambientes domésticos.

Na primeira fase, os ovos das pulgas se desenvolvem em torno de dez dias e depois são depositadas no habitat natural ou no próprio hospedeiro. Os ovos são praticamente imperceptíveis, possuem 0,4mm, aproximadamente, e não são aderentes, o que permite estarem no ambiente onde o hospedeiro circula.

Após os dez dias de maturação do ovo as larvas eclodem. Elas se alimentam de resíduos orgânicos (LINARDI; GUIMARÃES, 2000), são praticamente translúcidas, com aproximadamente 2,5mm de comprimento, encontradas em locais abrigados de luz e de altas temperaturas, como por exemplo em tapetes, assoalhos ou rodapés das casas (GUIMARÃES; MARSHALL, 1987; LINARD; GUIMARÃES, 2000). Essa fase permanece em desenvolvimento de cinco a onze dias (RUST & DRYDEN, 1997), se alimentando de resíduos orgânicos (LINARDI; GUIMARÃES, 2000), principalmente de tecidos epiteliais, já que não se alimentam de sangue. Esta é a fase do ciclo de vida que representa 40% da problemática geral no tratamento deste ectoparasita.

Logo se inicia a fase de desenvolvimento já como pupas, que são casulos praticamente impenetráveis, com aproximadamente 5 mm. Elas são formadas por uma seda altamente pegajosa fabricada pela larva, onde ficam aderidos os pelos dos animais, poeira e outras sujeiras do ambiente. Essa fase dura de cinco a nove dias, seguindo pela eclosão dos adultos (SILERMAN & RUST, 1985). Caso as condições ambientais não estejam favoráveis, com baixa temperatura ou ausência de hospedeiro, a pupa pode hibernar e

permanecer viável, escondida por até seis meses nos mesmos locais em que as larvas vivem, aguardando o momento ideal para transformação.

Já adulta, com comprimento variando de 1 a 6 mm, iniciam o reposto sanguíneo do hospedeiro. As pulgas fêmeas se alimentam apenas de sangue e podem ingerir até quinze vezes o seu peso corpóreo, causando irritação, prurido e vários desconfortos ao animal.

As principais espécies de pulgas são: *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*, *Pulex irritans* e *Tunga penetrans*. A espécie *Ctenocephalides felis* pode parasitar gatos e cães e possuem uma diferença em seu ciclo de vida, que é o fato de as adultas permanecerem no corpo do hospedeiro durante todo o ciclo. O acasalamento, geralmente, ocorre no animal hospedeiro e apenas uma pulga pode colocar até 50 ovos por dia, ou seja, é uma manifestação rápida e exponencial tanto no animal quanto no ambiente.

A *Ctenocephalides felis felis* (**Figura 9**) é a subespécie de pulga mais prevalente que parasita animais de companhia em todo o mundo, responsável por causar perda de sangue e irritação dos animais parasitados (RUST, 2020). Infestações de *C. felis felis* são comuns e podem provocar desconfortos e reações alérgicas em humanos. A transmissão para humanos é ocasionada pelo contato com cães e gatos, tanto quanto a ambientes infestados, consistindo assim em uma importante zoonose, portanto, o controle destes ectoparasitas tanto nos animais domésticos como no ambiente consiste em um tema de importância na saúde pública (ESCCAP, 2017).



Figura 9: *Ctenocephalides felis felis*.

Fonte: BIOMAX, Controle de pragas (2016).

Várias revisões sobre controle de pulgas e novos tratamentos terapêuticos tem sido publicada (DRYDEN; RUST, 1994; RUST, 2017). Inúmeros avanços resultantes do desenvolvimento de novas terapias spot-on e orais ocorreram desde então. E, esses avanços mudam a abordagem para o gerenciamento das pulgas em animais de estimação e no ambiente interno. Segundo NISBET e HUNTLEY (2006) mais de US\$ 15 bilhões são gastos anualmente em todo o mundo, visando à prevenção, proteção e controle destes ectoparasitas para que não infectem seus animais de estimação (ZHANG et al., 2021 apud NISBET; HUNTLEY, 2006).

O controle de pulgas geralmente é combinado mecanicamente com o controle químico, o que levanta várias questões relacionadas ao impacto ambiental e ao desenvolvimento de resistência pelos ectoparasitas, reduzindo a eficácia dos produtos (GEORGE et al., 2014; RUST, 2016). Sendo assim, a busca por alternativas mais naturais, menos agressivas e menos tóxicas tem aumentado cada vez mais e produtos fitoterápicos com atividade ectoparasiticida têm apresentado resultados significativos *in vitro* nos últimos anos (ELLSE & WALL, 2014), onde diversos trabalhos publicados mostram a ação de óleos essenciais como uma dessas alternativas (ANDRADE, 2014).

1.8 *Saccharomyces cerevisiae*

O gênero *Saccharomyces* pertence ao Reino Fungi e ao Filo *Ascomycota*. Caracteriza-se por leveduras fermentadoras de açúcares (C6). A sua reprodução pode ser assexuada, por gemulação, ou sexuada através da diferenciação de ascósporos contidos em ascos (**Figura 10**). A sua parede celular é constituída por β -glucanos, manoproteínas e quitina (FLEURI e SATO, 2008).

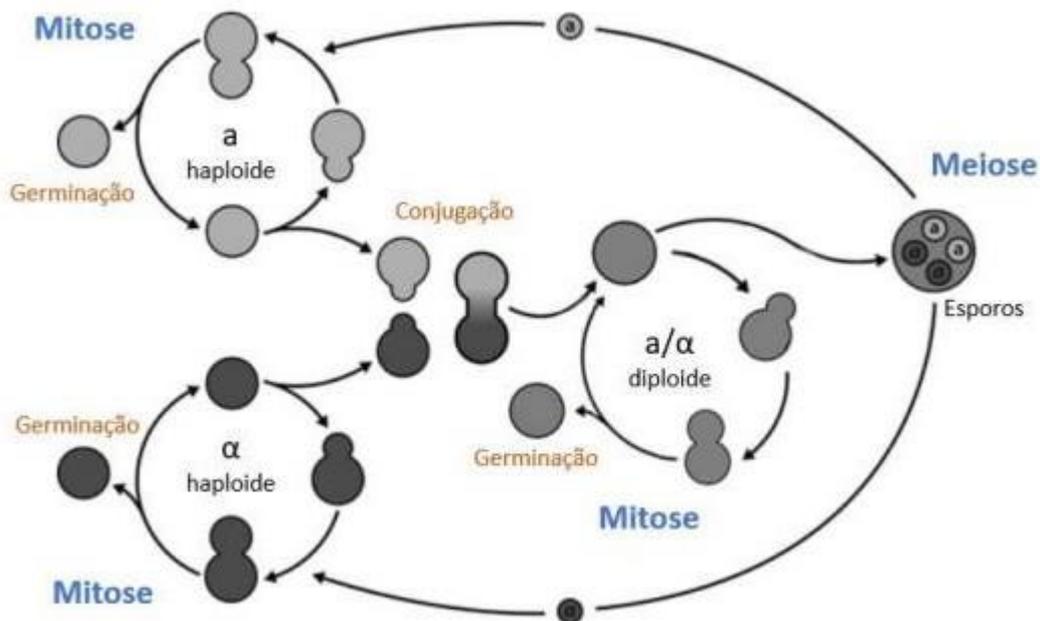


Figura 10: Ciclo de vida de *Saccharomyces cerevisiae*.

(RESCAN, 2017).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* (**Figura 11**), integrante do complexo *Saccharomyces sensu stricto*, é o principal micro-organismo utilizado na atualidade nos processos de fermentação alcoólica industriais de alimentos e bebidas (KURTZMAN, 2011; SICARD & LEGRAS, 2011; BORNEMAN & PRETORIUS, 2015). Esta elegibilidade é justificada por um desenvolvimento evolucionário que resultou na adaptação de *S. cerevisiae* a diversos fatores de pressão seletiva, permitindo a esta levedura a ocupação de um lugar de importância histórica única, tanto econômica quanto cultural, e cunhando a denominação de organismo domesticado para essa espécie (LEGRAS et al., 2007; SICARD & LEGRAS, 2011; LITI, 2015). O início da relação direta de *S. cerevisiae* com a humanidade se deu por meio de fermentações espontâneas, sendo que os registros mais antigos de relatos sobre o processo fermentativo datam de 7000 a.C. na região da Ásia menor, Cáucaso e Mesopotâmia (PRETORIUS, 2000; SICARD & LEGRAS, 2011; STEENSELS & VERSTREPEN, 2014).

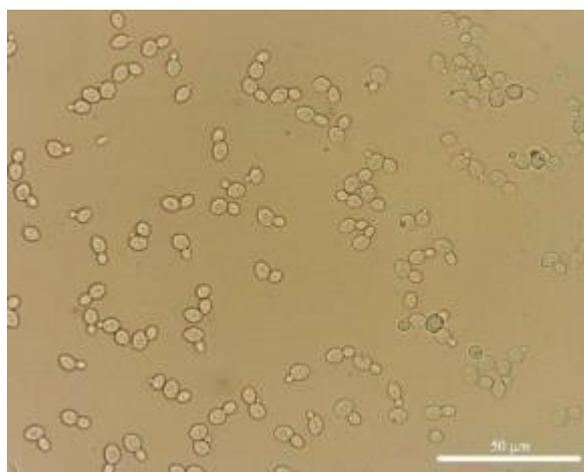


Figura 11: Leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* VL3 em suspensão celular.

(Ampliação 400x, Sara Rodrigues).

Tem sido usada com sucesso por muitos anos como organismo modelo para desvendar processos biológicos em eucariotos superiores. Por ser de fácil cultivo e manipulação genética, sempre esteve na vanguarda dos avanços técnicos. Por exemplo, *S. cerevisiae* foi o primeiro organismo eucariótico cujo genoma foi sequenciado. O genoma completo da levedura é conhecido desde 1996 e compreende 6.000 genes, dos quais mais de 60% têm uma função atribuída. Notavelmente, a análise genômica comparativa mostrou que aproximadamente 40% dos genes de levedura compartilham sequências de aminoácidos conservadas com pelo menos uma proteína humana conhecida ou prevista (PARSONS et al., 2003). Além disso, 30% dos genes humanos com envolvimento reconhecido em doenças humanas possuem ortólogos em leveduras (FOURY, 1997), ou seja, os genes são de espécies diferentes mas possuem um gene ancestral comum. Devido a essa notável homologia gênica e à alta conservação de vias bioquímicas fundamentais, estudos em leveduras têm sido essenciais para a compreensão de processos celulares fundamentais, como mecanismos de tradução e degradação de mRNA (COLLER, 2004; SCHWARTZ, 2000), reparo de DNA (TSUKUDA et al., 2005) e o ciclo celular (HARTWELL, 1994).

Previamente usada em investigações de toxicidade da Microcistina-LR (MC-LR) (VALÉRIO et al., 2014), apresenta o tempo de duplicação de 90 minutos, é estável na forma haploide e na forma diploide, ou seja, não sofrem muitas mutações espontâneas

(MENACHO-MÁRQUEZ e MURGÍA, 2007).

1.9 Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação usada para isolar componentes voláteis de uma mistura dependendo das diferenças no modo de partição entre uma fase móvel em um fluxo e uma fase estacionária, não utiliza uma fase móvel para interagir com o analito (RAHMAN et al, 2015). O objetivo da cromatografia é separar individualmente os diversos constituintes de uma mistura de substâncias seja para identificação, quantificação ou obtenção da substância pura para os mais diversos fins (MICHAEL et al, 2016).

Esta técnica possui uma vasta aplicação, além da determinação de metabólitos presentes no organismo, é um dos principais recursos utilizados em laboratórios na determinação de pesticidas em frutas, vegetais e cereais que geralmente estão presentes em quantidades muito baixas e que torna possível a confirmação e determinação de muitos compostos simultaneamente. A CG também tem sua aplicação no controle de qualidade em laboratórios farmacêuticos, na determinação da pureza de compostos orgânicos específicos em medicamentos, determinação de impurezas em drogas de abuso e outros (NICKLER et al., 2015).

Para a identificação de compostos em misturas complexas, além da espectrometria de massas (EM), a CG pode ser acoplada ainda a outras técnicas como Espectroscopia no Infravermelho (EI) e Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Isto oferece ao instrumentista mais possibilidades de trabalho na identificação desses compostos, pois além da separação cromatográfica permite também uma análise qualitativa e quantitativa dos elementos. Esta combinação de técnicas que tem princípios diferentes é capaz de tornar o método ainda mais sensível e eficiente (LEI et al., 2011).

A amostra é vaporizada e introduzida em um fluxo de um gás adequado denominado de fase móvel (FM) ou gás de arraste. Este fluxo de gás com a amostra vaporizada passa pela coluna cromatográfica contendo a fase estacionária (FE), onde ocorre a separação da mistura. A FE pode ser um sólido adsorvente (Cromatografia Gás-Sólido) ou, mais comumente, um filme de um líquido pouco volátil, suportado sobre um sólido inerte (Cromatografia Gás-Líquido com Coluna Empacotada ou Recheada) ou sobre a própria parede do tubo (Cromatografia Gasosa de Alta Resolução) (CEFET, 2016). O equilíbrio de distribuição dos componentes entre as duas fases determina a velocidade com a qual cada componente migra através do sistema. As substâncias presentes na amostra, depois de separadas, chegam ao detector, que gera um sinal para um sistema de registro e tratamento dos dados (ARGENTON, 2010). O registro deste sinal em função do tempo é o cromatograma, sendo que as substâncias aparecem nele como picos área proporcional à sua massa, o que possibilita a análise quantitativa. A CG é aplicável para separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis (CEFET, 2016) (**Figura 12**).

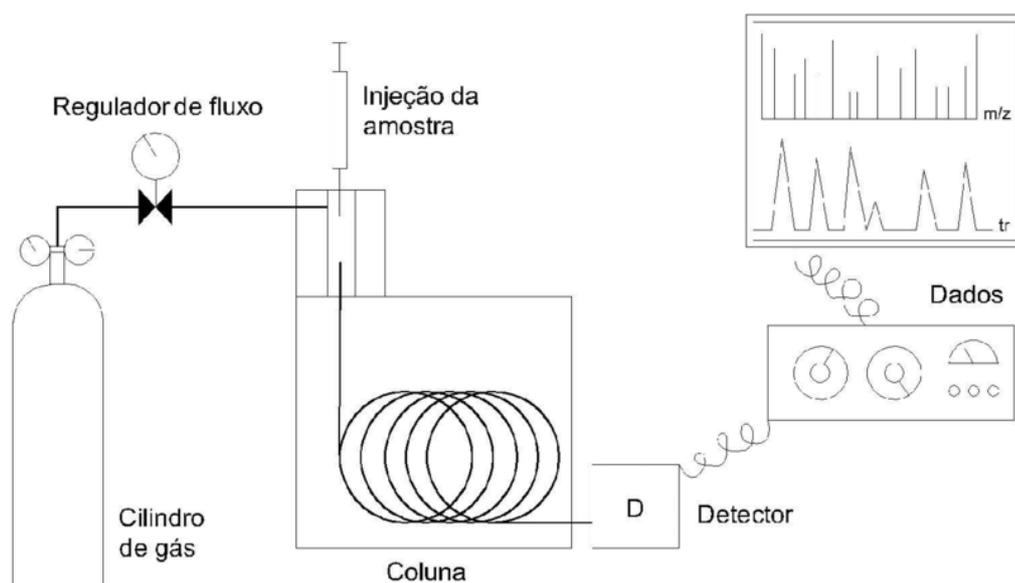


Figura 12: Fluxo do cromatógrafo gasoso.

Em um sistema cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG-EM) (**Figura 13**) as amostras provenientes do cromatógrafo a gás, no estado gasoso, são bombardeadas por elétrons e são quebradas gerando íons positivos, negativos e radicais e a partir da diferença entre massa/carga dos íons gerados irá separá-los (CEFET, 2016).

O espectro de massa funciona a partir de um feixe de elétrons de alta energia, que bombardeia a amostra, em fase gasosa, e o aparelho detecta e registra os fragmentos gerados pelo impacto dos elétrons. A partir do valor da massa molecular de cada um dos fragmentos, se modula a molécula, e esses fragmentos gerados podem ser íons, radicais ou moléculas neutras. No aparelho são detectados apenas os íons moleculares, que possuem alta energia e são capazes de romper ligações covalentes, fragmentando-se em partes menores. Logo, a partir de um fragmento, podem surgir vários outros fragmentos menores (ARGENTON, 2010).

A identificação de compostos geralmente é feita através do índice de Kovats e de tempos de retenção, medidos com o uso de detectores, de dados de espectrometria de massa, ou pela combinação desses métodos. O índice de Kovats é um índice de retenção que descreve o comportamento de retenção do composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos de diferentes números de átomos de carbono e fornece informação sobre a sequência de eluição do composto, do mais volátil ao menos volátil, a partir dos valores que variam de 900 a 1900 (RUBIOLO et al., 2012).

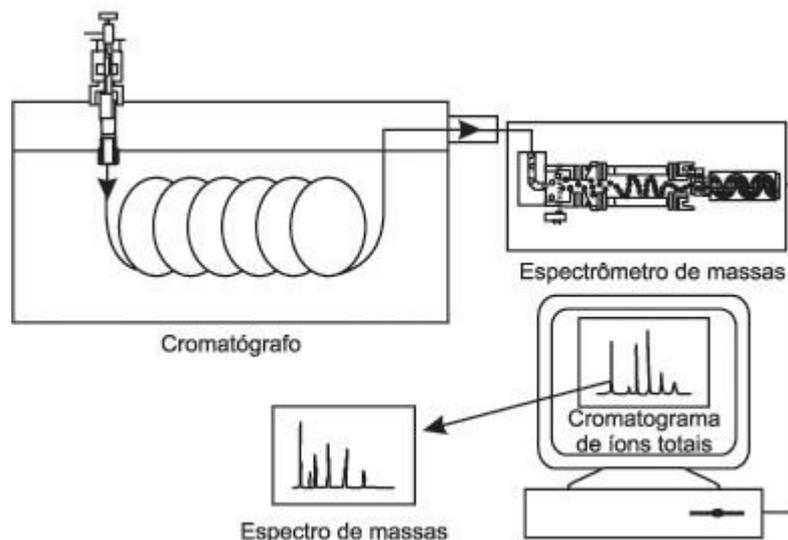


Figura 13: Fluxo do cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas.

1.10 Importância da implantação de novos métodos de tratamento de ectoparasitas

As pulgas são insetos hematófagos e em grandes infestações são capazes de provocar grande irritação, prurido intenso e anemia em cães e gatos (SIK; BURROWS, 2013). Os antígenos presentes na saliva de pulgas, estes inoculados durante o repasto sanguíneo, são capazes de provocar um quadro de hipersensibilidade do tipo I levado ao quadro de Dermatite Alérgica à Picada de Pulga. Essa patologia cursa com prurido intenso, levando ao quadro de alopecia, eritema e predispondo a infecção secundária da pele por fungos ou bactérias (LEE; JACKSON; OPDEBEECK, 1997; PATERSON, 2015; SOUSA; HALLIWELL, 2001).

No que diz respeito ao controle de pulgas em animais de companhia existem pontos cruciais para o sucesso, pois estes parasitos possuem uma fase de vida não parasitária, que corresponde a fase em que estes estão no ambiente. Cerca de 5% da população total de parasitos estão sobre os animais, o restante se encontra no ambiente (CAMPOS, 2018).

A importância médico- veterinária está relacionada com a ação irritativa, espoliadora e com a transmissão de patógenos para o homem e para os animais; esse fato tem maior importância quando se associa que o homem e os animais de companhia vêm estabelecendo uma relação de estreito convívio, frequentando muitas vezes o mesmo ambiente. A ação espoliadora é determinada pelo hematofagismo, a ação irritativa é determinada pelo prurido provocado pela sua picada e pela ação da saliva inoculada, podendo provocar um quadro de dermatite alérgica a picada de pulga (CORREIA, 2007).

Atualmente, existem diversos produtos e associações disponíveis no mercado para o controle de pulgas e carrapatos em cães. O fipronil é uma molécula sintética da classe dos fenilpirazoles com excelente atividade acaricida e inseticida. Seu mecanismo de ação está associado ao bloqueio da passagem do ânion cloreto nos neurônios pré e pós-sinápticos levando o parasito à morte por hiperexcitação. Entretanto, o fipronil possui ação somente nos exemplares que estão se alimentando no animal, não promovendo o controle das formas evolutivas que estão no ambiente, não prevenindo reinfestações (BONNEAU, et al., 2010; CONSALVI, 1995; GUPTA; CADIERGUES, 2010; KUZNER et al., 2013; POSTAL; JEANNIN; BONNEAU, 1995).

O uso de produtos químicos sintéticos para o controle de artrópodes levanta várias preocupações relacionadas ao meio ambiente e a saúde humana. Uma alternativa é usar produtos naturais que possuem boa eficácia e que sejam ecologicamente seguros. Entre os produtos vegetais, os óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas têm sido extensivamente testados para avaliar suas propriedades pesticidas como um valioso recurso natural (NERIO et al., 2010).

Os ectoparasitas estão se tornando resistentes a determinados medicamentos e esse fator está relacionado muitas vezes ao uso indiscriminado do produto ou ao seu alto grau residual, podendo prejudicar o meio ambiente, água, ar e solo. Com isso vêm crescendo a preocupação e o interesse de utilizar produtos alternativos com menor impacto ao meio ambiente, às pessoas e à fauna, amenizando os riscos (SOUZA, 2013).

O uso de óleos essenciais de plantas com atividade pulicida vem sendo estudado, devido ao seu baixo grau de toxicidade e com eficácia significativa, para uso em ambientes domésticos, aonde a grande preocupação de aplicar o produto tóxico é devido ao contato das pessoas e dos animais domésticos (SOUZA, 2013).

Vários monoterpenos contidos nos óleos essenciais são neurotóxicos para os insetos (HUIGNARD et al., 2008) descrevem vários tipos de receptores, incluindo os neuronais (GABA), que são os sítios de destino dos compostos. Octopamina é um alvo da atividade dos óleos essenciais nos insetos. A octopamina é uma amina biogênica multifuncional de origem natural e desempenha papel chave como neurotransmissora, neuromoduladora e neurohormônio no sistema de invertebrados. Compostos presentes causam intoxicações de forma aguda ou subletal em insetos e em alguns vertebrados. Este fato deve-se ao destino octopamenérgico desses compostos nos insetos, que atuam no bloqueio dos receptores de octopamina (ENÁN, 2001).

A partir de experimentos eletrofisiológicos, Price e Berry (2006) mostraram que monoterpenos atuam sobre a acetilcolinesterase (KOSTYUKOVSKY et al., 2002); Confirmando que a atividade inseticida dos óleos essenciais é devida a vários mecanismos que afetam múltiplos alvos, alterando de maneira eficaz a atividade celular e os processos biológicos de insetos.

Vários óleos essenciais têm sido avaliados contra insetos. Por exemplo, *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* foram susceptíveis ao óleo essencial de *Illicium difengpi* por via tópica (CHU et al., 2011). Da mesma forma que *A. obtectus*, ao óleo essencial de *Clausena anisata* Willd; *Callosobruchus maculatus* ao óleo essencial de *Mentha longifolia* L. (NDOMO et al., 2008; KHANI e ASGHARI, 2012); *Ephestia kuehniella* Zeller ao óleo essencial de *Elettaria cardamomum* L. (Maton) (ABBASIPOUR et al., 2011).

JUSTIFICATIVA

O Brasil é um dos países com maior número de animais domésticos por domicílio. Segundo a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) 2019, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), os cães estão presentes em 33,8 milhões de domicílios e os gatos em 14,1 milhões, totalizando 47,9 milhões de lares. Segundo dados do Instituto Pet Brasil (IPB), a população mundial de pets aumentou cerca de 1,7% em 2020, em comparação ao ano anterior (2019), em especial de cães (2,1%) e gatos (3,1%). Existem mais de 140 milhões de animais de estimação, segundo a ABINPET.

Estima-se que mais da metade da população global compartilha suas vidas com um ou mais animais de estimação (GFK, 2016). Milhões de cães, gatos, peixes, pássaros, répteis e outras espécies compartilham nossos espaços e vidas domésticas (GFK, 2016; AMA, 2019). Donos de animais de estimação são supostamente mais felizes, saudáveis e possuem maior probabilidade de viver mais tempo (MUBANGA et al., 2017). É observado que ter um animal de estimação tem sido fator para reduzir a pressão arterial, solidão, ansiedade, medo e geralmente para contribuir para a melhoria do bem-estar (BROOKS et al., 2018; HAJEK & KONIG, 2019). Os animais de estimação estão emergindo como importante impacto na saúde das populações mais vulneráveis, como as pessoas com condições de saúde mental (BROOKS et al., 2018) ou física (BROOKS et al., 2013). Há também evidências de seus benefícios para os idosos (GEE & MUELLER, 2019) e crianças com doença grave (EINBERG et al., 2016). Em resumo, os animais de estimação podem ser particularmente importantes quando as pessoas estão socialmente isoladas ou excluídas, proporcionando conforto, companheirismo e uma sensação de auto-estima.

Devido ao aumento da população de animais domésticos houve um impacto econômico significativo, apresentando alta de 4,6% nas vendas de produtos do segmento no ano de 2018, segundo o Instituto Pet Brasil, com faturamento de R\$34,4 bilhões. Em 2019 o mercado pet seguiu com crescimento de 3% em relação ao ano anterior. O setor de cuidados com pet representa 8,4% da fatia de faturamento desse seguimento. No ano de 2020 o Brasil alcançou o faturamento de mais de R\$20 bilhões, com aumento de 5% de exportações de produtos do setor pet em relação ao ano anterior e de 7% das importações. Assim como o mercado global de óleos essenciais, estimado em U\$18,6 bilhões em 2020 e com previsão de taxa de crescimento anual de 7,5% entre os anos de 2020 a 2027. O Brasil apresenta posição de relevância no mercado mundial em relação à extração de óleos essenciais cítricos obtidos como subprodutos da indústria de sucos (BIZZO, HOVELL & REZENDE, 2009; SILVA et al., 2019). Apresentando no ano de 2017 a produção total de óleos essenciais de, aproximadamente, 1583 toneladas (SILVA et al., 2019).

Como o uso frequente e indiscriminado de produtos químicos para tratamento e repelência dos ectoparasitas presentes em cães e gatos, muitas vezes leva ao desequilíbrio biológico, contaminações ambientais,

intoxicações de seres humanos e animais, ressurgência de pragas, surtos de pragas secundárias e linhagens de parasitos resistentes (DEQUECH et al., 2008), o uso de substâncias obtidas de espécies vegetais, como os óleos essenciais pode ser uma alternativa quando associado a outros métodos de controle, mantendo o equilíbrio ambiental e reduzindo os efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada de produtos sintéticos (MACHADO; SILVA; OLIVEIRA, 2007).

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de compostos e a composição química se baseia principalmente em terpenos e/ou fenilpropanoides. Eles têm se mostrado muito promissores devido ao seu potencial inseticida, e aos diferentes compostos bioativos presentes neles. Os registros de pesquisa sobre eles descrevem sua atividade contra mosquitos e carrapatos (BENELLI e PAVELLA, 2018). Seu uso a partir da extração das plantas para o controle de ectoparasitas veterinários mostra alta eficácia, múltiplos mecanismos de ação e baixa toxicidade em vertebrados não-alvo (ELLSE & WALL, 2014). Segundo Agostini e colaboradores (2015) existem poucos estudos e informações sobre óleos essenciais de espécies de *Baccharis*, em que aproximadamente 15% das espécies desse gênero foram estudadas e identificadas quimicamente, obtendo-se seus perfis fitoquímicos. Segundo Romanoski e Fonseca (2017) o extrato etanólico das folhas de *M. verrucosa* apresentou uma boa atividade antioxidante, avaliada a partir da concentração inibitória (IC₅₀: 372,7 µg.mL⁻¹), e o extrato das raízes apresentaram ótima atividade citotóxica, avaliada a partir da dose de letalidade (LD₅₀: 145,5 µg.mL⁻¹), que demonstram uma boa opção de estudo de isolamento dos metabólitos responsáveis por essas atividades.

Portanto, diante de toda a problemática apresentada, o aumento da resistência de ectoparasitas, como a pulga *C. felis* pelo uso de agentes químicos, o acometimento ao meio ambiente que esses produtos podem causar e a importância dos óleos essenciais, o presente trabalho foi desenvolvido visando uma alternativa natural e menos tóxica utilizando os óleos essenciais de *B. trimeria* e *M. verrucosa*, duas espécies brasileiras, de modo a avaliar seus potenciais ectoparasiticidas frente a pulgas em todas as fases de desenvolvimento da espécie *Ctenocephalides felis*, como meio de mortalidade e repelência das mesmas.

OBJETIVOS

1.1 Gerais

Caracterizar quimicamente os óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa*, avaliar as ações pulicidas em modelos *in vitro*, assim como identificar as doses tóxicas utilizando um modelo de célula eucariota.

1.2 Específicos

Obter os óleos essenciais das espécies *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa* comercialmente;

Caracterizar quimicamente os óleos essenciais por Cromatografia Gasosa acoplada ao detector de ionização por chamas e espectrômetro de massas (CG-DIC e CG-EM);

Determinar a ação pulicida dos óleos essenciais nas diferentes fases do ciclo de desenvolvimento de pulgas: ovo, pupa, larva e adulta;

Determinar a dose tóxica dos óleos essenciais em células de *Saccharomyces cerevisiae*;

Avaliar o impacto dos óleos essenciais na sobrevivência das células e na funcionalidade mitocondrial.

METODOLOGIA

1.1 Seleção das espécies

Os óleos essenciais das espécies *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa* foram obtidos comercialmente. A marca Empório Laszlo foi selecionada uma vez que foi disponibilizado laudo de autenticidade das espécies, e registro na agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

1.2 Análise dos óleos essenciais por CG-FID e CG-EM

As análises foram realizadas em um Cromatógrafo Gasoso 5890 Séries II (Agilent, USA), equipado com um detector de ionização de chama (DIC) e injetor no modo “split” (1:20); as substâncias foram separadas em uma coluna capilar de sílica fundida similar a DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O hélio foi utilizado como gás carreador com fluxo de 1 mL min⁻¹. As temperaturas do forno, detector e injetor foram programadas de acordo com a literatura (ADAMS, 2017). A temperatura do forno foi programada em 60°C por 2 min com incremento de 5°C min⁻¹ até 110°C, seguido por incremento de 3°C min⁻¹ até 150°C e, finalmente, seguido por incremento de 15°C min⁻¹ até 290°C, mantidos por 15 min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 e 290 °C, respectivamente. Um Cromatógrafo Gasoso acoplado ao espectrômetro de massa QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN) foi utilizado para separar e analisar as substâncias presentes nos óleos essenciais. O fluxo de hélio, a coluna capilar e a programação de temperatura para a análise por CG-EM foram as mesmas descritas para a análise por CG-DIC também relatados na literatura (ADAMS, 2017). As temperaturas do injetor e de interface foram de 220 e 250 °C, respectivamente. O espectro de massa foi obtido em um detector quadrupolo operando a 70 eV, com intervalo de massa entre 40 e 400 *m/z* e à razão de 0,5 *scan s*⁻¹. A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foram então realizadas, baseando-se na comparação dos índices de retenção calculados e dos espectros de massas obtidos com aqueles descritos na literatura e no banco de dados do equipamento (KRATZ, 1963; ADAMS, 2017) (Biblioteca NIST 2008).

1.3 Atividade *in vitro* dos óleos essenciais contra *C. felis felis* em todas as fass do ciclo de desenvolvimento da pulga: ovo, larva, pupa e adulta

1.3.1 Teste de Mortalidade

Os experimentos seguiram os padrões estabelecidos pelo Comitê de Ética para Uso Animal do Instituto de Veterinária (CEUA/IV n° 091/14) e as pulgas (adultas) foram obtidas de uma colônia de *C. felis felis* mantida desde 1998 no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Os bioensaios foram realizados pelo método de impregnação com papel filtro (LAMBERT et al., 2020), onde foi preparada uma solução estoque a 200 mg.mL⁻¹ dos óleos essenciais, e a partir dela foram realizadas 10 diluições 1:2 em acetona, solvente inócuo usado como controle negativo capaz de solubilizar o extrato, com concentração variando de 1200 a 100000 µg.mL⁻¹. E o fipronil a 400 µg.cm⁻² foi usado como controle positivo, sendo obtidas soluções em concentrações que variaram de 49,5 µg.cm⁻². a 1978,1 µg.cm⁻².

Para cada concentração foram realizadas seis repetições, com tiras de papel filtro

(10 cm²) para pulgas adultas e discos de papel filtro (23,76 cm²) para imaturos. As tiras foram impregnadas com 200 µL e os discos com 475 µL de suas respectivas diluições, de modo que as concentrações finais para *B. trimera* e *M. verrucosa* ficaram na faixa de 49,5 a 1 978,1 µg.cm⁻².

Após impregnação e secagem, as tiras foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 adultos não alimentados de *C. felis felis*, que foram vedados com tecido não tecido (TNT) e elástico. Dez ovos, larvas e pupas de *C. felis felis* foram adicionados em seus respectivos discos impregnados, depois selados na placa de Petri. Os tubos e discos foram mantidos em câmara climatizada a 28±1°C 75±10% UR. Os resultados do teste ovicida foram avaliados após 72 h, o teste larvicida após 24 e 48 h, o teste pupicida foi avaliado após 15 dias e o teste para pulgas adultas foi avaliado após 24 e 48 h. Todos avaliaram o número médio de pulgas vivas por concentração com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

A avaliação da eficácia *in vitro* de cada concentração seguiu a fórmula desenvolvida por Abbott (ABBOTT, 1925):

$$\frac{(\text{n}^\circ \text{médio de pulgas vivas no grupo controle} - \text{n}^\circ \text{médio de pulgas vivas no grupo tratado})}{(\text{n}^\circ \text{médio de pulgas vivas no grupo tratado} \times 100)}$$

A avaliação das concentrações letais que mataram 50% e 90% da população tratada, LC₅₀ e LC₉₀ respectivamente, foi estabelecida usando análise no programa *RStudio*. A significância estatística foi fixada em 5% (P<0,05). Para comparar as médias de mortalidade entre as diferentes concentrações foi realizado o teste de Shapiro Wilks para determinar a normalidade dos dados. As médias foram comparadas pelo teste ANOVA seguido do teste T (LSD). O programa *BioEstat* versão 5.3 foi utilizado para a análise estatística dos dados, considerando um nível de significância (α) de 5%.

1.4 Avaliação da toxicidade dos óleos essenciais em modelo eucarioto de *Saccharomyces cerevisiae*

1.4.1 Crescimento celular

Para avaliar o crescimento celular, o inóculo foi realizado a partir de subculturas frescas de células de *Saccharomyces cerevisiae* em meio YPD líquido estéril a 2% (glicose a 2%, peptona a 2% e extrato de levedura a 1%). Após 24h de crescimento celular sob agitação a 160 rpm em *shaker* a 28°C, uma alíquota da suspensão foi retirada para cada ensaio determinado.

1.4.2 Avaliação da atividade por viabilidade celular

Para avaliar a atividade por viabilidade celular, uma suspensão celular (1 mg.mL⁻¹) foi incubada com óleos de *B. trimera* e *M. verrucosa*, ambos na concentração de 0,2 mg/mL, separadamente, por 1 h a 28°C e agitação a 160 rpm. Por centrifugação os *pellets* foram coletados e incubados com peróxido de hidrogênio (1mM) por 1h. Os ensaios foram realizados com um grupo controle que não foi exposto a nenhum agente, células sob estresse oxidativo expostas ao peróxido de hidrogênio e células incubadas com os óleos antes do estresse oxidativo. Após os tratamentos, a viabilidade celular foi determinada por plaqueamento em duplicata em meio YPD 2% solidificado, após 48 h de incubação em estufa BOD a 28°C, as colônias foram contadas e a viabilidade foi expressa em porcentagem ou unidades formadoras de colônias.

1.4.3 Impacto dos óleos essenciais na sobrevivência das células e na funcionalidade

Para avaliar o impacto dos óleos essenciais na sobrevivência celular e na funcionalidade mitocondrial seguiu-se o mesmo protocolo, mas as células foram plaqueadas em meio de cultura YPLGLY solidificado. Após 48 horas de incubação em estufa BOD a 28°C, as colônias foram contadas e a viabilidade foi expressa em unidades formadoras de colônia.

Em uma análise qualitativa de toxicidade, o ensaio foi realizado com o reagente resazurina, onde uma alíquota de células foi colocada em uma placa de 96 poços e óleo de carqueja ou jurema foi adicionado ao primeiro poço e as diluições subsequentes foram realizadas após 24 horas. Após exposição a diferentes concentrações dos óleos, foi adicionado o reagente resazurina e após 30 minutos, observou-se a cor de cada poço. Como é um corante indicador de óxido redução, a resazurina é usada para avaliar a viabilidade, contaminação bacteriana e para testar a atividade antimicrobiana.

Para a avaliação da toxicidade por curva de crescimento, inicialmente as células foram incubadas com óleos de *B. trimera* e *M. verrucosa*, ambos na concentração de 0,2 mg/mL, separadamente, e a absorbância foi avaliada em tempos de exposição crescentes.

RESULTADOS

1.5 Componentes e caracterização química dos óleos essenciais

Espectros da espécie *B. trimera* (**Figura 14**), seguido pela lista dos compostos identificados (**Tabela 1**). Todos os espectros de massas se encontram em Anexo, dispostos nas **Figuras 27 a 32**.

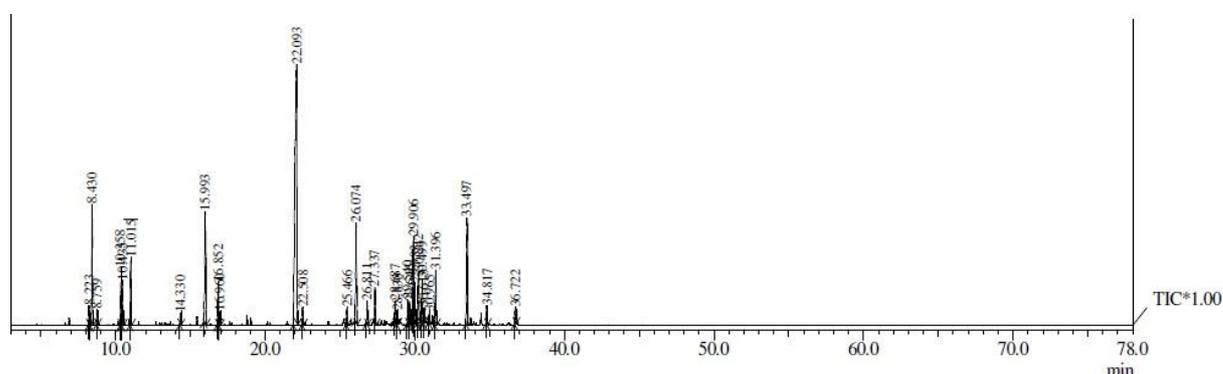


Figura 14: Cromatograma do óleo essencial da *Baccharis trimera* obtido a partir de uma coluna capilar de sílica fundida similar a DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

Tabela 1: Composição química do óleo essencial de *Baccharis trimera*.

| OEC | Composto | I.R. Calculado | I.R. Literatura | % Área |
|-----|----------------------------------|----------------|-----------------|--------|
| 1 | Sabineno | 974 | 969 | 0,8 |
| 2 | β -pineno | 980 | 974 | 5,5 |
| 3 | Mirceno | 990 | 988 | 0,5 |
| 4 | Limoneno | 1031 | 1024 | 2,6 |
| 5 | β -felandreno | 1033 | 1025 | 2,0 |
| 6 | (<i>E</i>)- β -ocimeno | 1047 | 1044 | 3,0 |
| 7 | Isoforona | 1125 | 1118 | 0,5 |
| 8 | ni | 1162 | ni | 7,1 |
| 9 | ni | 1181 | ni | 2,2 |
| 10 | Terpinen-4-ol | 1184 | 1174 | 0,6 |
| 11 | Acetato de carquejila | 1299 | 1298 | 33,0 |
| 12 | ni | 1308 | ni | 0,8 |
| 13 | α -copaeno | 1376 | 1374 | 0,8 |
| 14 | β -elemeno | 1391 | 1389 | 5,9 |
| 15 | (<i>Z</i>)-cariofileno | 1408 | 1408 | 1,2 |
| 16 | (<i>E</i>)-cariofileno | 1421 | 1417 | 1,8 |
| 17 | (<i>E</i>)- β -farneseno | 1453 | 1454 | 1,0 |
| 18 | α -humuleno | 1457 | 1452 | 0,7 |
| 19 | ni | 1474 | ni | 1,6 |
| 20 | α -neocalitropseno | 1477 | 1474 | 1,2 |

| | | | | |
|----------------------------------|-----------------------|------|------|------|
| 21 | γ -muroleno | 1483 | 1478 | 5,6 |
| 22 | D-germacreno | 1485 | 1480 | 1,7 |
| 23 | α -zingibereno | 1491 | 1493 | 3,7 |
| 24 | Biciclogermacreno | 1497 | 1500 | 2,7 |
| 25 | α -muroleno | 1500 | 1500 | 0,8 |
| 26 | α -germacreno | 1509 | 1508 | 0,5 |
| 27 | δ -amorfenol | 1520 | 1511 | 3,1 |
| 28 | Álcool cariofileno | 1573 | 1570 | 7,0 |
| 29 | Viridiflorol | 1607 | 1592 | 1,0 |
| 30 | β -eudesmol | 1659 | 1649 | 1,0 |
| Hidrocarbonetos monoterpênicos | | | | 14,9 |
| Monoterpenos oxigenados | | | | 33,6 |
| Monoterpenos totais | | | | 48,5 |
| Hidrocarbonetos sesquiterpênicos | | | | 30,7 |
| Sesquiterpenos oxigenados | | | | 9,0 |
| Sesquiterpenos totais | | | | 39,7 |
| Total identificado | | | | 88,2 |

OEC: Ordem de eluição na coluna cromatográfica; I.R: Índice de retenção; ni: Composto não identificado.

Espectros da espécie *M. verrucosa* (**Figura 15**), seguido pela lista dos compostos identificados (**Tabela 2**). Todos os espectros de massas se encontram em Anexo, dispostos nas **Figuras 33 a 35**.

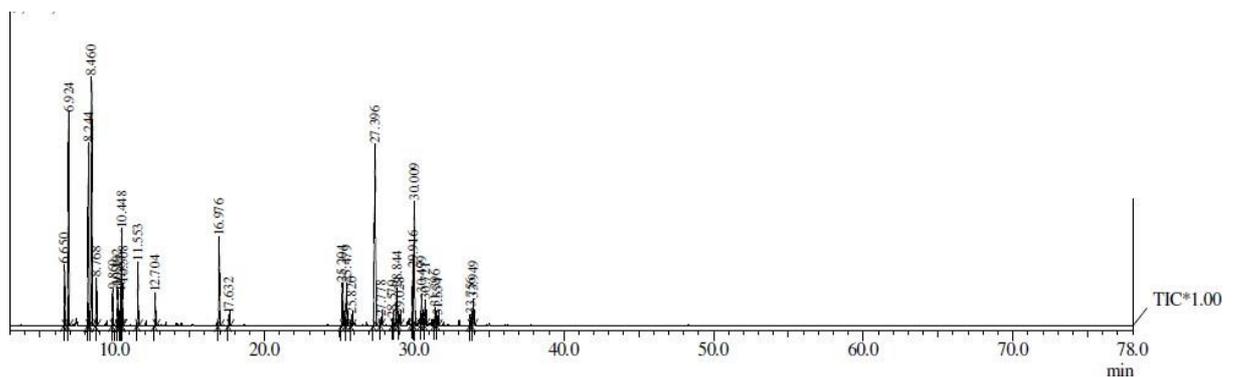


Figura 15: Cromatograma do óleo essencial de *Mimosa verrucosa* obtido a partir de uma coluna capilar de sílica fundida similar a DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).

Tabela 2: Composição química do óleo essencial de *Mimosa verrucosa*.

| OEC | Composto | I.R. Calculado | I.R. Literatura | % Área |
|-----|---------------------------------|----------------------------------|--------------------|-----------|
| 1 | α -tujeno | 927 | 924 | 2,3 |
| 2 | α -pineno | 935 | 932 | 10,7 |
| 3 | Sabineno | 975 | 969 | 9,5 |
| 4 | β -pineno | 981 | 974 | 14,2 |
| 5 | Mirceno | 990 | 988 | 1,9 |
| 6 | α -terpineno | 1019 | 1014 | 1,5 |
| 7 | ρ -cimeno | 1027 | 1020 | 1,6 |
| 8 | Limoneno | 1031 | 1024 | 1,6 |
| 9 | β -felandreno | 1033 | 1025 | 4,9 |
| 10 | 1,8-cineol | 1034 | 1026 | 1,3 |
| 11 | γ -terpineno | 1060 | 1054 | 2,9 |
| 12 | ρ -mentha-2,4(8)-diene | 1087 | 1085 | 1,5 |
| 13 | Terpinen-4-ol | 1184 | 1174 | 4,8 |
| 14 | α -terpineol | 1199 | 1186 | 0,6 |
| 15 | α -ylangeno | 1370 | 1373 | 2,5 |
| 16 | α -copaeno | 1377 | 1374 | 2,3 |
| 17 | β -bourboneno | 1385 | 1387 | 0,6 |
| 18 | (<i>E</i>)-cariofileno | 1422 | 1417 | 13,8 |
| 19 | β -copaene | 1431 | 1430 | 0,3 |
| 20 | <i>Trans</i> -muurolo-3,5-dieno | 1451 | 1451 | 0,4 |
| 21 | α -humuleno | 1457 | 1452 | 2,2 |
| 22 | 9-epi-(<i>E</i>)-cariofileno | 1462 | 1464 | 0,5 |
| 23 | <i>D</i> -germacreno | 1483 | 1480 | 3,4 |
| 24 | γ -himacheleno | 1485 | 1481 | 8,1 |
| 25 | Biciclogermacreno | 1497 | 1500 | 1,7 |
| 26 | β -bisaboleno | 1503 | 1505 | 1,4 |
| 27 | δ -cadineno | 1520 | 1522 | 0,9 |
| 28 | <i>cis</i> -calameneno | 1524 | 1528 | 0,5 |
| 29 | Espatuleno | 1580 | 1577 | 0,6 |
| 30 | Óxido de cariofileno | 1585 | 1582 | 1,5 |
| | | Hidrocarbonetos monoterpênicos | | 53,9 |
| | | Monoterpenos oxigenados | | 5,4 |
| | | Monoterpenos totais | | 59,3 |
| | | Hidrocarbonetos sesquiterpênicos | | 38,6 |
| | | Sesquiterpenos oxigenados | | 2,1 |
| | | Sesquiterpenos totais | | 40,7 |
| | | Total identificado | | 100,0 |

OEC: Ordem de eluição na coluna cromatográfica; I.R.: Índice de retenção

1.2 Mortalidade contra as pulgas *Ctenocephalides felis felis* em diferentes estágios do ciclo de vida

Relação entre as concentrações testadas e as porcentagens de mortalidade apresentada nas **Tabelas 3, 4 e 5**. Seguido pelos resultados das concentrações letais **Tabela 6**.

Tabela 3: Mortalidade nas fases do ciclo de vida (ovo, larva, pupa e adulta) da pulga *Ctenocephalides felis felis* com óleo essencial de *Baccharis trimera*.

| Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade | Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade (24h) | %Mortalidade (48h) |
|-------------------------------------|--------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|
| <i>Fase ovo</i> | | <i>Fase larva</i> | | |
| 49,5 | 10,00 | 23,7 | 0,00 | 0,00 |
| 98,9 | 25,00 | 27,7 | 15,00 | 19,67 |
| 197,8 | 34,48 | 31,6 | 30,00 | 33,33 |
| 395,6 | 45,16 | 35,6 | 53,33 | 56,67 |
| 791,2 | 68,33 | 39,6 | 81,67 | 83,33 |
| 1186,9 | 91,67 | 49,5 | 93,33 | 93,33 |
| 1582,5 | 100,00 | 59,3 | 100,00 | 100,00 |
| Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade | Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade (24h) | %Mortalidade (48h) |
| <i>Fase pupa</i> | | <i>Fase adulto</i> | | |
| 49,5 | 1,79 | 100 | 3,33 | 3,33 |
| 98,9 | 14,29 | 200 | 8,33 | 8,33 |
| 197,8 | 37,50 | 300 | 23,33 | 23,33 |
| 395,6 | 57,14 | 400 | 50,00 | 50,00 |
| 791,2 | 64,29 | 600 | 75,00 | 75,00 |
| 1186,9 | 85,71 | 800 | 100,00 | 100,00 |
| 1582,5 | 100,00 | | | |

Tabela 4: Mortalidade nas fases do ciclo de vida (ovo, larva, pupa e adulta) da pulga com óleo essencial de *Mimosa verrucosa*.

| Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade | Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade (24h) | %Mortalidade (48h) |
|-------------------------------------|--------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|
| <i>Fase ovo</i> | | <i>Fase larva</i> | | |
| 49,5 | 9,09 | 49,5 | 0,00 | 0,00 |
| 98,9 | 23,64 | 98,9 | 13,33 | 13,33 |
| 197,8 | 45,45 | 197,8 | 31,67 | 31,67 |
| 296,7 | 65,45 | 296,7 | 65,00 | 65,00 |
| 593,4 | 83,64 | 593,4 | 76,67 | 86,67 |
| 791,2 | 100,00 | 791,2 | 90,00 | 100,00 |
| | | 1186,9 | 100,00 | 100,00 |
| Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade | Concentração (µg.cm ⁻²) | %Mortalidade (24h) | %Mortalidade (48h) |
| <i>Fase pupa</i> | | <i>Fase adulto</i> | | |
| 197,8 | 1,89 | 100 | 3,33 | 3,33 |
| 395,6 | 15,09 | 200 | 8,33 | 8,33 |
| 791,2 | 20,75 | 300 | 23,33 | 23,33 |

| | | | | |
|---------------|-------|------------|--------|--------|
| 1186,9 | 22,64 | 400 | 50,00 | 50,00 |
| 1582,5 | 37,74 | 600 | 75,00 | 75,00 |
| 1978,1 | 41,51 | 800 | 100,00 | 100,00 |

Tabela 5: Mortalidade eficaz no ciclo de vida da pulga com óleo essencial de *Baccharis trimera* e de *Mimosa verrucosa*.

| Fase de vida da pulga | Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) | %Mortalidade | Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) | %Mortalidade |
|-----------------------|---|--------------|---|--------------|
| Ovo (72h) | 1582,5 | 100 | 791,2 | 100 |
| Larva (24h) | 59,3 | 100 | 1186,9 | 100 |
| Larva (48h) | 59,3 | 100 | 791,2 | 100 |
| Pupa (15 dias) | 1582,5 | 100 | - | - |
| Adulto (24h) | 800 | 100 | 800 | 100 |
| Adulto (48h) | 800 | 100 | 800 | 100 |

Tabela 6: Concentração letal 50 dos OE *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa* contra *C. felis felis*.

| Fase da pulga | CL ₅₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) | CL ₉₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) | Slope | R ² |
|------------------------------------|---|---|-------|----------------|
| <i>Óleo essencial B. trimera</i> | | | | |
| Ovo (72h) | 309,52 | 1391,85 | 1,96 | 0,984 |
| Larva (24h) | 34,56 | 44,93 | 11,25 | 0,912 |
| Larva (48h) | 34,57 | 44,93 | 11,25 | 0,912 |
| Pupa (15 dias) | 324,13 | 1160,35 | 1,87 | 0,977 |
| Adulto (24h) | 369,22 | 678,13 | 2,58 | 0,979 |
| Adulto (48h) | 369,22 | 678,13 | 2,58 | 0,979 |
| <i>Óleo essencial M. verrucosa</i> | | | | |
| Ovo (72h) | 194,5 | 563,08 | 2,19 | 0,960 |
| Larva (24h) | 266,29 | 731,34 | 2,92 | 0,925 |
| Larva (48h) | 240,54 | 551,09 | 3,56 | 0,913 |
| Pupa (15 dias) | - | - | - | - |
| Adulto (24h) | 369,22 | 678,13 | 2,58 | 0,979 |
| Adulto (48h) | 369,22 | 678,13 | 2,58 | 0,979 |

1.3 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais

1.3.1 Viabilidade celular e impacto na funcionalidade mitocondrial

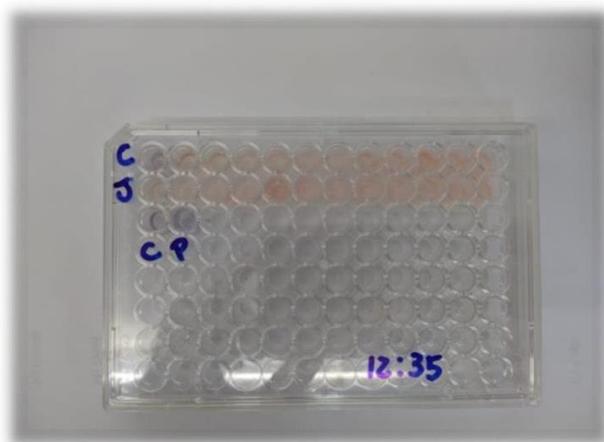


Figura 16: Diluição em placa de 96 poços para verificação das concentrações tóxicas.

Fonte: autor.

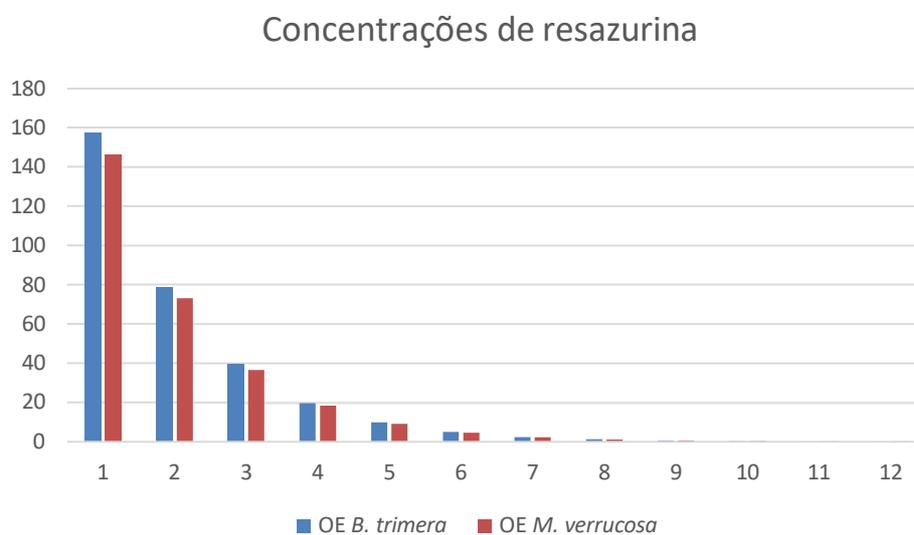


Figura 17: Concentrações em mg/mL de resazurina com óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa*.

Tabela 7: Unidades formadoras de colônias em meio YPD após tratamentos com os óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa*.

| Controle | H ₂ O ₂ | OE <i>B. trimera</i> | OE <i>M. verrucosa</i> |
|----------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 200 | 73 | 182 | 168 |
| 203 | 82 | 176 | 172 |
| 210 | 70 | 176 | 175 |
| 209 | 75 | 172 | 175 |
| 193 | - | - | 169 |
| - | - | - | 162 |
| MÉDIA | | | |
| 203 | 75 | 176,5 | 170,16 |

Tabela 8: Unidades formadoras de colônias em meio YPGLY após tratamentos com os óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa*.

| Controle | H ₂ O ₂ | OE <i>B. trimera</i> | OE <i>M. verrucosa</i> |
|----------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 197 | 57 | 178 | 162 |
| 189 | 61 | 172 | 173 |
| 199 | 69 | 191 | 176 |
| 200 | 71 | 172 | 170 |
| 194 | - | 180 | 159 |
| 186 | - | - | - |
| MÉDIA | | | |
| 194,16 | 64,5 | 178,6 | 168 |

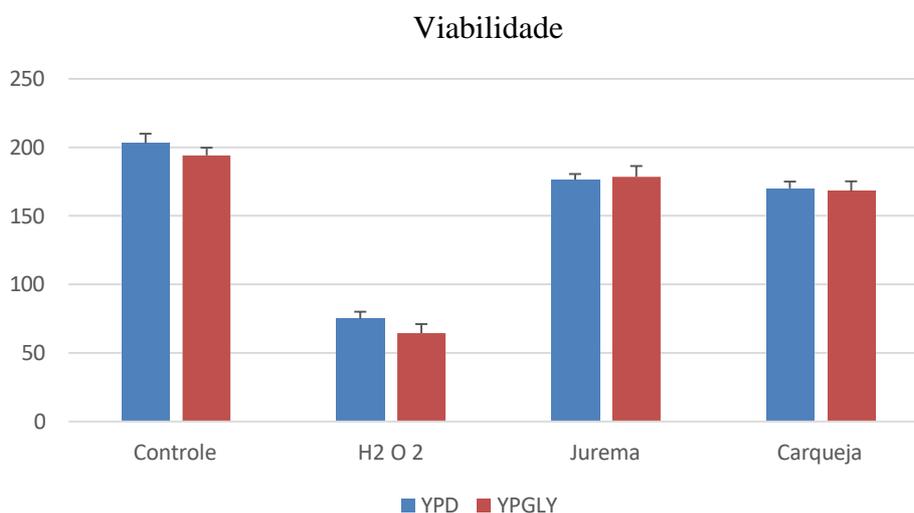


Figura 18: Viabilidade e Danos na Ativação Mitocondrial

1.3.2 Controle de crescimento celular

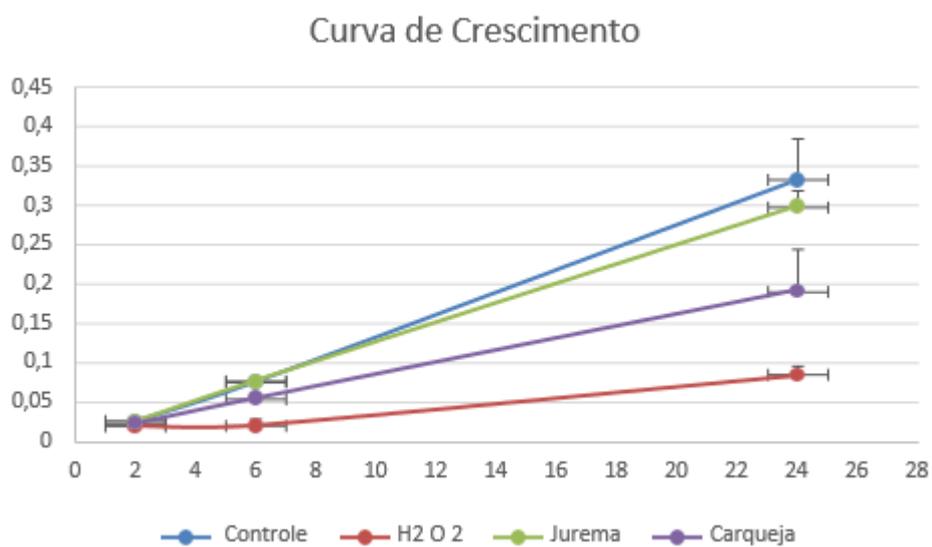


Figura 19: Absorbância *versus* tempo de avaliação das células *Saccharomyces cerevisiae*.

DISCUSSÕES

1.1 Componentes e caracterização química dos óleos essenciais

A análise dos óleos essenciais por cromatografia gasosa permitiu observar a complexidade destes produtos naturais, de maneira a possibilitar a identificação dos inúmeros constituintes que os compõem e que são responsáveis por suas propriedades.

O óleo essencial de *B. trimera* apresentou 30 compostos, dentre eles foram identificados como compostos majoritários o β -pineno (5,5%), o acetato de carquejila (33,0%), o β -elemeno (5,9%), o γ -muroleno (5,6%) e o álcool cariofileno (7,0%) (**Figura 20**). Dos compostos identificados, 23,3% são hidrocarbonetos monoterpênicos, 6,7% monoterpênicos oxigenados, 46,7% hidrocarbonetos sesquiterpênicos e 10% sesquiterpênicos oxigenados.

Pode-se observar então que o OE apresentou uma quantidade significativa do composto acetato de carquejila, que corresponde a 33,0% da composição do mesmo. O acetato de carquejila é considerado o marcador químico desta espécie, sendo o indicativo de que o óleo essencial é mesmo da espécie *B. trimera*. Segundo Suzuki et al. (2017) o acetato de carquejila de maneira sinérgica com o β -pineno, que também se encontra presente na composição do óleo, consegue produzir atividade bactericida, onde ele apresentou efeitos positivos sobre bactérias das espécies *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis*. Quanto à fração sesquiterpênica os resultados encontrados corroboram os estudos de FERRI e colaboradores (2007), que identificaram o *D*-germacreno presente, diferente do estudo de PALACIO e colaboradores (2007) e SIMÕES e colaboradores (2005), que identificaram o ledol presente na análise. De acordo com Alonso e Desmarchelier (2006) as lactonas sesquiterpênicas presentes na composição do óleo essencial de *B. trimera* apresentam atividade antimicrobiana e inseticida. Isso pode explicar o potencial pulicida que o óleo de carqueja obteve frente às pulgas adultas, conforme resultados apresentados no **item 6.2**.

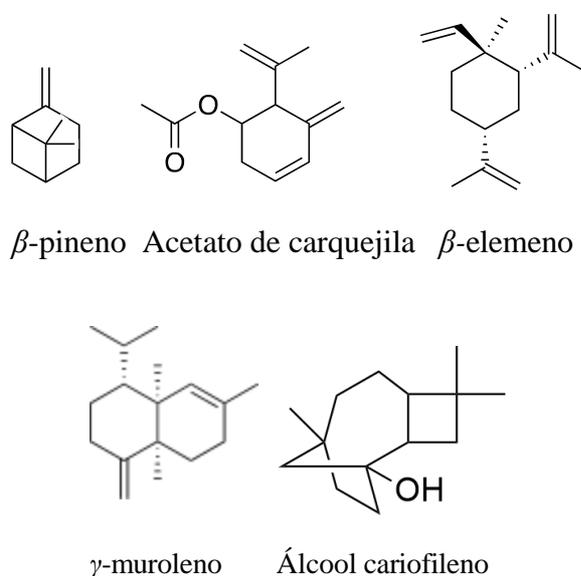


Figura 20: Estrutura química dos compostos majoritários do OE de *B. trimera*.

Para o óleo essencial de *M. verrucosa* foram identificados 30 compostos, dentre os quais foram identificados como compostos majoritários o α -pineno (10,7%), o sabineno (9,5%), o β -pineno (14,2%), o *E*-cariofileno (13,8%) e o γ -himacheleno (8,1%) (**Figura**

21), sendo possível observar que o β -pineno está presente no óleo essencial em maior quantidade, seguido do *E*-cariofileno. Dos compostos identificados, 40% são hidrocarbonetos monoterpênicos, 6,7% monoterpênicos oxigenados, 46,7% hidrocarbonetos sesquiterpênicos e 6,7% sesquiterpênicos oxigenados.

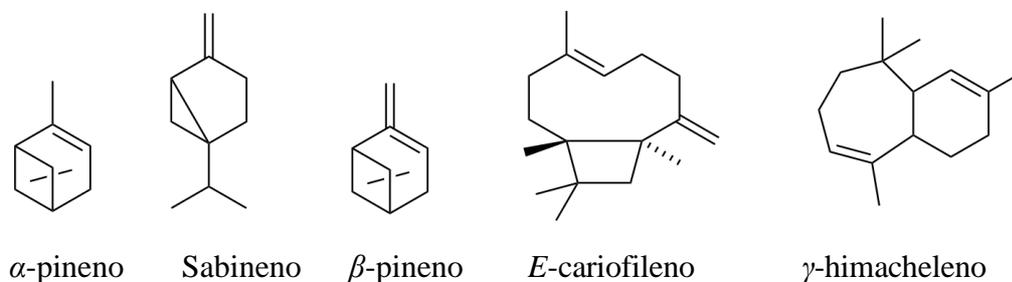


Figura 21: Estrutura química dos compostos majoritários do OE de *Mimosa verrucosa*.

De acordo com Suzuki et al. (2017) o β -pineno é um dos bioativos mais importantes que se encontra presente na composição química de diversos óleos essenciais e é capaz de produzir efeito antimicrobiano, por possuir características que são capazes de realizar alterações na membrana de células bacterianas. Enquanto o *E*-cariofileno é um sesquiterpeno, considerado agente anti-inflamatório, também com ação inibidora de plaquetas.

Segundo Avelar et al. (2016) os extratos e os óleos essenciais da planta da espécie *Schinus molle*, que assim como a planta *Mimosa verrucosa* apresenta em sua composição química majoritariamente compostos terpênicos como β -pineno, α -pineno e sabineno, demonstraram atividade repelente, inseticida e antimicrobiana, e, de acordo com Batista et al. (2016) o óleo essencial da *S. molle* obteve 100% de eficácia contra pulgas da espécie *C. felis*. Essa semelhança na composição química de ambos os óleos descritos acima é um indicativo de que o óleo essencial de *M. verrucosa*, por possuir compostos terpênicos em sua composição, pode obter também uma boa eficácia contra pulgas.

1.2 Mortalidade contra as pulgas *Ctenocephalides felis felis* em diferentes estágios do ciclo de vida

Para determinar se os óleos essenciais de *Baccharis trimera* e *Mimosa verrucosa* foram capazes de causar mortalidade em pulgas da espécie *C. felis felis*, em suas diferentes fases (ovo, larva, pupa e adulta), visando encontrar a dose eficaz e segura, para que no futuro o estudo siga com os testes *in vivo*, foi realizado o experimento de impregnação dos óleos em papel filtro, em seis repetições para cada concentração, assim as faixas de concentração em que esses óleos foram eficazes foram avaliadas.

Dentre todos resultados encontrados ao longo dos testes, houve 100% de eficiência de mortalidade em ambos os óleos sob determinadas concentrações (**Tabela 5**). Apenas para a avaliação do óleo essencial de *M. verrucosa* contra as pupas não houve resultados, isso porque, mesmo quando aplicada a maior concentração contra as pulgas, a mortalidade permaneceu na faixa de 40%, o que impossibilitou o cálculo de concentrações letais.

Com as concentrações ótimas apresentadas nas tabelas anteriores é possível identificar o valor ideal para seguir com os estudos contra a *C. felis felis*, pois, serão avaliadas junto aos resultados de toxicidade para determinação de um valor em comum.

A concentração letal encontrada para *Syzygium aromaticum* contra pulgas adultas da espécie *C. felis felis* apresentou valores baixos, $CL_{50} = 5,7 \mu\text{g.cm}^{-2}$ em 24h e $CL_{50} = 3,9 \mu\text{g.cm}^{-2}$ em 48h (LAMBERT et al, 2020). O estudo com o OE de *Illicium verum* obteve

CL₅₀ = 121,7 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 119,1 µg.cm⁻² em 48h, e com o OE de *Pelargonium graveolens*, CL₅₀ = 173 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 164,6 µg.cm⁻² em 48h (FREITAS et al, 2021). Já o estudo com as folhas e frutos de *Schinus molle* (BATISTA et al, 2016) apresentou atividade inseticida para os com OE das folhas CL₅₀ = 12,02 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 9,10 µg.cm⁻² e para os OE dos frutos CL₅₀ = 353,95 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 138,2 µg.cm⁻². A seleção de algumas espécies do estudo de SANTOS e colaboradores (2020) apresentou valores maiores, com os OE de *Alpina zerumbeti* (CL₅₀ = 553,31 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 456,27 µg.cm⁻² em 48h), *Cinnamomum* spp. (CL₅₀ = 67,87 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 41,87 µg.cm⁻² em 48h), *Laurus nobilis* (CL₅₀ = 412,09 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 454,88 µg.cm⁻² em 48h), *Mentha spicata* (CL₅₀ = 597,56 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 380,09 µg.cm⁻² em 48h), *Cymbopogon nardus* (CL₅₀ = 597,05 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 486,05 µg.cm⁻² em 48h) e *Ocimum gratissimum* (CL₅₀ = 5,85 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 4,49 µg.cm⁻² em 48h).

Com isso, é possível afirmar que o resultado para pulgas adultas para ambos OE analisados, *B. trimera* e *M. verrucosa* (CL₅₀ = 369,22 µg.cm² em 24h e 48h), corrobora com os dados da literatura, com concentração letal inferior aos OE citados e equivalente ao OE de *Schinus molle* (frutos em 24h), *Alpinia zerumbeti*, *Laurus nobilis*, *Mentha spicata* e *Cymbopogon nardus*.

Como a fase pupa é mais resistente, devido ao seu um casulo, apenas um dos estudos citados anteriormente na análise das pulgas adultas testou OE contra as pupas. O OE *Illicium verum*, que obteve CL₅₀ = 35,4 µg.cm⁻², e o OE *Pelargonium graveolens*, que obteve CL₅₀ = 67,6 µg.cm⁻² (FREITAS et al, 2021). Enquanto o OE de *B. trimera* obteve CL₅₀ = 324,13 µg.cm⁻², resultado com menor efetividade comparado aos da literatura, com potencial letal equivalente ao encontrado com os testes nas pulgas adultas. Porém, devido à baixa mortalidade das pupas com o OE de *M. verrucosa* (% mortalidade máxima de 41,51), não foi possível calcular a concentração letal, o que significa que ele não foi eficiente contra essa fase da *C. felis felis*.

Com os resultados dos testes em larvas da *C. felis felis* do presente estudo é possível verificar que foi obtido uma letalidade baixa, comparado com recentes estudos da literatura, pois o OE de *B. trimera* obteve CL₅₀ = 34,57 µg.cm⁻² em 24h e 48h e o OE de *M. verrucosa* obteve CL₅₀ = 266,29 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 24,54 µg.cm⁻² em 48h. Enquanto os OE de *Illicium verum* obteve CL₅₀ = 14,4 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 12,1 µg.cm⁻² em 48h e *Pelargonium graveolens* obteve CL₅₀ = 16,3 µg.cm⁻² em 24h e CL₅₀ = 20,1 µg.cm⁻² em 48h (FREITAS et al, 2021), e os OE de *Alpina zerumbeti* (CL₅₀ = 7,29 µg.cm⁻² em 24h), *Cinnamomum* (CL₅₀ = 0,43 µg.cm⁻² em 24h), *Laurus nobilis* (CL₅₀ = 0,52 µg.cm⁻² em 24h), *Ocimum gratissimum* (CL₅₀ = 1,21 µg.cm⁻² em 24h) e *Cymbopogon nardus* (CL₅₀ = 7,32 µg.cm⁻² em 24h) (SANTOS et. al, 2020).

Assim como o OE de *Schinus molle* foi testado contra pulgas adultas, também foi testado contra os ovos das pulgas, porém não obteve atividade ovicida contra *C. felis felis* (BATISTA et. al, 2016). Já os OE analisados por SANTOS (2020) obtiveram atividade ovicida, mas com resultados com maior potencial letal, com o OE de *Alpina zerumbeti* (CL₅₀ = 13,07 µg.cm⁻²), *Cinnamomum* (CL₅₀ = 1,8 µg.cm⁻²), *Laurus nobilis* (CL₅₀ = 2,41 µg.cm⁻²), *Ocimum gratissimum* (CL₅₀ = 1,79 µg.cm⁻²) e *Cymbopogon nardus* (CL₅₀ = 11,98 µg.cm⁻²) (SANTOS et. al, 2020). Assim como FREITAS (2021) com OE *Illicium verum* (CL₅₀ = 36,9 µg.cm⁻²) e com OE *Pelargonium graveolens* (CL₅₀ = 18,8 µg.cm⁻²). Os resultados encontrados no presente trabalho apresentaram para o OE de *B. trimera* (CL₅₀ = 309,52 µg.cm⁻²) e para o OE de *M. verrucosa* (CL₅₀ = 194,5 µg.cm⁻²).

Para entender melhor a relação entre o óleo essencial e a sua atividade larvicida, alguns autores testaram isoladamente os principais componentes dos óleos essenciais. Na maior parte dos estudos, observou-se que todo o óleo essencial foi mais ativo do que os

seus compostos isolados (DIAS & MORAES, 2014). Os sesquiterpenos oxigenados β -eudesmol e óxido de cariofileno, que são compostos ativos dos óleos essenciais da *B. trimera* e *M. verrucosa*, respectivamente, não apresentaram atividade quando testados isoladamente em comparação ao óleo (CHENG et al, 2009). Isto pode ser explicado pelas Interações entre os constituintes presentes nos óleos (ACIOL, 2001; SANTOS et al., 2006). Em alguns casos, a bioatividade da mistura é mais elevada do que a dos compostos purificados. Assim como o α - terpineno e o γ - terpineno também contribuem para a atividade larvicida (SILVA et al., 2008).

A partir dos resultados do presente estudo e dos comparativos com a literatura existente podemos observar que existe uma variação significativa entre as concentrações letais encontradas. O que pode ser explicado devido à composição química das plantas às quais originaram os óleos essenciais em questão.

Em especial o caso das avaliações das atividades adulticida e larvicida, às quais apresentaram efetividade intermediária, pois alguns estudos encontraram potencial pulicida muito superior, com concentrações letais mínimas, enquanto outros estudos encontraram potencial pulicida inferior aos do nosso estudo, com concentrações letais muito altas. Ou seja, os resultados obtidos são efetivos e promissores.

1.3 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais

1.3.1 Viabilidade celular e impacto na funcionalidade mitocondrial

Avaliando o impacto dos óleos essenciais na sobrevivência das células e na funcionalidade mitocondrial, inicialmente, uma suspensão celular foi incubada em placas de 96 poços (**Figura 18**) com o reagente resazurina, onde foi avaliada uma faixa de concentrações tóxicas às células de levedura para os OE de *B. trimera* e *M. verrucosa* (**Figura 19**).

O método de diluição em microplacas usando a resazurina como revelador torna possível observar que apenas o óleo de *B. trimera* em maiores concentrações (157,3 mg/mL e 78,65 mg/mL) foi tóxico para as células, o que pode ser evidenciado pela permanência da cor azul, o que indica que as células sofreram danos no metabolismo. Enquanto para o óleo de *M. verrucosa*, todas as concentrações testadas não foram tóxicas para as células, o que pode ser evidenciado pela coloração rósea. Então foi escolhida uma concentração inferior (0,2 mg/mL) para continuidade dos testes, que apresentou baixo nível de toxicidade, sendo aceitável para a *M. verrucosa* e para a *B. trimera*.

O ensaio de viabilidade teve como objetivo analisar o número de células viáveis geradas a partir da exposição das células aos óleos essenciais de *B. trimera* e *M. verrucosa* e ao agente estressor utilizado (H₂O₂). Isso revelou o quanto as substâncias influenciaram ou não a geração de células filhas.

As células foram tratadas com H₂O₂, 0,2 mg/mL de óleo essencial de *M. verrucosa* e 0,2 mg/mL de óleo essencial de *B. trimera* em meio de cultura YPD (meio rico em glicose, com a levedura atuando na fase fermentativa) e YPGLY (meio sem glicose e rico em glicerol, com a levedura ativando as mitocôndrias, atua na fase respiratória), com resultados expressos em número de unidades formadoras de colônias. As análises foram realizadas em seis amostragens (**Tabelas 7 e 8**), seguidas por suas respectivas médias (**Figura 20**).

O meio YPGLY, representado pela barra de cor vermelha é onde se apresenta se houve dano à ativação mitocondrial ou não, pois usando este meio de cultura a levedura é forçada a utilizar as mitocôndrias, e a partir dos resultados obtidos, os valores foram bem próximos aos valores encontrados no meio de cultura padrão, o YPD, representado pela

barra de cor azul.

Os resultados das análises de viabilidade celular e impacto na funcionalidade mitocondrial mostram que *M. verrucosa* e *B. trimera*, na concentração utilizada, não apresentaram danos à ativação mitocondrial, pois seu comportamento foi muito próximo quando comparado ao meio de cultura YPD, onde não é usado a mitocôndria. Se os óleos essenciais tivessem causado algum dano na ativação da mitocôndria, a quantidade de colônias encontradas no meio de cultura YPGLY seria menor do que a quantidade de colônias encontradas no meio YPD. Quanto à viabilidade, pode-se observar que as células colocadas em contato com os óleos essenciais obtiveram resultados bem próximos nos dois meios de cultura, e também resultados próximos ao controle, enquanto o agente estressor utilizado, mostra viabilidade baixa nos dois meios. O que demonstra a capacidade dessas células em gerar células filhas, sendo contabilizadas através de colônias.

O estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. A geração de radicais livres e espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio. O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e espécies reativas não radicais (BARBOSA et al., 2010). Os compostos fenólicos têm como mecanismo de prevenção aos danos oxidativos a proteção das moléculas de modo direto, atuando como citoprotetores e/ou antioxidantes, ou de modo indireto, induzindo mudanças celulares nas respostas de defesa (resposta ao estresse) (MITJAVILA; MORENO, 2012).

Assim como o estudo de LOSQUI (2009), que apresentou efeito não tóxico, mas sim um efeito trófico inibido pela ação do OE de *B. trimera*. Recentes estudos sobre propriedades químicas de plantas medicinais, associando o extrato da *B. trimera* demonstram que as atividades toxicofarmacológicas, são pouco encontradas em células de medula óssea de ratos *Wistar* (PERON et al, 2008). Entre os poucos estudos, encontra-se o de LUIZE e colaboradores (2005), o qual sugere que apesar da ação hemolítica encontrada para extrato de *B. trimera*, a eficácia biológica nas concentrações testadas não revela citotoxicidade *in vitro*. Porém, outros dados da literatura demonstram que os ensaios utilizando a carqueja apontam para uma ação abortiva em ratas *Wistar* e uma redução do ciclo mitótico celular além do surgimento de anormalidades cromossômicas (VERDI et al, 2005). Os resultados obtidos apontam para uma redução no processo proliferativo celular com visível redução na proliferação glial de culturas tratadas com extrato de *B. trimera*. As interações neurônio/glia têm sido responsáveis por diversos processos ligados à construção da arquitetura neuronal (GOMES et al, 2001).

1.3.2 Controle do crescimento celular

No ensaio de controle de crescimento celular, o comportamento de crescimento das células em contato com os óleos essenciais foi analisado por 24 horas (**Figura 21**).

Pode-se observar pela **Figura 21** que a *M. verrucosa* apresentou um comportamento próximo ao controle, enquanto a *B. trimera* obteve um resultado de crescimento ligeiramente inferior, apresentando uma maior toxicidade, mas ainda superior quando comparada ao agente estressor (H₂O₂).

O crescimento celular é estipulado através da concentração de uma suspensão celular na presença dos óleos essenciais, pois a absorbância não distingue a leitura entre células mortas, vivas ou velhas, apenas absorve a luz, não detectando o composto, identificando o quanto a célula foi capaz de reter a luz. Assim, quanto mais turva, maior a quantidade de células. Conclui-se também que *B. trimera* em 24 horas apresentou alguma inibição no crescimento celular e isso não foi revelado na ativação mitocondrial.

Em 1998 e 1999 NAKASUGI já descrevia sobre a baixa toxicidade da espécie *B. trimera* e os efeitos antimutagênicos, sugerindo seu uso como prevenção para o câncer a partir da fração metanólica purificada. Em 2005, VERDI e colaboradores constataram a atividade antimutagênica e hepatoprotetora e MENDES (2005) avaliou a toxicidade da espécie *B. trimera* em camundongos tratados de forma aguda, verificando sua baixa toxicidade por via oral e toxicidade moderada por via intraperitoneal. Os testes de toxicidade aguda, além de permitirem a observação dos efeitos tóxicos da droga sobre diversos sistemas do corpo, são usados como referencial para a seleção das doses que serão usadas nos testes de toxicidade subcrônica (curta duração) e crônica (longo prazo) (ARAÚJO, 2006; SÁ; ALMEIDA, 2006).

Os terpenos apresentaram baixa toxicidade contra larvas de *Aedes aegypti* e adultos do ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* (MORAIS et al, 2007; YATAGAI et. al, 1998). Enquanto os sesquiterpenos oxigenados apresentaram toxicidade superior aos monoterpênicos (SIMAS et al, 2004). O composto químico 1,8-cineol, presente na espécie *M. Verrucosa*, possui ação repelente e inseticida para *Periplaneta americana*, assim como larvicida e repelente ovipositivo para mosquitos (MISHRA, 2016). A predominância de sesquiterpenos cíclicos, com predominância dos grupos cariofileno e germacreno (LIMBERGER et al, 2004), como espatulenol, β -elemeno e α -humuleno, tem demonstrado diversas atividades biológicas por meio de inibição de proliferação celular (ALCÂNTARA et. al, 2010; LUNGUINO, 2012).

Existe uma diferença de toxidez entre as espécies *B. trimera* e *M. verrucosa*, que pode ser explicada pela composição química dos seus óleos. O OE de *B. trimera* tem o acetato de carquejila e o β -pineno como compostos majoritários, juntos possuem efeito bactericida, conforme afirmado em estudo de Suzuki et al. (2017) exercendo uma mortalidade superior sob as células de *S. cerevisiae*, comparado ao OE de *M. verrucosa*, que possui o β -pineno como composto majoritário.

CONCLUSÕES

Como conclusão podemos afirmar que ambos óleos essenciais estudados no presente trabalho são ricos em compostos terpênicos, conferindo diversas propriedades farmacológicas. Os óleos das espécies *B. trimera* e *M. verrucosa* apresentaram baixa toxicidade frente à cultura de células de *S. cerevisiae*, já que não houve dano na mitocôndria, e quando testados com as pulgas da espécie *C. felis felis* em suas diferentes fases foi possível observar que os óleos demonstraram eficácia. A escolha da fase do ciclo de vida da pulga para tratamento com os óleos essenciais foi feita corroborando a concentração ideal de toxicidade, de 0,2 mg/mL para ambas as espécies.

A partir disso, verificou-se que, para o óleo essencial de *B. trimera*, a concentração ideal é de 800 µg/cm⁻², que corresponde ao teste na fase adulta de pulgas nos tempos de 24h e 48h. Já para o óleo essencial de *M. verrucosa*, a concentração ideal é de 791,2 µg/cm⁻², que corresponde ao teste nas fases ovo e larva, sendo esta última escolhida para a avaliação dos resultados, já que representa aproximadamente 40% da população total de todo ciclo de vida da pulga. Assim, o óleo essencial da *B. trimera* é a base para produto controle da forma infestante, para aplicação no pet, atingindo a pulga na fase adulta do ectoparasita, impedindo a sequência do ciclo de vida e protegendo a saúde do animal. Da mesma forma que o óleo essencial de *M. verrucosa* é a base para produto controle, só que da forma imatura, interrompendo o ciclo de desenvolvimento do ectoparasita. Portanto, pode-se concluir que os objetivos do estudo proposto foram alcançados, visto que ambos os óleos foram identificados quimicamente, que demonstraram potencial pulicida em determinadas fases do ciclo de vida das pulgas apresentando baixa toxicidade. Estes dados são úteis para seguimento dos estudos com outros autores, visando o desenvolvimento de produtos para serem utilizados como uma alternativa no controle de ectoparasitas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M. J.; BERMEJO, P. *Baccharis (Compositae)*: a review update. **Arkivoc**, v. 7, n. 7, p. 76–96, 2007.

ABBOTT, W. S. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265–267, abr. 1925.

ACHIKA, J.; ARTUR, D.; GERALD, I.; ADEDAYO, A. **Uma revisão sobre os fitoconstituintes e propriedades medicinais relacionadas de plantas da família Asteraceae**. **IOSR J. Appl. Química**, 7, 1–8, 2014.

ACIOLE, S.D.G. **Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como alternativa de controle as larvas de Aedes aegypti (Diptera Culicidae)**. 72 pg. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2001.

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream**, p. 0–804, 2017.

AGOSTINI, F. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (*Asteraceae*) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2015.

ALHAJJ, M. S.; QASEM, M. A.; AL-MUFARREJ, S. I. **Inhibitory Activity of *Illicium verum* extracts against avian viruses**. *Advances In Virology*, s.l., v., p.1-8, 2020.

ALCÂNTARA, J.M. et al., Composição química dos óleos essenciais de espécies de *Aniba* e *Licaria* e suas atividades antioxidantes e antiagregante plaquetária. **Química Nova**, v. 33, n.1, p. 141-5, 2010.

ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais: Abordagem histórica contemporânea**. Editora da UFBA, 2011.

ALMEIDA, C. S.; CRUZ SILVA, L.; BIGARELLI, L. F. G.; SANTOS, A. C. A. M.; SILVA, R. A.; MENDOZA, E. A. D. E. **Características e propriedades de dez plantas medicinais cultivadas no Campus Experimental Água Viva Garça-SP**. *Revista Científicas Eletrônicas*, Garça-SP, 2021.

ALONSO, J.; DESMARCHELIER, C. **Plantas medicinales autóctonas de la Argentina: bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud**. Corpus editorial y Distribuidora, 2015.

AMA - Animal Medicines Australia. **Pets in Australia**: a national survey of pets and people, 2019.

ANDRADE, O. S. S. **Plantas medicinais usadas contra ectoparasitas**, 2014.

ARGENTON, A.; **Conceitos de cromatografia a gás**. Curso de cromatografia a gás. Minicursos CRQ (Conselho Regional de Química) -IV Região (SP). 2010.

AVELAR, D. M., MELO, M. N., LINARDI, P. M. Morphology and growth characteristics of cultured *Leptomonas ctenocephali* from *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) of

dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology** 80, 394–398, 2016.

AZADBAKHT, M. et al. **Anti-parasitic activity of some medicinal plants essential oils on *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica*, in vitro**. Research Journal Of Pharmacognosy, Sari, Iran, p.41-47, 2020

AZAMBUJA, W. LEOESSENCIAIS - Métodos de extração de óleos essenciais. 2018.

AZRIZAL-WAHID, N.; SOFIAN-AZIRUN, M.; LOW, V. L. New insights into the haplotype diversity of the cosmopolitan cat flea *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Veterinary Parasitology**, v. 281, p. 109102, 2020.

BALBINA SILVA, A. C.; PELLI, A. **Avaliação da repelência de *Allium sativum* L. (alho) visando o controle de *Nauphoeta cinerea***. Revista Acta Ambiental Catarinense, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2022.

BARNEBY, C. R. Sensitivae Censitae. A description of the genus *Mimosa* L. (Mimosaceae) in the New Yor World. **Mem. New York Bot. Gar.** 65: 1- 835, 1991.

BATIHA, G. E. S.; BESHBIHY, A. M.; EL-MLEE, A.; ABDEL-DAIM, M. M.; DEVKOTA, H. P. **Usos tradicionais, constituintes químicos bioativos e atividades farmacológicas e toxicológicas de *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae)**. Biomoléculas, 10, 352, 2020.

BATISTA, L. C. et al. Eficácia *in vitro* de óleos essenciais e extratos de *Schinus molle* L. contra *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, v. 143, n. 5, p. 627–638, 2016.

BENELLI, G., PAVELLA, R. Beyond mosquitoes-**Essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects**. Ind. Crops Prod. 117, 382–392, 2018.

BETTEGA, P. V. C.; CZLUSNIAK, G. R.; PIVA, R.; NAMBA, E. L.; RIBAS, C. R.; GRÉGIO, A. M. T.; ROSA, E. A. R. **Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia**. Archives of Oral Research, v. 7, n. 1, 2011.

BFG – THE BRAZILIAN FLORA GROUP. **Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil**. **Rodriguésia**, 66, p. 1085-1113, 2015.

BOELTER, R. **Plantas medicinais usadas na medicina veterinária**. 2 ed. São Paulo: Organização Andrei Editora LTDA, 2010.

BONIL, L. N.; BUENO, S.M. **Plantas Medicinais: Benefícios e Malefícios**. Revista Científica UNILAGO, v.1, n. 1, 2017

BONNEAU, S.; GUPTA, S.; CADIERGUES, M. Comparative efficacy of two fipronil spoton formulations against experimental tick infestations (*Ixodes ricinus*) in dogs. **Parasitology Research**, v. 107, n. 3, p. 735-739, 2010.

BORNEMAN, A. R.; PRETORIUS, I. S. **Genomic insights into the *Saccharomyces sensu stricto* complex**. Genetics, v. 199, p. 281–291, 2015.

BROOKS, H.; RUSHTON, K.; LOVELL, K.; BEE, P.; WALKER, L.; GRANT, L.; ROGERS, A. **The power of support from companion animals for people living with mental health problems: A systematic review and narrative synthesis of the evidence**. BMC Psychiatry, 18(31), 2018.

BROOKS, H.; ROGERS, A.; KAPADIA, D.; PILGRIM, J.; REEVES, D.; VASSILEY, I. **Creature comforts**: Personal communities, pets and the work of managing a longterm condition. *Chronic Illness*, 9(2), 87–102, 2013.

BUDEL, J. M. et al. O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, *Asteraceae*: I - Estudos botânicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 268–271, 2005.

BUDEL, Jane M. et al. **Essential oils of five *baccharis* species: Investigations on the chemical composition and biological activities**. *Molecules*, s. 1., v. 23, n. 10, p. 2–5, 2018.

BURTET, G.; FONTANELA, C.; MAROCCO, A. A. L. **A proteção dos conhecimentos tradicionais**: uma abordagem a partir da agenda 2030 da ONU. *Revista Grifos*, v. 31, n. 55, p. 141-156, 2022.

BUSATTA, C. **Caracterização química e atividade antimicrobiana *in vitro* e em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**, Dissertação de Mestrado, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Brasil, 94p, 2006.

CAREDDA, A.; MARONGIU, B.; PORCEDDA, S.; SORO, C.; **J.Agric.Food Chem.**, 50, 1492, 2002.

CASOTI, R. **Estudos metabólicos do gênero *Baccharis* (*Asteraceae*), avaliação do potencial anti-inflamatório *in vitro* e suas correlações através de métodos *in silico***. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2017.

CEFET. Centro de Educação Tecnológica de Minas Gerais. **Cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa**, 2016.

CHAGAS, A. C. S., Barros, L. D., COTINGUIBA, F., FURLAN, M., GIGLIOTI, R., SENA OLIVEIRA, M. C., & BIZZO, H. R. *In vitro* efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, 110(1), 295-303, 2012.

CHENG, S.S. et al., Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two *Eucalyptus* species. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 452-6, 2009.

COLLER, J.; PARKER, R. **Eukaryotic mRNA decapping**. *Annu Rev Biochem*, 73: 861-890. 10.1146/annurev.biochem.73.011303.074032, 2004.

CORREIA, T. R. Atividade do neonicotinóide dinotefuran sobre *Ctenocephalides felis felis* (*Siphonaptera: Pulicidae*). Tese: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2007.

COSTA, I. L. **A transição da idade média para a idade moderna**: uma análise crítica. *Revista Tempo de Conquista*, 19, 1-14, 2017.

DEQUECH, S. T. B. et al. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: *Chrysomelidae*), em laboratório. **Biotemas**, v. 21, n. 1, p. 41–46, 2008.

DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach**. West Sussex: John Wiley & Sons, 2002.

DIAS, C. N.; MORAES, D.F.C. Essential oil and their compounds as *Aedes aegypti* L.

(Diptera: *Culicidae*) larvicides: Review. **Parasitology Research**, v.113, p. 565-592, 2014.

DOURADO, D. A. O.; CONCEIÇÃO, A. de S.; SANTOS-SILVA, J. O gênero *Mimosa L.* (*Leguminosae: Mimosoideae*) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 4, p. 225–240, 2013.

DOS SANTOS CAVALCANTI, A. *et al.* Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 356–362, 2015.

DOS SANTOS, J. V. B. *et al.* In vitro activity of essential oils against adult and immature stages of *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, v. 147, n. 3, p. 340–347, 2020.

DUDAREVA, N.; PICHESKY, E.; GERSHENZON, J. **Biochemistry of plant volatiles**. *PlantPhysiol.*, v. 135, p. 1893-1902, 2004.

DUTRA, V. F. & MORIM, M. P. In Lista de espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2010.

EINBERG, E.; NYGREN, J.; SVEDBERG, P.; ENSKAR, K. “Through my eyes”: Health-promoting factors described by photographs taken by children with experience of cancer treatment. **Child: Care, Health and Development**, 42(1): 76–86, 2016.

EL-FEKY, A. M.; ELBATANONY, M. M.; MOUNIER, M. M. **Potencial anticancerígeno dos compostos lipóides e flavonóides das cascas de *Pisum sativum* e *Vicia faba***. *Egito. J. Aplicação Básica. Sci.*, 5, 258-264, 2018.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: A review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 3, p. 233– 243, 2014.

ESCCAP. European Scientific Counsel Companion Animal Parasites, **Control of Ectoparasites in Dogs and Cats**, guidelines 03, 4th Edn. Malvern, Worcestershire, England: ESCCAP, 2017.

ESCOSTEGUY, A. **Uso de Plantas Bioativas e Medicinais em Animais**, 2018.

FARIAS, A. M. **Bioatividade do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq sobre a lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Piauí, 2012.

FERNANDES, E. T.; FAVERO, S. **Óleo essencial de *Schinus molle* L. para o controle de *Sitophilus zeamais* Most. 1855 (Coleoptera: Curculionidae) em milho**. *Rev. Bras. de Agroecologia*. v. 9, no1, p. 225-231, 2014.

FERRÃO, S. K. *et al.* **Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Candida* spp.** *Brazilian Journal Of Health Review*, s.l., v. 3, n. 1, p.100-113, 2020.

FERRI, P. H.; SILVA, F. G.; OLIVEIRA, C. B. A.; PINTO, J. E. B. P.; NASCIMENTO, V. E.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C. **J. Braz Chem. Soc.**, 18, 990, 2007.

FLEURI, L. F.; SATO, H. **Estudo da Influência de Diferentes Parâmetros na Produção de Enzimas Líticas**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(2), 299–310, 2008.

FLORA BRASIL; **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2021.

- FOURY, F. **Human genetic diseases: a cross-talk between man and yeast.** *Gene*, 1997.
- FURTADO, D.A. et al. **Plantas medicinais para uso animal.** In. BARACUHY, J.G.V. *Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil*. 2 ed. Campina Grande: EDUFPG, 2016.
- FUNK, V. A.; SUSANNA, A.; STUESSY, T. F.; ROBINSON, H. **Classification of *Compositae*. Systematics, Evolution, and Biogeography of *Compositae***, s. l., n. 1977, p. 171–189, 2009.
- GHANIMA, M. M. A. et al. **Effect of Housing System and Rosemary and Cinnamon Essential Oils on Layers Performance, Egg Quality, Haematological Traits, Blood Chemistry, Immunity, and Antioxidant.** *Animals*, s.l., v. 10, n. 2, p.1-16, 2020.
- GARLET, T. M. B. **Plantas medicinais nativas de uso popular no Rio Grande do Sul Santa Maria, RS: UFSM, PRE**, 2019.
- GEE, N.; MUELLER, M. A systematic review of research on pet ownership and animal interaction among older adults. *Anthrozoos*, 32 (2): 183–207, 2019.
- GfK. **Pet ownership: Global GfK survey**. 2016.
- GIRARDELI, A. L. **Classificação botânica das plantas daninhas: Família *Asteraceae***, 2014.
- GIULIANO, D. A. Clasificación infragenerica de las especies Argentinas de *Baccharis* (*Asteraceae, Asterae*). *Darwiana*, v. 39, n. 1/2, p. 131–154, 2001.
- GOMES, F. C. A.; SPOHR, T. C. L. S.; MARTINEZ, R.; MOURA NETO, V. Cross-talk between neurons and glia: highlights on soluble factors. *Braz J Med Biol Res* 34: 611-620, 2001.
- HAJEK, A.; KONIG, H. How do cat owners, dog owners and individuals without pets differ in terms of psychosocial outcomes among individuals in old age without a partner. *Aging & Mental Health*, 24(10): 1613–19, 2019.
- HARTWELL, L. H.; KASTAN, M. B. **Cell cycle control and cancer.** *Science*. 1994.
- HEIDEN, G. **Systematics of *Baccharis* (*Asteraceae: Astereae*)**. s. l., 2014
- HOLT-LUNSTAD, J.; SMITH, T. B.; LAYTON, J. B. **Social relationships and mortality risk: a meta-analytic review.** *PLoS Med*, 7(7), e1000316, 2010
- IBIAPINA, W. V. et al. **Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS.** *Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança*, 12, 60-70, 2014.
- JACHULA, J.; KONARSKA, A.; DENISOW, B. **Micromorphological and histochemical attributes of flowers and floral reward in *Linaria vulgaris* (*Plantaginaceae*)**. *Protoplasma* 255(6):1763–1776, 2018.
- JEFFREY, C. ***Compositae*. Introduction with keys to tribes**, 2021.
- KARAM, T. K. et al. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, v. 15, p. 280–286, 2013.

KOC, S.; ISGOR, B. S.; ISGOR, Y. G.; SHOMALI MOGHADDAM, N.; YILDIRIM, O. **O potencial valor medicinal de plantas da família Asteraceae com enzimas de defesa antioxidantes como alvos biológicos.** Farmácia. Biol., 53 , 746-751, 2015.

KRATZ, V. D. D. Vo(z),. n. 3, 1963.

KURTZMAN, C. P. Discussion of Teleomorphic and Anamorphic *Ascomycetous* Yeasts and Yeast-like Taxa. In.: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. **The Yeasts a Taxonomic Study.** 5ª ed. Elsevier, v. 2, p. 293–307, 2011.

LAMBERT, M. M. et al. Activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and its main constituent eugenol in the inhibition of the development of *Ctenocephalides felis felis* and the control of adults. **Veterinary Parasitology**, v. 282, n. May, p. 109126, 2020.

LEE, S. E.; JACKSON, L. A.; OPDEBEECK, J. P. Salivary antigens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*. **Parasite Immunology**, v. 19, n. 1, p. 13-19, 1997.

LEGRAS, J-L.; MERDINOGLU, D.; CORNUET, J-M.; KARST, F. **Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history.** Molecular Ecology, v. 16, p. 2091–2102, 2007.

LEI, Z.; HUHMANN, D. V.; SUMNER, L. W. **Mass spectrometry strategies in metabolomics.** Journal of Biological Chemistry, ASBMB, v. 286, n. 29, p. 25435–25442, 2011.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MacKINDER, B. & LOCK, M. Legumes of the world. **Royal Botanic Gardens**, Kew, 2005.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. **Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas.** Floresta e Ambiente , V. 10, n.2, p. 71 - 77, 2003.

LIMA, R.P. et al. Emprego de plantas medicinais em animais de companhia e de produção da zona rural do município de Juru-PB. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 8, n. 1, p. 85-92, 2012.

LIMBERGER, R.P. et al., Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 916-19, 2004.

LITI, G. **The natural history of model organisms: The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*.** eLife, v. 4, 2015.

LIU, Peng et al. **Curdione ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by repressing TGF- β -induced fibroblast to myofibroblast differentiation.** Respiratory Research, s.l., v. 21, n. 1, p.1-10, 2020.

LOSQUI, Y. R.; ROZETE, F. S. S.; ALMEIDA, M. B.; BITTENCOURT, A. H. C.; PEREIRA, S. P. F. Atividade de *Baccharis trimera* (Less.) DC., (*Asteraceae*) sobre cultura de células *in vitro* **Rev. Bras. Farmacognosia**, 19(4), 2009.

LPWG - LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP. **A new subfamily classification of the *Leguminosae* based on a taxonomically comprehensive phylogeny.** Taxon 66(1): 44-77, 2017.

LUIZE, P. S.; TIUMAN, T. S.; MORELLO, L. G. Effects of medicinal plant extracts on

growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Rev Bras Cien Farm** 41: 85-94, 2005.

LUNGUINO, D. **Estudo da antitumoral e efeitos toxicológicos do óleo essencial das folhas de *Xylopiá frutescens* Aubl. (Annonaceae)**. 137 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, 2012.

MACHADO, L.; SILVA, V.; OLIVEIRA, M. Uso de extratos no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69, n. 2, p. 103–106, 2007.

MAGALHÃES, V. S. et al. Evaluation of pharmacokinetics and efficacy of ivermectin following oral administration in dogs against experimental infection of *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 167–171, 2016.

MATULYTE, I. et al. **The essential oil and hydrolats from *Myristica fragrans* seeds with *magnesium aluminometasilicate* as excipient: antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activity**: Antioxidant, Antibacterial, and Anti-inflammatory Activity. *Foods*, s.l., v. 9, n. 1, p. 37, 2020.

MEDINA, S. V. **IGF-I aumenta a proliferação de células da retina: vias de sinalização envolvidas**. Niterói, 103p Tese de Doutorado, Programa de Neuroimunologia, Universidade Federal Fluminense, 2008.

MENACHO-MÁRQUEZ, M.; MURGUIA, J. R. **Yeast on drugs: *Saccharomyces cerevisiae* as a tool for anticancer drug research**. *Clinical and Translational Oncology*, 9(4), 221–228, 2007.

MUNIM, A.; ROD, M. R.; TAVAKOLI, H.; HOSSEINIAN, F. **Uma análise da composição, benefícios para a saúde e potencial de mercado futuro da alcachofra de Jerusalém no Canadá**. *J. Food Res.*, 6, 69, 2017.

NASCIMENTO, A.; PRADE, A. C. K. **Aromaterapia: O Poder das plantas e dos óleos essenciais**. Recife: Fiocruz Pe, 33 p., 2020.

PANERO, J. L.; FUNK, V. A. **The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies**: major clades of the *Asteraceae* revealed. Elsevier, s. l., 2021.

PASTORINO, G.; CORNARA, L.; SOARES, S.; RODRIGUES, F.; OLIVEIRA, M. B. P. **Alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*): Uma revisão fitoquímica e farmacológica**. *Phytother. Res.*, 32 , 2323-2339, 2018.

MELO, C.; LIRA, A.; ALVES, M.; LIMA, C. **O uso de plantas medicinais para doenças parasitárias**. *Acta Brasilien.* 1(1): 28. ISSN 2526-4338, 2017.

MORAIS, L. A. S.; CASTANHA, R. F. Composição química do óleo essencial de duas amostras de carqueja (*Baccharis* sp.) coletadas em Paty do Alferes, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, p. 628–632, 2011.

MORAIS, S. M.; FACUNDO, V. A.; BERTINI, L. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; ANJOS JÚNIOR, J. F. dos; FERREIRA, S. A.; BRITO, E. S.; SOUZA NETO, M. A. de. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 10, p. 670-675, 2007.

MUBANGA, M.; BYBERG, L.; NOWAK, C.; EGENVALL, A.; MAGNUSSON, P.;

INGELSSON, E.; FALL, T. Dog ownership and the risk of cardiovascular disease and death – a nationwide cohort study. **Scientific Reports**, 7(15821), 2017.

NAKASUGI, T.; KOMAI, K. Antimutagens in the Brazilian folk medicinal plant carqueja (*Baccharis trimera* Less.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2560–2564, 1998.

NAKASUGI, T. **Anti-mutagen agentes**. p. 23, 1999.

NASCIMENTO, R. V et al. Hydrodistillation Extraction Kinetics of Volatile Oils from *Varronia curassavica* and *Laurus nobilis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, p. 503–509, 2020.

NICKLER, M.; OTTIGER, M.; STEUER, C.; HUBER, A.; ANDERSON, J. B.; MÜLLER, B.; SCHUETZ, P. **Systematic review regarding metabolic profiling for improved pathophysiological understanding of disease and outcome prediction in respiratory infections**. Respiratory research, BioMed Central, v. 16, n. 1, p. 125, 2015.

NISBET, A. J.; HUNTLEY, J. F. Progress and opportunities in the development of vaccines against mites, fleas and myiasis-causing flies of veterinary importance. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 4, p. 165–172, 2006.

ONOFRE, S.B.; FABIANE, K.C.; FERRONATTO, R.; SANTOS, A.C., **Rev. Bras. Farmacogn.**, 18, 197, 2008.

PAIVA, A.L.C. et al. **Uso das plantas medicinais na criação animal**. 1 ed. Natal, RN: s.e., 2010.

PARSONS, A.B.; GEYER, R.; HUGHES, T.R.; BOONE, C. **Yeast genomics and proteomics in drug discovery and target validation**. Prog Cell Cycle Res., 5: 159-166, 2003.

PATERSON, S. Flea allergic dermatitis. **Companion Animal**, v. 20, n. 3, p. 168-172, 2015.

PEREIRA, V. G. A. Estudo retrospectivo da resistência bacteriana na dermatite atópica canina. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa. 2013.

PÉREZ, S.; MECKES, M.; PÉREZ, C.; SUSUNAGA, A. E ZAVALA M.A. Antiinflammatory activity of *Lippi dulcis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v, 102, p.1-4, 2005.

PERON, A. P.; FELIPES, J.; MATTGE, G. I.; CANTAGALLI, L. B.; MARIUCCE, R. G; VICENTINI, V. E. P. Avaliação mutagênica das plantas medicinais *Baccharis trimera* Less. E *Solanum melongena* L. em células de medula óssea de ratos Wistar. **Rev. Bras. Biocien.** 6:127-130. 2008.

POSTAL, J. R.; JEANNIN, P. C.; CONSALVI, P.- J. Field efficacy of a mechanical pump spray formulation containing 0.25% fipronil in the treatment and control of flea infestation and associated dermatological signs in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 6, n. 3, p. 153-158, 1995.

PRETORIUS, I. S. **Tailoring wine yeast for the new millennium**: novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast, v. 16, p. 675–729, 2000.

PRETTI, I. R. **Influência da Diversidade Genética, de Fatores Ambientais e da Fenologia Sobre o Metabolismo Secundário de *Tithonia diversifolia* HEMSL. (*Asteraceae*)**,

Vitória - ES, 2018.

PRUDÊNCIO, E. R. Estudo do potencial antioxidante de diferentes classes de moléculas isoladas de mel e própolis em células de *Saccharomyces cerevisiae*. 2016.

QUEIROZ, L. P. Leguminosas da Caatinga. Editora Universitária da UEFS, Feira de Santana, 2009.

RAHMAN, M. M., EL-ATY, M. A., HEUI, J., CHUL, C. H., CHUL, S. S., SHIM, J. H.; **Basic Overview on Gas Chromatography Columns**, vol 3, 2015

REGNER, C. F. **Fitoterapia na clínica de pequenos animais: um futuro promissor**. Rev Pharm Bras. 2020.

RIAZ, M. B.; KHAN, A.; QAZI, N. G. **Pharmacological and computational evaluation of *Sapodilla* and its constituents for therapeutic potential in hyperactive gastrointestinal disorders**. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, Islamabad, p.1-13, 2020.

ROCHA, F. A., ARAÚJO, M. F., COSTA, N. D., SILVA, R. P. **O uso terapêutico da flora na história mundial**. Holos. 1, 49-61, 2015.

RODRIGUES, M.R.A.; **Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona e orégano**, Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 163p, 2002.

RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; CASALI, V.W.D.; FINGER, F.L.; CECON, P.R.; **Rev. Bras. Pl. Med.**, 8, 175, 2006.

ROMANOSKI, V. S.; FONSECA, A. Orbital: The Electronic Journal of Chemistry Atividade citotóxica e antioxidante de *Mimosa verrucosa* Benth . v. 9, n. 2, 2017.

ROMANOSKI, V. S.; FONSECA SANTOS, R. A. Cytotoxic and antioxidant activity of *Mimosa verrucosa* benth. **Orbital**, v. 9, n. 2Special Issue, p. 100– 104, 2017.

RUBIOLO, P.; SGORNIBI, B.; LIBERTO, E.; CORDERO, C.; BICCHI, C. **Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis: A review**, Flavour and Fragrance Journal, v. 25, 5, p. 282-290, 2012.

SAAD, B. **Greco-Arab and Islamic Herbal Medicine: A Review**. European Journal of Medicinal Plants, 249-258, 2014.

SAINTO, M.L.; SCRAMIN, S.; **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**, São Paulo: EMPRAPA, 48p, 2000.

SALAPOVIC, H; GEIER, J.; REZNICEK, G. **Quantification of sesquiterpene lactones in *Asteraceae* plant extracts: evaluation of their allergenic potential**. Sci Pharm 81:807–818, 2013.

SANDES, A.R.R.; DI BLASI, G. Biodiversidade e diversidade química e genética. **Biociência Ciência & Desenvolvimento**, p. 28-32, 2000.

SARTORELLI, P. **A química das plantas medicinais**. Conselho Regional de química IV – CRQ4. São Paulo, 2015.

SANTOS, R. P.; NUNES, E. P.; NASCIMENTO, R. F.; SANTIAGO, G. M. P.; MENEZES, G. H. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. Chemical composition and larvicidal

activity of the essential oil of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 17(5): 1027-1030, 2006.

SANTOS, M. T. S.; PONTES, M. A. N.; MORAIS, M. F. S. Moraes; NETA, M. N. S.; SILVA, D. D. **Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de massas (CG-EM) e suas diversas aplicações**. Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Educação e Saúde Campus Cuité PB, 2016.

SARAIVA, S. R.; SARAIVA, H. C.; DE OLIVEIRA JUNIOR, R. G.; SILVA, J. C., DAMASCENO, C. M.; DA SILVA ALMEIDA; J. R., AMORIM, E. L. **A implantação do programa de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema público de saúde no Brasil: uma revisão de literatura**. Revista Interdisciplinar de Pesquisa e Inovação, 2015.

SCHEFFER, M. C. **Recomendações técnicas para cultivo das plantas medicinais selecionadas pelo projeto de fitoterapia do SUD/PR**. Curitiba: Secretaria do Estado de Saúde. Fundação Caetano Munhoz da Rocha. Projeto de Fitoterapia. p. 8. 1989.

SCHWARTZ, D.C. **Interaction of mRNA translation and mRNA degradation in *Saccharomyces cerevisiae***. Translation control of gene expression. Edited by: Sonenber NHJWBMMB, Cold Spring Harbor, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 807-825, 2000.

SCOTT, D.; MILLER, W.; GRIFFIN, C. **Small animal dermatology**, ed. 6. Saunders, Philadelphia, 2011.

SIAK, M.; BURROWS, M. Flea control in cats: new concepts and current armourey. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 15, n. 1, p. 31-40, 2013.

SICARD, D.; LEGRAS, J-L. **Bread, beer and wine: Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex**. C. R. Biologies, n. 334, p. 229–236, 2011.

SILVA, S. A. de N. M. et al. Phytochemical and biological prospection of *Mimosa genus* plants extracts from Brazilian northeast. **Phytochemistry Letters**, v. 39, p. 173–181, 2020.

SILVA, M. K. N.; CARVALHO, V. R. A.; EDINARDO, M. F. F. Chemical profile of essential oil of *Ocimum gratissimum* L. and evaluation of antibacterial and drug resistance-modifying activity by gaseous contact method. **Pharmacognosy Journal**, 2012.

SILVA Jr, A. A. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí: Epagri, 2000.

SILVA, W.M.O. et al. Uso popular de plantas medicinais na promoção da saúde animal em assentamentos rurais de Seropédica – RJ. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 20, n. 1, p. 32-36, 2013.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6º ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 4.ed.; Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 824p, 2002.

SIMÕES-PIRES, C. A.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; MENTZ, L. A.; MATZENBACHER, N. I.; LIMBERGER, R. P.; HENRIQUES, A. T. G. **Pl. Syst. Evol.**, 253, 23 2005.

SIMON, M. F.; GREYER, R.; QUEIROZ, L. P.; SARKINEN, T. E.; DUTRA, V. F. & HUGHES, C. E. The evolutionary history of *Mimosa* (*Leguminosae*): Toward a phylogeny of the sensitive plants. *Am. J. Bot.* 98:1201-1221, 2011.

SOHRABI, R. et al. **A administração sistêmica repetida do óleo essencial de canela possui atividades ansiolíticas e antidepressivas em camundongos.** *Iran J Basic Med Sci, Iran,* 20, p. 708-714, 2017.

SOUSA, C. A.; HALLIWELL, R. E. W. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog. **Veterinary Immunology and immunopathology**, v. 81, n. 3-4, p. 233-237, 2001.

STEENSELS, J.; VERSTREPEN, K. J. **Taming Wild Yeast:** Potential of Conventional and Nonconventional Yeasts in Industrial Fermentations. *Annu. Rev. Microbiol.*, v. 68, p. 61–80, 2014.

SUZUKI, É. Y. et al. Antimicrobial activity of essential oil from *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja-amarga). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 3, p. 346–358, 2017.

STICHER, O.; HEILMANN, J.; ZUNDORF, I. HANSEL. **Sticher Pharmakognosie-Phytopharmazie**, 10th ed.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Press: Stuttgart, Germany, pp. 666–667, 2015.

STICHER, O.; HEILMANN, J.; ZUNDORF, I. HANSEL. **Sticher Pharmakognosie-Phytopharmazie**, 10th ed.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Press: Stuttgart, Germany, 2015; p. 664, 2015.

TAIZ, L., ZEIGER, E., et al. Fisiologia e desenvolvimento vegetal, 6ª edição, **Artemed**, 2017.

TIAN, M. et al. **Chemical Constituents and Cytotoxic Activities of Essential Oils from the Flowers, Leaves and Stems of *Zingiber striolatum* Diels.** *Records Of Natural Products*, s.l., v. 14, n. 2, p.144-149, 2020.

TISSOT, E.; SCARPA, K.; WINKEL, K. T. **Destilação por arraste a vapor.** Pelotas, p.4, 2014.

TSUKUDA, T.; FLEMING, A. B.; NICKOLOFF, J. A.; OSLEY, M.A. **Chromatin remodelling at a DNA double-strand break site in *Saccharomyces cerevisiae*.** *Nature*, 438 (7066): 379-383, 2005.

VALÉRIO, E.; VILARES, A.; CAMPOS, A.; PEREIRA, P.; VASCONCELOS, V. **Effects of microcystin-LR on *Saccharomyces cerevisiae* growth, oxidative stress and apoptosis.** *Toxicon*, 90(1), 2014.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (*Asteraceae*): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Quim Nova* 28: 85-94, 2005

VON MUHLEN, C.; **Caracterização química de compostos nitrogenados de petróleo brasileiro e de óleos voláteis de plantas brasileiras usando cromatografia gasosa bidimensional abrangente**, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 186p, 2007.

WOOD, L.; GILES-CORTI, B.; BULSARA, M., BOSCH, D. More than a furry companion: The ripple effect of companion animals on neighbourhood interactions and sense of community. **Society and Animals**, 15: 43–56, 2007.

WOOD, L.; MARTIN, K.; CHRISTIAN, H.; HOUGHTON, S.; KAWACHI, I.; VALLESI, S.; McCUNE, S. **Social capital and pet ownership** – A tale of four cities. *SSM - Population Health*, 5(3): 442–447, 2017.

XIE, Q. et al. **The Antitumor Efficacy of β -Elemene by Changing Tumor Inflammatory Environment and Tumor Microenvironment.** *Biomed Research International*, s.l., v. p.1-13, 2020.

YATAGAI, M.; OHIRA, T.; NAKASHIMA, K. Composition, miticidal activity and growth regulation effect on radish seeds of extracts from *Melaleuca* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, n. 7, p. 713-722, 1998.

YOUNG, J.; BOWEN-SALTER, H.; O'DWYER, L.; STEVENS, K.; NOTTLE, C.; Baker, A. A qualitative analysis of pets as suicide protection for older people. *Anthrozoos*, 33(2): 191–205, 2020.

ZHANG, Y. et al. The complete mitochondrial genome sequences of the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (*Siphonaptera: Pulicidae*) support the hypothesis that *C. felis* isolates from China and USA were the same *C. f. felis* subspecies. **Acta Tropica**, v. 217, p. 105880, 2021.

ZINI, C.A.; SCHOSSLER, P.; SCHNEIDER, G.L.; WUNSCH, D.; SOARES, G.L.G.; **J. Braz. Chem. Soc.**, 20, 277, 2009.

ZUNINO, M.P. et al. Essential oil composition of *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, n.1, p.29-30, 2004.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Testar os compostos majoritários isoladamente;
- Análise da atividade anticolinesterásica com a enzima acetilcolinesterase;
- Determinação de parâmetros de inibição, como o tipo de inibição e a constante de inibição;
- Testes in vivo e proposição de formulação para uso em animais.

ANEXOS

Espectros da identificação dos compostos por cromatografia gasosa da espécie *B. trimera* (Figuras 22 ao 27).

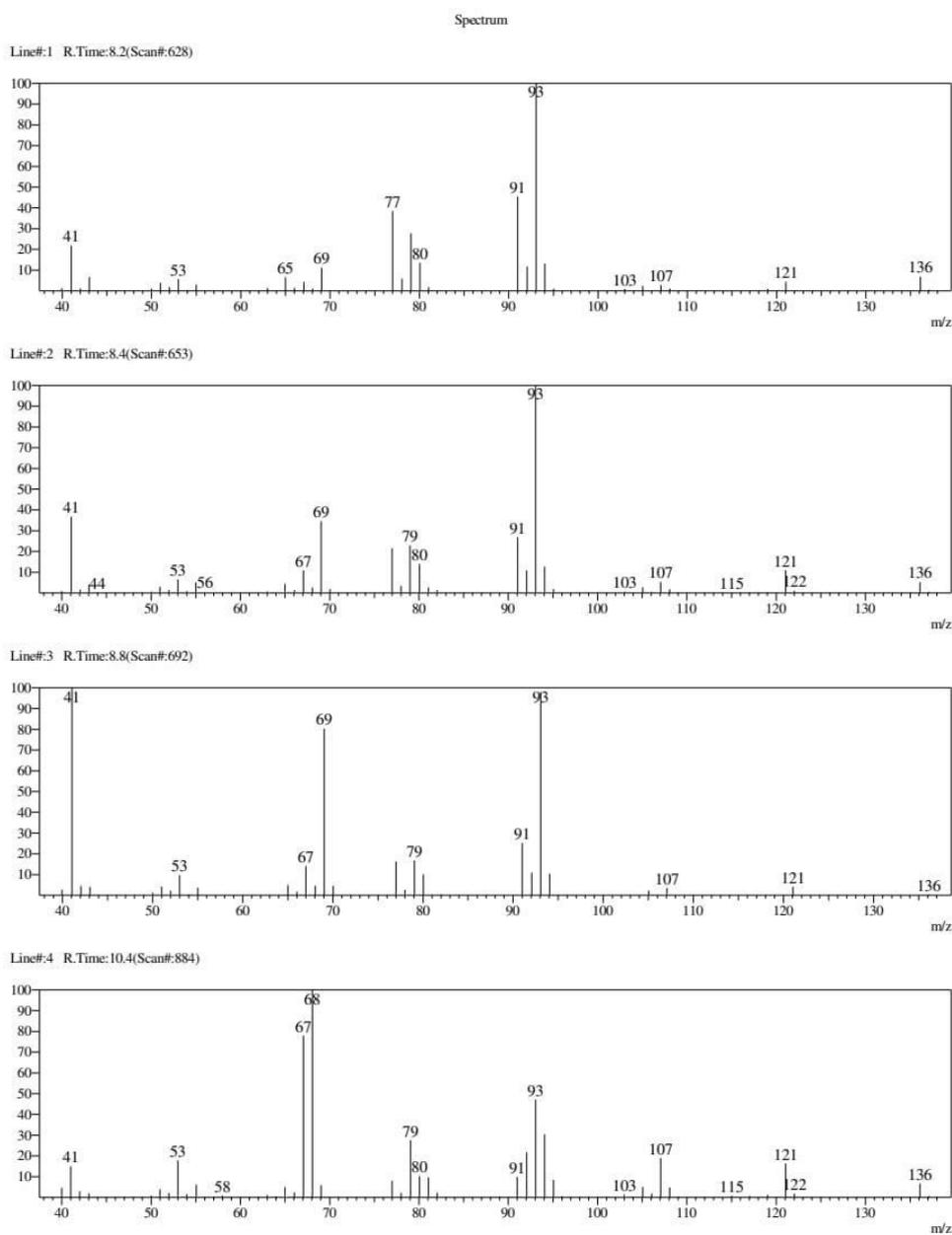
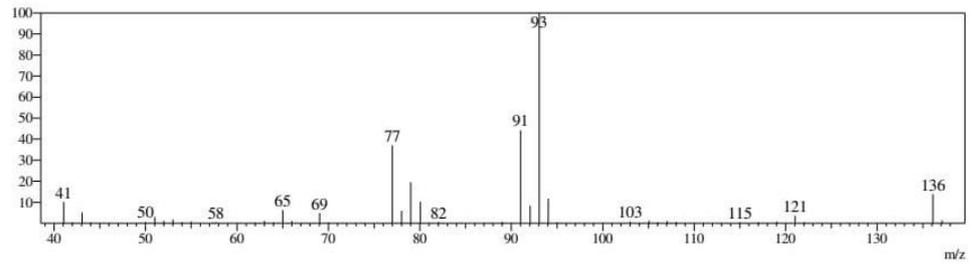
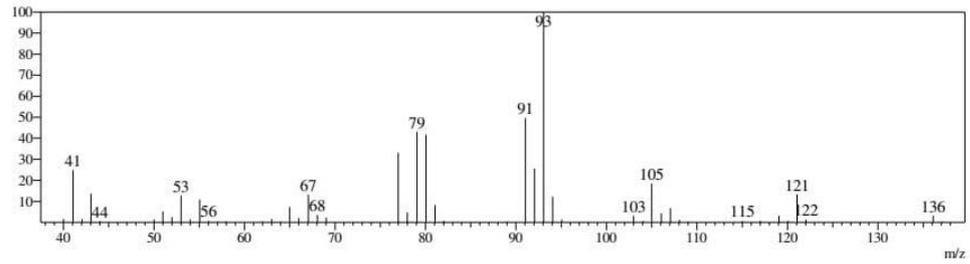


Figura 22: Espectro da espécie *Baccharis trimera* nas eluições 1 a 4.

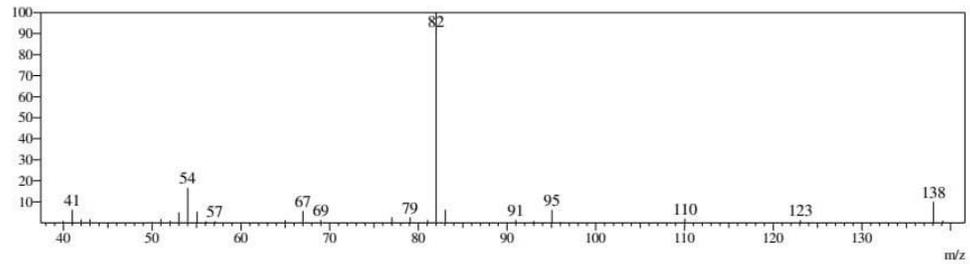
Line#5 R.Time:10.4(Scan#:893)



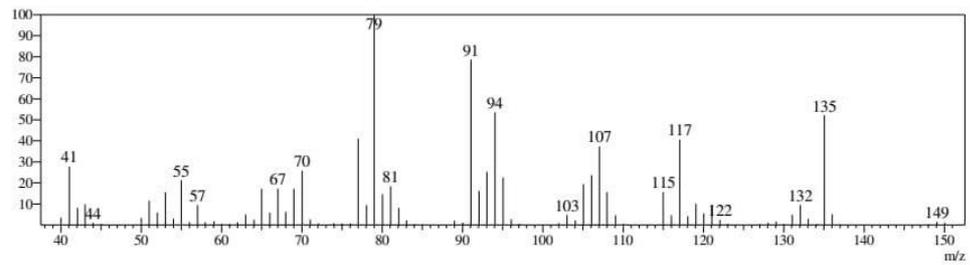
Line#6 R.Time:11.0(Scan#:963)



Line#7 R.Time:14.3(Scan#:1361)



Line#8 R.Time:16.0(Scan#:1560)



Line#9 R.Time:16.9(Scan#:1663)

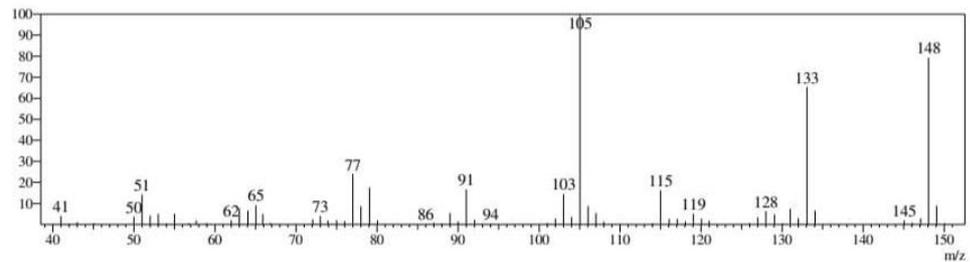
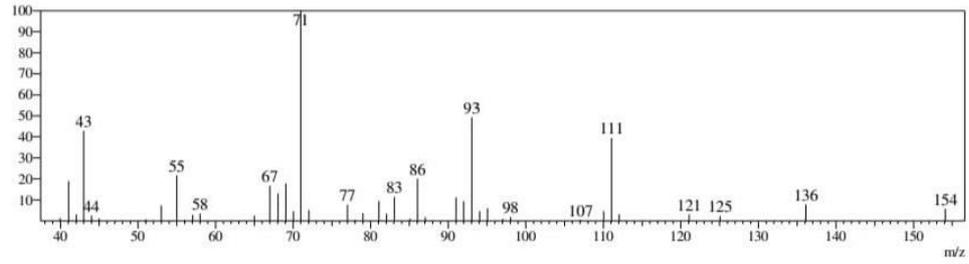
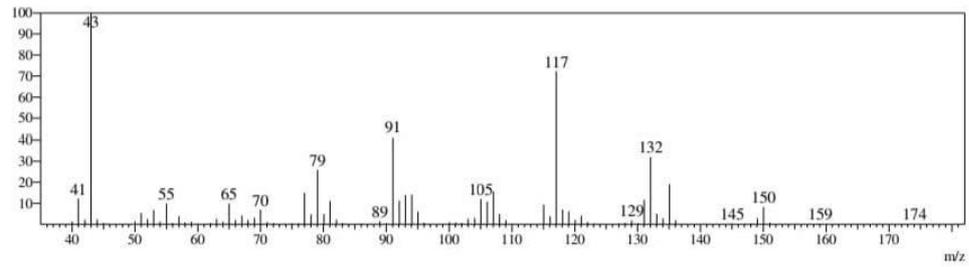


Figura 23: Espectro da espécie *Baccharis trimera* nas eluições 5 a 9.

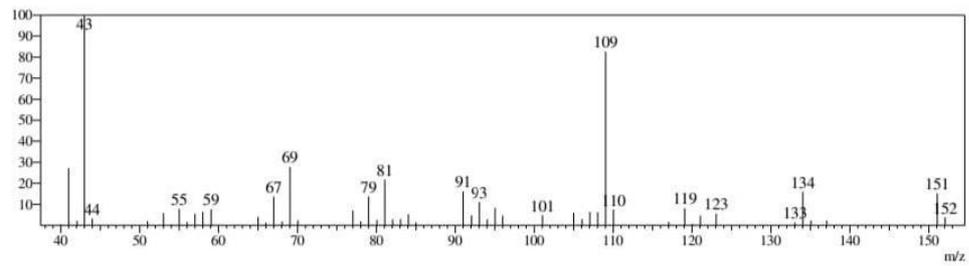
Line#:10 R.Time:17.0(Scan#:1676)



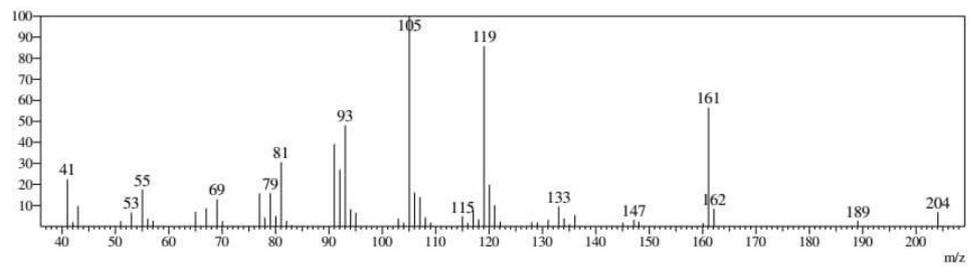
Line#:11 R.Time:22.1(Scan#:2292)



Line#:12 R.Time:22.5(Scan#:2342)



Line#:13 R.Time:25.5(Scan#:2697)



Line#:14 R.Time:26.1(Scan#:2770)

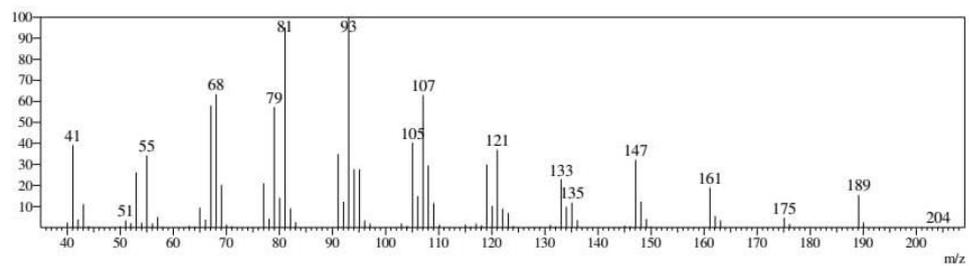


Figura 24: Espectro da espécie *Baccharis trimera* nas eluições 10 a 14.

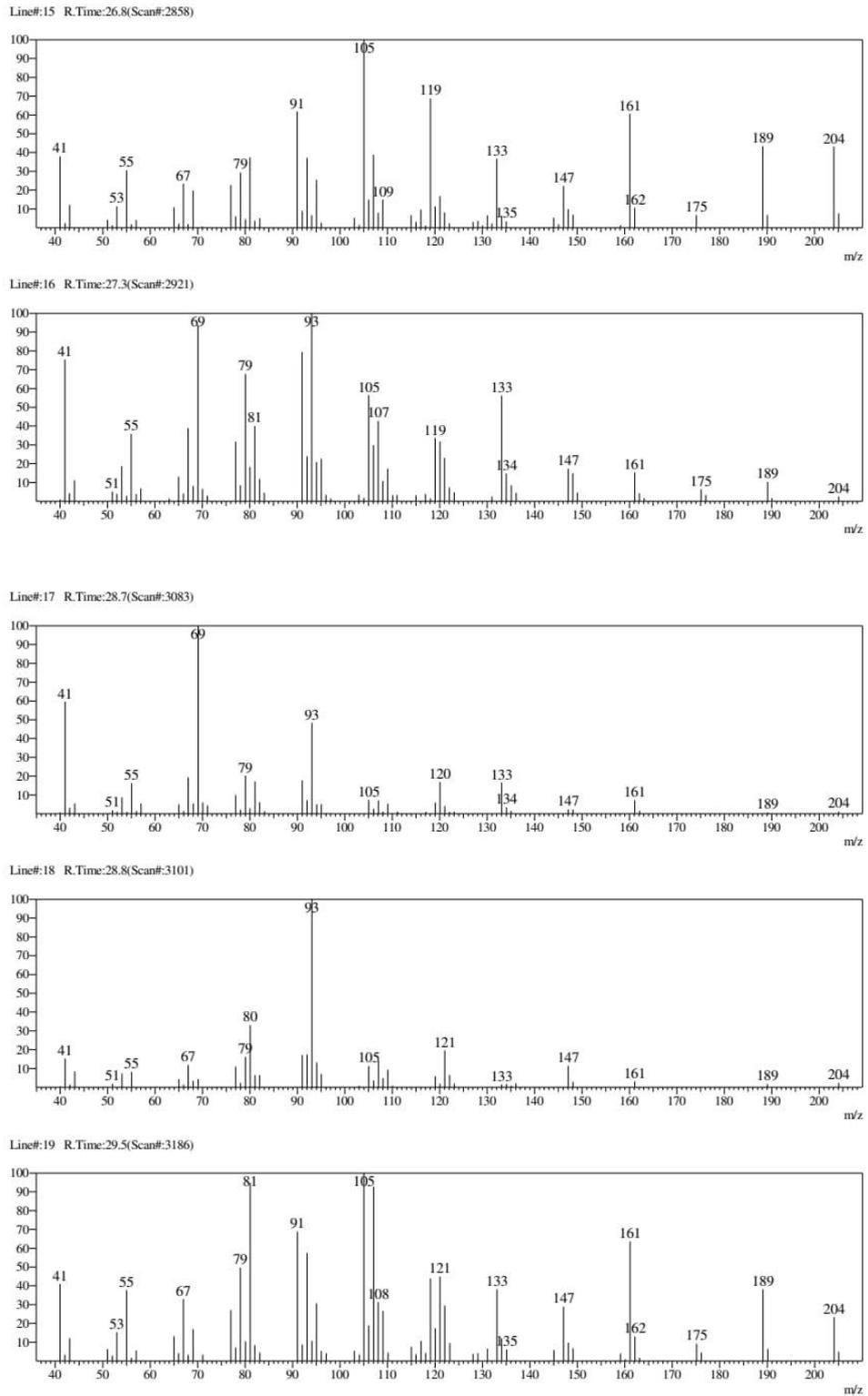
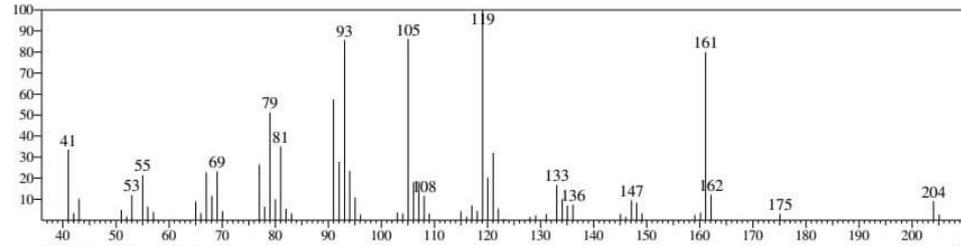
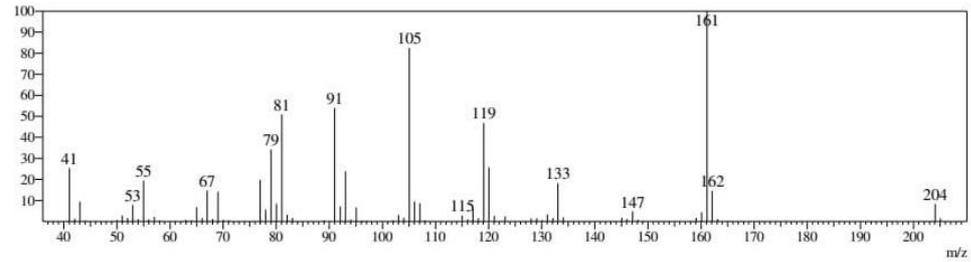


Figura 25: Espectro da espécie *Baccharis trimera* nas eluições 15 a 19.

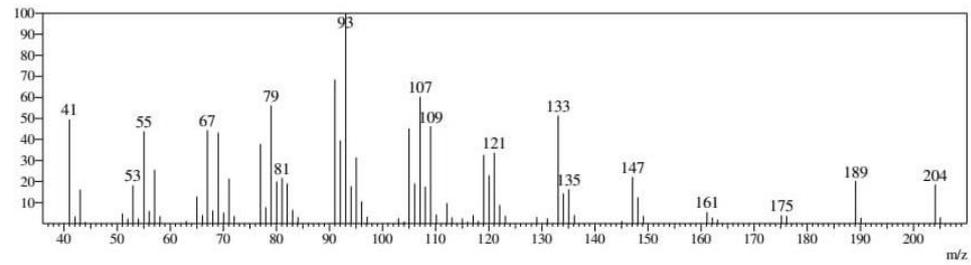
Line#:20 R.Time:29.6(Scan#:3198)



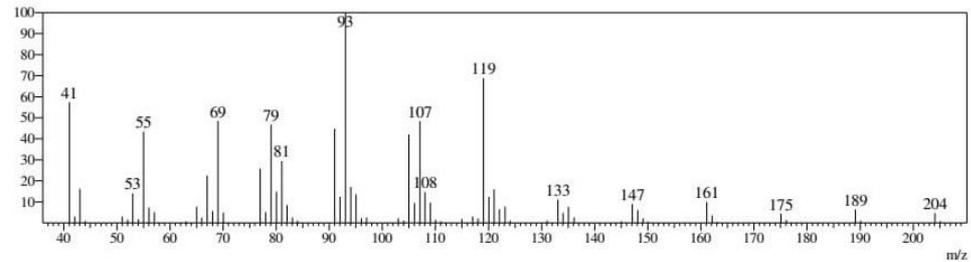
Line#:21 R.Time:29.9(Scan#:3230)



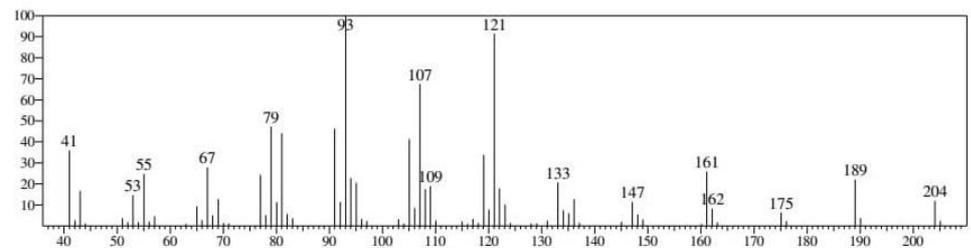
Line#:22 R.Time:30.0(Scan#:3239)



Line#:23 R.Time:30.2(Scan#:3270)



Line#:24 R.Time:30.5(Scan#:3301)



Line#:25 R.Time:30.6(Scan#:3315)

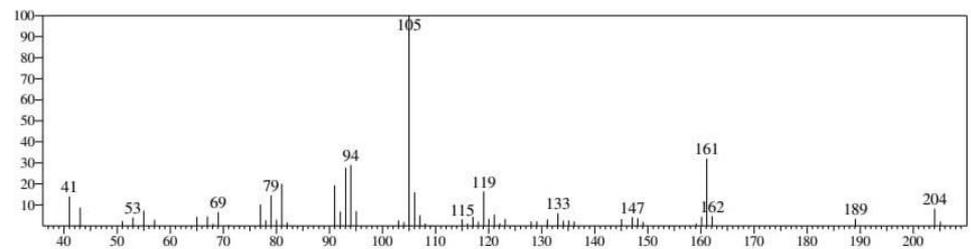
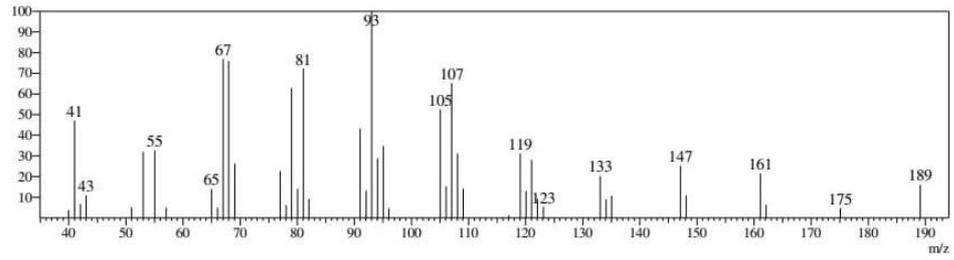
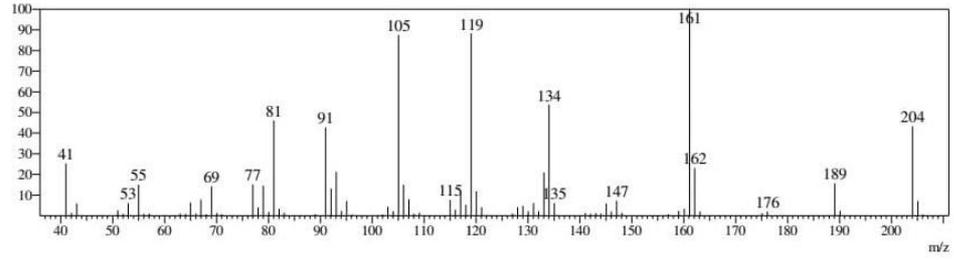


Figura 26: Espectro da espécie *Baccharis trimera* nas eluições 20 a 25.

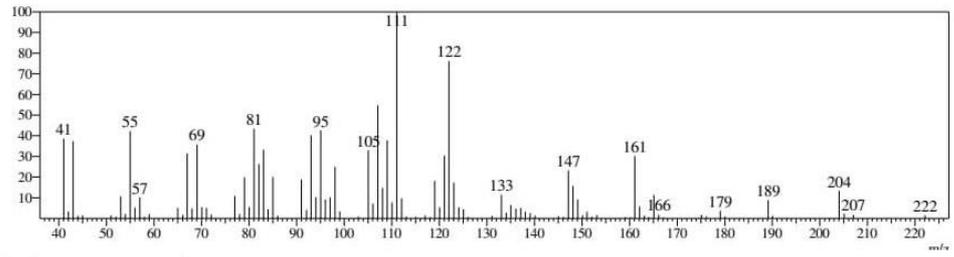
Line#:26 R.Time:31.0(Scan#:3357)



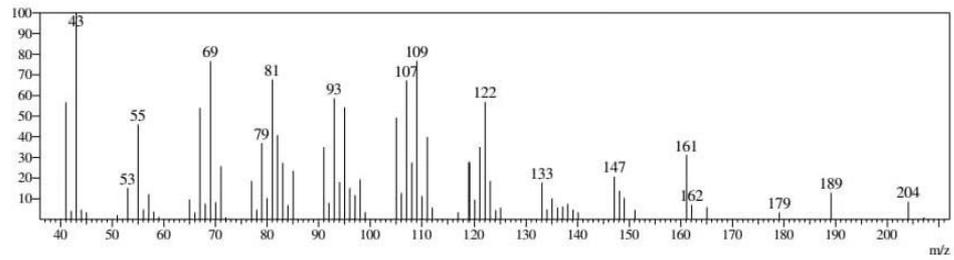
Line#:27 R.Time:31.4(Scan#:3408)



Line#:28 R.Time:33.5(Scan#:3661)



Line#:29 R.Time:34.8(Scan#:3819)



Line#:30 R.Time:36.7(Scan#:4048)

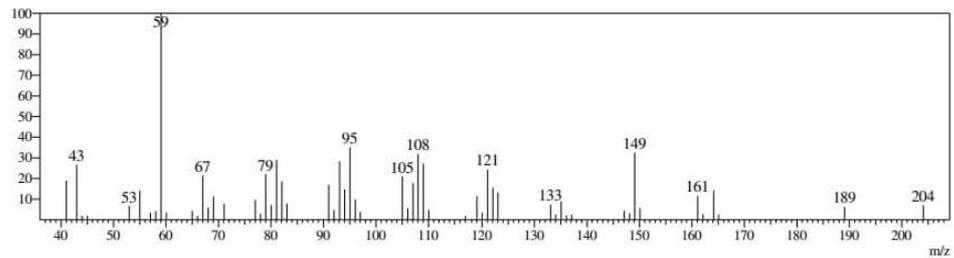


Figura 27: Espectro da espécie *Baccharis trimera* nas eluições 26 a 30.

Espectros da identificação dos compostos por cromatografia gasosa da espécie *M. verrucosa* (Figuras 28 ao 33).

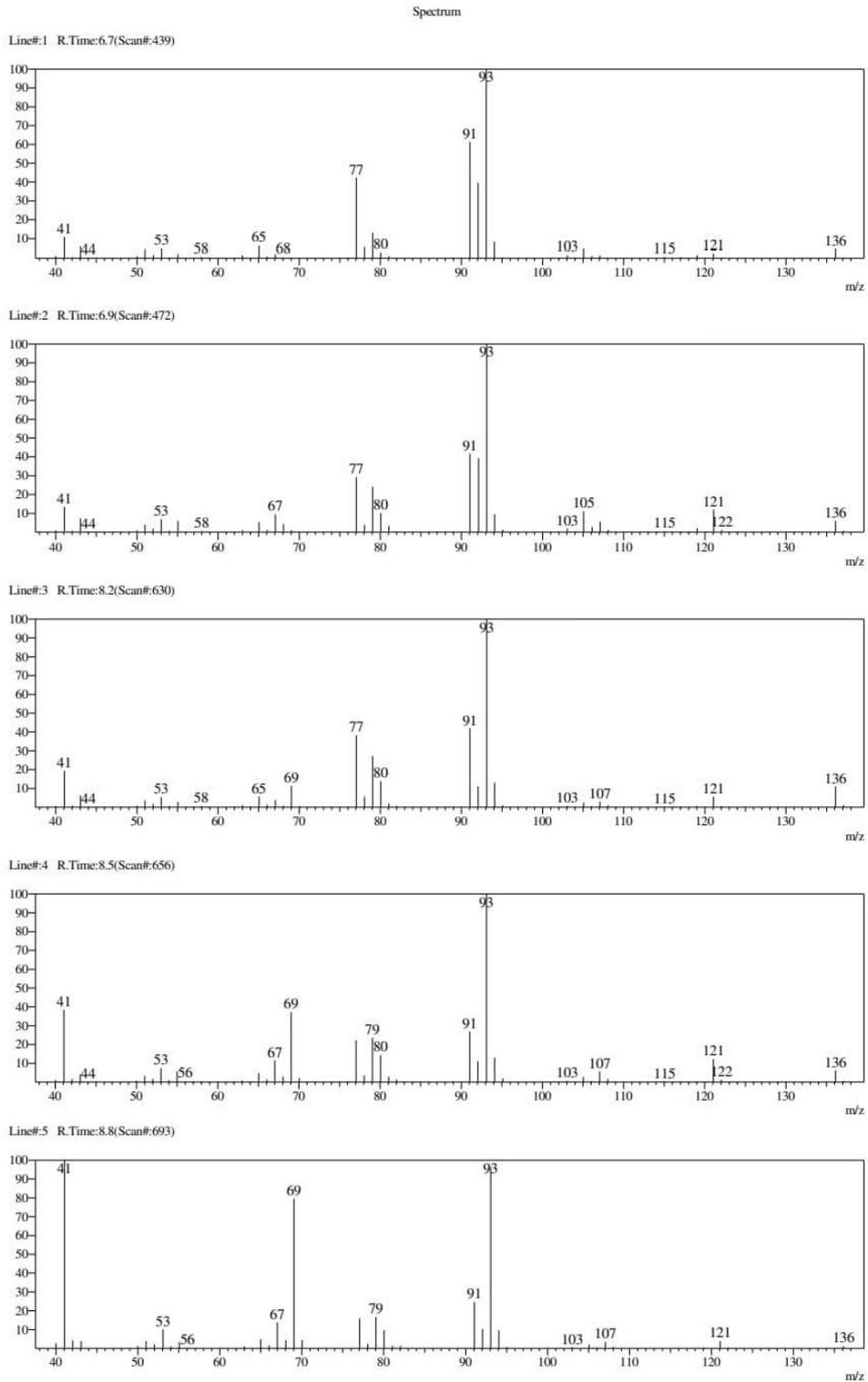
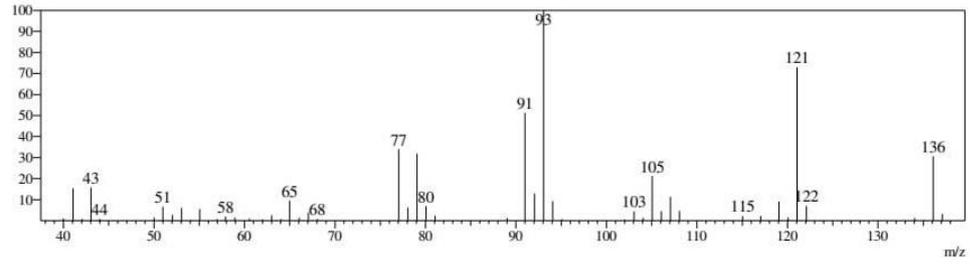
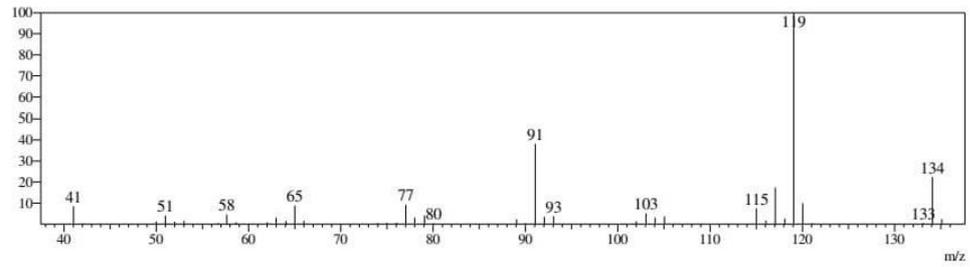


Figura 28: Espectro da espécie *Mimosa verrucosa* nas eluições 1 a 5.

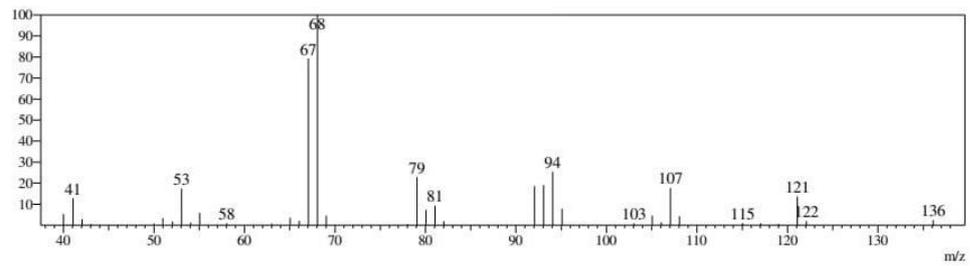
Line#6 R.Time:9.9(Scan#:825)



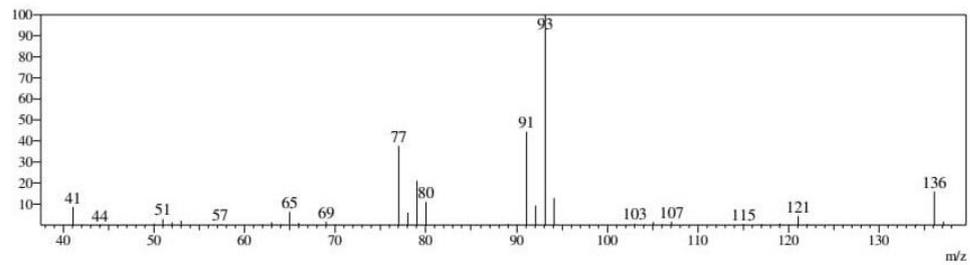
Line#7 R.Time:10.2(Scan#:864)



Line#8 R.Time:10.4(Scan#:885)



Line#9 R.Time:10.4(Scan#:895)



Line#10 R.Time:10.5(Scan#:902)

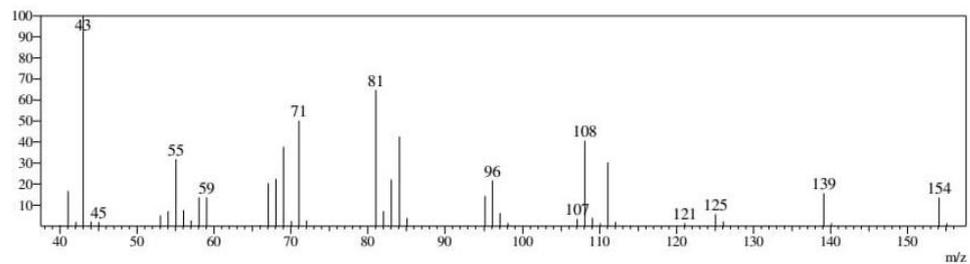
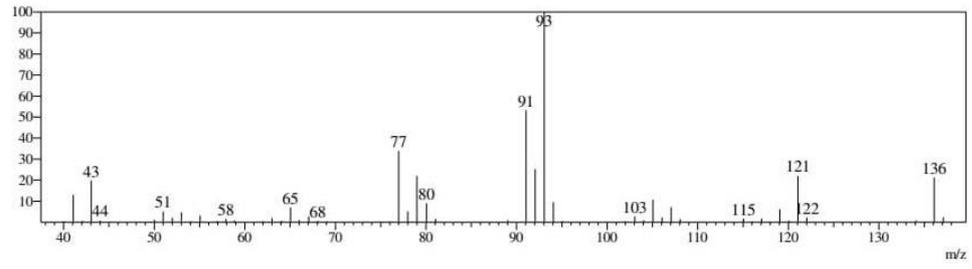
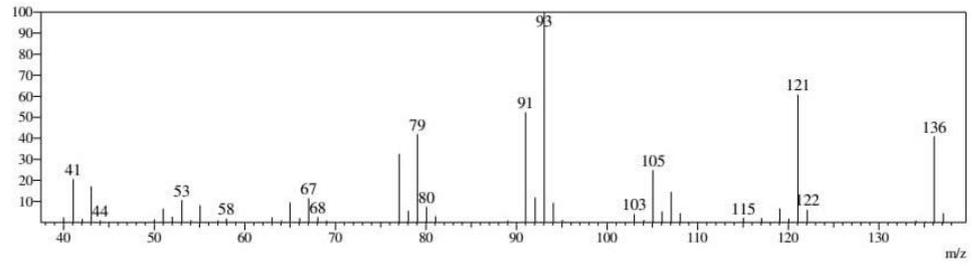


Figura 29: Espectro da espécie *Mimosa verrucosa* nas eluições 6 a 10

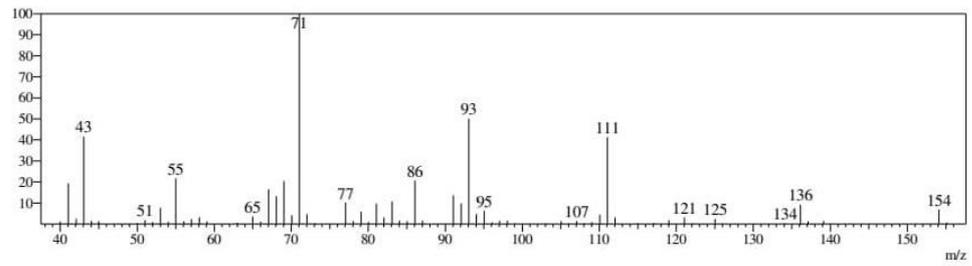
Line#:11 R.Time:11.6(Scan#:1027)



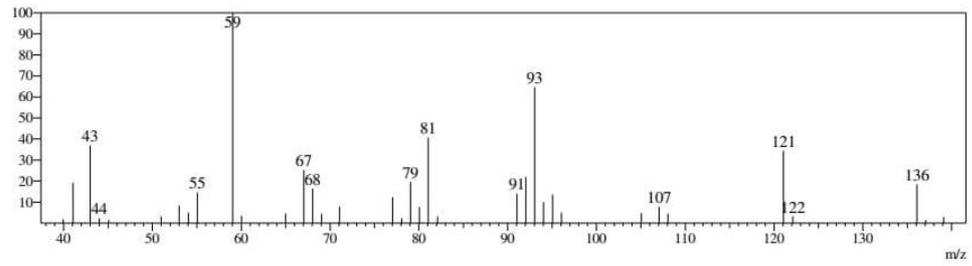
Line#:12 R.Time:12.7(Scan#:1165)



Line#:13 R.Time:17.0(Scan#:1678)



Line#:14 R.Time:17.6(Scan#:1757)



Line#:15 R.Time:25.2(Scan#:2665)

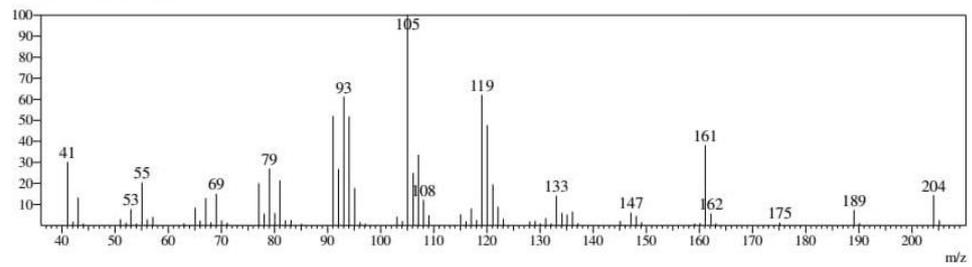
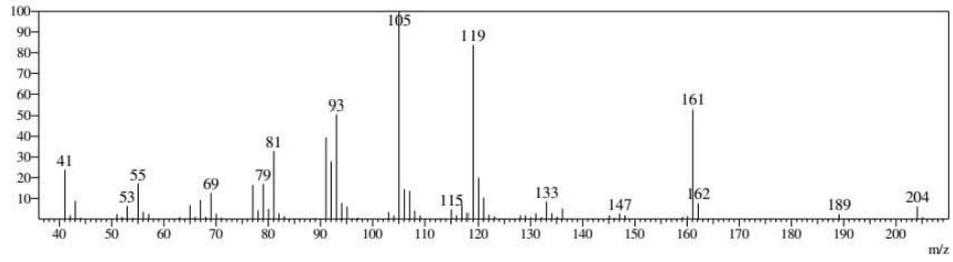
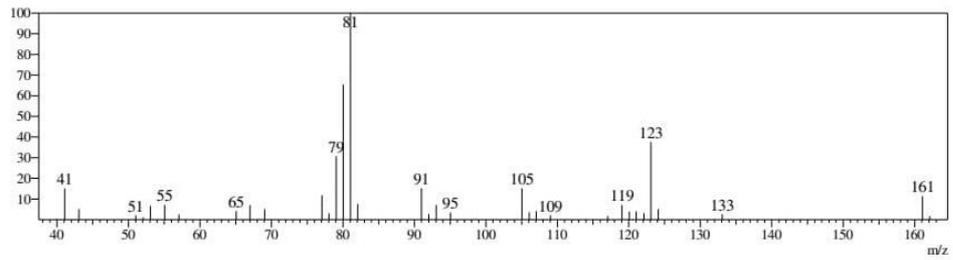


Figura 30: Espectro da espécie *Mimosa verrucosa* nas eluições 11 a 15

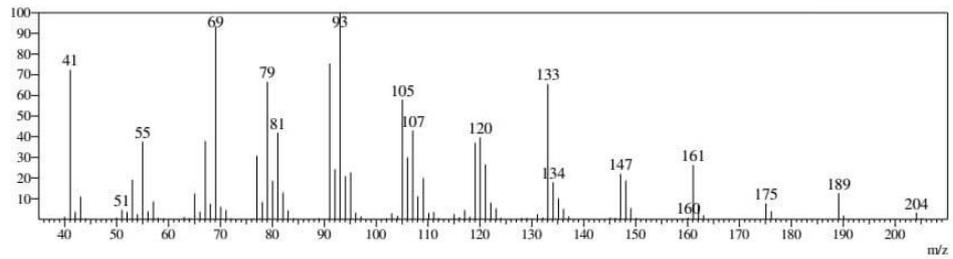
Line#:16 R.Time:25.5(Scan#:2698)



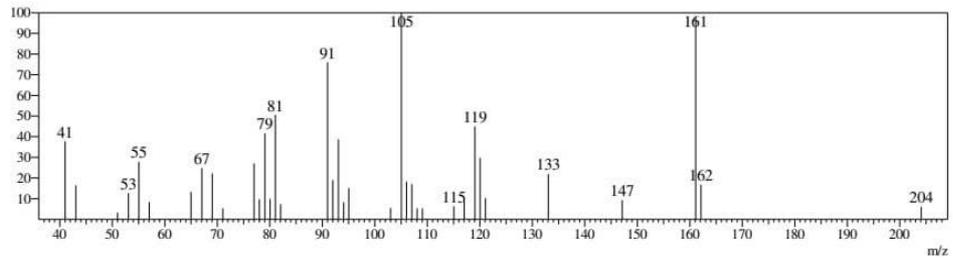
Line#:17 R.Time:25.8(Scan#:2739)



Line#:18 R.Time:27.4(Scan#:2928)



Line#:19 R.Time:27.8(Scan#:2974)



Line#:20 R.Time:28.6(Scan#:3069)

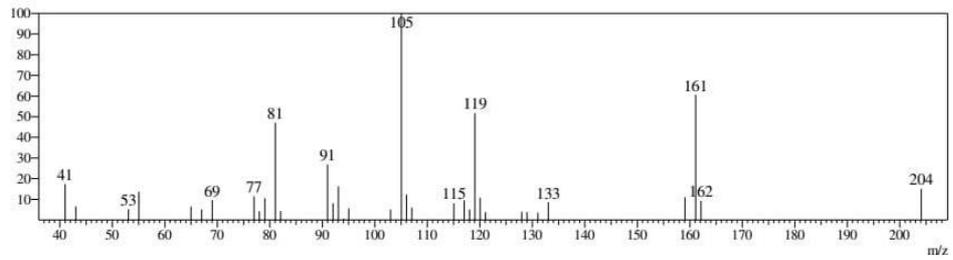
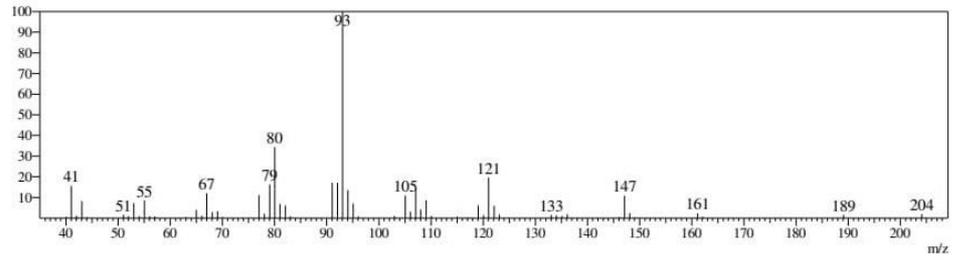
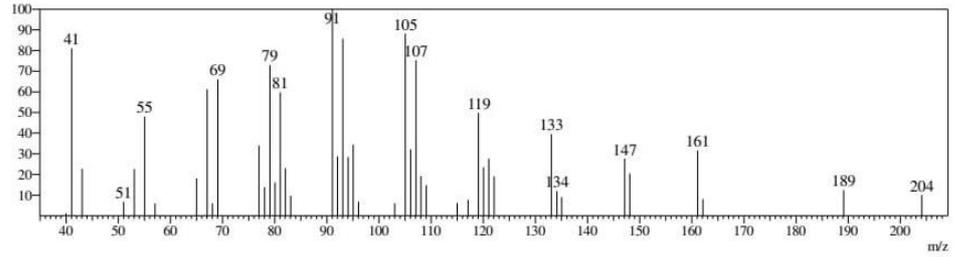


Figura 31: Espectro da espécie *Mimosa verrucosa* nas eluições 16 a 20

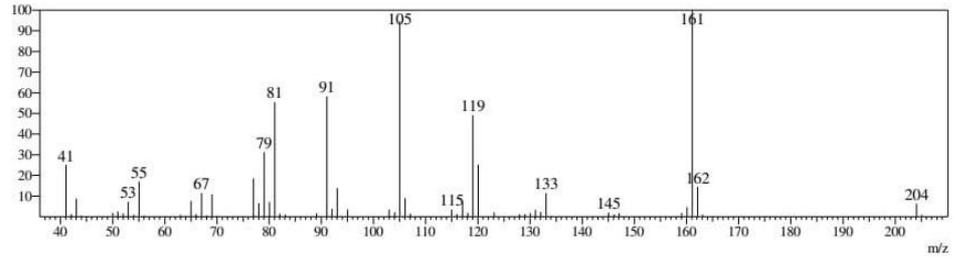
Line#:21 R.Time:28.8(Scan#:3102)



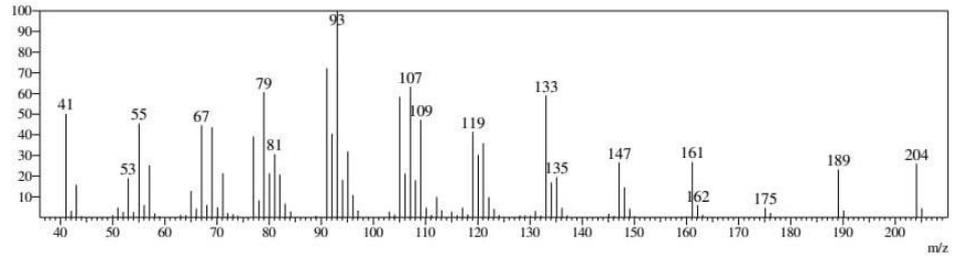
Line#:22 R.Time:29.0(Scan#:3124)



Line#:23 R.Time:29.9(Scan#:3231)



Line#:24 R.Time:30.0(Scan#:3242)



Line#:25 R.Time:30.5(Scan#:3301)

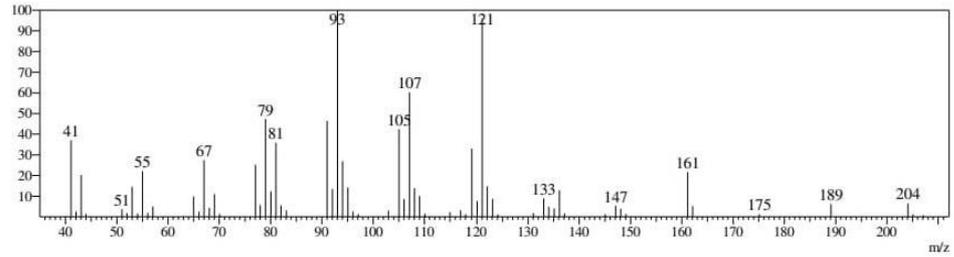
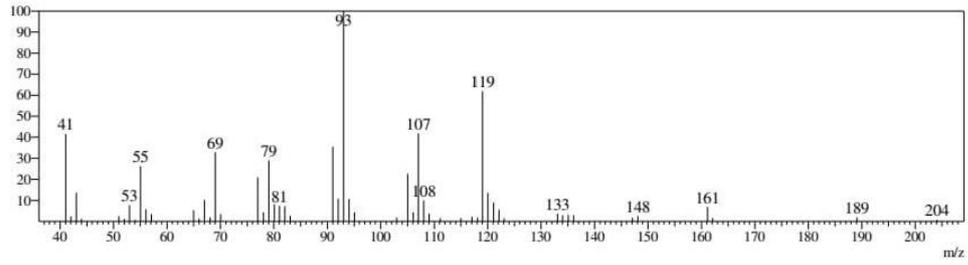
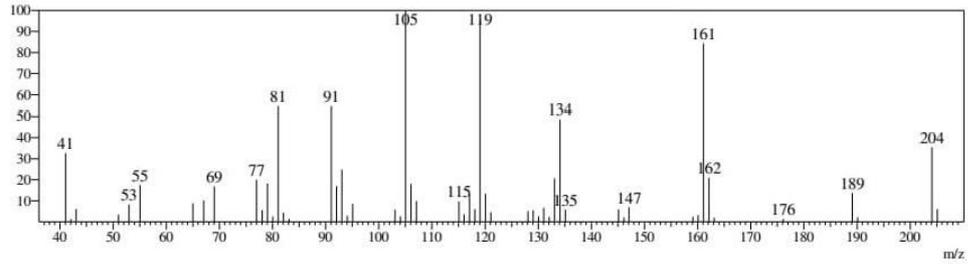


Figura 32: Espectro da espécie *Mimosa verrucosa* nas eluições 21 a 25

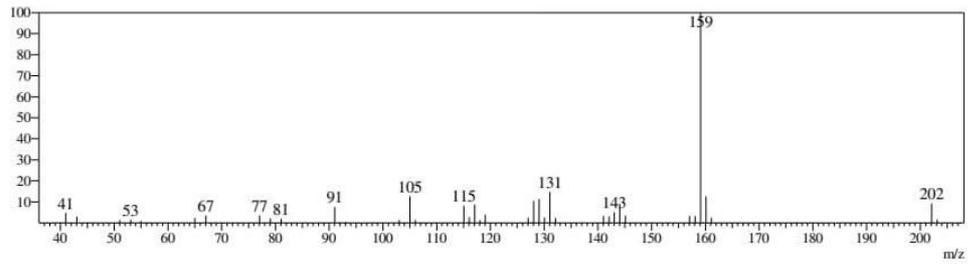
Line#:26 R.Time:30.7(Scan#:3327)



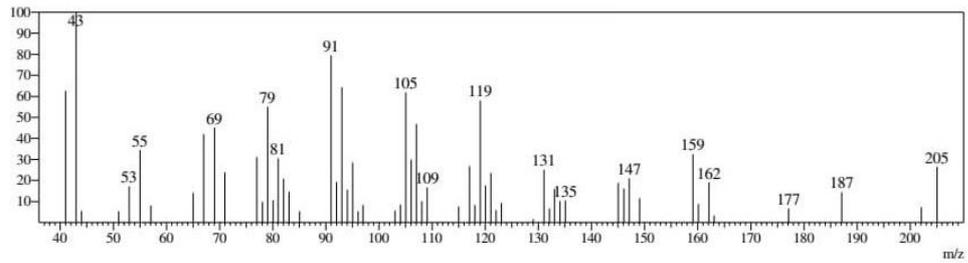
Line#:27 R.Time:31.4(Scan#:3408)



Line#:28 R.Time:31.6(Scan#:3427)



Line#:29 R.Time:33.8(Scan#:3692)



Line#:30 R.Time:34.0(Scan#:3715)

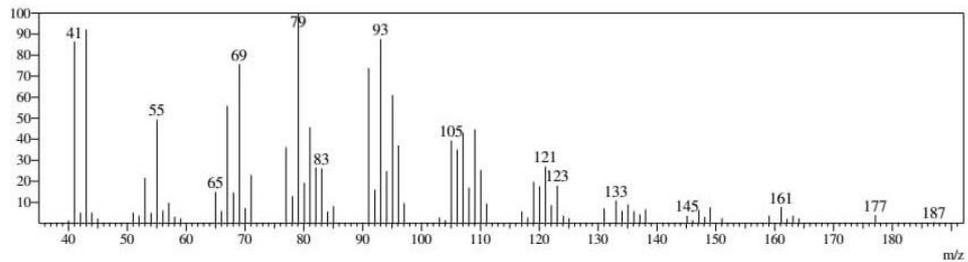


Figura 33: Espectro da espécie *Mimosa verrucosa* nas eluições 26 a 30