

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS-UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA-ICET
CURSO DE BACHARELADO EM FÁRMACIA

ANTONIA TAVARES BARBOSA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DAS FOLHAS de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Vismia cayennensis*
(Jacq.) Pers.**

ITACOATIARA- AM
2022

ANTONIA TAVARES BARBOSA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DAS FOLHAS de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Vismia cayennensis*
(Jacq.) Pers.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal do Amazonas, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Dominique Fernandes de Moura do Carmo.

**ITACOATIARA- AM
2022**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Barbosa, Antonia Tavares

B238c Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers. / Antonia Tavares Barbosa. 2022
27 f.: 31 cm.

Orientadora: Dominique Fernandes de Moura do Carmo
TCC de Graduação (Farmácia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Óleo essencial. 2. Composição química. 3. Hypericaceae. 4. *Vismia*. I. Carmo, Dominique Fernandes de Moura do. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

ANTONIA TAVARES BARBOSA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DAS FOLHAS de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Vismia cayennensis*
(Jacq.) Pers.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal do Amazonas, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Dominique Fernandes de Moura do Carmo.

Itacoatiara, 18 de abril de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Dominique Fernandes de Moura do Carmo
Orientadora- ICET/UFAM

Prof. Dr. Geone Maia Corrêa
Membro-ICET/UFAM

Prof. Dr. Flávio Nogueira da Costa
Membro-ICET/UFAM

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer à Deus, pela minha vida e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrado ao longo do curso.

A minha mãe Elizia Tavares, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas mais difíceis, de desânimo e cansaço.

Ao meu pai Antônio Maquiné que apesar de todas as dificuldades sempre estava por perto me ajudando.

Aos meus irmãos, Elvis Tavares, Eleomar Tavares, Helen Tavares e Elizangela Tavares e aos meus sobrinhos, Eduardo, Nathiele, Ezequiel, Nathália, Sofia, Samira, Bia, Hélio, Elyson e Luan, que nos momentos de minha ausência dedicando ao estudo superior, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Ao meu amigo Thalison de Castro que foi muito importante nessa caminhada, sou muito grata por tudo.

Aos professores, pelas correções e ensinamentos que me permitiram um melhor desempenho no meu processo de formação profissional.

Aos funcionários do HUGV, por todo ensinamento repassado durante meu período de estágio, Gratidão!!!

À Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade de me tornar uma profissional e concessão de bolsas de pesquisa e auxílio estudantil.

À minha querida orientadora, professora Dra. Dominique Fernandes de Moura do Carmo, pela generosidade em compartilhar seu enorme conhecimento e experiência pela confiança em mim depositada, pelo apoio incondicional em todos os momentos e por acreditar nesta pesquisa.

A todos os demais que não foram citados, mas que, de forma direta e indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimentos de óleos essências extraídos de folhas frescas de <i>V. cayennensis</i> e <i>V. guianensis</i>	16
Tabela 2. Substâncias presente no OE de <i>Vismia guianensis</i>	17
Tabela 3. Substâncias presente no O.E de <i>Vismia cayennensis</i>	18
Tabela 4. Atividade antimicrobiana (valores de CIM em µg/mL) de OEVg e OEVc	20

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

OE- Óleo Essencial

V.cayennensis- *Vismia cayennensis*

V.guianensis- *Vismia guianensis*

OEVc- Óleo Essencial de *Vismia cayennensis*

OEVg- Óleo Essencial de *Vismia guianensis*

CIM- Concentração Inibitória Mínima

CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

DMSO – Dimetilsulfóxido

LB - Luria Bernati

YPD- Extrato Levedura Peptona Dextrose

TR-Tempo de Retenção

I_{kcal}- Índice de Kovats Calculado

I_{Ktab}- Índice de Kovats Tabelado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1 Coleta da amostra vegetal	13
2.1.1 Extração de óleos essenciais de folhas de <i>Vismia guianensis</i> e <i>V. cayennensis</i>	13
2.1.2 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS).....	13
2.2 Ensaio biológicos	14
2.2.1 Ensaio antimicrobiano	14
2.2.2 Microrganismos	14
2.2.3 Preparação e padronização de inóculos microbianos	14
2.2.4. Preparação de amostras de EO	15
2.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	15
2.3.1 Microdiluição para bactérias	15
2.3.2 Microdiluição para fungos.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
3.1 Rendimentos	16
3.1.1 Composição química dos óleos essenciais	17
3.2 Atividade biológica	20
3.2.1 Ensaio de microdiluição para fungos e bactérias.....	20
4. CONCLUSÃO.....	22
AGRADECIMENTOS	23
REFERÊNCIAS	23

Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Fresh *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy and *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers. Leaves

Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais das folhas de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers.

Composición química y actividades biológicas de los aceites esenciales de hojas de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy y *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers.

Received: 06/21/2021 | Reviewed: 06/29/2021 | Accept: 06/30/2021 | Published: 14/07/2021

Antonia Tavares Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8441-2699>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: antoniatavares92@hotmail.com

Vitor Hugo Neves da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1184-2241>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: hugor_ns@hotmail.com

Bruna Yuka Koide da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5228-7520>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: brunaykoide@gmail.com

Aniele da Silva Neves Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3830-9631>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: aniele.neves16@gmail.com

Isabel Reis Guesdon

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1372-250X>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: isabelbio@gmail.com

Paulo José Sousa Maia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3101-3712>

Universidade Federal do Rio de Janeiro-Macaé, Brazil

E-mail: pmlddb@gmail.com

Maxwell Adriano Abegg

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-1122>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: maxabegg@gmail.com

Geone M. Corrêa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9458-8305>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: geonemaia@ufam.edu.br

Dominique Fernandes de Moura do Carmo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8835-1619>

Universidade Federal do Amazonas, Brazil

E-mail: dominhuefmc@ufam.edu.br

RESUMO

O gênero *Vismia* Vand. apresenta espécies distribuídas na região amazônica, e são conhecidas popularmente como “Lacre” e suas cascas e folhas são utilizadas no tratamento de dermatofitoses. Este trabalho objetivou realizar o estudo da composição química dos óleos essenciais das partes aéreas das espécies *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy e *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers. e avaliar a atividade antimicrobiana frente às bactérias *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884 e *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919 bem como os fungos *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout 1923 e *Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice 1932. Sobre a composição química das amostras de óleo essencial (OE), foram identificados 46 constituintes no óleo essencial da espécie *V. guianensis* (OEVg), destes, três foram identificados como majoritários, os sesquiterpenos: *trans*-cariofileno (10,40%), α -copaeno (29,45%) e o *trans*-nerolidol (24,06%). Na amostra de óleo essencial da espécie *V. cayennensis* (OEVc) foram identificados 61 constituintes, dos quais, destacaram-se dois sesquiterpenos oxigenados como constituintes majoritários, a germacrona (25,42%) e o curzereno (25,29%). O OEVg apresentou Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 1,56 $\mu\text{g/mL}$ para cepas fúngicas da *C. parapsilosis* e o OEVc foi ativo para as bactérias *E. coli* e *S. aureus* e para a levedura *C. parapsilosis*. Os resultados obtidos sugerem o isolamento e identificação dos constituintes responsáveis pelas atividades observadas.

Palavras-chave: Óleo essencial; Composição química; Hypericaceae

ABSTRACT

The *Vismia* Vand. genus encompasses many species indigenous to the Amazon rain forest where they are popularly known as “Lacre” bark and leaves are widely employed by locals to treat dermatophytoses. The aim of this study was to investigate the chemical composition of essential oils (EOs) extracted from the aerial parts of the species *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy and *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers. and to assess their antimicrobial activity against the bacteria *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884 and *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919 as well as the fungi *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout 1923 and *Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice 1932. The analysis of the chemical composition of the essential oil extracted from *V. guianensis* leaves (EOVg) indicated 46 components, of which three sesquiterpenes predominated, namely: (E)-caryophyllene (10.40%), α -copaene (29.45%), and (E)-nerolidol (24.06%). As to the essential oil from *V. cayennensis* leaves (EOVc), 61 components were identified, of which two oxygenated sesquiterpenes stood out as the main components, namely, germacrone (25.42%) and curzerene (25.29%). EOVg exhibited Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 1.56 $\mu\text{g/mL}$ against the yeast *C. parapsilosis* whereas EOVc was active against the bacteria *E. coli* and *S. aureus* as well as the yeast *C. parapsilosis*. The results obtained in this study strongly recommend further research on the essential oils in question with a view to isolating and identifying the components responsible for their observed antimicrobial activities.

Keywords: Essential oils; Chemical composition; Hypericaceae.

RESUMEN

El género *Vismia* Vand. tiene especies distribuidas en la Región Amazónica, donde se les conoce popularmente como “Lacre” y su corteza y hojas se utilizan en el tratamiento de la dermatofitosis. Este trabajo tuvo como objetivo estudiar la composición química de los aceites esenciales de las partes aéreas de las especies *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy y *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers. y evaluar la actividad antimicrobiana frente a las bacterias *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884 y *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919 y los hongos *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout 1923 y *Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice 1932. Sobre la composición química de las muestras de Aceite Esencial (AE), se identificaron 46 constituyentes en el aceite esencial de la especie *V. guianensis* (AEVg), de los cuales tres fueron identificados como principales sesquiterpenos *trans*-cariofileno (10,40%), α - copaeno (29,45%) y *trans*-nerolidol (24,06%). En la muestra de aceite esencial de la especie *V. cayennensis* (AEVc) se identificaron 61 constituyentes, de los cuales se destacaron dos sesquiterpenos oxigenados como constituyentes mayoritarios, germacrón (25,42%) y curzereno (25,29%). AEVg tuvo una Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 1,56 $\mu\text{g/mL}$ contra cepas fúngicas de *C. parapsilosis* y AEVc fue activo contra bacterias *E. coli* y *S. aureus* y contra la levadura *C. parapsilosis*. Los resultados obtenidos sugieren el aislamiento e identificación de los constituyentes responsables de las actividades observadas.

Palabras clave: Aceite esencial; Composición química; Hypericaceae.

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais de plantas têm sido amplamente utilizados na medicina, agricultura, perfumaria e cosméticos (Paolini, *et al.*, 2010; Thuy, *et al.*, 2021; Maia, *et al.*, 2019; Krumal, *et al.*, 2015; Razavi, *et al.*, 2021; Saikia, *et al.*, 2020; Stojanovic-Radic, *et al.*, 2020). Vários grupos de pesquisa, estão atualmente realizando estudos sobre a composição química e o potencial biológico de óleos essenciais extraídos de inúmeras plantas, como *Vismia* Vand. spp. (Simões *et al.*, 2007). *Vismia* é um extenso gênero da família Hypericaceae, composta por pequenas árvores que habitam nas regiões tropicais e subtropicais da América Central e do Sul (Hussain *et al.*, 2012). Além disso, os óleos essenciais são constituídos de monoterpeno, sesquiterpeno e diterpeno.

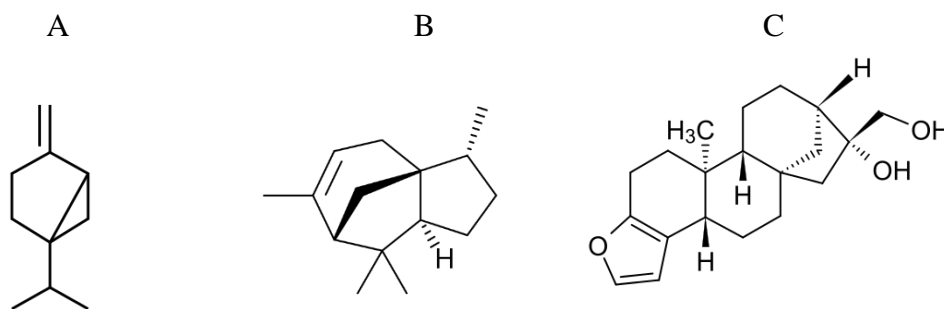


Figura 1. Estrutura dos terpenos A - Sabineno; B - Cedreno; C – Cafestol. Fonte: o autor.

Apesar da extensão deste gênero, a literatura fornece estudos científicos sobre óleos essenciais de apenas três espécies de *Vismia*. Rojas *et al.* (2011) estudando os óleos essenciais obtidos dos frutos de *V. guianensis* (Aubl.) Choisy, *V. bacífera* Planch. & Triana e o óleo essencial das folhas de *V. macrophylla* Kunth relataram atividade antimicrobiana para *V. baccifera* var. *lidarbata* (Kunth) Ewan contra os micro-organismos *Enterococcus faecalis* (Andrewes e Horder, 1906) Schleifer e Kilpper-Bälz 1984, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884 e *Bacillus cereus* Frankland 1887, com valores de CIM variando de 9 a 37 $\mu\text{g/mL}$. Outro estudo de Rojas *et al.* (2010) sobre o óleo essencial (OE) extraído do fruto de *V. baccifera* apontou atividade bactericida de amplo espectro contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani e Chalmers, 1919, *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter, 1872) Migula, 1900, e *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter, 1872) 1886) Trevisan, 1887. Por meio de análise CG-EM, os pesquisadores identificaram 27 componentes químicos no OE de *V. bacífera*, principalmente *trans*-cadin-1,4-dieno, *cis*-cadin-1,4-dieno e β -cariofileno.

Além disso, Rojas e colaboradores (2011) descreveram o potencial fungicida dos óleos essenciais de *Vismia*, de interesse da comunidade científica em identificar os componentes químicos e avaliar as ações farmacológicas deste gênero. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo investigar o perfil químico e o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais extraídos das folhas de *V. guianensis* e *V. cayennensis* (Jacq.) Pers. contra os micro-organismos *E. coli*, *S. aureus*, *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout 1923 e *Candida parapsilosis* (Ashford) Langeron e Talice, 1932.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta da amostra vegetal

Folhas frescas das partes aéreas das espécies sob investigação foram coletadas em vários locais em Itacoatiara, Brasil: *Vismia cayennensis* (03°05'36,9''S, 058°27'44,7''W Gr longitude e ±5 m de altitude) e *V. guianensis* (03°05'39,8''S, 058°27'43,8''W Gr longitude, ±4 m de altitude). Em seguida, as amostras foram identificadas e depositadas na coleção do herbário da Universidade do Estado do Amazonas, no Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara–CESIT (Voucher número 0055) e no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA (Voucher número 18448).

2.1.1 Extração de óleos essenciais de folhas de *Vismia guianensis* e *V. cayennensis*

Os óleos essenciais das folhas de *V. guianensis* e *V. cayennensis* foram obtidos por hidrodestilação de material fresco em um aparelho tipo Clevenger modificado acoplado a um balão de fundo redondo com água destilada (5 L) por aproximadamente 4 horas. Em seguida, as amostras de OE foram centrifugadas (3500 rpm) por 10 minutos para separação água/óleo, feita com uma micropipeta. As extrações foram realizadas em triplicata, com 800g de folhas frescas de ambas as espécies de *Vismia* em cada frasco. Então, as amostras de OE foram armazenadas em tubos Eppendorf, lacradas e mantidas a -4°C até análise e teste. As amostras de *V. guianensis* e *V. cayennensis* foram codificados como EOVg e EOVc, respectivamente.

2.1.2 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM)

Os óleos extraídos foram submetidos à análise em CG-EM em equipamento SHIMADZU acoplado a um espectrômetro de massas SHIMADZU QP2010. Para cromatografia dos componentes foi empregada coluna DB-5MS, com 30 m x 0,25 mm,

espessura do filme interno de 0,25µm. A identificação dos constituintes químicos foi feita por interpretação de seus respectivos espectros de massas, cálculo do Índice de Kovat's e por comparação com dados da literatura. O IA calculado foi comparado com o de compostos isolados tabelados por Adams (2007).

2.2 Ensaios biológicos

2.2.1 Ensaio antimicrobiano

O ensaio da atividade antimicrobiana foi realizado no laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia (ICET/UFAM), empregando o teste de microdiluição em microplacas para a análise do potencial antibacteriano e antifúngico do OEVg e OEVc.

2.2.2 Micro-organismos

As amostras de OE foram submetidas aos ensaios de susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*, de acordo com o protocolo descrito na literatura (VAZ *et al.*, 2009), utilizando um painel com cepas ATCC (American Type Culture Collection, EUA). A atividade antibacteriana do óleo essencial foi avaliada frente às bactérias Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), e Gram-negativa: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e os fungos *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22019).

2.2.3 Preparação e padronização de inóculos microbianos

As cepas bacterianas e fúngicas foram cultivadas em caldo Mueller Hinton por 24h à 37°C e padronizadas adicionando-se PBS pH 7,2 estéril até atingir turvação igual à suspensão do tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,0 \times 10^8$ UFC/mL). Em seguida foi realizada a leitura espectrofotométrica a 620nm para confirmação da concentração dos micro-organismos. Em seguida, foi retirado uma pequena quantidade de cepas bacterianas e fúngicas, com auxílio de uma alça estéril, e inseridos em 5 mL do caldo LB para as bactérias e 5 mL do caldo YPD para os fungos, a concentração foi confirmada através da leitura no espectrofotômetro.

2.2.4. Preparação de amostras de OE

Inicialmente foi preparada uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%, diluindo-se 100 µL de DMSO em 900 µL de água destilada estéril. Em seguida as amostras de OE_{Vg} e OE_{Vc} foram diluídas em DMSO a 10%, solubilizando 10 mg das amostras de OE em 100 µL do solvente previamente preparado, com este procedimento foram preparadas soluções estoques de cada amostra na concentração de 100 µL/mL.

Os ensaios foram realizados em cinco microplacas de ELISA de 96 poços, os quais foram divididos da seguinte maneira:

1. Poços identificados como “controle positivo e negativo” para a validação do método e aferição dos resultados: o controle positivo compreendeu o meio de cultura, suspensão bacteriana ou suspensão de leveduras e o padrão antimicrobiano de referência. O controle negativo compôs-se do meio de cultura e DMSO 10%;
2. Poços identificados como “branco”: foi realizado para cada amostra de OE, constituiu-se de meio de cultura e óleo essencial de modo a eliminar a contribuição da turvação dada pela sua coloração na avaliação dos resultados; e
3. Poços identificados como “teste”: foram formados pelo meio de cultura, mistura de óleo essencial com DMSO e pela suspensão bacteriana ou suspensão de leveduras.

2.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

2.3.1 Microdiluição para bactérias

A concentração inibitória mínima (CIM) foi realizado em triplicata na concentração de 1:2. As bactérias utilizadas foram *E.coli*, *S.aureus* e como padrão de referência (controle positivo) o antibacteriano Cloranfenicol e como controle negativo o (DMSO a 10%). Os poços das microplacas (96) foram preenchidos com 100 µL do caldo LB, nos primeiros poços foram acrescentados 100 µL da solução estoque do óleo vegetal. Inicialmente na concentração de 100 µg/mL. A partir da solução do 1º poço foi feita a diluição seriada obtendo-se concentrações de 50 a 0,39µg/mL nos demais poços das microplacas, o ensaio foi realizado em triplicada para cada concentração. Para os controles positivos, em triplicada, foram adicionados 50 µL do caldo LB acrescido com 50 µL do Cloranfenicol e para o negativo, foram adicionados 50 µL do caldo LB acrescido com 50 µL do DMSO 10%. E por fim, foram adicionados 10 µL das suspensões dos micro-organismos em cada poço e encubadas por 24h à 37°C.

2.3.2 Microdiluição para fungos

A concentração inibitória mínima (CIM) para fungos foi realizado em triplicata, utilizando as leveduras *C. albicans* e *C. parapsilosis*. Como padrão de referência (controle positivo) foi utilizado o Metanol e como controle negativo o DMSO 10%. Nos poços foram adicionados 100µL do caldo YPD, no primeiro poço foi adicionado 100 µL da solução estoque de óleo, a partir deste poço retirou-se 100 µL da solução e realizou-se a diluição seriada nos poços sequenciais, obtendo-se concentrações de 50 a 0,39 µg/mL. Para o controle positivo foi adicionado 50 µL do caldo YPD e 50 µL do Metanol e para o negativo foi adicionado 50 µL do caldo YPD e 50 µL do DMSO 10%, em triplicata. Em seguida foram adicionados 10 µL das suspensões dos micro-organismos em todos os poços, as placas foram encubadas por um período de 48h à 37°C, após esse período foi realizada a leitura visual do crescimento microbiano e a leitura com o revelador resazurina (100µg/mL), utilizado como indicador de crescimento de bactérias e fungos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimentos

A Tabela 1 mostra a variação nos rendimentos de OEVg e OEVc. O rendimento OEVg foi maior em setembro/2019 (0,04%), um período de seca intensa, e menor rendimento em novembro/2019 (0,03%), período chuvoso na região. OEVc exibiu um rendimento de 0,54% na estação seca, valor satisfatório em relação ao OEVg obtido no mesmo período. A diferença entre os valores de rendimento pode ser atribuído a vários fatores, por exemplo, temperatura, precipitação, local e hora da coleta da amostra, que podem ter efeitos críticos tanto na quantidade quanto na qualidade dos óleos essenciais.

Tabela 1. Rendimentos de óleos essenciais extraídos de folhas frescas de *V. guianensis* e *V. cayennensis*

Amostra vegetal	Mês/Ano	temperatura	Código da amostra	Massa do vegetal	Rendimento
<i>V. guianensis</i>	Setembro 2019	32°C	OEVg	800g	0,04%
	Novembro 2019	30°C		800g	0,03%
<i>V. cayennensis</i>	setembro 2019	35°C	OEVc	800g	0,54%
	Novembro 2019	30°C		800	0,24%

OEVg: Óleo essencial de *Vismia guianensis*; OEVc: Óleo essencial de *V. cayennensis*. Fonte: Autores

Os menores rendimentos dos óleos essenciais durante a estação chuvosa podem ser devidos à lixiviação, ou seja, chuvas contínuas podem resultar em perdas de substâncias hidrossolúveis em folhas e raízes. Isso pode se aplicar a plantas que produzem alcalóides, glicosídeos e até mesmo óleos voláteis (Evans, 1996; Walterman & Mole 1994).

3.1.1 Composição química dos óleos essenciais

A análise da composição química do OE_{Vg} revelou 46 componentes, dos quais os sesquiterpenos foram os mais comuns (63,91%): (E)-cariofileno (10,40%), α -copaeno (29,45%) e (E)-nerolidol (24,06%). OE_{Vc} apresentou 61 componentes químicos, nos quais foi encontrada alta proporção (50,71%) de sesquiterpenos oxigenados: germacrone (25,42%) e curzereno (25,29%). O perfil químico de ambos os óleos essenciais apresentou alta porcentagem de sesquiterpenos, principalmente sesquiterpenos de hidrocarboneto. Por exemplo, *V. guianensis* tem α -humuleno (2,84%), β -selineno (0,79%), α -guaieeno (0,16%), cipereno (0,20%), α -selineno (1,14%), α -muuroleno (0,23%) e δ -cadineno (2,27%), bem como dois sesquiterpenos oxigenado, a saber, óxido de cariofileno (0,88%) e viridiflorol (0,41%). Além desta classe de metabólitos, monoterpenos de hidrocarbonetos, como α -pineno (0,09%) e β -pineno (0,08%), e outros componentes foram identificados, embora em quantidades menores (Tabela 2).

Tabela 2. Substâncias presente no OE de *Vismia guianensis*

Substância	Classe	Área%	TR	IKcal	IKtab
α - Pineno	M.H	0,09	4,971	932,5788	0932
β - Pineno	M.H	0,08	6,091	977,8496	0974
α - Copaeno	S.H	29,45	21,361	1370,392	1374
Cipereno	S.H	0,20	22,461	1397,353	1398
Trans-cariofileno	S.H	10,40	23,154	1414,338	1417
α -Guaieene	S.H	0,16	23,830	1430,907	1437
α -Humuleno	S.H	2,84	24,621	1450,294	1452
β -Panasinseno	S.H	0,26	25,520	1472,328	1381
β -Selineno	S.H	0,79	25,980	1483,603	1489
α -Selineno	S.H	1,14	26,267	1490,637	1498
α -Muuroleno	S.H	0,23	26,425	1494,51	1500

<i>β-Bisabolene</i>	S.H	0,63	26,836	1504,583	1505
<i>δ – Cadineno</i>	S.H	2,27	27,185	1513,137	1522
<i>Sesquisabineno</i>	S.H	1,59	27,447	1519,559	1457
<i>Trans-nerolidol</i>	S.O	24,06	28,989	1557,353	1561
<i>Álcool carofileno</i>	S.O	0,29	29,385	1567,059	1570
<i>Óxidos de cariofileno</i>	S.O	0,88	29,616	1572,721	1482
<i>Guaiol</i>	S.O	0,74	30,240	1588,015	1600
<i>Viridiflorol</i>	S.O	1,04	30,493	1594,216	1482
<i>Copaborneol</i>	M.O	1,41	30,689	1598,873	NI
<i>Agarospírol</i>	S.O	2,80	31,289	1613,725	1646
<i>Trans-Cadina-1(6),4-diene</i>	S.O	0,94	31,957	1630,098	1461
<i>Cadina-4-eno-10-ol</i>	S.O	0,89	32,035	1632,01,	1634
<i>α-Muurool</i>	S.O	0,62	32,135	1634,461	1644
<i>Intermedeol</i>	M.O	2,04	32,531	1644,167	1665
<i>α-Bisabolol</i>	S. O	1,39	33,615	1670,735	1385
Total		87,23			

Fonte: **Adams, 2017**. TR: Tempo de Retenção; IKc: Índice de Kovats calculado; IKtb: Índice de Kovats tabelado; NI: Não Identificado; SH: Sesquiterpeno de hidrocarboneto; SO: Sesquiterpeno oxigenado; MO: Monoterpeno oxigenado; MH: Monoterpeno de hidrocarboneto.

A análise do OEVC indicou a presença de monoterpenos hidrocarbonetos como α -pineno (0,08%), sabineno (0,04%), mirceno (0,24%), limoneno (0,10%) e terpinoleno (0,02%). Porcentagens mais altas foram encontradas para sesquiterpenos de hidrocarbonetos, por exemplo, como (E)-carofileno (2,15%) e β -selineno (0,42%), bem como sesquiterpenos oxigenados, por exemplo, viridiflorol (0,45%), espatulenol (0,86%) e óxido de carofileno (0,97%). Da mesma forma, pequenas porcentagens de outros componentes foram identificados, como mostrado na (tabela 3).

Tabela 3. Substâncias presente no O.E de *Vismia cayennensis*

<i>Substância</i>	<i>Classe</i>	<i>Área %</i>	<i>TR</i>	<i>IKcal</i>	<i>IKtab</i>
<i>α-Pineno</i>	M.H	0,08	4,93	931,2449	0932
<i>Sabineno</i>	M.H	0,04	6,067	976,8795	0969
<i>Mirceno</i>	M.H	0,24	6,330	987,5101	0988
<i>Limoneno</i>	M.H	0,10	7,581	1038,076	1024

<i>β-Fandandreno</i>	M.H	0,05	7,642	1040,542	1025
<i>Cis-ocimeno</i>	M.H	0,10	7,769	1045,675	1026
<i>β- ocimeno</i>	M.H	0,21	8,124	1060,024	1044
<i>Terpinolina</i>	M.O	0,02	9,516	1116,289	1086
<i>δ –elemeno</i>	S.H	0,33	19,698	1329,632	1335
<i>Trans-carofileno</i>	S.H	2,15	23,159	1414,461	1417
<i>α-Humuleno</i>	S.H	0,22	24,626	1450,49	1452
<i>Selina -4,11-dieno</i>	S.H	0,27	25,369	1468,627	1489
<i>Germacreno-B</i>	S.H	0,76	25,670	1476,005	1484
<i>β-Selineno</i>	S.H	0,42	25,98	1483,824	1489
<i>Curzereno</i>	S.O	25,29	26,290	1491,201	1499
<i>Muuroleno</i>	S.H	0,20	26,434	1494,73	1500
<i>δ-Cadideno</i>	S.O	0,42	27,192	1513,309	1513
<i>Espatulanol</i>	S.O	0,85	29,455	1568,775	1577
<i>Germacrona</i>	S.O	25,42	32,742	1644,877	1693
<i>Óxido cariofileno</i>	S.O	0,97	29,622	1572,868	1482
<i>Viridiflorol</i>	S.O	2,44	29,799	1577,206	1496
<i>Cubeban-11-ol</i>	-	0,96	30,221	1587,549	1595
<i>Rosifoliol</i>	S.O	0,45	31,259	1612,99	1600
<i>δ – Cadineno</i>	S.H	0,54	31,968	1630,196	1522
<i>Cadina-4-eno-10-ol</i>	S.H	0,98	32,049	1632,353	1634
<i>α-Muurolol</i>	S.H	0,30	32147	1634,755	1500
<i>Hexadienóico</i>	-	0,88	32,365	1631,968	NI
<i>Intermdeol</i>	M.O	5,28	32,560	1642,77	1665
<i>Naftalenol</i>	-	0,40	32,930	1649,338	NI
<i>1,2,4,5 tetrametil- [2,4]heptano</i>	-	0,48	33,406	1666,213	NI
<i>δ – bisaboleno</i>	S.H	0,73	42,589	1890,686	1529
Total		72,46			

Fonte: Adams, 2017. **TR:** Tempo de Retenção; **IKc:** Índice de Kovats calculado; **IKtb:** Índice de Kovats tabelado; **NI:** Não Identificado; **SH:** Sesquiterpeno de hidrocarboneto; **SO:** Sesquiterpeno oxigenado; **MO:** Monoterpeno oxigenado; **MH:** Monoterpeno de hidrocarboneto.

Os sesquiterpenos predominam nos óleos essenciais da maioria das *Vismia* spp. Rojas e colaboradores. (2011) descrevem três sesquiterpenos como os principais componentes em uma

amostra de OE da *V. baccifera*, ou seja, trans- cadina-1,4-dieno (36,6%), cis-cadina-1,4-dieno (18,8%) e β -cariofileno (11,9%). Eles também identificaram β -cariofileno (20,1%), germacrone D (11,6%) e β - elemene (7,0%) em uma amostra de óleo essencial extraído de folhas de *V. macrophylla*. Monoterpenos e sesquiterpenos têm sido descrito na literatura como biologicamente ativo. Lima *et al.* (2005), investigando a ação dos monoterpenos α -pineno e β -pineno, encontraram atividade satisfatória contra *C. albicans*, *C. tropicalis* (Castell.) Berkhout, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea* (C.P. Jones & D.S. Martin) Langeron & Guerra, *C. krusei* (Castell.) Berkhout, e *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill. Em um estudo anterior realizado por Peñuelas e colaboradores. (2005), os monoterpenos demonstraram ter termotolerância, fotoproteção e propriedades antioxidantes devido à sua capacidade de capturar os radicais de oxigênio produzidos durante a fotossíntese. Por outro lado, os sesquiterpenos têm se destacado em diversos óleos essenciais devido ao seu forte odor e propriedades anti-inflamatórias e antifúngicas (Zheng *et al.*, 1992).

3.2 Atividade biológica

3.2.1 Ensaio de microdiluição para fungos e bactérias

A literatura indica notável atividade antimicrobiana em óleos essenciais de *Vismia* spp. Segundo Pérez e colaboradores (2011) e Montanari e colaboradores (2011), os óleos essenciais extraídos do fruto de *V. macrophylla* são ativos contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *E. faecalis*) e Gram-negativas (*E. coli*), com valores de CIM variando de 150 $\mu\text{L/mL}$ a 740 $\mu\text{L/mL}$. Esses estudos também observaram atividade antimicrobiana no óleo essencial extraído de folhas da mesma espécie, eficaz contra as bactérias Gram-positivas *S. aureus* (100 $\mu\text{L/mL}$) e *E. faecalis* (500 $\mu\text{L/mL}$), bem como contra os fungos *C. albicans* e *C. krusei* (600 $\mu\text{L/mL}$ cada).

Os resultados da triagem para atividades antifúngicas e antibacterianas são descritos na tabela 4.

Tabela 4. Atividade antibacterianas e antifúngicas (valores de CIM em $\mu\text{g/mL}$) de OEVg e OEVc

Espécies	Óleos essenciais	Cepas bacterianas		Cepas de fungos	
		SA	EC	CA	CP
<i>V. guianensis</i>	OEVg	>1000	>100	>100	1.56
		25	50	>100	50
<i>V. cayennensis</i>	OEVc	25	50	>100	50

OEVg: Óleo essencial de *Vismia guianensis*; OEVc: óleo essencial de *V. cayennensis*; SA: *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923); EC: *Escherichia coli* (ATCC 25922); CA: *Candida albicans* (ATCC 10231); CP: *Candida parapsilosis* (ATCC 22019). Fonte: Autores.

OEVg inibiu o crescimento fúngico de cepas de *C. parapsilosis* na concentração de 1,56 µg/mL. Como afirmado por Holetz *et al.* (2002), amostras com valores de CIM abaixo de 100 µg/mL são classificadas como muito ativas, ou seja, inibem fortemente o crescimento microbiano. Quando apresentam valores de CIM entre 100 e 500 µg/mL denotam atividade antimicrobiana satisfatória. Valores entre 500 e 1000 µg/mL indicam atividade moderada, enquanto aqueles acima de 1000 µg/mL indicam atividade inibitória fraca. Neste estudo, o OEVg exibiu forte atividade antimicrobiana frente a cepas testada.

Silvestre *et al.* (2012), investigando o óleo essencial extraído do fruto de *V. guianensis*, relataram atividade antimicrobiana contra *S. lentus* com uma (CIM igual a 78 µg/mL). Sua pesquisa também identificou β-cariofileno (25,8%), α-copaeno (13,1%) e δ-cadineno (11,6%) como os principais componentes.

Os principais componentes do OEVg foram os sesquiterpenos *trans*-carofileno (10,40%), α-copaeno (29,45%) e o *trans*-nerolidol (24,06%). De acordo com pesquisas anteriores, os sesquiterpenos funcionam como agentes antimicrobianos (CITÓ *et al.*, 2003). O mecanismo ainda não está claro, mas especula-se que os compostos lipofílicos encontrados neste óleo essencial se ligam e rompem a membrana de alguns micro-organismos (COWAN, 1999). Reinsvold *et al.* (2011) mostraram que o *trans*-cariofileno atua contra micro-organismos e, assim, pode ser usado como antibiótico. Este composto também pode funcionar bioquimicamente como anestésico, anti-inflamatório e espasmolítico. Outros autores relataram atividade antimicrobiana do *trans*-cariofileno em cultura de células (RC-37), apoiando seu uso como um potencial agente antimicrobiano (Astani, 2009; Reichling & Schnitzler 2009).

Outro estudo de Gelinski *et al.* (2007) indicaram que o *trans*-nerolidol atua como um antibiótico de espectro limitado, pois não é eficaz contra algumas bactérias como *Salmonella* Lignieres 1900 sp., *E. coli* e *Proteus* Hauser 1885 sp. Esta descoberta corrobora com os resultados obtidos neste trabalho, ou seja, o OEVg foi inativo frente as cepas bacterianas *E. coli* e *S. aureus*, e as cepas fúngicas de *C. albicans*, possivelmente pela presença deste sesquiterpeno como um dos constituintes majoritários no óleo essencial.

O sesquiterpeno α-copaeno é um dos principais componentes do óleo de copaíba (*Copaifera* L. sp.). Os estudos já mostraram que este óleo pode inibir o crescimento de bactérias (Blose, 2003; Biavatti *et al.*, 2006; Veiga & Pinto, 2002) e fungos (Craveiro *et al.*, 1981; Wang,

2000; Souza *et al.*, 2005), sendo atribuída ao α -copaeno esta capacidade inibitória microbiana do óleo da resina.

OEVc exibiu forte inibição contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus* nas concentrações de 50 $\mu\text{g/mL}$ e 25 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, e para a levedura *C. parapsilosis* na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Os principais constituintes identificados neste óleo essencial foram os sesquiterpenos oxigenados curzereno (25,29%) e germacrone (25,42%). Zhang e colaboradores (2017) encontraram o curzereno como um dos principais componentes do óleo essencial extraído de *Curcuma phaeocaulis* Valetton e atribuiu sua atividade antifúngica observada (IC_{50} , 153,33-580,09 $\mu\text{g/ml}$) e inibição do crescimento bacteriano (IC_{50} , 485,00-778,33 $\mu\text{g/ml}$) a este sesquiterpeno.

Outra pesquisa realizada por Ogunwande *et al.* (2005) identificaram o curzereno (19,7%) e germacrone (27,5%) como principais componentes dos óleos essenciais extraídos de frutos e folhas de *Curcuma phaeocaulis*, respectivamente. O mesmo estudo relata forte atividade antibacteriana para o óleo essencial extraído de frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. contra *S. aureuse* *Bacillus cereus*, respectivamente, com CIM igual a 39 $\mu\text{g/mL}$. Além de tratar câncer e hepatite, outros estudos indicam que a germacrone pode ser empregada como agente antimicrobiano (Wang *et al.*, 2000).

4. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo são relevantes na medida em que mostram o potencial antimicrobiano de OEVg e OEVc contra alguns micro-organismos, nomeadamente, *C. parapsilosis* (OEVg e OEVc), *E. coli* (OEVc) e *S. aureus* (OEVc). Essa ação antimicrobiana pode ser explicada pela presença, em grande quantidade, de alguns componentes nas espécies vegetais investigadas. O sesquiterpenos predominantes em OEVg, ou seja, trans-cariofileno (10,40%), α -copaeno (29,45%) e trans-nerolidol (24,06%) bem como os principais componentes encontrados no OEVc, ou seja, germacrone (25,42%) e curzereno (25,29%) demonstraram ação antimicrobiana. Com o objetivo de abordar a escassez de informações sobre óleos essenciais de *V. guianensis* e *V. cayennensis*, este estudo contribuiu com seus perfis químicos, indicou seu potencial antimicrobiano e, assim, forneceu uma base para futuras pesquisas com o objetivo de isolar e caracterizar os compostos responsáveis pelas atividades biológicas de OEVg e OEVc.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos (PPGCTRA – UFAM), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM (processo nº. 001/2021 - Mulheres na Ciência). Agradecemos também ao Herbário do INPA e do CESIT pelo gentil apoio, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico – CNPq.

REFÊRENCIAS

1. Adams R.P. (2007). *Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. EUA: Allured Publishing Corporation, p. 804.
2. Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49, 4168-4170. <https://doi.org/10.1021/jf001494m>.
3. Astani, A., Reichling, J., & Schnitzler P. (2009). Screening for Antiviral Activities of Isolated Compounds from Essential Oils. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 1-7. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep187>.
4. Belltti, N., Ndagijimana, M., Sisto, C., Guerzoni, M. E., Lanciotti, R., & Gardini, F. (2004). Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6932-6938. <https://doi.org/10.1021/jf049444v>.
5. Biavatti, M. W., Dossin, D., Deschamps, F. C., & Lima, M. D. P. (2006). Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16 (2), 230-235. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200017>.
6. Bloise, M. I. (2003). Óleos vegetais e especialidades da floresta Amazônica. *Cosmetics & Toiletries* 15(5): 46-49.
7. Buitrago, A., Rojas, J., Rojas, L., Velasco, J., Morales, A., Peñaloza, Y., & Díaz, C. (2015). Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Vismia macrophylla* Leaves and Fruits Collected in Táchira-Venezuela. *Natural Product Communications*, 10(2), 375-382. <https://doi.org/10.1177%2F1934578X1501000244>.
8. Cardoso, P. R (2011). *Estruturas secretoras em plantas*. Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, São Paulo.

9. Citó, A. M. G. L., Souza, A. A., Lopes, J. A. D., Chaves, M. H., Costa, F. B., Sousa, S. A. A., & Amaral, M. P. M. (2003). Resina de *Protium heptaphyllum* March (Burceraceae): Composição química do óleo essencial e avaliação citotóxica frente à *Artemia salina* Leach. *Anais da Associação Brasileira de Química*, 52(2), 74-76.
10. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
11. Craveiro, A. A., Fernandes, A. G., Andrade, C. H. S., Matos, F. J. A., Alencar, J. W., & Machado, M. I. L. (1981). *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: Editora UFC. 210p.
12. Evans, W. C. (1996). *Trease and Evans' Pharmacognosy*, (14a ed.), WB Saunders Company: cap. 7.
13. Gelinski, J. M. L. N., Dalla Rosa, J. C., Paravisi, E. D.F. A., Baratto, C. M. (2007). Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. *Evidência*, 7(2), 131-144.
14. Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. *Química Nova*, 30(2), 374–381. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>.
15. Holetz, F. B., Pessini, G. L., Sanches, N. R., Cortez, D. A. G., Nakamura, C. V., & Dias Filho, B. P. (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7), 1027-1031. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>.
16. Hidayat Hussain, J. H., Al-Harrasi, A., Saleem, M., Green, I. R., Ree, T. V., & Ghulam, A. (2012) Chemistry and biology of genus *Vismia*. *Pharmaceutical Biology*, 50, 1448-1462. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.680972>
17. Krumal, K., Kubátkova, N., Vecera, Z., & Mikuska, P. (2015). Antimicrobial properties and chemical composition of liquid and gaseous phases of essential oils. *Chemical Papers*, 69, 1084–1092. <https://doi.org/10.1515/chempap-2015-0118>.
18. Lima, I. O., Oliveira, R. D. A. G., Lima, E. D. O., Souza, E. L. D., Farias, N. P., & Navarro, D. D. F. (2005). Inhibitory effect of some phytochemicals in the growth of yeasts potentially causing opportunistic infections. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41(2), 199-203. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322005000200007>
19. Madigan, M., & Martinko, J. (2004). The Bacteria. In: *Brock- Biology of Microorganisms*. *Prantice Hall*, 718-814.
20. Maia, P. J. S., Cruz, J. F., Augusto, F. A. de F., Santos, S. de F. F., & Souza, E. A. (2019). Photophysical properties of a perylene derivative for use as catalyst in ethanol electrooxidation. *Research on Chemical Intermediates*, 45, 5451-5472. <https://doi.org/10.1007/s11164-019-03911-3>

21. Marinho, L. C., Ely, C. V., & Amorim, A. M. (2017). Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Hypericaceae. *Rodriguésia*, 68, 979-986. <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201768333>
22. Martins, M. V., Shumizu, G. H., & Bittrich, V. (2018). Flora da Reserva Ducke, Estado do Amazonas, Brasil: Hypericaceae. *Hoehnea*, 45(3), 361-371. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-13/2018>
23. Montanari, R. M., Barbosa, L. C., Demuner, A. J., Silva, C. J., Carvalho, L. S., & Andrade, N. J. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Verbenaceae species: Alternative sources of (E)-caryophyllene and germacrene-D. *Química Nova*, 34(9), 1550-1555. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900013>
24. Ogunwande, I. A., Olawore, N. O., Ekundayo, O., Walker, T. M., Schmidt, J. M., & Setzer, W. N. (2005). Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. *International journal of Aromatherapy*, 15(3), 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.ijat.2005.07.004>
25. Paolini, J., Ouariachi, E. M. E., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Desjobert, J. M., Costa, J., & Muselli, A. (2010). Chemical variability of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from East Morocco. *Chemical Papers*, 64: 550-556. <https://doi.org/10.2478/s11696-010-0051-5>
26. Peñuelas, J., & Munné-Bosch, S. (2005). Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection. *Trends in plant science*, 10(4), 166-169. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.02.005>
27. Pérez-López, A., Cirio, A.T., Rivas-Galindo, V. M., Aranda, R.S., & de Torres, N. W. (2011). Activity against *Streptococcus pneumoniae* of the essential oil and δ -cadinene isolated from *Schinus molle* fruit. *Journal of Essential Oil Research*, 23(5): 25-28. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700477>
28. Reinsvold, R. E., Jinkerson, R. E., Radakovits, R., Posewitz, M. C., & Basu, C. (2011). The production of the sesquiterpene β -caryophyllene in a transgenic strain of the cyanobacterium *Synechocystis*. *Journal of plant physiology*. USA, 168(8), 848-852. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.11.006>
29. Razavi, F., & Khajehsharifi H (2021) A colorimetric paper-based sensor with nanoporous SBA-15 for simultaneous determination of histidine and cysteine in urine samples. *Chemical Papers*. 75: 3401-3410 <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01548-4>
30. Rojas, J., Buitrago, A., Rojas, L., & Morales, A. (2011). Essential oil composition of *Vismia macrophylla* leaves (Guttiferae). *Natural product communications*, 6(1), 85-86. <https://doi.org/10.1177%2F1934578X1100600120>
31. Saikia, S., Tamuli, K. J., Narzary, B., Banik, D., & Bordoloi, M. (2020) Chemical characterization, antimicrobial activity, and cytotoxic activity of *Mikania micrantha*

- Kunth flower essential oil from North East India. *Chemical Papers*. 74, 2515–2528. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01077-6>
32. Silveira, J. C., Busato, N., Costa, A., & Junior, E. C. (2012). Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia Biosfera*, 8 (15), 2038-2052.
 33. Silvestre, R. G., de Moraes, M. M., Lins, A. C., Ralph, M. T., Lima-Filho, J. V., Camara, C. A., & Silva, T. M. (2012). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil from *Vismia guianensis* fruits. *African Journal of Biotechnology*, 11(41), 9888-9893. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3834>
 34. Simões, E. P., Schenkel, G., Gosmann, J. C. P., Mello, L. A. M., & Petrovick, P. R. (2007). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed.- Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 467-495.
 35. Souza, E. L. D., Lima, E. D. O., Freire, K. R. D. L., & Sousa, C. P. D. (2005). Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 48(2), 245-250. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132005000200011>
 36. Stojanovic-Radic, Z., Comic, L., Radulovic, N., Dekic, M., Randelovic, V., & Stefanović, O. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of *Erodium* species: *E. ciconium* L., *E. cicutarium* L., and *E. absinthoides* Willd. (Geraniaceae). *Chemical Papers*. 64, 368–377. <https://doi.org/10.2478/s11696-010-0014-x>
 37. Thuy, B. T. P., Hieu, L. T., My, T. T. A., Hai, N. T. T., Loan, H. T. P., Thuy, N. T. T., Triet, N. T., Anh, T. T. V., Dieu, N. T. X., Quy, P. T., Trung, N. V., Quang, D. T., Huynh, L. K., & Nhung, N. T. A. (2021). Screening for *Streptococcus pyogenes* antibacterial and *Candida albicans* antifungal bioactivities of organic compounds in natural essential oils of *Piper betle* L., *Cleistocalyx operculatus* L. and *Ageratum conyzoides* L. *Chemical Papers*. 75, 1507–1519. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01404-x>.
 38. Vaz, A. B., Mota, R. C., Bomfim, M. R. Q., Vieira, M. L., Zani, C. L., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2009). Antimicrobial activity of endophytic fungi associated with Orchidaceae in Brazil. *Canadian journal of microbiology*, 55(12), 1381-1391. <https://doi.org/10.1139/W09-101>.
 39. Veiga Junior, V. F.; & Pinto, A. C. (2002). O gênero *copaifera* L. *Química nova*, 25(2):273-286. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>
 40. Zhang, L., Yang, Z., Wei, J., Su, P., Pan, W., Zheng, X., & Du, Z. (2017) Essential oil composition and bioactivity variation in wild-growing populations of *Curcuma phaeocaulis* Valetton collected from China. *Industrial Crops and Products*, 103,274-282. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.019>
 41. Zheng, G. Q., Kenney, P. M., & Lam, L. K. (1992). Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *Journal of natural products*, 55(7),999-1003. <https://doi.org/10.1021/np50085a029>.

42. Waterman, P. G., & Mole, S. (1994). Analysis of phenolic plant metabolites, Blackwell Scientific Publications: Oxford, cap. 3.
43. Wang, H. K. (2000). The therapeutic potential of flavonoids. *Expert opinion on investigational drugs*, 9(9), 2103-2119. <https://doi.org/10.1517/13543784.9.9.2103>.