

**JULIANA APARECIDA DINIZ**

***Siparuna guianensis* Aublet COMO NOVA FONTE DE  $\alpha$ -BISABOLOL PARA  
O CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS- BRASIL  
2014**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

D585s  
2014  
Diniz, Juliana Aparecida, 1989-  
Siparuna guianensis Aublet como nova fonte de  $\alpha$ -bisabolol para o  
controle de *Rhipicephalus microplus* / Juliana Aparecida Diniz. -  
Viçosa, MG, 2014.  
x,82f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Antônio Jacinto Demuner.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.47-59.

1. *Siparuna guianensis* Aublet. 2.  $\alpha$ -bisabolol. 3. *Rhipicephalus microplus*. 4. Plantas - Análise - Zona da Mata (MG-Mesorregião). 5. Óleos vegetais - Análise - Zona da Mata (MG-Mesorregião). I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós Graduação em Agroquímica. II. Título.

**JULIANA APARECIDA DINIZ**

***Siparuna guianensis* Aublet COMO NOVA FONTE DE  $\alpha$ -BISABOLOL PARA  
O CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

Aprovada: 20 de janeiro de 2014

---

Luiz Cláudio de Almeida Barbosa  
(Coorientador)

---

Célia Regina Álvares Maltha  
(Coorientadora)

---

Marcelo Henrique dos Santos

---

Antônio Lélis Pinheiro

---

Antônio Jacinto Demuner  
(Orientador)

“Vive de tal forma que deixes pegadas luminosas no caminho percorrido,  
como estrelas apontando o rumo da felicidade e não deixes ninguém  
afastar-se de ti sem que leve um traço de bondade,  
ou um sinal de paz da tua vida.”

*Joanna de Ângelis*

Dedico à Maria Clara, meu maior presente  
e fonte de motivação!

## AGRADECIMENTOS

A dissertação aqui apresentada é fruto de muito trabalho e, ao mesmo tempo, de um trajeto atribulado ao longo do qual fui recebendo apoio e estímulo de pessoas muito especiais em minha vida! Sendo assim, os méritos da finalização desse trabalho são dessas pessoas que o tornaram possível.

Primeiramente agradeço a Deus que, em toda minha vida, me ilumina, mostrando os caminhos certos a serem seguidos. Agradeço a meu orientador, Antônio J. Demuner, por todos os ensinamentos e por acreditar em meu potencial, possibilitando a realização dessa pesquisa. Aos professores Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Célia Regina Maltha, pelo aconselhamento e ajuda indispensável que, sem os quais, não seria possível a finalização deste trabalho. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento desta pesquisa. Ao professor Érik Daemon e seu grupo de pesquisa (LAP-UFJF) pela parceria e ajuda durante a execução dos testes biológicos. Agradeço ao Ricardo Montanari que, com toda calma, inteligência e muito aprendizado contribuiu para meu sucesso e a execução desse estudo. Muito obrigada! Aos amigos e companheiros do LASA: Jodieh, Ulisses, Raphael, Fabrício, Johanna, Cecília, Milena, Gabi, Fernanda, Si, Alex, Thais e Cris. Foi muito bom conhecer vocês, obrigada por compartilhar momentos de alegrias e desesperos... Obrigada por poder contar com vocês a qualquer momento! Em especial gostaria de agradecer à minha amiga Eva, uma das pessoas mais sábias que já conheci e que conseguiu por várias vezes substituir o desânimo por mais vontade de lutar durante essa caminhada. Agradeço ao técnico Zé Luiz, sempre disposto a ajudar e conversar. Um amigo muito especial! Aos amigos que conquistei em Viçosa que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta conquista, em especial aos amigos que levarei para sempre: Nívia, Matilde, Kelle, Thuli, Iara, Biju, Sharles e Rodrigo (Ganso) - vocês fizeram minha vida mais doce e feliz! Obrigada por toda a ajuda oferecida nos piores momentos e as alegrias concedidas sempre!

Aos amigos de Santa Bárbara, irmãos, que estiveram dispostos nos momentos que mais precisei sempre me dando força para continuar a caminhar, em especial: Pri, Dalila, Gabi, Thays, Tata e Titita, por sempre me ouvirem

incansavelmente nos momentos mais difíceis. Amo vocês! Por fim, agradeço à minha família maravilhosa, minha vida! Às minhas avós Eulália e Maria pelas orações. Aos meus pais Juvenal e Mariusa e meus irmãos Jurilza e Junior pelo apoio incondicional, vocês são meu alicerce, meu porto seguro, sem vocês eu não chegaria até aqui, obrigada pela vida e pela alegria de viver. Em especial agradeço à minha filha, MARIA CLARA que, desde tão pequena já entende as necessidades da vida e soube conviver com elas. Obrigada por ser essa menina inteligente, carinhosa que há oito anos me enche de orgulho, minha razão de viver! Obrigada por ter vindo, trazendo sentido a minha vida!

A todos que me ajudaram de alguma forma e que não me recordei no momento, muito Obrigada!

## BIOGRAFIA

JULIANA APARECIDA DINIZ, filha de Juvenal Alberto Diniz e Mariusa das Graças Teixeira Diniz, nasceu em Caratinga, Minas Gerais em 27 de outubro de 1989.

Em 2008, ingressou no curso de Licenciatura em Química no Centro Universitário de Caratinga (UNEC), diplomando-se em dezembro de 2010.

Durante esse período foi bolsista de Iniciação Científica por um ano do programa de bolsas da FAPEMIG, onde desenvolveu pesquisas na área de análises Físico-química.

Em Agosto de 2011, ingressou no programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração de Química de Produtos Naturais, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, MG.

Em janeiro de 2014, submeteu-se à defesa de dissertação para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. Importância dos óleos essenciais .....	3
2.1.1. Local de produção e composição química dos óleos essenciais .....	4
2.1.2. Processos de extração de óleo essencial e análise química .....	6
2.2. Família Siparunaceae .....	7
2.2.1. <i>Siparuna guianensis</i> .....	8
2.3. $\alpha$ -Bisabolol .....	11
2.4. <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	16
4.1. Coleta das plantas e obtenção das amostras .....	16
4.2. Extração e Determinação do teor do óleo essencial .....	17
4.3. Análise qualitativa dos constituintes dos óleos essenciais.....	17
4.4. Análise quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais .....	18
4.5. Purificação e caracterização do $\alpha$ -bisabolol .....	18
4.6. Avaliação da atividade carrapaticida .....	19
4.6.1. Obtenção dos carrapatos.....	19
4.6.2. Teste de pacote de larvas.....	20
4.6.3. Teste de imersão de fêmeas .....	21
4.6.4. Análise estatística .....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	24
5.1. Teor dos óleos essenciais extraídos em diferentes períodos de coleta .	24
5.2. Composição química do óleo essencial .....	26
5.3. Purificação e caracterização do $\alpha$ -bisabolol .....	31
5.4. Atividade carrapaticida dos óleos essenciais de <i>S. guianensis</i> .....	36
5.4.1. Teste de pacote de larvas.....	36
5.4.2. Teste de imersão de fêmeas .....	39
6. CONCLUSÕES .....	44

7. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
APÊNDICE .....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>COSY</i>	Correlated Spectroscopy
<i>DEPT</i>	Distortion less Enhancement by Polarization
DIC	Detector de ionização de chama
<i>HETCOR</i>	Heteronuclear Correlation
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
m	Multiplete
RMN de <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
RMN de <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio 1
s	Simpleto
TR	Tempo de Retenção
[ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	Rotação específica
$\delta$	Deslocamento químico

## RESUMO

DINIZ, Juliana Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2014. ***Siparuna guianensis* Aublet como nova fonte de  $\alpha$ -Bisabolol para o controle de *Rhipicephalus microplus***. Orientador: Antônio Jacinto Demuner. Coorientadores: Célia Regina Álvares Maltha e Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Os dados apresentados referem-se à análise química sazonal do óleo essencial das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em diferentes cidades situadas na mesorregião da Zona da Mata, do estado de Minas Gerais (São Miguel do Anta, Tocantins, Porto Firme e Viçosa). Objetivou-se a identificação de  $\alpha$ -bisabolol dentre os constituintes voláteis dessa espécie e a avaliação da atividade carrapaticida dos óleos essenciais. O  $\alpha$ -bisabolol foi identificado somente em óleos voláteis extraídos das plantas coletadas em São Miguel do Anta e Tocantins, atingindo concentrações de 86,0% e 66,4% respectivamente. O óleo essencial das plantas coletadas em Porto Firme teve como constituintes majoritários biciclogermacreno e curzereno (33%) que foram conjuntamente quantificados. No óleo essencial das plantas de Viçosa, identificou-se germacreno D (33%) como constituinte majoritário durante todo o período de análise. O  $\alpha$ -bisabolol foi isolado e caracterizado por espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear e rotação específica, comprovando que o composto isolado é o (-)- $\alpha$ -bisabolol. A atividade carrapaticida do óleo essencial de *S. guianensis* foi avaliada contra *Rhipicephalus microplus*. Os óleos essenciais obtido pelas plantas que possuem  $\alpha$ -bisabolol em sua composição se mostraram mais ativos contra larvas e fêmeas de *R. microplus*. Na concentração de 60 mg mL<sup>-1</sup> os óleos essenciais das populações de São Miguel do Anta e Tocantins apresentaram percentual de controle de 87,8% e 77,4%, respectivamente. Conclui-se que a espécie *S. guianensis* apresenta variação na composição química e no teor do óleo essencial dependendo do local de coleta, e que as populações de *S. guianensis* coletadas em Tocantins e São Miguel do Anta representam fontes alternativas de  $\alpha$ -bisabolol.

## ABSTRACT

DINIZ, Juliana Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2014. ***Siparuna guianensis* Aublet as new source of  $\alpha$ -bisabolol for control of *Rhipicephalus microplus*** Adviser: Antônio Jacinto Demuner. Co-Advisers: Célia Regina Álvares Maltha e Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

The data presented are seasonal chemical analysis of the essential oil from the leaves of *Siparuna guianensis* collected in different municipalities in Zona da Mata region, Minas Gerais state (São Miguel do Anta, Tocantins, Porto Firme, Viçosa). Aimed to the identification of  $\alpha$ -bisabolol from the volatile constituents of this species. We evaluated the activity of volatile oils from ticks. The  $\alpha$ -bisabolol was identified only in oils volatiles collected in São Miguel do Anta and Tocantins, reaching concentrations of 86.0% and 66.4% respectively. Essential oils from plants collected in Porto Firme had as major constituents bicyclogermacrene and curzerene (33%) along quantified. Essential oil plants Viçosa, identified germacrene D (33%) as major constituent throughout the analysis period. The  $\alpha$ -bisabolol was isolated and characterized by mass spectrometry, NMR and specific rotation of polarized light, indicating that the isolated compound is the (-)- $\alpha$ -bisabolol. The acaricide activity of the essential oil of *S. guianensis* was evaluated against *Rhipicephalus microplus*. The essential oils obtained by plants that have  $\alpha$ -bisabolol in its composition were more active against larvae and females of *R. microplus*. At the concentration of 60 mg mL<sup>-1</sup> essential oils populations of São Miguel do Anta and Tocantins control showed 87.8% and 77.4%, respectively. It is concluded that the species *S. guianensis* shows variation in chemical composition and essential oil content depending on the collection site, and that populations of *Siparuna guianensis* collected in Tocantins and São Miguel do Anta represent alternative sources of  $\alpha$ -bisabolol.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Óleos essenciais são produtos naturais de plantas, pois possuem várias propriedades biológicas. O termo “biológico” compreende todas as atividades que estas misturas de compostos voláteis exercem sobre os seres humanos, animais, fungos, bactérias e outras plantas (BASER e BUCHBAUER, 2010).

Na natureza, os óleos essenciais desempenham papéis ecológicos importantes na proteção das plantas, por atuarem como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra herbívoros. Devido a essas propriedades, desde a Idade Média os óleos essenciais têm sido amplamente utilizados em produtos sanitários e em formulações cosméticas e veterinárias, bem como, nas indústrias farmacêuticas, agrícolas e alimentícias (BAKALLI *et al.*, 2008).

Atualmente, o uso dos óleos essenciais em diversas áreas está se difundindo cada vez mais como alternativa aos produtos sintéticos. Dentre inúmeros exemplos promissores, pode ser destacada a utilização de óleos essenciais e seus constituintes para o controle de ectoparasitas de animais domésticos. CLEMENTE *et al.* (2010) demonstraram a atividade acaricida dos óleos essenciais extraídos de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook.) K. D. Hill & L. A. S. Johnson) e citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) contra os carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens*. SENRA *et al.* (2013) demonstraram que carvacrol, cinamaldeído, *trans*-anetol e linalol apresentaram atividade contra *Rhipicephalus microplus* e *Dermacentor nitens*. Timol e mentol também apresentaram atividade contra *R. microplus* (NOVELINO *et al.*, 2007).

O ácaro *R. microplus*, conhecido como carrapato do boi, é uma das principais espécies de ectoparasitas que prejudica a produtividade do gado leiteiro no Brasil (NOVELINO *et al.*, 2007). O controle deste ectoparasita é feito principalmente pelo uso de acaricidas sintéticos. Todavia, o uso incorreto e indiscriminado destes produtos tem causado sérios problemas de resistência dos carrapatos, bem como riscos de contaminação do homem, do ambiente, dos animais e, conseqüentemente, de alimentos como a carne e o leite

(CLEMENTE *et al.*, 2010). Portanto, a busca por novos princípios ativos para o controle de ectoparasitas é altamente desejável.

Neste contexto, a flora brasileira representa uma fonte promissora para a busca de substâncias ativas e a avaliação do potencial de aplicação agroquímica. Entre as plantas aromáticas brasileiras, se encontra a espécie *Siparuna guianensis* Aublet., que possui uma vasta indicação etnobotânica e etnofarmacológica, e tem sido apontada como uma das espécies prioritárias de conservação para a região do cerrado brasileiro (VIEIRA e ALVES, 2003). Estudos do óleo essencial desta espécie têm identificado uma variedade de compostos voláteis, incluindo monoterpenos e sesquiterpenos (ZOGHBI *et al.*, 1998; VALENTINI *et al.*, 2010b; CASTELANI *et al.*, 2006). Além disso, há relato da alta atividade antimicrobiana do óleo essencial de *S. guianensis* e a possibilidade de obtenção de  $\alpha$ -bisabolol a partir do óleo essencial desta planta coletada no estado de Minas Gerais (MONTANARI, 2010).

O  $\alpha$ -bisabolol é um álcool sesquiterpênico com grande aplicação industrial em setores de higiene, cosméticos e farmacêuticos. Sua aplicação se deve a suas propriedades anti-inflamatória e antinoceptiva (LEITE *et al.*, 2011), antiespasmódica, sedativa, antialérgica e vermífuga (SOUZA *et al.*, 2008). As principais fontes de  $\alpha$ -bisabolol são a Camomila (*Matricaria chamomilla* L. (AMARAL *et al.*, 2008) e a Candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish) (SOUSA *et al.*, 2008). Portanto, a identificação de espécies alternativas para a obtenção de  $\alpha$ -bisabolol é extremamente interessante do ponto de vista econômico.

Não foram encontrados relatos na literatura sobre a atividade acaricida do óleo essencial de *S. guianensis* e do  $\alpha$ -bisabolol. Assim, o presente trabalho tem como objetivos a análise sazonal de  $\alpha$ -bisabolol no óleo essencial de *Siparuna guianensis* coletada em quatro localidades do estado de Minas Gérias, bem como o estudo da atividade acaricida do óleo essencial contra o carrapato *R. microplus*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Importância dos óleos essenciais

O valor medicinal dos óleos essenciais é reconhecido desde a antiguidade, quando o homem já utilizava esses produtos naturais em várias aplicações terapêuticas. Registros apontam diferentes usos dos óleos essenciais em diferentes usos na Mesopotâmia, China, Índia, Pérsia e Egito Antigo (DJILANI e DICKO, 2012).

Óleos essenciais têm sido largamente utilizados devido às suas propriedades antibacteriana, antifúngica e inseticida (TRAJANO *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2006; FAZOLIN *et al.*, 2007). Atualmente, aproximadamente 3000 óleos essenciais são conhecidos, 300 dos quais são comercialmente importantes, especialmente para as indústrias farmacêuticas, agronômicas, alimentícias, indústrias de higiene, cosméticos e perfumes (BAKKALI *et al.*, 2008).

SCHWAB *et al.*, (2008) descrevem que o comércio internacional de óleo essencial apresenta um aumento médio de 10% ao ano e as indústrias de aromas e fragrâncias representam um mercado de US \$ 18 bilhões por ano. Grande parte dos compostos utilizados como fragrância e aromas são extraídos diretamente dos óleos essenciais ou sintetizados a partir deles.

O Brasil ocupa lugar de destaque mundial na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia. Esta posição do Brasil está relacionada à produção de óleos essenciais de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos (BIZZO *et al.*, 2009). A Tabela 1 apresenta alguns dos principais óleos essenciais de importância no mercado mundial.

Tabela 1- Principais óleos essenciais no mercado mundial

<b>OLEO ESSENCIAL</b>	<b>ESPÉCIE</b>
<b>Laranja</b>	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck
<b>Menta japonesa</b>	<i>Mentha arvensis</i> L. f. <i>piperascens</i> Malinv. Ex Holmes
<b>Eucalipto (tipo cineol)</b>	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill., <i>E. polybractea</i> R.T. Baker e <i>Eucalyptus</i> spp.
<b>Citronela</b>	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt e <i>C. nardus</i> (L.) Rendle
<b>Hortelã-pimenta</b>	<i>Mentha x piperita</i> L.
<b>Limão</b>	<i>Citrus limon</i> (L.) N.L. Burm.
<b>Eucalipto (tipo citronela)</b>	<i>Corymbia citriodora</i> (Hook). K.D. Hill & L.A.S. Johnson
<b>Cravo-da-Índia</b>	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. E L. M. Perry
<b>Cedro</b>	<i>Juniperus virginiana</i> L. e <i>J. ashe</i> Buchholz
<b>Lima destilada</b>	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. & Panz.) Swingle
<b>Spearmint</b>	<i>Mentha spicata</i> L.
<b>Lavandim</b>	<i>Lavandula intermedia</i> Emeric ex Loisel
<b>Sassafrás</b>	<i>Cinnamomum micranthum</i> (Hayata) Hayata
<b>Cânfora</b>	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl.
<b>Coentro</b>	<i>Coriandrum sativum</i> L.
<b>Grapefruit</b>	<i>Citrus paradisi</i> Macfady
<b>Patchouli</b>	<i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.

Fonte: Adaptado de BIZZO, *et al.* (2009) em 20/01/2014

### 2.1.1. Local de produção e composição química dos óleos essenciais

As plantas produtoras de óleos essenciais secretam e acumulam compostos voláteis em estruturas anatômicas especializadas internas ou externas (BASER e BUCHBAUER, 2010). As estruturas secretoras externas são representadas pelos tricomas glandulares. Essas estruturas estão presentes em vários órgãos dos vegetais. Esses tricomas estão envolvidos na secreção de diversas substâncias, porém os terpenos são os compostos mais comuns e mais encontrados nessas estruturas. Os ductos e as cavidades secretoras consistem as estruturas secretoras internas para armazenamento de óleos essenciais nas plantas.

Óleos essenciais são geralmente constituídos por misturas muito complexas compostas, às vezes, por mais de uma centena de componentes químicos em diferentes concentrações. Porém, alguns óleos essenciais podem ser caracterizados pela presença de um ou dois componentes majoritários, que lhes conferem os sabores e odores característicos (BAKKALI *et al.*, 2008).

Apesar de possuírem caráter lipofílico, óleos essenciais diferem quimicamente dos óleos fixos, que são constituídos principalmente por triacilglicerídeos. Dentre as principais classes de substâncias que constituem os óleos essenciais destacam-se os terpenos e os fenilpropanóides (OOTANI *et al.*, 2013). Os terpenos formam classes estrutural e funcionalmente diferentes. São produzidos a partir de várias combinações de unidades base de cinco carbonos (C5). Na figura 1 estão representados exemplos de terpenos que constituem os óleos essenciais de algumas plantas.

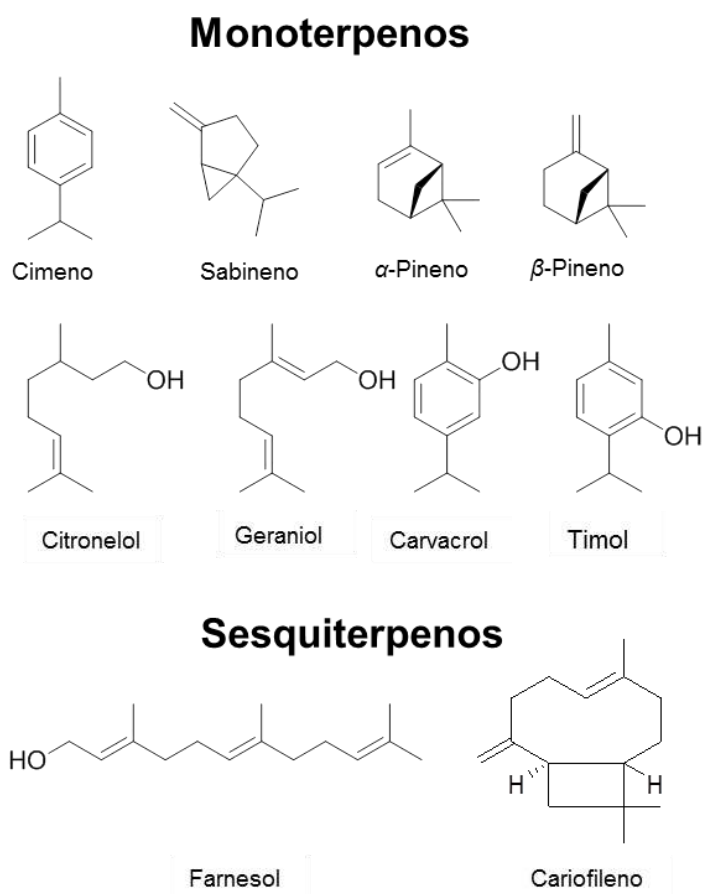


Figura 1- Alguns terpenos que constituem os óleos essenciais.

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários. A mesma espécie de planta pode produzir óleos essenciais com composição química diferente dependendo da variação de condições ambientais durante seu crescimento (WORWOOD, 1990). De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente. Diferentes estímulos ambientais podem redirecionar as rotas metabólicas, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Dentre estes fatores, podem-se ressaltar a temperatura, a disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, poluição atmosférica, altitude, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos. Também podem ser caracterizados como fatores que influenciam na produção de metabólitos secundários o ritmo circadiano, desenvolvimento da planta e a sazonalidade (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

### **2.1.2. Processos de extração de óleo essencial e análise química**

Os óleos essenciais produzidos e armazenados nas estruturas secretoras podem ser extraídos por meio de pressão, calor ou solventes lipofílicos de várias partes da planta como folhas, frutos, raízes, madeira, casca, etc. Uma das técnicas mais amplamente utilizadas na extração de óleo essencial é a destilação por arraste de vapor. Nesta técnica, a água no estado de vapor arrasta os constituintes voláteis do material vegetal, que são condensados e coletados (MORAIS e FILHO, 2007).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas tem sido a técnica mais comumente utilizada para a análise qualitativa dos constituintes óleos essenciais. Os constituintes são separados por cromatografia gasosa e identificados por meio da comparação com a literatura, com bancos de dados dos espectros de massas e índices de retenção relativos a uma série de alcanos lineares conhecidos.

## 2.2. Família Siparunaceae

Em seu habitat, a família Siparunaceae é reconhecida pelas mesmas características vegetativas da família Monimiaceae. Devido a algumas diferenças filogenéticas entre *Siparuna* Aubl e *Glossocalyx* Benth, esses dois gêneros classificados por Cronquist (1988) e por Kubitzki (1993) como pertencentes a família Monimiaceae foram segregados recentemente e atualmente pertencem à família Siparunaceae (SILVA e SILVA, 2008).

A família Siparunaceae então consiste em dois gêneros. *Glossocalyx* é nativo da África Ocidental, com 70 espécies distribuídas desde o México e o Caribe, até o Paraguai e Argentina. *Siparuna* conta com 72 espécies que ocorre desde o México ao norte da América do Sul até a Bolívia e Paraguai (RENNER *et al.*, 1997). Apesar de o gênero *Siparuna* ainda ser reconhecida por muitos taxonomistas como pertencente à família Monimiaceae e citada sob essa classificação em inúmeros artigos, o sistema APG II (Grupo para a Filogenia das Angiospermas), de 2003, segregou os gêneros *Siparuna* Aublet e *Glossocalyx* Benth., reconhecendo-os como sendo da família Siparunaceae.

No Brasil, ocorrem cerca de 40 espécies de *Siparuna*, sendo mais comuns na região Central e Sudeste, porém sua grande maioria provém da região Amazônica. Esse gênero compreende a grande maioria das espécies como arbustos e arvoretas. No entanto, existem 15 espécies de ocorrência na região Amazônica que são árvores de 20 a 40 metros de altura, com diâmetros dos troncos maiores que 120 cm (RENNER & HAUSNER, 2005).

Siparunaceae apresenta odor cítrico desagradável ou fétido em toda planta devido a grande quantidade de óleo essencial. As folhas na maior parte das espécies se apresentam simples, elípticas, verticiladas ou opostas, de margens inteiras a denteadas ou serradas sem estípulas; pecíolo de comprimento variável; ramos cilíndricos com nós achatados. Algumas espécies são completamente glabras enquanto outras apresentam vários tipos de indumento nas folhas ou nos ramos (SILVA e SILVA, 2008).

### 2.2.1. *Siparuna guianensis*

Uma espécie pertencente à família Siparunaceae de grande importância é *Siparuna guianensis* Aublet. É uma planta aromática, nativa em quase todo Brasil com maior frequência na região Amazônica e apontada por alguns pesquisadores como espécie prioritária de conservação para a região do cerrado. Possui as sinônimas *Citriosma camporum* Tul.; *Citriosma discolor* Poepp. & Endl.; *Citriosma guianensis* (Aubl.) Tul.; *Citriosma guianensis* var. *divergentifolia* Pohl ex Tul.; *Citriosma guianensis* var. *nuda* Tul.; *Siparuna archeri* A. C. Smith; *Siparuna camporum* (Tul.) A.DC.; *Siparuna arianae* M. V. L.Pereira; *Siparuna cavalcantei* Jangoux; *Siparuna discolor* (Poepp. & Endl.) A.DC.; *Siparuna duckeana* Jangoux; *Siparuna foetida* Barb.Rodr.; *Siparuna guianensis* var. *glabrescens* A.DC.; *Siparuna guianensis* var. *longifolia* A.DC.; *Siparuna guianensis* var. *nitens* Kuntze; *Siparuna itacaiunensis* Jangoux; *Siparuna panamensis* A.DC. e *Siparuna savanicola* Jangoux (VALENTINI *et al.*, 2010 a).

As folhas de *S. guianensis* são simples, membranáceas, de margens lisas, opostas, pecíolos de 0,5 a 1,5 cm de comprimento. Possuem de 10 a 33 cm de comprimento por 4 a 16 cm de largura, são alongadas a elípticas ou lanceoladas. Em algumas áreas pesquisadas o tamanho das folhas foi maior na área sombreada, com tamanho médio de 8,1 cm de largura e 23,8 cm de comprimento, do que na área com maior incidência solar, cujo tamanho médio foi de 5,7 cm de largura e 14,9 cm de comprimento (VALENTINI *et al.*, 2009).

O fruto de *Siparuna guianensis* é múltiplo cupuliforme, redondo, 0,68-1,32 cm de comprimento por 0,67-1,37 cm de diâmetro, cúpula receptacular siconiforme, abre-se irregularmente formando câmaras com frutíolos drupóides elipsóides, papilosos, recobertos por excrescência carnosa branca, 4,2-5,8 mm comprimento por 3,6-4,5 mm diâmetro (APPROBATO e GODOY, 2006). São de cor verde quando jovens e vinho quando maduros, que se abrem expondo o interior róseo-avermelhado com as sementes.

Na figura 2 podem ser observadas as folhas e frutos de *S. guianensis*.



Figura 2- Detalhes das características vegetativas e frutos de *S. guianensis* (Foto por Coelho M.F.B, VALENTINI *et al.* 2010a).

#### 2.2.1.1. Constituição química e etnofarmacologia da planta

De acordo com VALENTINI *et al.* (2009) a etnobotânica da *Siparuna guianensis* (Siparunaceae) compreende as interações estabelecidas pelas populações tradicionais com esta espécie, ao longo das diversas regiões em que ocorre, refletindo o conhecimento local acumulado.

Em estudo no sul de Minas Gerais, RODRIGUES e CARVALHO (2001) relatam que a planta é conhecida como negramina e é utilizada pelos moradores da região como decocto ou infuso com atividade anti-inflamatória, carminativa, estimulante, em tratamento de gripes, resfriados e reumatismo. No cerrado do estado, a espécie é conhecida como folha-santa (HERRMANN *et al.*, 1998) e também pode ser identificada como marinheiro (SOUZA *et al.*, 2007). No estudo realizado em Luminárias- MG, RODRIGUES *et al.* (2002) relatam que a planta além de ser usada como planta medicinal também é utilizada para banho de descarrego. Em Goiás, *S. guianensis* é utilizada como analgésico, no tratamento de reumatismo e artrite (SOUZA e FELFILI, 2006). No Mato Grosso, negramina é considerada arbustiva (GUARIM NETO e MORAIS, 2003) e como espécie típica do Cerrado (AMOROZO, 2002).

MILLIKEN e ALBERT (2006) citam *S. guianensis* como planta medicinal utilizada pelos índios Yanomani no Amazonas. As folhas esmagadas e inaladas são usadas no tratamento de uma série de doenças, incluindo congestão, resfriados, tontura e náuseas. Os índios Wayãpi, também tomam o decocto das folhas e da casca do caule para o tratamento de gripe e febre, administrando-o

oralmente em pequenas quantidades, mas principalmente na forma de banhos (VALENTINI, 2010b apud LORENZI & MATOS, 2002).

No Pará a espécie *S. guianensis* é conhecida vulgarmente como capitiú e como catिंगoso, e suas folhas são empregadas para o tratamento de gripe, reumatismo e inflamações (ALVINO *et al.*, 2005; MARTINS FILHO, 2006). No Paraná a planta é conhecida pelos nomes de capitiú, limão-bravo e cicatrizante-das-guianas e suas folhas têm atividade anti-inflamatória, caminativa, estimulante, para gripes e reumatismo (FURTADO, 2006). No Distrito Federal *S. guianensis* é conhecida por limão-bravo (VIANI e RODRIGUES, 2007), negramina e erva-santa (PEREIRA e SILVA, 2008). Em São Paulo é conhecida por amescla-de-cheiro (RODRIGUES, 1999) e mata-cachorro (CIELO FILHO e SANTIN, 2002).

Estudos já realizados com *S. guianensis* mostram que há diferença em seus constituintes e no rendimento do óleo essencial dependendo do local e período de coleta o que leva a um maior interesse na análise sazonal dessa planta. Em estudo com o óleo essencial de *S. guianensis* obtido a partir das folhas coletadas no Bosque Paulo Siqueira no município de Cuiabá – MT de setembro/2007 a abril/2008, VALENTINI *et al.* (2010a) concluíram que em todas as amostras analisadas a siparunona se apresentou como o componente majoritário. Os constituintes que foram identificados em praticamente todas as amostras mensais (siparunona, ledol e espatulenol) tiveram menor concentração nos meses chuvosos. Obteve-se rendimento do óleo essencial na faixa de 0,1-0,6%. Observou-se que a maior quantidade da composição volátil da *S. guianensis* ocorreu nos períodos reprodutivos, quando a planta estava emitindo botões florais, flores e frutos.

Na Zona da Mata de Minas Gerais, a ocorrência de variabilidade de produção de óleos essenciais de *S. guianensis*, visando o manejo sustentável da espécie foi estudada por meio da produção de óleo essencial em função das partes vegetais (folhas e galhos) e da época de colheita (primavera, verão, outono e inverno) (CASTELLANI *et al.*, 2006). Os resultados mostraram que houve diferença significativa entre as partes vegetais analisadas, sendo que, nas folhas, ocorreu sempre maior produção de óleos essenciais.

### 2.3. $\alpha$ -Bisabolol

O  $\alpha$ -bisabolol também conhecido como levomenol é um álcool sesquiterpênico monocíclico insaturado que foi isolado pela primeira vez em 1951 das flores de *Matricaria chamomilla*. Esse composto de grande apreciação da indústria farmacêutica e cosmética se apresenta como quatro estereoisômeros (KAMATOU e VILJOEN, 2010) (Figura 3).

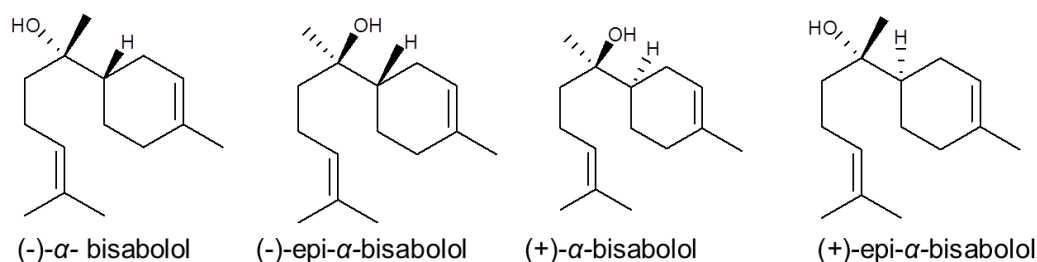


Figura 3-Isômeros do  $\alpha$ -bisabolol.

Dentre as formas isoméricas que podem ser identificadas em diversas plantas, atribui-se ao (-)- $\alpha$ -bisabolol as diversas propriedades biológicas apresentadas por esse sesquiterpeno. CAVALIERI *et al.* (2011) demonstram atividade de (-)- $\alpha$ -bisabolol contra apoptose. Também já foi relatada atividade anti-inflamatória (VILA *et al.*, 2010), anticancerígena (KAMATOU e VILJOEN, 2010), bactericida; anti-micótica; cicatrizante e anti-séptica (ANDRADE, 2009).

O bisabolol é um composto lipofílico que apresenta suave aroma doce. Atualmente a Camomila (*Matricaria chamomilla*) e a Candeia (*Eremanthus erythropappus*) são as principais fontes de  $\alpha$ -bisabolol. Outras plantas possuem esse álcool sesquiterpênico em sua composição. HEDIN *et al.* (1971) extraíram esse composto (0-6%) do algodão (*Gossypium hirsutum* L.). VILA e colaboradores (2010) identificaram esse composto em *Plinia cerrocampanensis* coletada no Panamá e concluíram que a planta pode ser considerada uma nova fonte de  $\alpha$ -bisabolol após o mesmo ser identificado em 42,8%. Outra planta que apresentou boa concentração (48,2 $\pm$ 15,6%) de  $\alpha$ -bisabolol é a *Lychnophora ericoides* Less conhecida como arnica (MELO *et al.*, 2009). HECK e colaboradores (2012) constataram a presença desse álcool em óleo de Copaíba (*Copaifera langsdorffi* Desf.).

## 2.4. *Rhipicephalus microplus*

O carrapato *Rhipicephalus microplus* é a única espécie do subgênero *Boophilus* que ocorre no Brasil. São carrapatos da família Ixodidae, conhecida como família dos carrapatos duros. Pertencem à ordem Parasitiformes da classe Arachnida e da subordem Metastigmata ou Ixodides. (CAMPOS *et al.*, 2012)

*R. microplus*, conhecido popularmente como carrapato do boi é o principal parasito hematófago de bovinos e provoca sérios prejuízos econômicos à pecuária, evidenciados pela redução da produtividade, debilidade, anemia, perda de peso, lesões que afetam a qualidade do couro e predispoem a infecções ou infestações secundárias, agravando-se ainda pela transmissão de agentes patogênicos, como anaplasma e babesia, podendo levar a morte.

Devido a tais prejuízos na pecuária, é necessária atenção especial ao controle desse parasita no rebanho. Em propriedades que criam raças bovinas de origem européia a atenção deve ser redobrada. Considerando-se que cada fêmea do carrapato dos bovinos ingere durante sua fase parasitária de 0,5 mL a 1,0 mL de sangue e determina uma perda média estimada em 1,0 g de peso vivo/carrapato e 8,9 mL de leite, torna-se fácil entender como ocorrem as perdas produtivas determinadas por altas infestações nos rebanhos. A perda de peso, diminuição de produção de leite, enfraquecimento generalizado, desenvolvimento insatisfatório dos animais jovens dentre outros sintomas ditos anteriormente se devem ao alto consumo de sangue e a inoculação de substâncias tóxicas aos bovinos realizados pelas fêmeas do carrapato.

O prejuízo econômico ocasionado pela infestação de carrapatos ao rebanho se dá pelo custo no tratamento dos bovinos e sem dúvida pela perda da produção (BRITO *et al.*, 2010).

Do ponto de vista econômico, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini 1887) é o carrapato mais importante da região Neotropical e um dos mais importantes do mundo. No Brasil, com base em estimativas atualizadas, as perdas econômicas causadas por esse parasita chegam a dois bilhões de dólares por ano (GRISI *et al.*, 2002) (MONTEIRO *et al.*, 2010).

Os prejuízos determinados pelo parasitismo por *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) à pecuária bovina brasileira são classificados em dois grupos principais. No primeiro grupo se enquadram os danos decorrentes da ação direta, caracterizados por espoliação sangüínea e suas conseqüências, como anemia, irritação, quedas no peso e na produção dos animais, predisposição à instalação de miíases e desvalorização dos couros. Em um segundo grupo está compreendido os transtornos ocasionados pela ação indireta, constituídos, essencialmente, pela transmissão de agentes causadores de doenças, como a Tristeza Parasitária Bovina (TPB) e pelos gastos com a aquisição de medicamentos e de mão-de-obra especializada para o tratamento dos animais, além das perdas com os bovinos que vão a óbito, quando não adequadamente tratados. Na tentativa de evitar que a situação chegue a tal ponto, os carrapaticidas são utilizados indiscriminadamente, levando ao aumento dos gastos e à seleção e proliferação de populações de carrapatos resistentes às bases químicas disponíveis, além da poluição ambiental e da elevada quantidade de resíduos nos produtos derivados dos animais tratados. A receita proveniente da comercialização de tais produtos normalmente não é suficiente para compensar os gastos, levando muitos produtores à procura por outra atividade. (FURLONG *et al.*, 2003).

A dependência de poucas bases químicas carrapaticidas disponíveis no mercado, aliada à sua má utilização, levou à dispersão generalizada da resistência nas populações de carrapato, chegando-se ao ponto em que a maioria dos produtos comerciais não apresenta a eficácia esperada ou necessária ao controle parasitário. Dessa forma, é notório o crescimento de pesquisas que buscam detectar novas substâncias ativas sobre esse parasita, sejam elas oriundas de plantas, fungos ou outros organismos (CHAGAS *et al.* 2012).

Os mais recentes grupos químicos carrapaticidas disponíveis no mercado são: fenilpirazol e as spinosinas (pertencente ao grupo das lactonas macrocíclicas). Porém ainda são de usos corrente carrapaticidas que têm como princípio ativo piretróides, organofosforados e amidinas, os quais permanecem no mercado por causa do baixo custo relativo destas bases e por ainda propiciarem o controle em algumas populações do carrapato do boi. A

resistência a diversos acaricidas que se desenvolveu em isolados do carrapato *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) se tornou um dos principais problemas da bovinocultura brasileira. (CHAGAS *et al.*, 2002).

Além da contaminação ambiental e dos resíduos nos produtos animais e seus derivados, a utilização dos carrapaticidas organossintéticos têm favorecido o desenvolvimento da resistência dos carrapatos a estes produtos. O controle convencional de parasitas baseado na utilização de carrapaticidas, há anos vem demonstrando sua ineficácia como estratégia de controle em longo prazo, através de recorrentes relatos de populações de ectoparasitas resistentes às formulações comerciais disponíveis. No Brasil, a resistência das populações de carrapatos aos carrapaticidas é generalizada. Há relatos de resistência de populações deste ectoparasito a maior parte dos pesticidas sintéticos usados no Brasil. Em alguns casos, *R. microplus* apresenta resistência antes de entrar em contato com determinado produto. Isso ocorre porque já existiam alguns indivíduos naturalmente resistentes, ou então, como é mais comum, o uso freqüente do produto causou alterações (mutações) em alguns indivíduos da população tornando-os menos suscetível. É o chamado estabelecimento do alelo resistente. A continuidade do uso desse produto faz aumentar o número de indivíduos com essa característica de resistência. Isso ocorre, uma vez que morre a maioria dos indivíduos sensíveis e os resistentes acasalam entre si, produzindo descendentes cada vez mais resistentes e em maior número na população. (CAMPOS *et al.*, 2012).

As propriedades inseticidas e acaricidas de extratos de plantas têm sido estudadas desde a década de 50, mas o uso como carrapaticida se encontram nas práticas etnobotânicas de muitos povos tradicionais. O entusiasmo inicial por essas substâncias surgiram com a divulgação de químicos acaricidas, com o surgimento da resistência químicas dos carrapatos e como interesse em um método barato eficaz. (KISS *et al.*, 2012).

Plantas com atividade acaricida e inseticida têm sido utilizadas tradicionalmente devido a seu efeito repelente, são especialmente úteis na prevenção de ataques de ninfas, que são importantes ligações epidemiológicas em transmissão de doenças e é também a fase mais resistente à ação biopesticida. Um repelente -normalmente um volátil- é um produto químico que faz com que o parasita faça seu movimento orientado para longe da fonte de

estímulo, uma vez que carrapatos usam odores dos hospedeiros em questão e essas substâncias voláteis podem mascarar ou cobrir esses odores e perturbar a atividade do carrapato a procura do hospedeiro (JAENSON *et al.*, 2005).

Principais vantagens de acaricidas botânicos são representadas geralmente por baixo custo de produção, redução da probabilidade de resistência que ocorre em carrapatos e por sua imagem e ação ecológica mais aceitável (KISS *et al.*, 2012).

São realizados testes de campo em grande escala juntamente com estudos de segurança para estabelecer a dosagem adequada, identificar compostos mais eficazes, desenvolver formulações convenientes e conhecer a relação do efeito sobre os outros organismos que poderão ser atingidos.

O uso da fitoterapia no campo das ciências veterinárias tem sido um processo incremental. No entanto, é preciso enfatizar que as investigações sobre o uso de extratos vegetais para controle de carrapatos, especialmente *R. microplus*, tornaram-se intenso na última década, tanto no Brasil quanto em outros países. Mesmo que um grande número de investigações comprove a atividade acaricida de alguns extratos de plantas em laboratório, o estudo com o hospedeiro é necessário com o objetivo de validar esta estratégia de controle (BORGES *et al.*, 2011).

Neste contexto, o estudo da atividade acaricida do óleo essencial de *Siparuna guianensis* contra *R. microplus* se mostrou interessante, devido às diferentes propriedades da planta já relatadas na literatura.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Coleta das plantas e obtenção das amostras

Para a extração do óleo essencial, foram utilizadas as folhas de *S. guianensis*. As plantas utilizadas nesse trabalho foram coletadas em quatro populações na Zona da Mata no estado de Minas Gerais: Tocantins, São Miguel do Anta, Porto Firme e Viçosa. Foram realizadas seis coletas bimensais durante o período de fevereiro e dezembro de 2012.

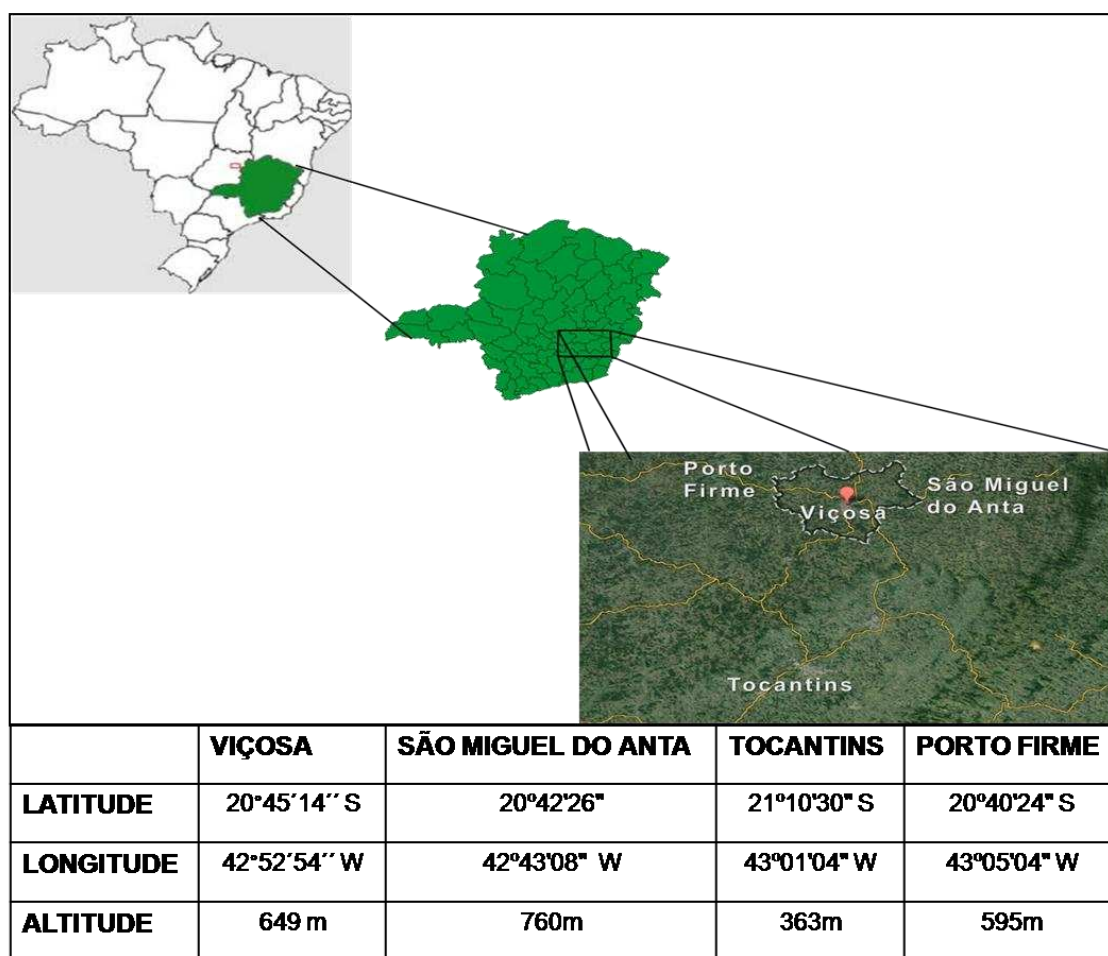


Figura 4- Mapa e localização geográfica dos pontos de coleta. (Fonte: [www.geografos.com.br](http://www.geografos.com.br), acessado dia 29/03/2014 às 20:32 h)

As folhas foram selecionadas e separadas em amostras de aproximadamente 100 g. As extrações foram realizadas em triplicata. Exsiccatas foram herborizadas e incorporadas ao acervo do Herbário VIC do

Departamento de Biologia Vegetal (DBV) da Universidade Federal de Viçosa com os seguintes números de registros: Tocantins VIC 35401; São Miguel do Anta VIC 35402; Porto Firme VIC 35492 e Viçosa VIC 36630.

#### **4.2. Extração e Determinação do teor do óleo essencial**

Cada amostra foi pulverizada e submetida à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3 horas. Os óleos obtidos, juntamente com o hidrolato, foram recolhidos e extraídos com pentano (3 x 20 mL) em funil de separação. As fases orgânicas foram secadas com sulfato de magnésio anidro e o solvente removido sob baixa pressão, a 40 °C, em evaporador rotativo. Os óleos foram acondicionados em frascos de vidro, sob atmosfera de nitrogênio, e mantidos sob refrigeração à temperatura de aproximadamente -4 °C, até o momento das análises químicas e ensaios de atividade biológica.

Para a determinação da matéria seca, três alíquotas de aproximadamente 2 g de folhas de cada amostra passaram por secagem em estufa a  $103 \pm 2$  °C até massa constante (ASAE, 2000). A massa de cada óleo foi mensurada em balança analítica e os rendimentos expressos em relação à massa de matéria seca do vegetal.

#### **4.3. Análise qualitativa dos constituintes dos óleos essenciais.**

Para a identificação dos constituintes dos óleos essenciais de *S. guianensis*, foi utilizado um cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-17A, Japão) equipado com coluna de sílica fundida RTX-5 (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25  $\mu\text{m}$ ) e acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu GCMS-QP5050A, Japão). O gás de arraste utilizado foi o hélio com fluxo de 1,8 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura do injetor foi de 220 °C, sendo a temperatura inicial da coluna 40 °C mantida por 2 minutos, seguido de aquecimento a 3 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, permanecendo isotermicamente por 15 min. O volume de injeção da amostra foi de 1,0  $\mu\text{L}$  (10 mg mL<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) com razão de split 1:10, a pressão da coluna foi de 100 kPa e a temperatura da interface 240 °C. Com

relação ao espectrômetro de massas, o processo de ionização foi por impacto de elétrons (70 eV) e a amplitude de varredura foi de 30 a 600 Da.

As identificações dos componentes foram realizadas pela comparação de seus tempos de retenção, relativos à série de alcanos (C<sub>9</sub> – C<sub>27</sub>), e pela comparação dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca Wiley (Wiley 330.000) ou com a literatura (ADAMS, 2007).

#### **4.4. Análise quantitativa dos constituintes dos óleos essenciais**

Para a quantificação dos constituintes dos óleos essenciais de *S. guianensis* foi utilizado um cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-17 A, Japão) equipado com detector de ionização em chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida SPB-5 (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm, Supelco). O gás de arraste utilizado foi nitrogênio com fluxo de 1,8 mL<sup>-1</sup>. A temperatura do injetor foi de 220 °C, a temperatura do detector 240 °C e a temperatura inicial da coluna 40 °C mantida por 4 minutos, seguido de aquecimento a 3 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, permanecendo isotermicamente por 15 min. O volume de injeção da amostra foi de 1,0 mL (10 mg mL<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) com razão de split 1:10 e a pressão da coluna foi de 115 kPa.

As análises foram realizadas em triplicatas e a concentração de cada constituinte foi calculada pela porcentagem da área do pico correspondente em relação à área total de todos os picos do cromatograma.

#### **4.5. Purificação e caracterização do α-bisabolol**

Para a purificação do α-bisabolol, utilizou-se uma coluna cromatográfica (36 cm × 18 mm) empacotada com sílica em gel. Foram pesados 0,5 g e 0,2 g de óleo essencial das plantas de Tocantins e São Miguel do Anta respectivamente, e aplicados no topo da coluna. A eluição ocorreu em gradiente de hexano:éter dietílico, com as seguintes proporções: 10:0, 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5 v/v.

As frações coletadas (10 mL) em tubo de ensaio foram avaliadas por cromatografia de camada delgada, tendo como eluente hexano e éter dietílico na proporção de 7:3 v/v e o ácido fosfomolibdico como revelador.

A confirmação estrutural foi feita por meio das técnicas de espectrometria de massas, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HETCOR e COSY. Os experimentos de RMN foram realizados em espectrômetro *Varian Mercury 300* ( $B_0 = 7,05 \text{ T}$ ), operando a 300 MHz para  $^1\text{H}$  e a 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ . O espectrômetro é equipado com sondas de 5 mm para detecção direta. Utilizou-se clorofórmio deuterado como solvente, e os espectros foram referenciados pelo sinal do  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta = 7,27$ ). As constantes de acoplamento escalar ( $J$ ) foram expressas em Hertz (Hz).

As rotações específicas  $[\alpha_D]$  foram obtidas em um polarímetro (Nova Optical Systems – 1412), com 589,44 nm, em tubo de comprimento de 2,0 dm, a temperatura ambiente. Para obtenção dos dados foi utilizada a equação 1:

$$\alpha_D = \frac{R}{d \times C}$$

Em que  $R$  é a rotação observada,  $d$  o caminho ótico (dm) e  $C$  concentração da amostra ( $\text{g mL}^{-1}$ )

## 4.6. Avaliação da atividade carrapaticida

### 4.6.1. Obtenção dos carrapatos

Para avaliar a atividade carrapaticida dos óleos essenciais de *S. guianensis*, foram utilizadas aproximadamente 26.000 larvas de *R. microplus*. Os carrapatos utilizados foram obtidos a partir de infestações artificiais em bezerros mantidos no Campo Experimental José Henrique Bruschi (CEJHB), da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil (registro CEUA-EGL 11/2013). O teste de pacote de larvas foi aplicado às larvas não ingurgitadas e para fêmeas ingurgitadas foi utilizado o teste de imersão.

#### 4.6.2. Teste de pacote de larvas

Para a realização do teste, foram utilizadas larvas com idade entre 15 a 21 dias após eclosão, sendo empregado o método proposto por Stone e Haydock (1962), adaptado por Monteiro e colaboradores (2012). Nesta metodologia, aproximadamente 100 larvas foram colocadas no centro de papel de filtro (6x6 cm) e em seguida foram dobradas ao meio com as extremidades seladas com cliques. Cada óleo essencial utilizado para o teste foi primeiramente dissolvido em água e Tween. Na figura 5 estão representadas as etapas de realização do teste.

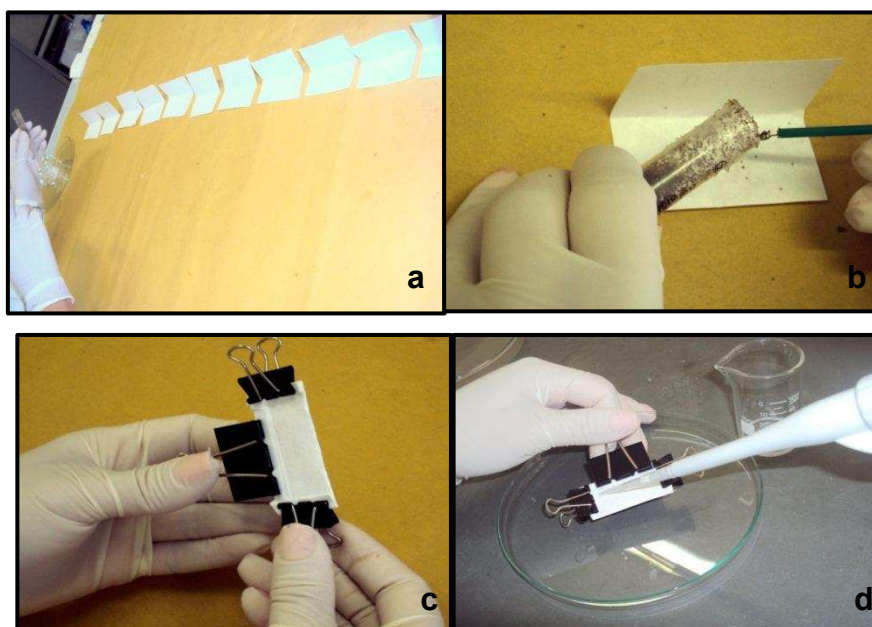


Figura 5- **a-** Pacotes utilizados para a realização do teste. Para cada concentração de óleo essencial testado foram utilizados dez pacotes preenchidos com larvas de *R. microplus*. **b-** Larvas de *R. microplus* sendo colocadas no papel **c-** Pacote já preenchido com as larvas e já vedado com cliques **d-** Pacote com larvas sendo umedecidos com a solução contendo o óleo essencial.

Posteriormente, cada um dos lados dos pacotes foram umedecidos uniformemente com 90  $\mu\text{L}$  das soluções de óleos essenciais nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0  $\text{mg mL}^{-1}$ . Um grupo controle foi formado em que as

larvas foram tratadas com Tween 80 (20,0 mg mL<sup>-1</sup>). Para cada concentração testada foram realizadas dez repetições.

Todos os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27 ± 1° C e UR > 80 ± 10%). A mortalidade foi avaliada 24 horas após a aplicação das amostras testadas através da contagem das larvas vivas e mortas. Fez-se uma injeção de ar sobre os parasitas para observar a mobilidade das larvas vivas. O critério para a avaliação da mortalidade foi a incapacidade de locomoção das larvas sobre o papel de filtro. A mortalidade (*M*) foi expressa em percentagem calculada de acordo com a equação:

$$M = \frac{L_m}{L_t} \times 100$$

Em que *L<sub>m</sub>* é o total de larvas mortas e *L<sub>t</sub>* é o total de larvas utilizadas no teste.

#### 4.6.3. Teste de imersão de fêmeas

Esse teste foi realizado com fêmeas recém-desprendidas de bezerros artificialmente infestados, sendo o método empregado proposto por Drummond *et al.* (1973). Para realização do teste, fêmeas ingurgitadas foram divididas em grupos contendo dez fêmeas, com pesos homogêneos (*p* > 0,05). Cada óleo essencial utilizado para o teste foi primeiramente dissolvido em água e Tween.

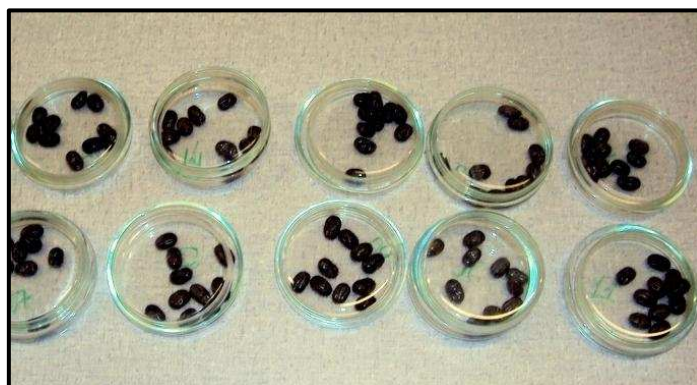


Figura 6- Fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

Em seguida, cada grupo foi imerso durante 5 minutos nas concentrações testadas de óleo (10, 20, 40 e 60) mg mL<sup>-1</sup>. No grupo controle, os carrapatos

foram imersos em Tween 80 (20 mg mL<sup>-1</sup>) e água. Após a imersão, cada fêmea foi pesada e mantida individualmente em placas de Petri (6×6 cm), para monitorar a oviposição (cada carrapato foi considerado uma unidade experimental). Os grupos foram mantidos numa câmara climatizada (27 ± 1°C e UR > 80 ± 10%) e os ovos foram coletados diariamente até a morte da última fêmea. Os ovos coletados de cada fêmea foram colocados em seringa com o corte na extremidade distal e vedado com algodão hidrófilo, mantidos sob as mesmas condições de temperatura e umidade descrita anteriormente. Foram avaliados o peso da fêmea antes da oviposição, o peso da massa de ovos e a percentagem de eclosão.

O índice de produção de ovos (EPI%) foi obtido de acordo com a equação proposta por Bennett (1974).

$$EPI = \frac{M_o}{P_f} \times 100$$

Em que,  $M_o$  é a massa dos ovos e  $P_f$  é o peso da fêmea antes da oviposição.

O percentual de controle dos tratamentos, por meio de inibição de prole, foi obtido de acordo com o método proposto por Drummond et al. (1973). Primeiramente, foi calculado o índice de reprodução estimada (ER).

$$ER = \frac{M_o}{P_f}$$

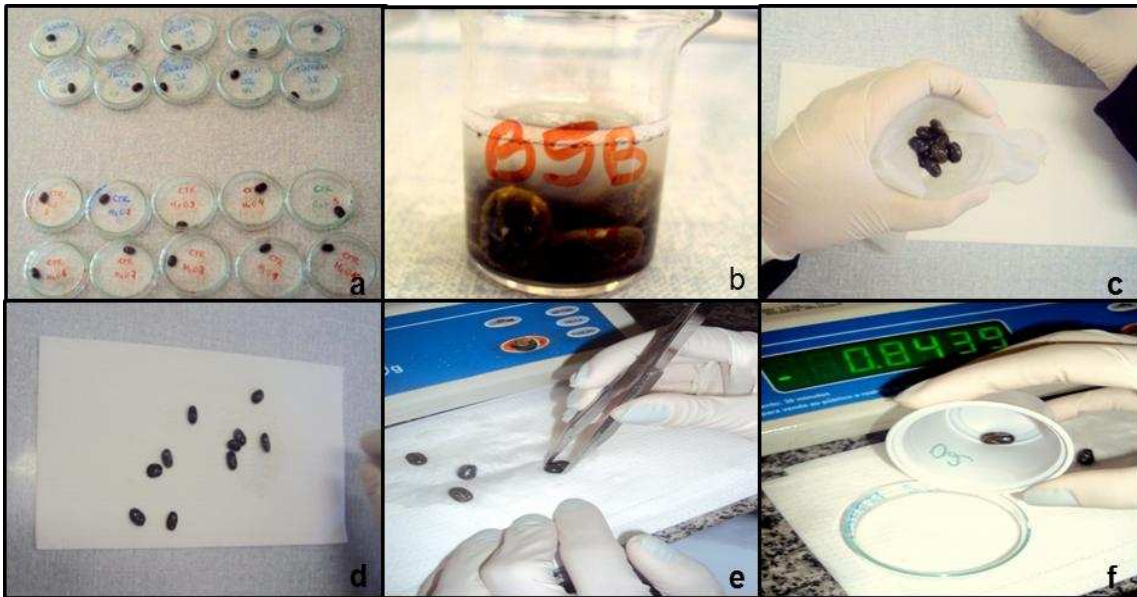
Em que,  $M_o$  é a massa dos ovos e  $P_f$  é o peso da fêmea antes da oviposição.

Em seguida, foi calculado o percentual de controle (PC).

$$PC = \frac{ER_{GC} - ER_{GT}}{ER_{GC}} \times 100$$

Em que,  $ER_{GC}$  e  $ER_{GT}$  são o índice de reprodução estimada do grupo controle e do grupo tratado, respectivamente.

Na figura 7 estão representadas as etapas de realização do teste de imersão de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.



Figuras 7- **a**-Fêmeas individualmente colocadas em Placas de Petri **b**- Imersão das fêmeas na solução testada **c**- Fêmeas após mergulho da solução **d**- Fêmeas enxugadas em papel toalha **e**- Determinação do peso de cada fêmea após imersão **f**-Acondicionamento das fêmeas em Placas de Petri.

#### 4.6.4. Análise estatística

Análises de variância e do teste de Tukey foram utilizadas para comparar os valores médios dos tratamentos. O software utilizado foi o Biostat 5.0.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Teor dos óleos essenciais extraídos em diferentes períodos de coleta

Ao longo do período de análise, os teores médios de óleo essencial nas folhas de *S. guianensis*, em relação à massa seca, foram de  $1,5 \pm 1,1\%$  para a população coletada em Porto Firme (PF),  $4,6 \pm 1,2\%$  para Tocantins (TO),  $3,6 \pm 0,7\%$  para São Miguel do Anta (SM) e  $2,2 \pm 1,0\%$  para Viçosa (VI) (Figura 8). Os valores se apresentaram superiores aos teores de óleo essencial de populações de *S. guianensis* da região amazônica (ZOGHBI *et al.*, 1998), nas quais os autores encontraram  $0,2\%$  de rendimento para o óleo essencial de plantas coletadas em Mojú (PA),  $0,1\%$  para plantas coletadas em Rio Branco (AC) e  $0,3\%$  para plantas coletadas em Belém (PA).

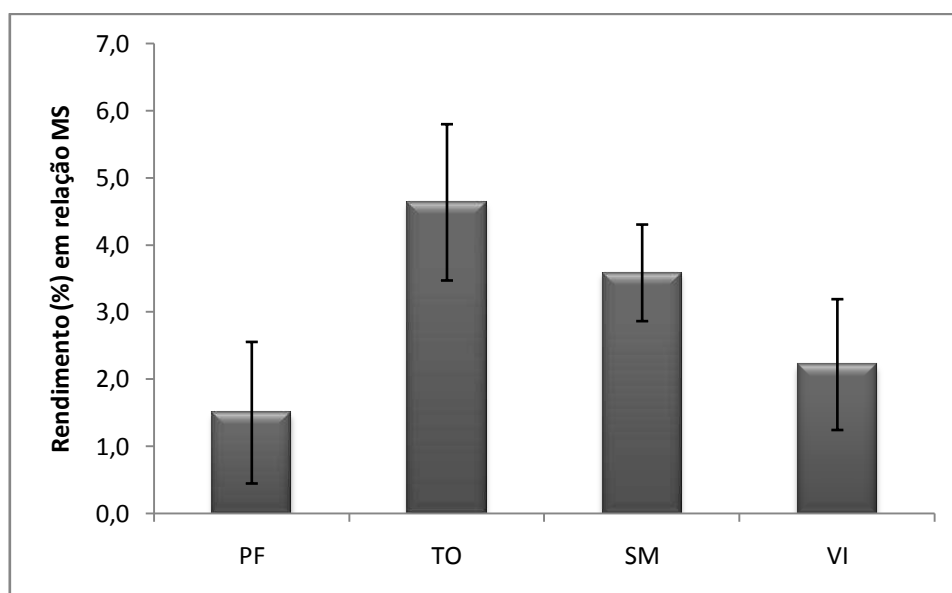


Figura 8 - Média dos rendimentos de óleo essencial (%) das plantas coletadas em Porto Firme, Tocantins, São Miguel do Anta e Viçosa.

Na figura 8 estão representados os rendimentos dos óleos essenciais das quatro populações ao longo do período de coleta. Observa-se que os teores de óleo essencial variaram dependendo da época de coleta para todas as populações amostradas. Os maiores teores foram observados para as plantas provenientes de Tocantins, atingindo valor máximo de  $6,6 \pm 0,1\%$  no

mês de junho. O valor mínimo de rendimento de óleo essencial das plantas desta população foi observado no mês de agosto ( $3,5\pm 0,1\%$ ).

Para o óleo essencial das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta, o maior valor de rendimento foi obtido no mês de dezembro ( $5\pm 1,5\%$ ), enquanto que o menor valor observado foi no mês de abril ( $3,0\pm 1,3\%$ ).

As plantas coletadas na população de Porto Firme apresentaram maior teor de óleo essencial no mês de junho ( $3,0\pm 1,4\%$ ) e menor teor no mês de fevereiro ( $0,8\pm 0,7\%$ ).

O maior teor de óleo essencial observado para as plantas provenientes de Viçosa foi observado no mês de dezembro ( $3,4\pm 1,3\%$ ) e o menor teor no mês de agosto ( $1,0\pm 0,1\%$ ).

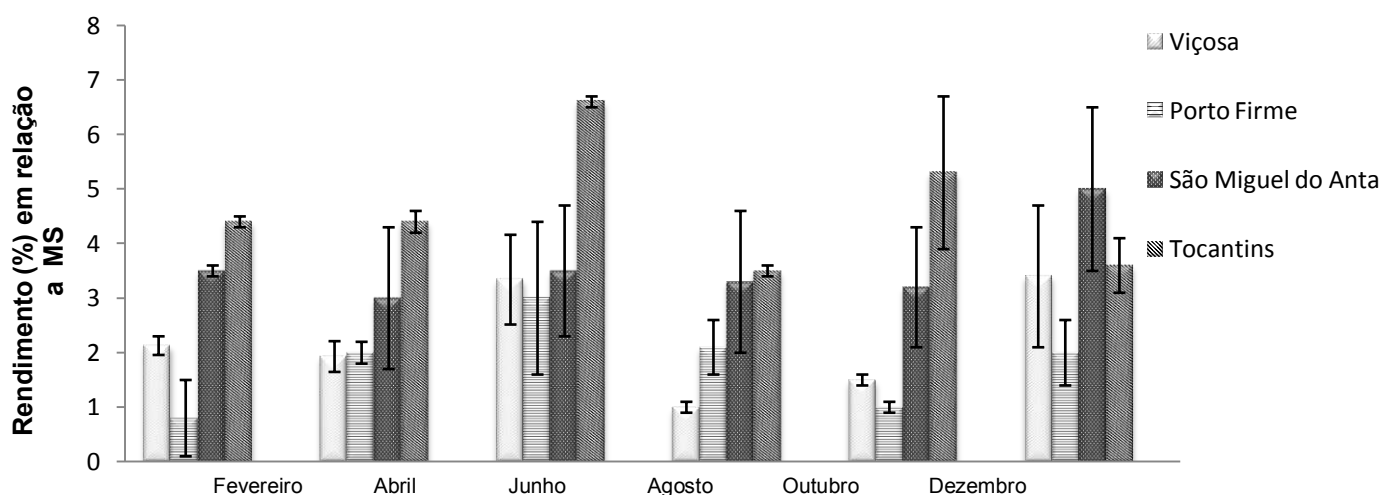


Figura 9- Teor de óleo essencial (%) das folhas de *S. guianensis* coletadas bimensalmente na microrregião de Viçosa.

A variação no teor de óleo essencial nas folhas de *S. guianensis* em relação à época de coleta também foi observada para plantas coletadas na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, no período de novembro de 2007 a outubro de 2008 (VALENTINI *et al.*, 2010b). Os autores observaram maior teor de óleo essencial no mês de julho (0,61% em relação à massa de folhas frescas) e menores teores nos meses de fevereiro e março de 2008 (0,1%).

## 5.2. Composição química do óleo essencial

A tabela 2 apresenta os principais constituintes identificados nos óleos essenciais extraídos das folhas de *S. guianensis* coletadas nas cidades de Tocantins, São Miguel do Anta, Porto Firme e Viçosa, Minas Gérias, Brasil, no período de fevereiro a dezembro de 2012.

Dentre as principais classes de substâncias observadas nos óleos essenciais, os hidrocarbonetos monoterpênicos variaram de 9,7 a 26,6% para as plantas coletadas na cidade de Tocantins; de 0,6 a 1,1% para as plantas coletadas em São Miguel do Anta; de 4,6 a 15,6% para as plantas coletadas em Porto Firme; e não foram encontrados nos óleos extraídos das plantas provenientes de Viçosa. Os monoterpênicos oxigenados foram representados apenas pela presença de baixas concentrações da substância *p*-cimen-8-ol no óleo essencial das plantas coletadas em Tocantins.

De modo geral, os óleos essenciais das plantas de todas as quatro populações se caracterizaram pela predominância de compostos sesquiterpênicos. Os hidrocarbonetos sesquiterpênicos variaram de 4,8 a 24,8% no óleo extraído das plantas de Tocantins; de 4,1 a 11,3% para as plantas de São Miguel do Anta; de 26,4% a 71,3% para as plantas de Porto Firme; e de 57,0% a 89,6% para as plantas de Viçosa. Os sesquiterpênicos oxigenados variaram de 52,4 a 68,4% para as plantas de Tocantins; de 69,4 a 87,4% para as plantas de São Miguel do Anta; de 3,4 a 45,2% para plantas de Porto Firme; e de 2,5 a 30,6% para as plantas de Viçosa.

O alto teor de sesquiterpênicos oxigenados apresentado pelas plantas coletadas em Tocantins e São Miguel do Anta se deve às altas concentrações de  $\alpha$ -bisabolol (**1**), que foi o constituinte majoritário nos óleos essenciais dessas plantas durante todo o período de análise. Todavia, esse composto não foi observado nos óleos das plantas coletadas em Porto Firme e Viçosa. Na população de Tocantins, o  $\alpha$ -bisabolol variou de 45,2 a 66,4%, seguido pelo monoterpêneo  $\alpha$ -terpinoleno (6,6 a 23,5%), confirmando resultados já obtidos para plantas desta localidade (MONTANARI, 2010). Para as plantas de São Miguel do Anta, o  $\alpha$ -bisabolol variou de 62,6 a 86,0% durante o período de análise.

Tabela 2- Principais constituintes identificados no óleo essencial (%) extraído das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em quatro populações distintas (Tocantins, São Miguel do Anta, Porto Firme e Viçosa). O total identificado apresenta a soma de todos os constituintes identificados durante o período de análise.

CONSTITUINTES			TOCANTINS						SÃO MIGUEL DO ANTA						PORTO FIRME						VIÇOSA					
	IA	IA*	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez
<b>Monoterpenos Hidrocarbonetos</b>			<b>9,7</b>	<b>26,6</b>	<b>26,8</b>	<b>11,0</b>	<b>28,3</b>	<b>15,6</b>	<b>0,8</b>	<b>0,9</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>1,1</b>	<b>0,5</b>	<b>4,6</b>	<b>12,2</b>	<b>14,1</b>	<b>8,4</b>	<b>15,6</b>	<b>13,6</b>	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Pino	<b>932</b>	<b>928</b>	0,3	0,3	0,2	0,5	0,4	-	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	-	-	0,4	0,2	0,4	0,5	-	-	-	-	-	-
Mirceno	<b>988</b>	<b>990</b>	0,4	0,7	0,5	0,3	0,7	0,4	0,5	0,7	0,4	0,4	0,9	0,4	<b>3,5</b>	<b>11,3</b>	<b>14,0</b>	<b>7,6</b>	<b>14,0</b>	<b>12,0</b>	-	-	-	-	-	-
Limoneno	<b>1024</b>	<b>1024</b>	0,6	0,9	0,7	0,7	1,0	0,7	-	-	-	0,1	0,1	-	1,1	0,9	0,7	0,7	1,0	1,0	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Terpinoleno	<b>1086</b>	<b>1084</b>	<b>6,6</b>	<b>22</b>	<b>22,7</b>	<b>7,8</b>	<b>23,5</b>	<b>13,1</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Monoterpenos Oxigenados</b>			<b>3,4</b>	<b>0,5</b>	-	<b>1,6</b>	<b>2,1</b>	<b>1,8</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>p</i> -Cimen-8-ol	<b>1179</b>	<b>1185</b>	<b>3,4</b>	0,5	-	1,6	1,1	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sesquiterpenos Hidrocarbonetos</b>			<b>24,8</b>	<b>4,8</b>	<b>8,3</b>	<b>8,6</b>	<b>8,4</b>	<b>9,7</b>	<b>4,1</b>	<b>9,5</b>	<b>5,9</b>	<b>7,4</b>	<b>2,0</b>	<b>11,3</b>	<b>71,3</b>	<b>40,8</b>	<b>63,2</b>	<b>68,6</b>	<b>26,4</b>	<b>31,1</b>	<b>57,4</b>	<b>58,8</b>	<b>57,1</b>	<b>89,6</b>	<b>57</b>	<b>63,4</b>
$\alpha$ -Copaeno	<b>1374</b>	<b>1372</b>	1,4	-	-	0,1	0,1	0,3	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	0,3	0,7	0,5	0,5	0,8	1,1	1,8	0,2	1,0	1,6	2,1
$\beta$ -Elemeno	<b>1389</b>	<b>1387</b>	4,5	-	-	0,2	0,4	0,1	-	-	-	-	-	-	1,5	0,6	0,6	1,1	1,0	1,5	<b>4,3</b>	<b>3,4</b>	2,2	3,8	<b>4,0</b>	<b>5,4</b>
( <i>E</i> )-Cariofileno	<b>1417</b>	<b>1418</b>	1,3	-	-	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	-	0,2	0,9	0,8	0,8	0,8	0,7	1,0	1,2	0,2	3,0	1,7	1,6	2,2
( <i>E</i> )- $\beta$ -Farneseno	<b>1454</b>	<b>1459</b>	0,7	0,6	-	0,7	0,7	0,2	0,3	0,8	0,1	0,5	0,1	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno D	<b>1484</b>	<b>1479</b>	<b>5,6</b>	0,8	-	1,9	0,7	1,0	-	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5	<b>8,0</b>	<b>5,7</b>	<b>13,0</b>	<b>10,0</b>	<b>7,7</b>	<b>7,4</b>	<b>25,8</b>	<b>27,0</b>	<b>25,2</b>	<b>60,0</b>	<b>29,6</b>	<b>31,0</b>
Biclogermacreno	<b>1500</b>	<b>1494</b>	<b>5,0</b>	1,4	<b>3,0</b>	1,8	2,0	2,0	0,3	<b>4,0</b>	2,1	<b>3,3</b>	2,3	<b>3,5</b>	<b>36,0*</b>	<b>16,0*</b>	<b>26,0*</b>	<b>36,7*</b>	<b>30,0*</b>	<b>27,0*</b>	<b>12,4</b>	-	<b>10,0</b>	<b>8,6</b>	<b>12,0</b>	<b>10,8</b>
$\beta$ -Sesquifelandreno	<b>1521</b>	<b>1517</b>	2,0	-	1,3	0,9	0,8	1,6	0,7	1,1	0,7	0,9	1,0	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacreno B	<b>1559</b>	<b>1559</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>15,2</b>	<b>11,0</b>	<b>20,0</b>	<b>13,3</b>	<b>11,0</b>	<b>13,0</b>	<b>5,0</b>	<b>6,1</b>	<b>4,0</b>	1,6	0,6	1,4
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>			<b>52,4</b>	<b>60,9</b>	<b>56,4</b>	<b>68,4</b>	<b>57,4</b>	<b>62,2</b>	<b>86,0</b>	<b>80,6</b>	<b>87,4</b>	<b>85,1</b>	<b>84,5</b>	<b>69,4</b>	<b>14,6</b>	<b>39,2</b>	<b>3,4</b>	<b>10</b>	<b>45,2</b>	<b>49</b>	<b>21</b>	<b>27,3</b>	<b>30,3</b>	<b>2,5</b>	<b>30,6</b>	<b>27,3</b>
Espatulenol	<b>1577</b>	<b>1576</b>	<b>3,3</b>	-	-	1,0	0,1	0,4	-	-	0,6	-	0,1	-	2,0	3,0	-	-	3,0	0,9	-	-	-	0,2	0,3	-
Torreol	<b>1644</b>	<b>1637</b>	1,8	0,8	0,1	1,0	-	-	-	0,6	-	0,7	0,2	0,6	0,5	1,8	1,3	1,5	-	-	-	<b>4,8</b>	-	0,5	1,0	<b>4,8</b>
$\beta$ -Eudesmol	<b>1649</b>	<b>1655</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	2,0	2,5	2,1	-	-	-	<b>5,6</b>	<b>15,0</b>	<b>16,5</b>	0,3	<b>21,0</b>	<b>5,6</b>
$\alpha$ -Cadinol	<b>1652</b>	<b>1655</b>	1,1	0,1	-	-	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-	1,4	10,0	-	-	1,8	1,0	<b>8,1</b>	<b>3,5</b>	<b>8,0</b>	1,5	-	<b>8,8</b>
$\alpha$ -Bisabolol	<b>1685</b>	<b>1685</b>	<b>45,2</b>	<b>60,0</b>	<b>56,3</b>	<b>66,4</b>	<b>57,0</b>	<b>61,5</b>	<b>86,0</b>	<b>80,0</b>	<b>84,0</b>	<b>83,3</b>	<b>83,3</b>	<b>62,6</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Germacrona	<b>1693</b>	<b>1700</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>5,0</b>	<b>15,0</b>	-	-	<b>5,4</b>	<b>5,2</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Total identificado</b>			<b>89,5</b>	<b>93,9</b>	<b>91,4</b>	<b>90,4</b>	<b>94,0</b>	<b>89,1</b>	<b>90,9</b>	<b>91,4</b>	<b>93,9</b>	<b>93,1</b>	<b>92,1</b>	<b>81,2</b>	<b>91,0</b>	<b>89,6</b>	<b>82,1</b>	<b>87,8</b>	<b>91,6</b>	<b>96,1</b>	<b>78,4</b>	<b>86,1</b>	<b>87,4</b>	<b>92,1</b>	<b>87,6</b>	<b>90,7</b>

IA- Índice aritmético tabelado; IA\*- Média dos valores de índice aritmético calculado. (\*) Esses valores se referem a uma concentração total dos compostos biclogermacreno e curzereno.

O óleo essencial extraído das plantas coletadas em Viçosa apresentou germacreno D (**2**) como constituinte majoritário em todo o período de análise, variando de 25,8 a 60%. O hidrocarboneto sesquiterpênico bicilogermacreno variou de 8,6 a 12,4%, porém não foi observado no mês de abril. O sesquiterpeno oxigenado  $\beta$ -eudesmol foi observado nas concentrações de 15%, 16,5% e 21% nos meses de abril, junho e outubro, respectivamente.

O óleo essencial extraído das folhas de *S. guianensis* coletadas em Porto Firme apresentou dois constituintes majoritários durante o período de análise: Bicilogermacreno (**3**) e curzereno (**4**). Esses dois compostos se apresentaram no mesmo tempo de retenção em todas as análises realizadas com esse óleo essencial. Para identificá-los, foram modificados alguns parâmetros do cromatógrafo: o fluxo, a rampa de temperatura e a razão de split a fim de obter um tempo de retenção para cada um, conforme apresenta a figura.

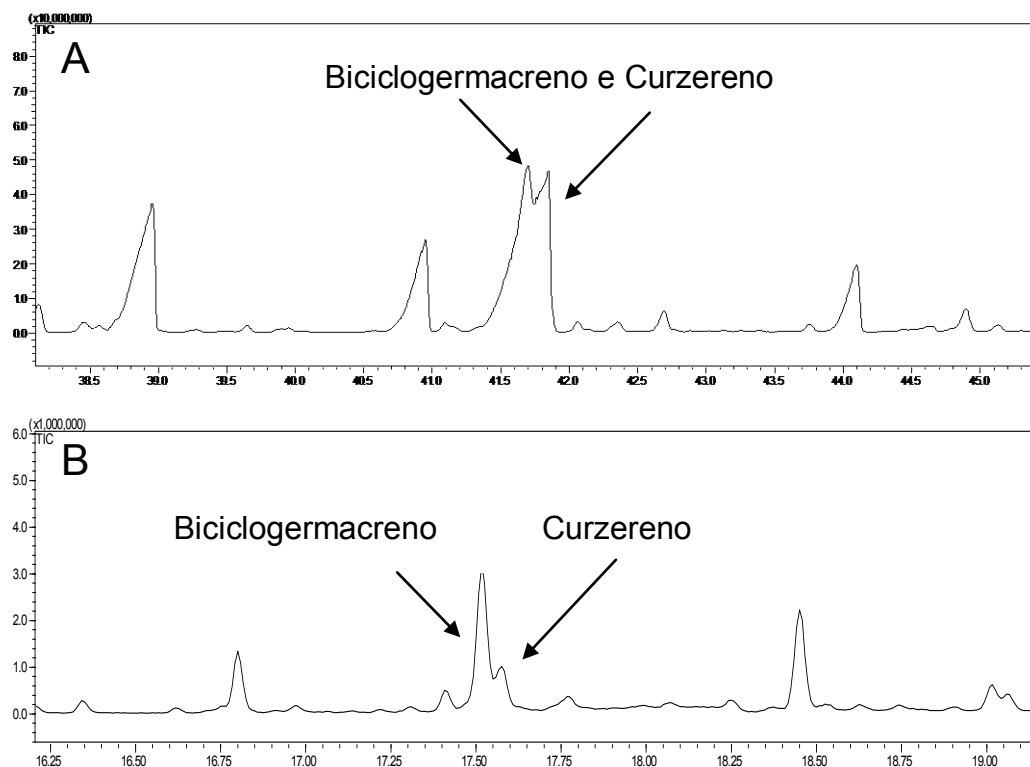


Figura 10- Biciclogermacreno e curzereno sob diferentes condições de análise. Na primeira condição (A) se apresentam em um mesmo tempo de retenção e na segunda condição (B) em tempos de retenção diferentes.

O monoterpene hidrocarboneto mirceno foi identificado em todo período de análise desse óleo essencial e representa 10% da composição volátil desse indivíduo. Os sesquiterpenos hidrocarbonetos germacreno D (8%) e germacreno B (14%) também foram identificados em todo período de análise. O sesquiterpene oxigenado muuroleno <14-oxy- $\alpha$ > foi identificado somente nesse óleo volátil apresentando 12,6% da composição química das folhas coletadas no mês de dezembro.

Observa-se que as plantas de cada localidade possuem óleos essenciais com constituições químicas distintas e com a presença de substâncias com atividades de interesse reconhecidas. O curzereno apresentou efeito anti-proliferativo em células tumorais (COSTA *et al.*, 2010 e ZHONG *et al.*, 2011). O biciclogermacreno possui atividade antifúngica (SILVA *et al.*, 2007) e o germacreno D possui atividade

antibacteriana (MURARI *et al.*, 2008) e é considerado um precursor de muitos sesquiterpenos (BULOW e KONIG, 2000).

ZOGHBI e colaboradores (1998) analisaram o óleo essencial de três populações de *S. guianensis* na região amazônica e encontraram como constituintes majoritários o espatulenol (15,7%) e o epi- $\alpha$ -bisabolol (25,1%) para amostras coletadas em Moju (PA); espatulenol (22,0%),  $\alpha$ -selin-11-en-4-ol (19,4%),  $\beta$ -eudesmol (10,0%) e elemol (10,0%) para amostras coletadas em Rio Branco (AC); e germacrona (23,2%), germacreno D (10,9%) e atractilona (31,4%) para amostras coletadas em Belém (PA).

Em *S. guianensis* coletada na cidade de Cuiabá, MT, VALENTINI *et al.*, (2010b) também observaram a predominância de sesquiterpenos oxigenados durante todo o período de coleta (novembro de 2007 a outubro de 2008). Entretanto, o principal constituinte encontrado por esses autores foi a siparunona (**5**), que variou de 21,1 a 59,8%. No presente trabalho esse composto não foi identificado em nenhuma população estudada

Os resultados indicam, portanto, que o óleo essencial presente nas folhas da espécie *S. guianensis* pode apresentar variação de teor e constituição química em função do local de ocorrência das plantas e da época de coleta.

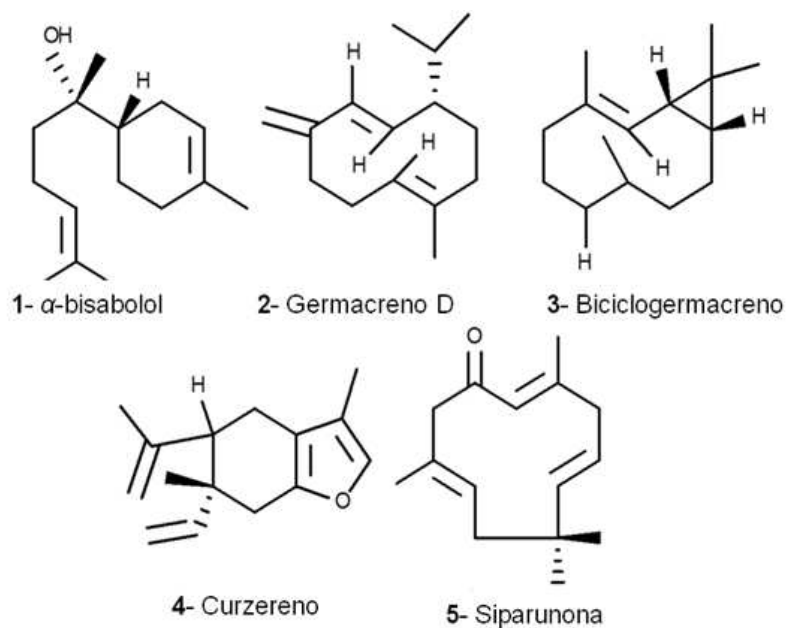


Figura 11- Constituintes majoritários identificados no óleo essencial das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins, São Miguel do Anta, Porto Firme e Viçosa-MG e no Mato Grosso do Sul.

### 5.3. Purificação e caracterização do $\alpha$ -bisabolol

O álcool sesquiterpênico  $\alpha$ -bisabolol que já demonstrou ser de grande importância na indústria, principalmente farmacêutica, foi identificado em alta concentração (aproximadamente 70%) no óleo essencial das folhas de *Siparuna guianensis*. Atualmente sua principal fonte desse álcool é a Candeia, uma importante espécie do cerrado brasileiro (REIS *et al.*, 2007).

Na Candeia, o  $\alpha$ -bisabolol é extraído de sua madeira. SCOLFORO e colaboradores (2004) relataram que a cada metro cúbico sólido de madeira de árvores de candeia é possível extrair 6 kg de  $\alpha$ -bisabolol. Extrair o óleo essencial do lenho de Candeia se torna difícil, pois esta planta precisa de 15 a 20 anos para atingir um tamanho bom para produção de óleo essencial. Em relação à *Siparuna guianensis* o  $\alpha$ -bisabolol é obtido a partir do óleo essencial extraído de suas folhas, o que pode facilitar esse processo, pois não precisa cortar a planta e sua produção é feita durante o ano todo.

Para confirmar a caracterização molecular do  $\alpha$ -bisabolol obtido dos óleos essenciais, esse composto foi isolado das amostras coletadas em Tocantins e São Miguel do Anta e as análises foram realizadas separadamente.

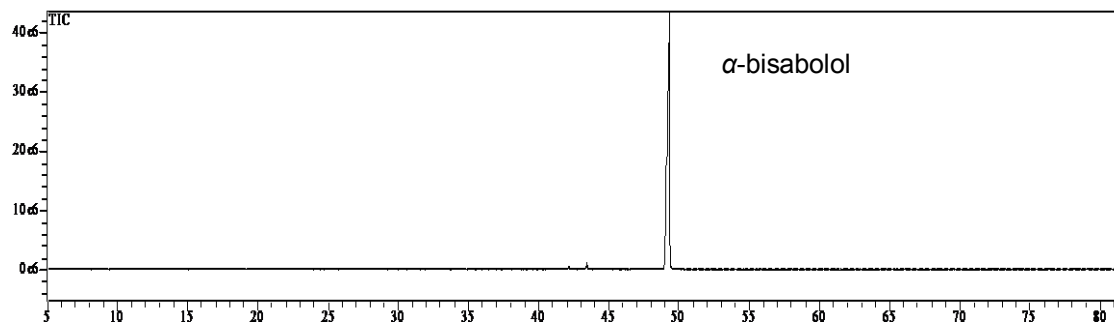


Figura 12- Cromatograma do  $\alpha$ -bisabolol obtido por cromatógrafo gasoso (FE: Sílica fundida. FM: Gás Hélio. Razão de split 1:10)

Por meio do tempo de retenção do composto isolado obtido em análises com cromatógrafo gasoso (Figura 12) foi possível calcular o índice de Kovatz desse composto que se assemelhou com seu índice de Kovatz tabelado do  $\alpha$ -bisabolol.

A análise do padrão de fragmentação do composto isolado (Figura 13) sugeriu que o mesmo poderia ser o  $\alpha$ -bisabolol evidenciado pela presença dos fragmentos característicos de sesquiterpenos. Observou-se também a presença do íon molecular  $m/z$  204 de uma provável perda de uma molécula de água, fragmentação característica de álcoois. Os resultados estão de acordo com dados da literatura (RODRIGUES, 2004).

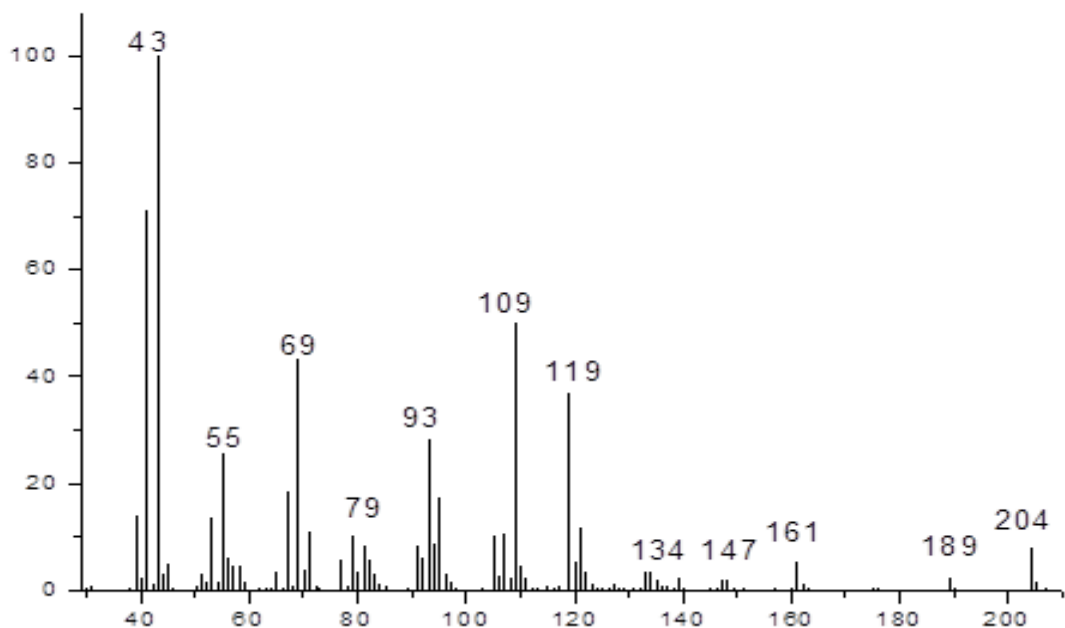
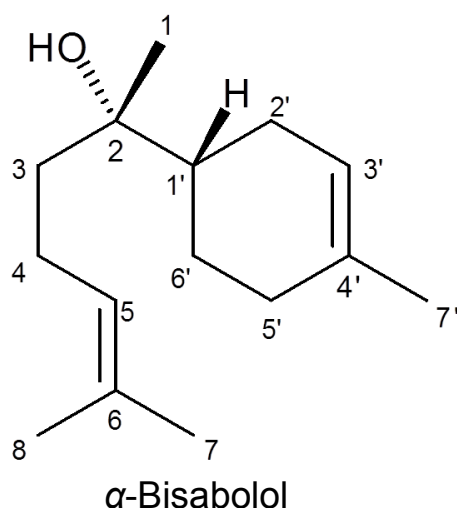


Figura 13-Espectro de massas do  $\alpha$ -bisabolol obtido em cromatógrafo gasoso acoplado a Espectrômetro de massas (FE: Sílica fundida. FM: Gás Hélio. Razão de split 1:10. Ionização por impacto de elétrons, 70 eV)

Em seguida foram realizadas análises de Ressonância Magnética Nuclear e confirmou-se a estrutura do  $\alpha$ -bisabolol por meio de espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , COSY, HETCOR e DEPT.



Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice 5 e 6) foram observados sinais que possibilitaram identificar 15 carbonos. Destes, são característicos os sinais em:  $\delta$  124,79 (C5), 131,32 (C4'), 120,78 (C3') e  $\delta$

23,91 (C1), 17,67 (C7), 29,66 (C7') e 23,19 (C8), correspondentes aos carbonos metílicos. Esses sinais estão de acordo com os sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  apresentados na literatura para o  $\alpha$ -bisabolol (MATOS *et al.* 1988).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Apêndice 7 e 8) foram observados os sinais característicos dos hidrogênios olefínicos, em  $\delta$  5,07-5,16 (H5, m, 1H) e 5,35-5,42 (H3', m, 1H), e dos hidrogênios de grupos metilas, em  $\delta$  1,13 (H1, s, 3H), 1,64 (H8, s, 3H), 1,68 (H7', s, 3H) e 1,61 (H7, s, 3H). Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  apresentados na literatura para o  $\alpha$ -bisabolol indicam os sinais de deslocamentos químicos semelhantes aos obtidos nesse trabalho (SCHWARTZ e SWANSON 1979).

No mapa de contornos COSY (Apêndice 9 e 10) observou-se as correlações entre: H1-H1'; H4-H5; H5-H7 e H8; H2'-H3'; H3'-H7'

O mapa de contornos HETCOR (Apêndice 11 e 12) auxiliou a análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , confirmando, os deslocamentos químicos dos hidrogênios metílicos.

Na Tabela 3 encontra-se dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135 e COSY para  $\alpha$ -bisabolol em  $\text{CDCl}_3$ .

Tabela 3- Dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  (DEPT 135) e COSY para  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir do óleo essencial de *S. guianensis* em  $\text{CDCl}_3$ .

C	$\delta\text{C}$ (DEPT)	$\delta\text{H}$ (mult., J em Hz)	COSY
1	23,91(CH <sub>3</sub> )	1,13(s)	H1'
2	74,31(C)	-	-
3	39,09(CH <sub>2</sub> )	1,46-1,53(m)	-
4	23,95(CH <sub>2</sub> )	1,74-1,93(m)	H5
5	124,79(CH)	5,07-5,16 (m)	H4 H7 H8
6	134,87(C)	-	-
7	17,67(CH <sub>3</sub> )	1,61 (s)	-
8	23,91(CH <sub>3</sub> )	1,64 (s)	-
1'	43,28(CH)	1,53-1,57(m)	H1
2'	22,26(CH <sub>2</sub> )	1,94-2,10 (m)	H3'
3'	120,78(CH)	5,35-5,42 (m)	H2' H7'
4'	131,32 (C)	-	-
5'	31,03(CH <sub>2</sub> )	1,94-2,10 (m)	-
6'	26,04(CH <sub>2</sub> )	1,18-1,34 (m)	-
7'	29,66(CH <sub>3</sub> )	1,68 (s)	H3'

A rotação específica do composto isolado permitiu a determinação de valores negativos. Para o  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das plantas coletadas em São Miguel do Anta e Tocantins obteve-se respectivamente os valores de  $[\alpha]_{\text{D}} = -55,57^\circ$  e  $[\alpha]_{\text{D}} = -54,27^\circ$ . Para o padrão do (-)- $\alpha$ -bisabolol obteve-se valor de  $[\alpha]_{\text{D}} = -54,8^\circ$ .

GUNTHER *et al.* (1993) separaram os quatro isômeros de  $\alpha$ -bisabolol por meio de cromatografia líquida semi-preparativa em fase estacionária de tribenzoilcelulose. Ao analisar a rotação específica dos compostos isolados obtiveram os seguintes valores: (-)- $\alpha$ -bisabolol  $[\alpha]_{\text{D}} = -51,02^\circ$ ; (-)-epi- $\alpha$ -bisabolol  $[\alpha]_{\text{D}} = -67,48^\circ$ ; (+)- $\alpha$ -bisabolol  $[\alpha]_{\text{D}} = +57,04$ ; (+)-epi- $\alpha$ -bisabolol  $[\alpha]_{\text{D}} = +70,11^\circ$ .

MATOS *et al.* (1988) relataram o valor de  $[\alpha]_{\text{D}} = -48,9^\circ$  para (-)- $\alpha$ -bisabolol bisabolol. Estando os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (Tabela 3) e a rotação específica (Tabela 4) em conformidade com a literatura, confirma-se que o composto isolado a partir do óleo essencial de *S. guianensis* é o (-)- $\alpha$ -bisabolol.

Tabela 4: Valores de rotação específica para o  $\alpha$ -bisabolol padrão e obtido a partir dos óleos essenciais das plantas de Tocantins e São Miguel do Anta.

Composto	$\alpha_D$
Padrão do (-)- $\alpha$ -bisabolol	-54,80
$\alpha$ -bisabolol das plantas de Tocantins	-54,27
$\alpha$ -bisabolol das plantas de São Miguel do Anta	-55,57

#### 5.4. Atividade carrapaticida dos óleos essenciais de *S. guianensis*

Algumas atividades biológicas já relatadas na literatura mostram o potencial terapêutico apresentado por  $\alpha$ -bisabolol (LEITE *et al.*, 2011; SOUZA *et al.* 2008; MORALES-YUSTE, 2010), dentre elas a baixa toxicidade em mamíferos (GOMES-CARNEIRO *et al.*, 2005). Nesse sentido torna-se importante o estudo da atividade acaricida desse composto contra *Rhipicephalus microplus*, conhecido como carrapato do boi, responsável por grandes prejuízos ocasionados por sua infestação em rebanhos. No Brasil, com base em estimativas atualizadas, as perdas econômicas causadas por esse parasita chegam a dois bilhões de dólares por ano (GRISI *et al.*, 2002).

Nesse trabalho foram realizados testes carrapaticidas com larvas de *R. microplus* (Teste de pacote de larvas) tratadas com os óleos essenciais obtidos a partir de *S. guianensis* coletadas em diferentes regiões e com diferentes composições químicas. Também foram realizados testes com as fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* tratadas com as amostras que apresentaram maior atividade.

##### 5.4.1. Teste de pacote de larvas

Na tabela 5, estão apresentados os resultados da atividade acaricida dos óleos essenciais de *S. guianensis* extraídos de plantas coletadas em diferentes locais e do  $\alpha$ -bisabolol contra larvas de *R. microplus* nas concentrações de 2,5 a 20,0 mg mL<sup>-1</sup>

Tabela 5– Mortalidade média de larvas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* coletadas em diferentes locais em condições de laboratório (27±1 e UR>80%).

TRATAMENTOS	*PF	*VI	*SMA	*TO	*BIS
<b>CONTROLE</b>	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0
2,5 mg mL <sup>-1</sup>	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	3,1 <sup>a</sup> ±4,1	56,1 <sup>b</sup> ±15,6
5,0 mg mL <sup>-1</sup>	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	38,8 <sup>b</sup> ±17,5	13,7 <sup>ab</sup> ±10,7	98,9 <sup>c</sup> ±2,3
10,0 mg mL <sup>-1</sup>	54,1 <sup>b</sup> ±12,4	0,0 <sup>a</sup> ±0,0	86,6 <sup>c</sup> ±13,7	70,4 <sup>bc</sup> ±15,6	100,0 <sup>c</sup> ±0,0
15,0 mg mL <sup>-1</sup>	59,8 <sup>b</sup> ±19,1	53,3 <sup>b</sup> ±26,1	92,2 <sup>c</sup> ±19,1	100,0 <sup>c</sup> ±0,0	100,0 <sup>c</sup> ±0,0
20,0 mg mL <sup>-1</sup>	92,9 <sup>b</sup> ±9,6	81,1 <sup>b</sup> ±16,7	100,0 <sup>c</sup> ±0,0	100,0 <sup>c</sup> ±0,0	100,0 <sup>c</sup> ±0,0

\*Amostras coletadas em: (PF- Porto Firme; VI- Viçosa; SMA- São Miguel do Anta; TO–Tocantins e BIS-  $\alpha$ -bisabolol).

Os códigos representam os diferentes óleos essenciais de acordo com seu local de coleta. O óleo essencial das plantas coletadas em São Miguel do Anta e Tocantins possuem como composto majoritário o  $\alpha$ -bisabolol em todo período de coleta.

É possível analisar que essas soluções (SMA e TO) e o padrão desse composto (BIS) causaram maior mortalidade nas larvas em relação às outras soluções testadas (PF, VI) que não possuem esse composto na constituição química.

Na concentração de 10,0 mg mL<sup>-1</sup>, óleo essencial das folhas de *S. guianensis* coletadas em Porto Firme apresentaram mortalidade em 54,1%, enquanto o padrão BIS já na concentração 2,5 mg mL<sup>-1</sup> obteve média de mortalidade de 56,1%. No teste com 10,0 mg mL<sup>-1</sup> as amostras SMA e TO apresentaram mortalidade de 86,6% e 70,4%, respectivamente.

Na concentração 5,0 mg mL<sup>-1</sup>,  $\alpha$ -bisabolol (BIS) aproxima-se da mortalidade total das larvas (98,9%). Nessa mesma concentração os óleos essenciais extraídos de plantas coletadas em São Miguel do Anta (SMA) e de plantas coletadas em Tocantins (TO) causaram 38,8% e

13,7% de mortalidade, respectivamente. Os outros óleos testados não causam ou causam mortalidade insignificante nas concentrações testadas.

Em 20,0 mg mL<sup>-1</sup> os óleos essenciais testados separadamente que possuem  $\alpha$ -bisabolol em sua constituição e o padrão desse composto causaram 100% de mortalidade das larvas. Os outros óleos essenciais testados causaram baixa mortalidade comparando todos os valores. O óleo essencial das plantas coletadas em Porto Firme foi o que mais se aproximou desse valor, matando 92,9% das larvas, e o óleo da amostra coletada em Viçosa causou 81,1% de mortalidade.

Por meio desses resultados, pode-se observar que o  $\alpha$ -bisabolol possui atividade acaricida contra *Rhipicephalus microplus* nas concentrações testadas. Os óleos essenciais que possuem esse constituinte como majoritário, também possuem atividade acaricida significativa.

A Dose Letal 50 e 90 é uma medida padrão de toxicidade, uma DL<sub>50</sub> ou DL<sub>90</sub> representa a dose individual que requer para matar 50% e 90% de uma população respectivamente. Com os parâmetros de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> é possível comparar as toxicidades relativas entre as soluções testadas em *R. microplus*.

Na Tabela 6 estão representados os valores de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> dos óleos essenciais que foram testados contra *R. microplus* e do  $\alpha$ -bisabolol.

Tabela 6- Dose letal de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações (mg mL<sup>-1</sup>) do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* coletadas em diferentes locais.

	DL <sub>50</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	Intervalo de confiança	DL <sub>90</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	Intervalo de confiança
<b>VI</b>	15,6	11,9 – 20,3	21,0	13,4 – 24,9
<b>PF</b>	11,3	10,1 – 12,6	20,1	16,9 – 26,4
<b>TO</b>	7,3	6,5 – 8,3	12,6	10,7 – 16,1
<b>SMA</b>	6,2	5,4 – 7,0	11,6	9,7 – 15,2
<b>BIS</b>	<b>2,4</b>	2,2 – 2,7	<b>3,7</b>	3,1 – 4,8

Amostras coletadas em: PF- Porto Firme; VI- Viçosa; SMA- São Miguel do Anta; TO- Tocantins e o constituinte majoritário  $\alpha$ -bisabolol (BIS) dos óleos essenciais de *S. guianensis* coletada em diferentes locais e de  $\alpha$ -bisabolol contra *Rhipicephalus microplus*.

Para a realização dos testes de Dose Letal foram usadas misturas contendo óleos essenciais de *S. guianensis* coletadas em diferentes meses. Os constituintes das misturas utilizadas estão descritos no apêndice 16. Os valores obtidos (Tabela 6) confirmam os resultados apresentados anteriormente (Tabela 5). A menor dose requerida para matar 50% e 90% dos carrapatos pertence ao  $\alpha$ -bisabolol foi de 2,4 mg mL<sup>-1</sup> e 3,7 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Essa dose continua baixa para as misturas que contêm esse composto como constituinte majoritário: DL<sub>50</sub>: 6,2% e DL<sub>90</sub>: 11,6% para as misturas dos óleos essenciais das plantas de São Miguel do Anta (62,6 %  $\alpha$ -bisabolol) de e DL<sub>50</sub>: 7,3% e DL<sub>90</sub>: 12,6% para as misturas de óleo essencial das plantas de Tocantins (48,0 % de  $\alpha$ -bisabolol).

É possível perceber que a dose letal diminui de acordo com o aumento da concentração de  $\alpha$ -bisabolol nas misturas de óleo essencial. As misturas de óleos essenciais das plantas coletadas em Viçosa que obteve como constituinte majoritário o germacreno D e as misturas de óleos essenciais coletadas em Porto firme, que tem o biciclogermacreno e curzereno como majoritários da mistura testada onde não foi identificado esse composto, DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> são maiores: 15,6 mg mL<sup>-1</sup>; 21,0 mg mL<sup>-1</sup> e 11,3 mg mL<sup>-1</sup>, 20,1 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

A partir dos resultados obtidos por meio do teste de mortalidade de larvas e a da avaliação da Dose Letal 50% e 90% torna-se visível a atividade acaricida de  $\alpha$ -bisabolol contra *R. microplus*, visto que os óleos essenciais com a presença do  $\alpha$ -bisabolol como constituinte majoritário apresenta maior atividade que os óleos essenciais que não apresentaram esse composto em sua constituição.

#### **5.4.2. Teste de imersão de fêmeas**

No teste com as fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* foram utilizados os óleos essenciais que apresentaram melhores resultados no teste de pacotes de larvas: SMA (óleo essencial de *S. guianensis* coletada em São Miguel do Anta), TO (óleo essencial de *S. guianensis*

coletada Tocantins) e BIS (Padrão de  $\alpha$ -bisabolol). Nos gráficos abaixo estão apresentados os valores referentes ao índice de produção de ovos e o percentual de eclosão das fêmeas tratadas com diferentes concentrações dos óleos testados.

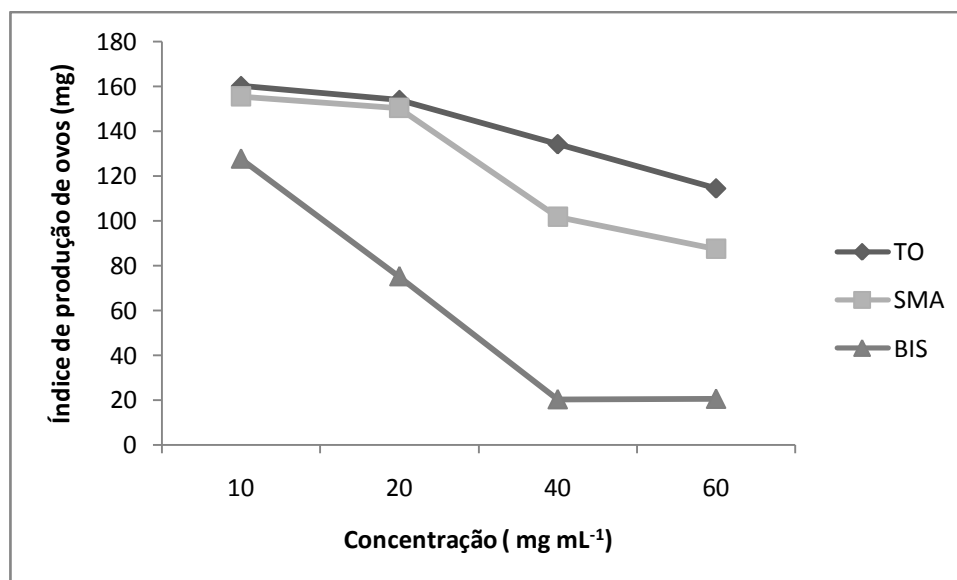


Figura 14- Gráficos com índices de produção de ovos de fêmea de *R. microplus* tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial extraído das folhas coletadas em Tocantins, São Miguel do Anta e com  $\alpha$ -bisabolol.

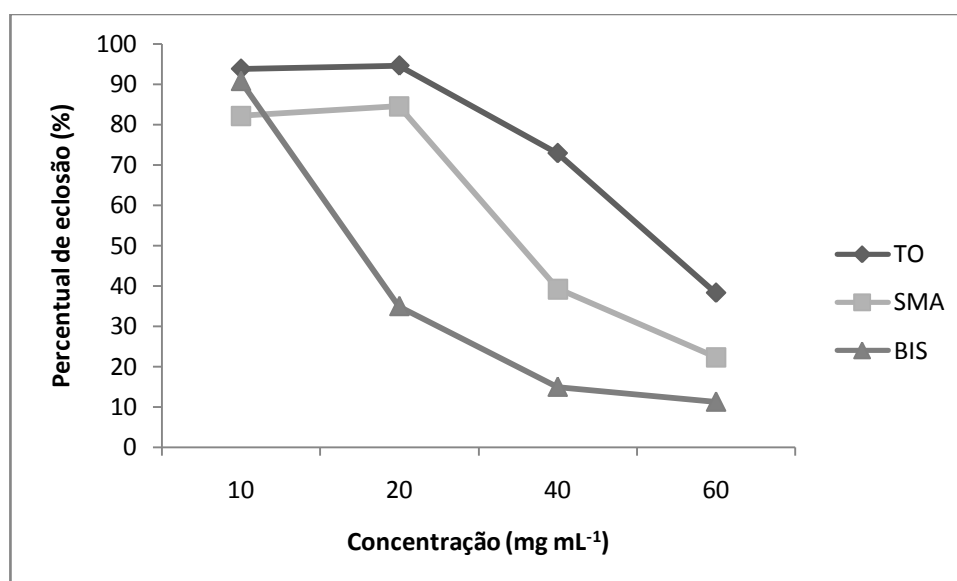


Figura 15- Gráficos com percentual de eclosão de fêmeas de *R. microplus* tratadas com diferentes concentrações de

óleo essencial extraído das folhas coletadas em Tocantins, São Miguel do Anta e com  $\alpha$ -bisabolol.

Como é possível perceber o  $\alpha$ -bisabolol novamente apresentou maior atividade dentre as amostras testadas. Através de análise quantitativa da composição química dos óleos essenciais verifica-se que no óleo essencial das folhas de *S. guianensis* de São Miguel do Anta (SMA) a concentração de  $\alpha$ -bisabolol observada durante os meses de análise excede a concentração desse mesmo composto no óleo essencial das folhas de *S. guianensis* de Tocantins (TO).

BARBOSA *et al.* (2013) não observaram atividade carrapaticida do extrato etanólico das folhas de *S. guianensis* coletadas em Campo Grande (MS) quando testado contra *R. microplus*.

Por meio dos gráficos apresentados acima é possível observar que tais concentrações são significantes ao ser apresentada maior atividade do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* de São Miguel do Anta (SMA) comparando-o com o óleo essencial das folhas de *S. guianensis* de Tocantins (TO). Isso demonstra que  $\alpha$ -bisabolol se apresenta ativo contra *Rhipicephalus microplus*.

As fêmeas ingurgitadas foram divididas em grupos com pesos homogêneos. Os óleos essenciais das plantas de Tocantins e São Miguel do Anta causaram redução significativa do peso da massa de ovos a partir da concentração de 40 mg mL<sup>-1</sup>, enquanto  $\alpha$ -bisabolol reduziu significativamente a massa de ovos na concentração de 20 mg mL<sup>-1</sup>. Na figura abaixo estão apresentados os percentuais de controle para as concentrações testadas

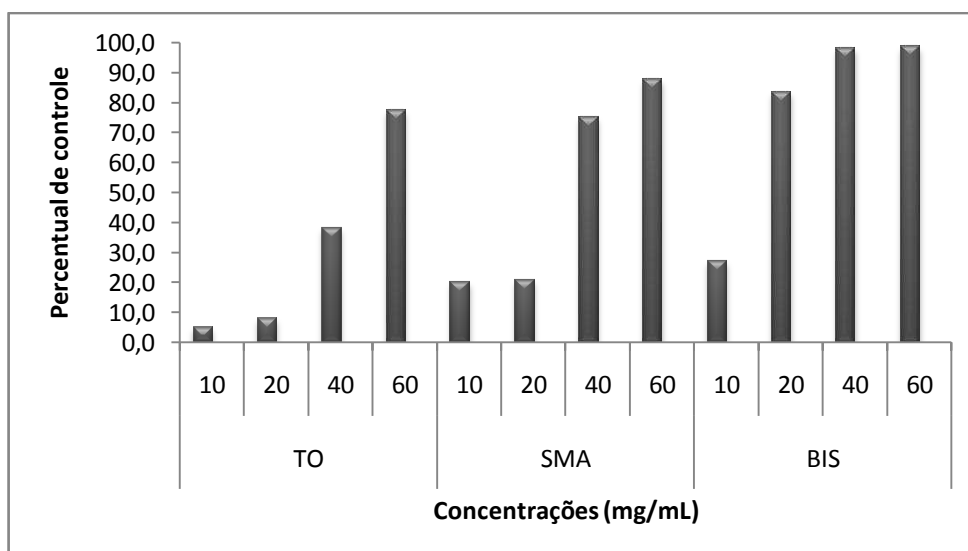


Figura 16- Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhpicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de *S. guianensis*.

O potencial ativo de  $\alpha$ -bisabolol pode ser observado também nas percentagens do experimento controle. Na concentração de 20,0 mg mL<sup>-1</sup>, os valores para os óleos essenciais das plantas de Tocantins e São Miguel do Anta foram de 8,0% e 20,9% respectivamente, enquanto para  $\alpha$ -bisabolol o controle foi 83,4%. A partir de 40,0 mg mL<sup>-1</sup> o percentual de controle de  $\alpha$ -bisabolol foi superior a 98%.

Além dessa atividade, há relatos de outras atividades apresentadas pelo  $\alpha$ -bisabolol. GOMES-CARNEIRO *et al.* (2005) relataram atividade antimutagênica contra Aflatoxina B1 em teste com *Salmonella*. Também apresentou atividade contra células tumorais (SILVA *et al.*, 2010). Kim *et al.* (2011) concluíram que o  $\alpha$ -bisabolol possui efeito calmante e atividade anti-inflamatória. Também foi demonstrado que esse álcool sesquiterpênico reduz a excitabilidade neuronal de uma forma dependente da concentração aplicada (ALVES *et al.*, 2010).

Além do  $\alpha$ -bisabolol outros terpenos e fenilpropanóides apresentaram atividade contra *R. microplus* como por exemplo timol, eugenol, carvacrol e *trans*-anetol.

Óleos essenciais de outras plantas também já demonstraram atividade acaricida contra *R. microplus*: *Cuminum cyminum* L., *Pimenta*

*dióica* (Linn). Merrill, *Ocimum basilicum* Linn. (MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* 2011a ); *Citrus maxima* Merr., *Citrus reticulata* Blanco, *Citrus suncris* Linn., *Citrus sinensis* (Linnaeus) Osbeck, *Citrus hystrix* DC. (BORGES *et al.* 2011); *Corymbia citriodora* (Hook) Hill & Johnson, *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus staigeriana* (CHAGAS *et al.* 2002) ; *Lavandula angustifolia* Mill. , *Pelargonium roseum* Willd. (PIRALI-KHEIRABADI, 2009); *Lippia graveolens* Kunth., *Rosmarinus officinalis* L. (MARTINEZ-VELAZQUEZ *et al.* 2011b)

## 6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi realizada análise sazonal de  $\alpha$ -bisabolol presente no óleo essencial de *Siparuna guianensis*. Os óleos essenciais foram obtidos a partir das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em quatro populações no período de fevereiro a dezembro de 2012.

A espécie em estudo apresentou quimiótipos diferentes de acordo com o local de coleta. O  $\alpha$ -terpinoleno que foi identificado em todo o período de análise do óleo essencial das plantas coletadas em Tocantins (16,0%), não foi identificado nas outras amostras analisadas. O mesmo ocorre com  $\alpha$ -bisabolol, que se apresentou em altas concentrações nas plantas de São Miguel do Anta e Tocantins atingindo 86,0% no mês de fevereiro e 66,4% no mês de agosto, respectivamente, também não foi identificado nas outras plantas em estudo, coletadas em Porto Firme e Viçosa.

Germacreno D foi identificado como constituinte majoritário em todo o período de análise do óleo essencial das plantas de Viçosa, apresentando em agosto 60,0% da composição química do óleo. Esse composto também foi identificado em outras plantas, porém em menores concentrações.

O teor de óleo essencial também apresentou variação entre as plantas analisadas, porém dentro da mesma população não apresentou variação significativa. O óleo essencial das plantas de Tocantins apresentou uma média anual de 4,63% de rendimento, enquanto o óleo essencial de Porto Firme apresentou 1,5% de rendimento.

A produção de diferentes compostos e a diferença dos teores dos óleos essenciais de *S. guianensis* coletadas em diferentes locais estão correlacionadas com diferentes fatores, como por exemplo, relevo, altitude, latitude, longitude, temperatura, umidade, dentre outros.

A planta se apresentou como uma nova fonte de (-)- $\alpha$ -bisabolol, composto de grande importância na indústria farmacêutica e principalmente cosmética que atualmente é obtido a partir da madeira da Candeia (*Eremanthus erythropappus*) uma planta protegida por lei. Em *S.*

*guianensis* esse álcool sesquiterpênico foi identificado nas folhas, o que pode significar maior facilidade em sua obtenção.

A planta também apresentou atividade contra *Rhipicephalus microplus*, conhecido como o carrapato do boi, responsável por grandes prejuízos econômicos em alguns rebanhos leiteiros e de corte. Foi verificado que quanto maior a concentração de  $\alpha$ -bisabolol na amostra analisada, maior foi sua atividade carrapaticida. No teste com as larvas de *Rhipicephalus microplus* as soluções na concentração de 2,0 m/v que possuem  $\alpha$ -bisabolol em sua composição e o  $\alpha$ -bisabolol apresentaram 100% de mortalidade das larvas, os outros óleos essenciais apresentaram resultados inferiores, por exemplo, o óleo essencial das plantas de São Miguel do Anta que não contém  $\alpha$ -bisabolol em sua composição apresentou 33,8% de mortalidade das larvas nessa mesma concentração. Os valores de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> comprovam os resultados citados anteriormente, apresentado as menores doses letais os óleos essenciais que contêm  $\alpha$ -bisabolol em sua composição e o próprio  $\alpha$ -bisabolol.

No teste com as fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* o  $\alpha$ -bisabolol se destacou dentre as outras amostras analisadas. Nos pesos das massas de ovos apresentados, os resultados obtidos a partir das fêmeas tratadas com  $\alpha$ -bisabolol diferiram estatisticamente em todas as concentrações das outras amostras testadas. O mesmo ocorre no percentual de eclosão, onde os menores resultados obtidos foram das soluções de  $\alpha$ -bisabolol.

## 7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras, os resultados alcançados nos testes carrapaticidas com os óleos essenciais extraídos das folhas de *S. guianensis* apontam a possibilidade de avanço do trabalho com a realização de estudos aprofundados com relação aos compostos majoritários dos óleos essenciais que se apresentaram mais ativos contra *R. microplus*. O conhecimento do mecanismo de ação e o estudo da relação estrutura-atividade desses compostos ao sítio ativo do carrapato podem viabilizar a comercialização desses compostos como novos carrapaticidas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 4. ed.; Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 2007, 804p.

ALVES, J. C. R. G.; CRUZ, J. S.; ARAÚJO, D. M. A. Evaluation of the sesquiterpene (-)- $\alpha$ -bisabolol as a novel peripheral nervous blocker. **Neuroscience Letters**, v. 472, p. 11-15, 2010.

ALVINO, F. O.; SILVA, M. F. F.; RAYOL, B. P. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na Zona Bragantina, Pará, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 35, p. 413 – 420, 2005.

AMARAL, W.; DESCHAMPS, C.; FAVARETTO, N.; KOELER, H. S.; SHEER, A. P.; YAMAMOTO, C.; CÔCCO, C. L. Desenvolvimento, rendimento e composição de óleo essencial de camomila [*Chamomila recutita* (L.) Rauschert] sob adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, p. 1-8, 2008.

AMOROZO, M. C. M.; Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.16, p.189-203, 2002.

ANDRADE, I. S. Avaliação técnica e econômica de sistemas de manejo de candeias nativas. 2009 133f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

APPROBATO, A. U. ; GODOY, S. A. P. Levantamento de diásporos em áreas de Cerrado no Município de Luiz Antônio, SP. **Hoehnea**, v. 33, p. 385-401, 2006.

ASAE. American Society of Agricultural Engineers; Standards Engineering Practices Data, Moisture Measurement *ASAE S358.2 DEC99, Forages* (2000).

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, I. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, C. S.; BORGES, L. M. F.; NICÁCIO, J. ; ALVES, R. D. ; MIGUITA, C. H.; VIOLANTE, I. M. P.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. In vitro activities of plant extracts from the Brazilian Cerrado and Pantanal against *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 60, p. 421-430, 2013.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils Science, Technology and Applications**, 1.ed. CRC Press, 2010. 994p.

BENNET, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). I Influence of tick size on egg production. **Acarol**, v. 61, p. 16-52, 1974.

BIZZO, H. R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas, **Química Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; BARBOSA, C. S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v. 20, p. 89-96, 2011.

BRITO, L.G.; ROCH, R.B.; SILVA NETTO, F.G.S; BARBIERI, F.S.; OLIVEIRA, M.C.S.; GONÇALES, M.A.R. e CARVELHO, G.L.O. Eficácia de carrapaticidas em rebanhos leiteiros de Rondônia. **EMBRAPA**, Circular técnica, 2010.

BULOW, N.; KONIG, W. A.; The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. **Phytochemistry**, v. 55, p. 141-168, 2000.

CASTELLANI, D.C.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, A. L.; CECON, P. R.; CARDOSO, C. A.; MARQUES, V. B. Produção de óleo essencial em catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss) e negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) em função da época de colheita, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, p.62-65,2006.

CAMPOS, R.N.S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A.P.A.; BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTOS, G.R.A. e RONER, M.N.B.; Óleos essenciais de plantas medicinais e arométicas no controle do carrapato *Rhipicephallus microplus*. **Archivos de zootecnia**. vol. 61 , 67-78. 2012.

CAVALIERI, E.; RIGO, A.; BONIFACIO, M.; PRATI, A. C.; GUARDALBEN, E.; BERGAMIN, C.; FATO, R.; PIZZOLO, G.;SUZUKI, H.;VINANTE, F. Pro-apoptotic activity of  $\alpha$ -bisabolol in preclinical models of primary human acute leukemia cells. **Journal of Translational Medicine**, v. 9, p. 45-57, 2011.

CHAGAS, A.C.S. e RABELO,M.D. Método para detecção de substâncias com atividade repelente sobre larvas de carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: revisão e recomendações. **EMBRAPA**, 2012

CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, p. 247-253, 2002.

CIELO FILHO, R.; SANTIN, D. A. Estudo florístico e fitossociológico de um fragmento florestal urbano-Bosque dos Alemães, Campinas, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.3, p. 291-301, 2002.

CLEMENTE, M. A.; MONTEIRO, C. M. O.; SCORALIK, M. M. G.; GOMES, F. T.; PRATA, M. C. A.; DAEMON, E. Acaricidal activity of the essential oils from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 107, p. 987-992, 2010.

COSTA, D. P.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SANTOS, S. C.; PASSOS, X. S.; SILVA, M. R. R.; SERAPHIN, J. C. e FERRI, P. H. Influence of Fruit Biotypes on the Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. **Journal Brailian.Chemistry. Soc.**, v. 21, p. 851-858, 2010

DJILANI.; DICKO, A. **The Therapeutic Benefits of Essential Oils**. In: BOUAYED, J.; BOHN, T. Nutrition, Well-being and Health. 1ed. Croatia: InTech, 2012, 155p. , 2012

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory test of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, p.130-133, 1973.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALÉCIO; M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência Agrotécnica**, v. 31, p. 113-120, 2007.

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.S. e PRATA, M.C.A. Carrapato dos bovinos: controle estratégico nas diferentes regiões brasileiras. **EMBRAPA**, Comunicado técnico, 2003

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vitro* e *in vivo*.** 2006.127p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOMES-CARNEIRO, M. R.; DIAS, D. M. M.; OLIVEIRA, A. C. A. X.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Evaluation of mutagenic and antimutagenic activities of  $\alpha$ -bisabolol in the *Salmonella*/microsome assay. **Mutation Research**, v. 585, p. 105-112, 2005.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 125, p. 8–10, 2002.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasilica**, v.17, p. 561-584, 2003.

GUNTHER, K.; CARLE, R.; FLEISCHHAUER, I.; MERGERT, S. Semi-preparative liquid- chromatographic separation of all four stereoisomers of  $\alpha$ -bisabolol on tribenzoylcellulose. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**. v. 345, p. 787-790, 1993.

HECK, M. C.; VIANA, L. A. VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (Copaíba). **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.7, n.1, p. 82-90, 2012.

HEDIN, P.A.; THOMPSON, A.C.; GUELDNER, R.C.; MINYARD, J.P. Isolation of  $\alpha$ -bisabolol from the cotton bud. **Phytochemistry**, vol. 10, p. 1693-1694, 1971.

HERRMAN, G.; KOHLER, H. C.; DUARTE, J. C.; CARVALHO, P. G. S. **Meio biótico: Apa Carste de lagoa Santa**, 1.ed. IBAMA, v. 2, 1998,200p.

JAENSON, T.G.T.; PALSSON, K. e BORG-KARLSON, A.K. Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden. **Med. Vet. Entomol.** v. 19, p. 345–352. 2005.

KAMATOU, G. P. P.; VILJOEN, A. M. A Review of the Application and Pharmacological Properties of  $\alpha$ -bisabolol and  $\alpha$ -bisabolol-Rich Oils. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 87, p. 1–7, 2010.

KIM, S.; JUNG, E.; KIM, J.; PARK,Y.H.;LEE, J.; PARK, D. Inhibitory effects of (-)- $\alpha$ -bisabolol on LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2580-2585, 2011.

KISS, T.; CADAR, D.; SPÎNU, M. Tick prevention at a crossroad: New and renewed solutions. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 357-366. 2012.

LEITE, G.O; LEITE, L.H.I.; SAMPAIO, R.S.; ARARUNA,M.K.A.; MENEZES, I.R.A.; COSTA, J.G.M.; CAMPOS, A.R. (-)- $\alpha$ -bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice. **Fitoterapia**, v. 82, p. 208-211, 2011.

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

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, A.; ROSARIO-CRUZ, R.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; LOPEZ-RAMIREZ, J. ; HERNANDEZ-GUTIERREZ, R.; LUGO-CERVANTES, E. C. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 108, p. 481-487, 2011a.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; ROSARIO-CRUZ, R.; CASTILLO-HERRERA, G.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; ALVAREZ, A. H.; LUGO-CERVANTES, E. Acaricidal Effect of Essential Oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales:Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 48, p. 822-827, 2011b.

MARTINS FILHO, S. E. C. Avaliação dos danos e métodos de regularização da floresta submetida à exploração de impactos reduzida na Amazônia Oriental. Dissertação (mestrado), 120p. Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, 2006.

MATOS, M. L. O.; SOUSA, M. P.; MATOS, F. J. A.; CRAVEIRO, A. A. Sesquiterpenes from *Vanillosmopsis arborea*. **Journal of natural Products**, v. 51 p. 780-782, 1988.

MELO, L. Q.; CIAMPI, A. Y.; VIEIRA, R. F. Análise da variabilidade genética de arnica (*Lychnophora ericoides* Less. - Asteraceae) usando marcadores RAPDs. **Acta botânica brasílica**, v. 23, p.259-266, 2009.

MILLIKEN, W.; ALBERT, B. The use of medicinal plants by the Yanomamy Indians of Brazil. **Economic Botany**, v. 50, p.10-25, 2006.

MONTANARI, R. M. Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de Anacardiaceae, Siparunaceae e

Verbanaceae. 2010. 159f. Tese (Doutorado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

MONTEIRO, C.M.; DAEMON, E. ; SILVA, A.M.R.; MATURANO, C.A. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, 106, 615-619. 2010

MONTEIRO, C. M. O. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Reserch**, v. 111, p. 1295-1300, 2012.

MORAIS S. M.; FILHO R. B. **Produtos naturais: Estudos Químicos e biológicos**. Fortaleza: Editora EduECE, 2007. 238p

MORALES-YUSTEA, M.; MORILLAS-MARQUEZ, F.; MARTIN-SANCHES, J.; VALERO-LOPEZ, A.; NAVARRO-MOLL, M. C. Activity of (-)- $\alpha$ -bisabolol against *Leishmania infantum* promastigotes, **Phytomedicine**, v. 17, p. 279-281, 2010.

MURARI, A. L.; CARVALHO, F. H.; HEINZMANN, B. M.; MICHELOT, T. M.; HORNER, R.; MALLMANN, C. A. Composição e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*. **Química Nova**, v.31, p. 1081-1084, 2008.

NETO, J. J. B.; LEAL, T. C. B.; NUNES, M. V.; CASTRO, H. G.; SANTOS, S. F.; AGUIAR, RWS. Produção de biomassa e de óleo essencial de três quimiotipos (I, II e III) e quatro acessos de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown] no sul do Estado do Tocantins. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 45-50, 2012

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G. Evaluation of the acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid, and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Reserch**, v. 101, p. 809-811, 2007.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J.B.; CAJAZEIRA, J. P. Utilização de óleos essenciais na agricultura. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, p. 162-174, 2013.

PEREIRA, B. A. S.; SILVA, M. A. Lista de nomes populares de plantas nativas da região geoeconômica de Brasília, DF. Brasília RECOR (reserva Ecológica do IBGE 2002). Disponível em: <http://www.recor.org.br/publicacoes/artigos.html>. Acesso em: 05/05/2008.

PIRALI-KHEIRABADI, K.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. e HALAJIAN, A. Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globulus* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 162, p. 346–349, 2009.

RENNER, S. S.; HAUSNER, G. **Monograph of Siparunaceae: Flora Neotropica 95**. New York: New York Botanical Garden, 2005, 256p.

RENNER, S.S.; SCHWARZBACH, E.A.; LOHMANN,L. Phylogenetic position and floral function of *siparuna* (SIPARUNACEA: LAURALES). **Journal of PlantSciences**, v. 158, p. 89-98, 1997.

REIS, G. H.; VOLPATO, M. M. L.; LUCAS, T. D. V.; FRIEIRO-COSTA, F. A.; MENDES-COSTA, M. C. Caracterização do biótipo de *Eremanthus Erythropappus (D.C.) Macleish* encontrada em Cerrado “Lato sensu”. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007

RODRIGUES, L. A.; CARVALHO, D. A.; GOMES, L. J. Espécies vegetais nativas usadas pela população local em Luminárias, MG. **Boletim Agropecuário**, n.52, p. 1-34, 2002.

RODRIGUES, R. R. A vegetação de Piracicaba e municípios do entorno CIRCULAR TÉCNICA IPEF nº. 189, agosto de 1999.

RODRIGUES, V. P., *Copernicia cerifera* Mart.: Aspectos Químicos e Farmacológicos de uma Palmeira Brasileira. 2004. 155f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.1, pp.102-23, 2001.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54 p. 712-732, 2008.

SCHWARTZ, M. A.; SWANSON, G. C. Stereospecific Syntheses of the Diastereomeric (-)- $\alpha$ -bisabolols. A Caveat on the Assignment of Stereochemistry to Natural  $\alpha$ -bisabolol. **Journal of Organic Chemistry**, v. 44, 1979.

SCOLFORO, J. R. S.; PÉREZ, J. F. M.; MELLO, J. M.; OLIVEIRA, A. D.; CAMOLESI, J. F.; BORGES, L. F. R.; JÚNIOR, F. W. A. Estimativas de volume, peso seco, peso de óleo e quantidade de moirões para a Candeia (*Eremanthus erythropappus* (D.C) MacLeish). **Cerne**, v. 10, p. 87-102, 2004.

SENRA, T. O. S.; ZERINGÓTA, V.; MONTEIRO, C. M. O.; CALMON, F.; MATURANO, R.; GOMES, G. A.; FAZA, A.; CARVALHO, M. G.; DAEMON, E. Assessment of the acaricidal activity of carvacrol, (*E*)-cinnamaldehyde, *trans*-anethole, and linalool on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae), **Parasitology Research**, v. 112, p. 1461-1466, 2013.

SILVA, A. P.; MARTINI, M. V.; OLIVEIRA, C. M. A.; CUNHA, S.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; SILVA, C. C. Antitumor activity of (-)- $\alpha$ -bisabolol based thiosemicarbazones against human tumor cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2987-2993, 2010

SILVA, J. A. C.; SILVA, M. F. Estudos florísticos no município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil – II: famílias Myristicaceae, Siparunaceae e Monimiaceae. **Acta amazônica**, v. 38, p. 207-212, 2008.

SILVA, L.; ONIKI, G. H.; AGRIPINO, D. G.; MORENO, P. R. H.; YOUNG, M. C. M.; MAYWORM, A. S.; LADEIRA, A. M. Bicyclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, p.361-367, 2007.

SOUSA, O. V.; DUTRA, R. C.; YAMAMOTO, C. H.; PIMENTA, D. S. Estudo comparativo da composição química e da atividade biológica dos óleos essenciais das folhas de *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, p. 113-116, 2008.

SOUZA, A. T.; BENAZZIA, T. L.; GRINGSA, M. B. Supercritical extraction process and phase equilibrium of Candeia (*Eremanthus erythropappus*) oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v.47,p.182–187, 2008.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 20, p.135-142, 2006.

SOUZA, P. B.; MARTINS, S. V.; COSTALONGA, S.R.; COSTA, G. O. Florística e estrutura da vegetação arbusto-arbórea do sub-bosque de um povoamento de *Eucalyptus grandis* W. Hill Ex Maiden em Viçosa, MG,Brasil. **Revista Árvore**, v. 31, p. 533-543, 2007.

STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.). Bull. **Entomology Research**, v. 53, p. 563-578, 1962.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 542-545, 2009.

VALENTINI, C. M. A.; COELHO, M. F. B.; ORTIZ, C. E. R.; ALMEIDA, J. D. Uso e conservação da negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) em Bom Sucesso, Várzea Grande-MT. **Interações**, v. 10, n. 2, p. 195-206, 2009.

VALENTINI, C. M. A.; RODRIGUEZ-ORTÍZ, C. E.; COELHO, M. F. B. *Siparuna guianensis* Aublet (negramina): uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, p.96-104, 2010a.

VALENTINI, C. M. A.; SILVA, L. E.; MACIEL, E. N.; FRANCESCHINI, E.; SOUSA Jr. P. T.; DALL'OGGIO, E. L. Variação anual do rendimento e composição química dos componentes voláteis da *Siparuna guianensis* Aublet. **Quimica Nova**, v. 33, p.1506-150, 2010b.

VIANI, R. A. G.; RODRIGUES, R. R. Sobrevivência em viveiro de mudas de espécies nativas retiradas da regeneração natural de remanescente florestal **Pesquisa agropecuária. Brasileira**, v.42, n.8, p.1067-1075, 2007.

VIEIRA, F. R.; ALVES, R. B. N. (2003). **Desafios para a conservação de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas no Brasil**. In: COELHO, M. F. B.; COSTA Jr, P.; DOMBOSKI, J. L. D. (Orgs.). *Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais*. Cuiabá: UNICEN Publicações.

VILA, R.; SANTANA, A. I.; PÉREZ-ROSÉS, R.; VALDERRAMA, A.; CASTELLI, M.V.; MENDONÇA, S.; ZACCHINO, S.; GUPTA, M.P.; CAÑIGUERAL, S. Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampanensis*, a new source of  $\alpha$ -bisabolol. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2510–2514, 2010.

ZHONG, Z.; CHEN, X.; TAN, W.; XU, Z.; ZHOU, K.; WU, T.; CUI, L.; WANG, Y. Germacrone inhibits the proliferation of breast cancer cell lines by inducing cell cycle arrest and promoting apoptosis. **European Journal of Pharmacology**, v. 667, p. 50-55, 2011.

ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. H. L.; MAIA, J. G. S. Essential oils of *Siparuna guianensis* Aubl. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10 p. 543-540, 1998.

WORWOOD, V. A. **The complete book of essential oils & Aromatherapy**.1990, 411p.

## **APÊNDICE**

A.1-Tabela dos constituintes do óleo essencial (%) extraído das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em Tocantins-MG no período de fevereiro a dezembro de 2012.

<b>ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>S. guianensis</i> COLETADAS EM TOCANTINS</b>									
<b>Constituintes</b>	<b>TR</b>	<b>IA</b>	<b>IA*</b>	<b>Fev</b>	<b>Abr</b>	<b>Jun</b>	<b>Ago</b>	<b>Out</b>	<b>Dez</b>
<b>Monoterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>9,7</b>	<b>27,3</b>	<b>26,7</b>	<b>11,0</b>	<b>28,3</b>	<b>15,6</b>
1. $\alpha$ -Pinenos	12,2	932	928	0,3 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,0	-
2. Mircenos	16,0	988	990	0,4 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,1
3. $\alpha$ -Felandrenos	16,6	1002	999	0,3 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,1
4. $\delta$ -3-Carenos	16,9	1008	1005	0,6 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,1
5. $\alpha$ -Terpinenos	17,4	1014	1011	0,3 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,0
6. <i>p</i> -Cimeno	17,9	1020	1019	0,6 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,0	-	-
7. Limoneno	18,1	1024	1024	0,6 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0
8. $\alpha$ -Terpinoleno	21,8	1086	1084	6,6 $\pm$ 4,0	22,0 $\pm$ 2,3	22,7 $\pm$ 0,0	7,8 $\pm$ 2,4	23,5 $\pm$ 2,6	13,1 $\pm$ 5,4
<b>Monoterpenos Oxigenados</b>				<b>3,4</b>	<b>0,5</b>	<b>-</b>	<b>1,6</b>	<b>1,1</b>	<b>1,6</b>
9. <i>p</i> -Cimen-8-ol	27,0	1179	1185	3,4 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0	-	1,6 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,9	1,6 $\pm$ 0,2
<b>Sesquiterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>24,5</b>	<b>5,2</b>	<b>8,3</b>	<b>9,4</b>	<b>8,1</b>	<b>9,7</b>
10. Bicicloelemeno	33,9	1330	1337	-	-	-	1,0 $\pm$ 0,0	-	-
11. $\alpha$ -Copaeno	36,1	1374	1372	1,4 $\pm$ 0,3	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1
12. $\beta$ -Elemeno	36,9	1389	1387	4,5 $\pm$ 2,0	-	-	0,2 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0
13. <i>cis</i> -Cariofileno	37,6	1408	1413	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	-	-
14. $\alpha$ -Gurjuneno	38,0	1409	1404	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	-	-
15. <i>trans</i> -Cariofileno	38,1	1417	1418	1,3 $\pm$ 0,4	-	-	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0
16. Aromadendreno	39,2	1439	1438	0,1 $\pm$ 0,0	-	0,1 $\pm$ 0,0	-	-	0,2 $\pm$ 0,1
17. $\alpha$ -Humuleno	39,5	1452	1450	0,5 $\pm$ 0,1	-	-	-	-	-
18. <i>trans</i> - $\beta$ -Farneseno	39,9	1454	1459	0,7 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,2	-	0,7 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,0
19. Germacreno D	40,8	1484	1479	5,6 $\pm$ 5,3	0,8 $\pm$ 0,2	-	1,9 $\pm$ 0,8	0,7 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,3
20. Bicyclgermacreno	41,5	1500	1494	5,0 $\pm$ 5,0	1,4 $\pm$ 1,1	3,0 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,1
21. $\alpha$ -Muuroleno	41,6	1500	1501	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0
22. $\beta$ -Bisaboleno	41,8	1505	1511	1,8 $\pm$ 0,0	2,0 $\pm$ 0,2	3,0 $\pm$ 0,0	2,0 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,0	3,5 $\pm$ 0,5
23. <i>cis</i> - $\alpha$ -Bisaboleno	42,0	1506	1504	1,6 $\pm$ 0,8	0,3 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0
24. $\beta$ -Sesquifelandreno	42,1	1521	1517	2,0 $\pm$ 0,3	-	1,3 $\pm$ 0,0	0,9 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	1,6 $\pm$ 0,1
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>				<b>51,9</b>	<b>60,9</b>	<b>56,4</b>	<b>68,4</b>	<b>57,4</b>	<b>62,2</b>
25. Espotulenol	44,8	1577	1576	3,3 $\pm$ 2,3	-	-	1,0 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,1
26. Rosifoliol	45,8	1600	1604	0,5 $\pm$ 0,0	-	-	-	-	-
27. Torreiol	47,5	1644	1642	1,8 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	-	-
28. $\alpha$ -Cadinol	47,7	1652	1655	1,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	-	-	0,3 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1
29. $\alpha$ -Bisabolol	49,9	1685	1685	45,2 $\pm$ 12	60,0 $\pm$ 3,0	56,3 $\pm$ 0,0	66,4 $\pm$ 1,3	57,0 $\pm$ 0,6	61,5 $\pm$ 5,7
<b>Total identificado</b>				<b>89,5</b>	<b>93,9</b>	<b>91,4</b>	<b>90,4</b>	<b>94,0</b>	<b>89,1</b>

IA- Índice aritmético tabelado; IA\*- Média dos valores de índice aritmético calculados.

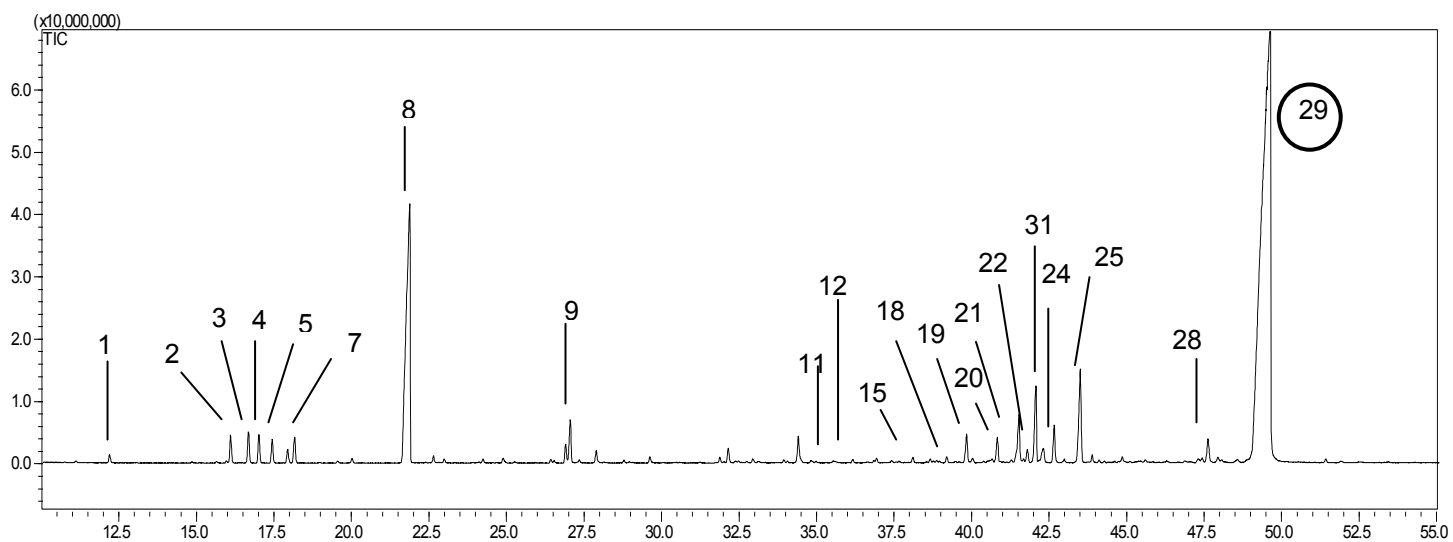


Figura 16- Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins-MG no mês de outubro de 2012 obtido por cromatógrafo gasoso (FE: Sílica fundida. FM: Gás Hélio. Razão de split 1:10).

A.2-Tabela dos constituintes do óleo essencial (%) extraído das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em São Miguel do Anta – MG no período de fevereiro a dezembro de 2012.

**ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *S. guianensis* COLETADAS EM SÃO MIGUEL DO ANTA**

Constituintes	TR	IA	IA*	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez
<b>Monoterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>0,8</b>	<b>0,9</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>1,1</b>	<b>0,5</b>
1. $\alpha$ -Pineno	12,2	932	928	0,3 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0
2. Mirceno	16,0	988	990	0,5 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,2
3. Limoneno	18,1	1024	1024	-	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	-
<b>Sesquiterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>4,1</b>	<b>9,9</b>	<b>5,9</b>	<b>7,8</b>	<b>6,5</b>	<b>11,3</b>
4. Bicycloelemeno	33,9	1330	1337	-	-	-	0,4 $\pm$ 0,0	-	0,2 $\pm$ 0,0
5. $\alpha$ -Cubebeno	34,4	1345	1349	-	-	-	-	-	1,4 $\pm$ 1,7
6. $\alpha$ -Copaeno	36,1	1374	1375	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0
7. <i>trans</i> -Cariofileno	38,1	1417	1418	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1	-	0,2 $\pm$ 0,0
8. <i>cis</i> - $\beta$ -Farneseno	39,8	1440	1445	-	-	-	-	-	0,2 $\pm$ 0,0
9. <i>trans</i> - $\beta$ -Farneseno	39,9	1454	1459	0,3 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,4
10. Germacreno D	40,8	1484	1487	-	0,6 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,3
11. Bicyclgermacreno	41,5	1500	1501	0,3 $\pm$ 0,0	<b>4,0<math>\pm</math>0,0</b>	2,1 $\pm$ 0,0	<b>3,3<math>\pm</math>0,9</b>	2,3 $\pm$ 0,1	<b>3,5<math>\pm</math>1,3</b>
12. $\alpha$ -Muuroleno	41,6	1500	1501	-	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	-	-
13. $\beta$ -Bisaboleno	41,8	1505	1507	2,6 $\pm$ 0,0	2,6 $\pm$ 0,0	2,1 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 0,6	2,2 $\pm$ 1,1	<b>3,3<math>\pm</math>1,2</b>
14. <i>cis</i> - $\alpha$ -Bisaboleno	42,0	1506	1504	-	0,5 $\pm$ 0,0	-	-	0,3 $\pm$ 0,0	-
15. $\beta$ -Sesquifelandreno	42,1	1521	1517	0,7 $\pm$ 0,0	1,1 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,9 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,6	0,7 $\pm$ 0,2
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>				<b>86,0</b>	<b>80,6</b>	<b>87,4</b>	<b>85,1</b>	<b>84,5</b>	<b>69,4</b>
16. Elemol	43,5	1548	1555	-	-	2,8 $\pm$ 0,0	-	-	<b>5,1<math>\pm</math>2,0</b>
17. Espatuleno	44,8	1577	1580	-	-	0,6 $\pm$ 0,0	-	0,1 $\pm$ 0,0	-
18. $\gamma$ -Eudesmol	45,5	1630	1621	-	-	-	1,1 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,3
19. Torreiol	47,5	1644	1637	-	0,6 $\pm$ 0,0	-	0,7 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,2
20. $\beta$ -Eudesmol	47,7	1649	1655	-	-	-	-	-	0,4 $\pm$ 0,0
21. $\alpha$ -Bisabolol	49,9	1685	1685	<b>86,0<math>\pm</math>0,0</b>	<b>80,0<math>\pm</math>0,0</b>	<b>84<math>\pm</math>0,0</b>	<b>83,3<math>\pm</math>3,3</b>	<b>83,3<math>\pm</math>0,7</b>	<b>62,6<math>\pm</math>19,5</b>
<b>Total identificado</b>				<b>90,9</b>	<b>91,4</b>	<b>93,9</b>	<b>93,5</b>	<b>92,1</b>	<b>81,2</b>

IA- Índice aritmético tabelado; IA\*- Média dos valores de índice aritmético calculados.

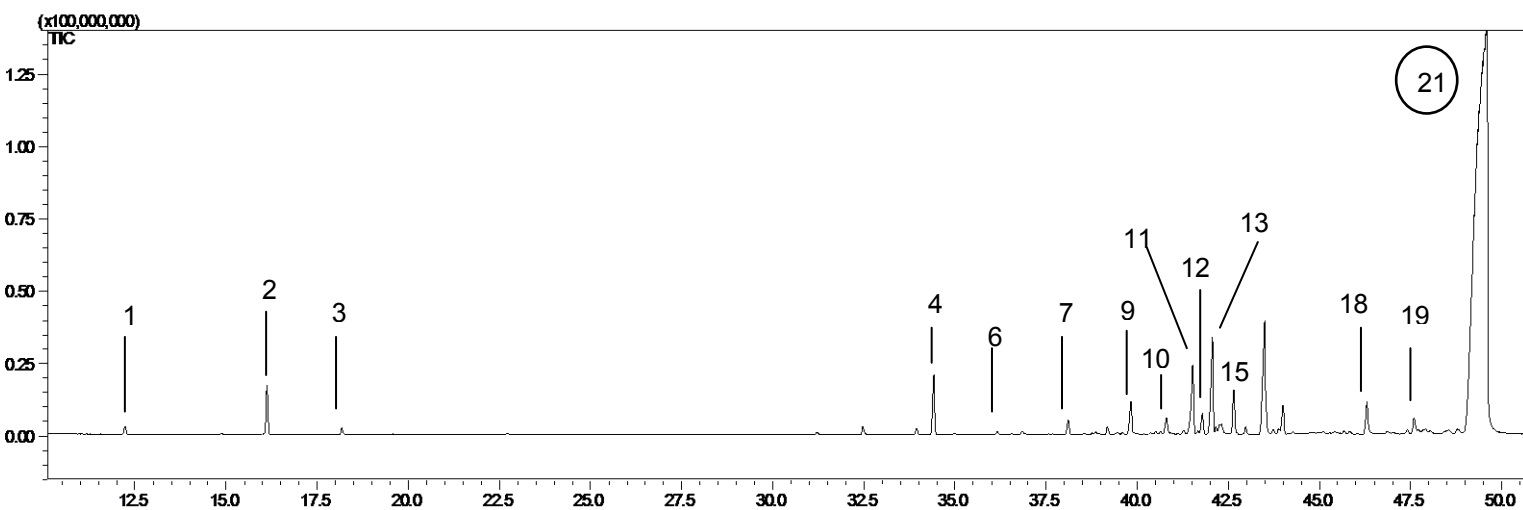


Figura 17- Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta- MG no mês de agosto de 2012 obtido por cromatógrafo gasoso (FE: Sílica fundida. FM: Gás Hélio. Razão de split 1:10).

A.3-Tabela dos constituintes do óleo essencial (%) extraído das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em Porto Firme– MG no período de fevereiro a dezembro de 2012.

Constituintes	TR	IA	IA*	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez
<b>Monoterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>4,6</b>	<b>12,2</b>	<b>15,4</b>	<b>8,6</b>	<b>19,2</b>	<b>13,7</b>
1. $\alpha$ -Pinoeno	12,2	932	928	-	-	0,4 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2
2. $\beta$ -Pinoeno	14,8	974	969	-	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0
3. Mirceno	16,0	988	990	3,5 $\pm$ 3,0	11,3 $\pm$ 0,0	14 $\pm$ 3,9	7,6 $\pm$ 1,8	14,0 $\pm$ 4,0	12,0 $\pm$ 2,2
4. Limoneno	18,1	1024	1024	1,1 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,4
<b>Sesquiterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>71,5</b>	<b>40,3</b>	<b>63,3</b>	<b>68,7</b>	<b>56,5</b>	<b>58,7</b>
5. Bicicloelemeno	33,9	1330	1337	1,1 $\pm$ 0,2	-	-	-	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,0
6. $\alpha$ -Cubebeno	34,4	1345	1349	0,2 $\pm$ 0,0	-	-	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0
7. $\alpha$ -Copaeno	36,1	1374	1375	1,0 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,1
8. $\beta$ -Bourboneno	36,5	1387	1379	0,3 $\pm$ 0,0	-	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	-
9. $\beta$ -Elemeno	36,9	1389	1393	1,5 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,0	1,1 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,2
10. $\alpha$ -Gurjuneno	38,0	1409	1413	1,2 $\pm$ 0,6	4,6 $\pm$ 0,0	-	1,4 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,3	-
11. <i>trans</i> -Cariofileno	38,1	1417	1418	0,9 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0
12. $\gamma$ -Elemeno	38,9	1434	1434	3,5 $\pm$ 0,1	-	-	3,0 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,3	5,5 $\pm$ 3,1
13. $\alpha$ -Humuleno	39,5	1452	1450	0,2 $\pm$ 0,0	-	-	-	0,2 $\pm$ 0,0	-
14. (allo)-Aromadendreno	39,9	1458	1454	0,3 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,0	-	-	0,3 $\pm$ 0,0	-
15. Germacreno D	40,8	1484	1487	8,0 $\pm$ 2,1	5,7 $\pm$ 0,0	13 $\pm$ 0,6	10 $\pm$ 0,8	7,7 $\pm$ 0,3	7,4 $\pm$ 2,0
16. $\beta$ -Selineno	41,0	1489	1480	-	-	0,4 $\pm$ 0,0	-	0,3 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0
17. Bicyclgermacreno	41,5	1500	1501	36,0 $\pm$ 1,4	16 $\pm$ 0,0	26 $\pm$ 0,2	36,7 $\pm$ 1,3	30,0 $\pm$ 2,4	27,0 $\pm$ 6,1
18. Curzereno	41,5	1499	1500						
19. $\gamma$ -Cadineno	42,3	1513	1516	0,9 $\pm$ 0,1	-	0,6 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	-	-
20. $\delta$ -Cadineno	42,6	1522	1527	1,2 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,0	0,9 $\pm$ 0,1
21. Germacreno B	44,0	1559	1559	15,2 $\pm$ 0,1	11 $\pm$ 0,2	20 $\pm$ 1,3	13,3 $\pm$ 1,0	11,0 $\pm$ 1,2	13 $\pm$ 4,0
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>				<b>14,7</b>	<b>36,3</b>	<b>3,4</b>	<b>10,1</b>	<b>15,2</b>	<b>22,5</b>
22. Elemol	43,5	1548	1555	0,2 $\pm$ 0,0	-	-	-	0,4 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,0
23. Palustrol	44,4	1567	1570	0,2 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	-	-	0,2 $\pm$ 0,2	-
24. Espatuleno	44,8	1577	1580	2,0 $\pm$ 0,2	3,0 $\pm$ 0,0	-	-	3,0 $\pm$ 0,8	0,9 $\pm$ 0,5
25. Viridiflorol	45,4	1594	1587	0,4 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 0,1	-	0,1 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1
26. Ledol	45,9	1602	1605	0,6 $\pm$ 0,2	-	-	0,6 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,3	2,3 $\pm$ 0,0
27. Torreiol	47,5	1644	1637	0,5 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,0	1,3 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,0	-	-
28. $\beta$ -Eudesmol	47,6	1649	1655	2,0 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,0	2,1 $\pm$ 0,0	-	-	-
29. $\alpha$ -Cadinol	47,7	1652	1660	1,4 $\pm$ 0,1	10,0 $\pm$ 0,0	-	-	1,8 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,4
30. Bergamotol	49,6	1690	1671	2,4 $\pm$ 1,4	-	-	6,1 $\pm$ 0,8	-	-
31. Germacrona	49,7	1693	1693	5,0 $\pm$ 0,6	15 $\pm$ 0,0	-	-	5,4 $\pm$ 1,2	5,2 $\pm$ 2,3
32. Muuroleno <14-oxy- $\alpha$ >	51,9	1767	1765	-	-	-	1,8 $\pm$ 2,4	3,4 $\pm$ 2,5	12,6 $\pm$ 0,0

Outros				0,2	0,8		0,7	1,2	
33. Undecan-2-ona	32,5	1293	1290	0,3±0,0	0,8±0,0	-	0,4±0,0	0,8±0,1	1,2±0,3
<b>Total identificado</b>				<b>91,0</b>	<b>89,6</b>	<b>82,1</b>	<b>87,8</b>	<b>91,6</b>	<b>96,1</b>
Não identificados		IA*							
34. NI	1664	-	-	-	-	2,4±0,1	-	-	1,3±0,6
35. NI	1690	-	-	12,6±1,1	-	-	-	-	-

IA- Índice aritmético tabelado; IA\*- Média dos valores de índice aritmético calculados.

**34. NI TR. 48,16 IA\*. 1664**

**EM, m/z (%)M<sup>+</sup>** 216 (97), 202 (16), 201 (99), 187 (16), 183 (12), 173 (25), 160 (10), 159 (45), 146 (17), 145 (100), 143 (12), 141 (11), 131 (17), 130 (17), 128 (18), 119 (10), 117 (16), 115 (27), 109 (18), 108 (14), 105 (31), 96 (13), 95 (12), 93 (18), 91 (31), 79 (15), 77 (23), 65 (17), 55 (16), 53 (21), 51 (19), 43 (47), 41 (53), 40 (5), 39 (36).

**35. NI TR. 43,51 IA\*. 1690**

**EM, m/z (%)M<sup>+</sup>** 216 (22), 201 (8), 187 (5), 159 (17), 148 (8), 146 (6), 145 (17), 143 (9), 133 (8), 131 (11), 129 (5), 128 (8), 119 (8), 117 (9), 115 (11), 110 (6), 109 (15), 108 (100), 106 (6), 105 (20), 103 (4), 93 (28), 91 (24), 81 (6), 79 (20), 78 (5), 77 (20), 65 (12) 63 (4), 55 (8), 51 (8), 43 (10), 41 (18), 39 (17).

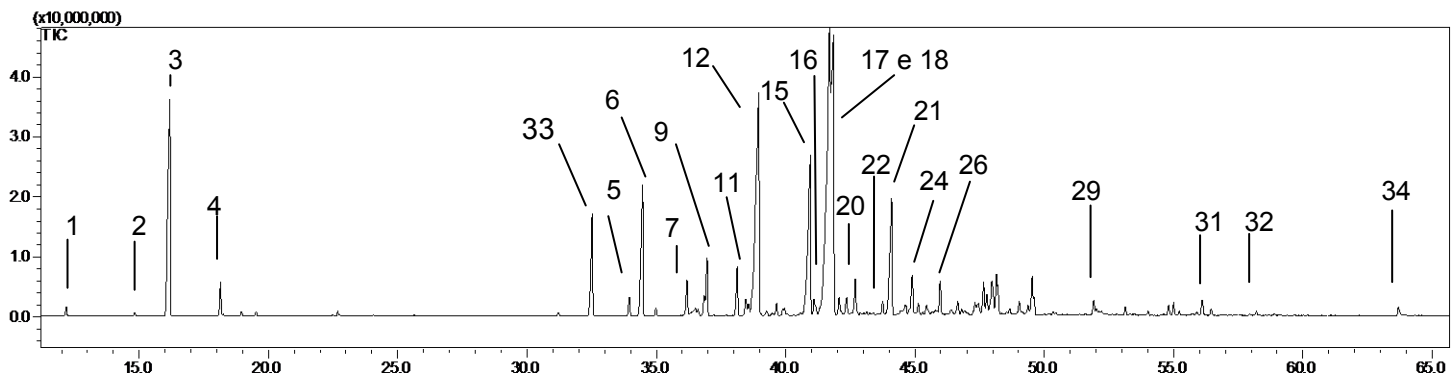


Figura 18- Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas de *S. guianensis* coletadas em Porto Firme-MG no mês de dezembro de 2012 obtido por cromatógrafo gasoso (FE: Sílica fundida. FM: Gás Hélio. Razão de split 1:10).

A.4-Tabela dos constituintes do óleo essencial (%) extraído das folhas de *Siparuna guianensis* coletadas em Viçosa- MG no período de fevereiro a dezembro de 2012.

ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>S.guianensis</i> COLETADA EM VIÇOSA									
Constituintes	TR	IA	IA*	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez
<b>Sesquiterpenos Hidrocarbonetos</b>				<b>57,4</b>	<b>58,8</b>	<b>57,1</b>	<b>89,6</b>	<b>57</b>	<b>63,4</b>
1. $\delta$ -Elemeno	34,1	1335	1337	1,0 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,0	-	0,6 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,1
2. $\alpha$ -Cubebeno	34,4	1345	1349	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,0	-	-	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0
3. $\alpha$ -Copaeno	36,1	1374	1375	1,1 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	1,6 $\pm$ 0,3	2,1 $\pm$ 0,0
4. $\beta$ -Elemeno	36,9	1389	1393	4,3 $\pm$ 0,6	3,4 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,8	3,8 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,3	5,4 $\pm$ 0,1
5. <i>trans</i> - Cariofileno	38,1	1417	1418	1,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,2	2,2 $\pm$ 0,0
6. $\gamma$ -Elemeno	38,9	1434	1434	0,1 $\pm$ 0,0	1,6 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,2	-	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,1
7. Aromadendreno	39,2	1439	1439	0,6 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,2	-	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0
8. $\alpha$ -Humuleno	39,5	1452	1451	-	-	-	0,6 $\pm$ 0,4	-	-
9. (allo)-Aromadendreno	39,9	1458	1454	0,7 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	-	-	-
10. Germacreno D	40,8	1484	1487	25,8 $\pm$ 5,1	27 $\pm$ 3,2	25,2 $\pm$ 3,0	60,0 $\pm$ 0,5	29,6 $\pm$ 3,5	31 $\pm$ 0,4
11. $\beta$ -Selineno	41,0	1489	1483	-	-	1,0 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,6	-	1,0 $\pm$ 0,1
12. $\alpha$ -Selineno	41,4	1498	1498	1,5 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,2	-	-	1,2 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,1
13. Biciclogermacreno	41,5	1500	1501	12,4 $\pm$ 1,0	-	10 $\pm$ 0,8	8,6 $\pm$ 0,0	12,0 $\pm$ 1,0	10,8 $\pm$ 0,0
14. $\gamma$ -Cadineno	42,3	1513	1516	-	10,1 $\pm$ 0,9	6,3 $\pm$ 1,0	9,3 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 2,4	4,5 $\pm$ 0,1
15. $\delta$ -Cadineno	42,6	1522	1527	3,6 $\pm$ 2,4	5,0 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,9	2,3 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,0
16. Germacreno B	44,1	1559	1559	5,0 $\pm$ 1,6	6,1 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,8	1,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,1
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>				<b>21</b>	<b>27,3</b>	<b>30,3</b>	<b>2,5</b>	<b>30,6</b>	<b>27,3</b>
17. Elemol	43,5	1548	1555	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 0,7	-	5,4 $\pm$ 1,2	5,0 $\pm$ 0,2
18. Epatulenol	44,8	1577	1580	-	-	-	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,0	-
19. Ledol	45,9	1602	1605	1,0 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 1,4	0,5 $\pm$ 0,4	-	1,0 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,2
20. $\gamma$ -Eudesmol	46,6	1630	1621	6,2 $\pm$ 0,6	1,4 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 0,1	-	1,9 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,0
21. Torreiol	47,5	1644	1637	-	4,8 $\pm$ 3,2	-	0,5 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	4,8 $\pm$ 0,2
22. $\beta$ -Eudesmol	47,6	1649	1655	5,6 $\pm$ 1,7	15 $\pm$ 6,6	16,5 $\pm$ 4,6	0,3 $\pm$ 0,1	21 $\pm$ 3,4	5,6 $\pm$ 0,0
23. $\alpha$ -Cadinol	47,7	1652	1660	8,1 $\pm$ 1,8	3,5 $\pm$ 0,5	8,0 $\pm$ 1,2	1,5 $\pm$ 0,1	-	8,8 $\pm$ 3,9
<b>Total identificado</b>				<b>78,4</b>	<b>86,1</b>	<b>87,4</b>	<b>92,1</b>	<b>87,6</b>	<b>90,7</b>

Não identificados	TR	IA*						
24. NI	1748	1,7±0,9	1,2±0,2	1,3±0,1	-	-	-	-
25. NI	1765	4,3±2,2	2,5±1,0	3,3±0,5	-	-	-	-
26. NI	1888	-	-	-	-	-	0,9±0,0	-
27. NI	1988	-	-	-	-	-	3,0±0,0	-
28. NI	1995	6,5±1,2	2,3±1,7	1,8±0,3	-	-	-	-
29. NI	2115	-	-	-	-	-	1,8±0,1	-

IA- Índice aritmético tabelado; IA\*- Média dos valores de índice aritmético calculados.

**24. NI TR. 50,99 IA\*. 1748**

**EM, m/z (%)M<sup>+</sup>** 218 (14), 190 (13), 175 (30), 149 (26), 148 (21), 147 (100), 135 (12), 134 (12), 133 (23), 121 (12), 119 (20), 107 (16), 105 (27), 93 (13), 91 ( 25), 79 (20), 77 (17), 69 ( 27), 67 (13), 55 (14), 53 (11), 43 (19), 41 ( 56), 39 ( 20)

**25. NI TR. 51,62 IA\*. 1765**

**EM, m/z (%)M<sup>+</sup>** 218 (46), 176 (22), 175 (100), 174 (12), 148 (60), 147 (50), 145 (10), 134 (11), 133 (42), 131 (13), 120 (24), 119 (21), 105 (55), 91 (25), 79 (13), 77 (16), 55 (15), 43 ( 15), 41 (45), 39 (18)

**26. NI TR. 47,02 IA\*. 1888**

**EM, m/z (%)M<sup>+</sup>** 205 (10), 204 (57), 190 (15), 189 (100), 161 (41), 133 (33), 121 (11), 109 (13), 107 (32), 105 (28), 95 (24), 93 (16), 91 (27), 81 (18), 79 (13), 69 (10), 67 (15) 59 (48), 55 (31), 53 (14), 43 (55), 41 (41), 39 (15) 31 (11)

**27. NI TR. 47,53 IA\*. 1988**

**EM, *m/z* (%)M<sup>+</sup>** 204 (44), 189 (35), 175 (11), 162 (10), 161 (59), 149 (16), 147 (12), 133 (28), 122 (14), 121 (23), 119 (33), 109 (24), 108 (17), 107 (28), 105 (52), 95 (36), 94 (11), 93 (32), 91 (31), 81 (27), 79 (27), 77 (13), 69 (11), 67 (28), 59 (100), 55 (47), 53 (24), 43 (95), 41 (79), 39 (19), 31 (11)

**28. NI TR. 59,76 IA\*.1995**

**EM, *m/z* (%)M<sup>+</sup>** 202 (53), 189 (12), 160 (15), 159 (100), 147 (11), 135 (13), 133 (13), 131 (12), 121 (21), 105 (18), 95 (34), 93 (14), 91 (15), 81 (21), 79 (21), 77 (10), 69 (12), 67 (10), 55 (17), 43 (74), 41 (28)

**29. NI TR. 47,82 IA\*. 2115**

**EM, *m/z* (%)M<sup>+</sup>** 164 (7), 149 (22), 123 (7), 122 (8), 109 (10), 108 (16), 107 (7), 93 (5), 82 (7), 81 (4), 79 (5), 67 (10), 59 (100), 55 (9), 53 (5), 41 (14), 39 (5)

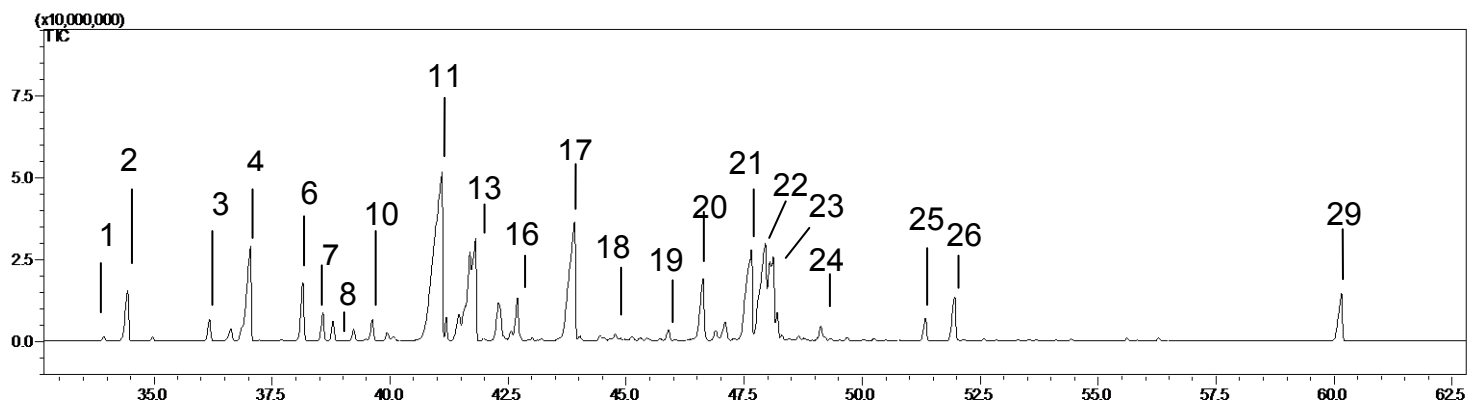
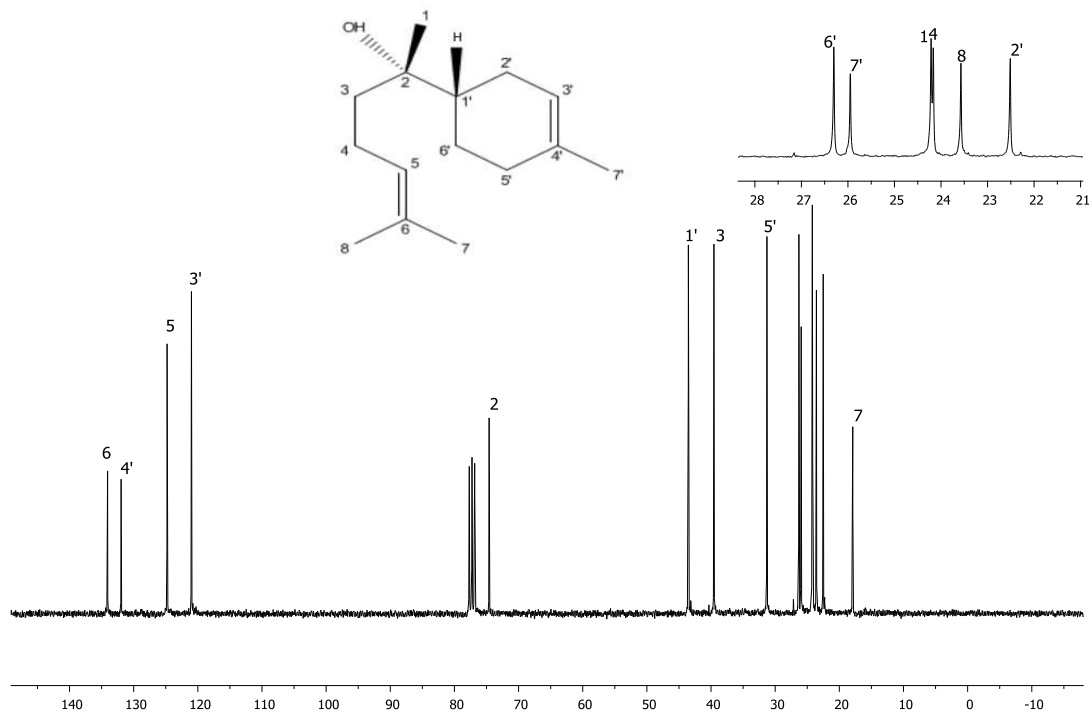
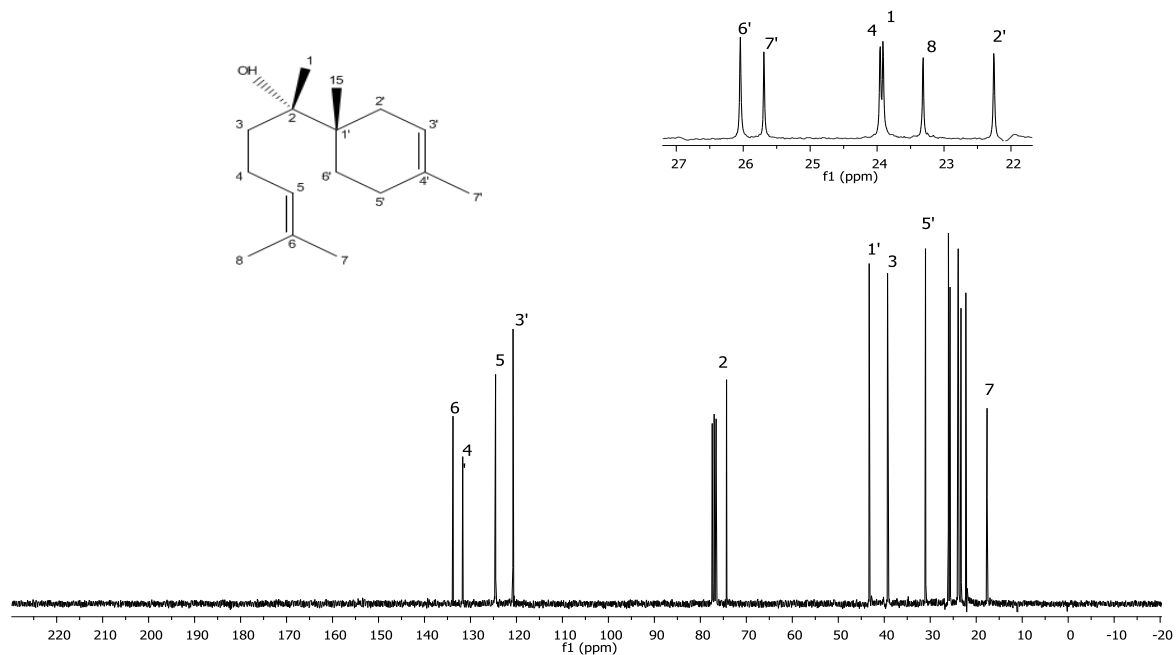


Figura 19- Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas de *S. guianensis* coletadas em Viçosa-MG no mês de fevereiro de 2012 obtido por cromatógrafo gasoso (FE: Sílica fundida. FM: Gás Hélio. Razão de split 1:10).

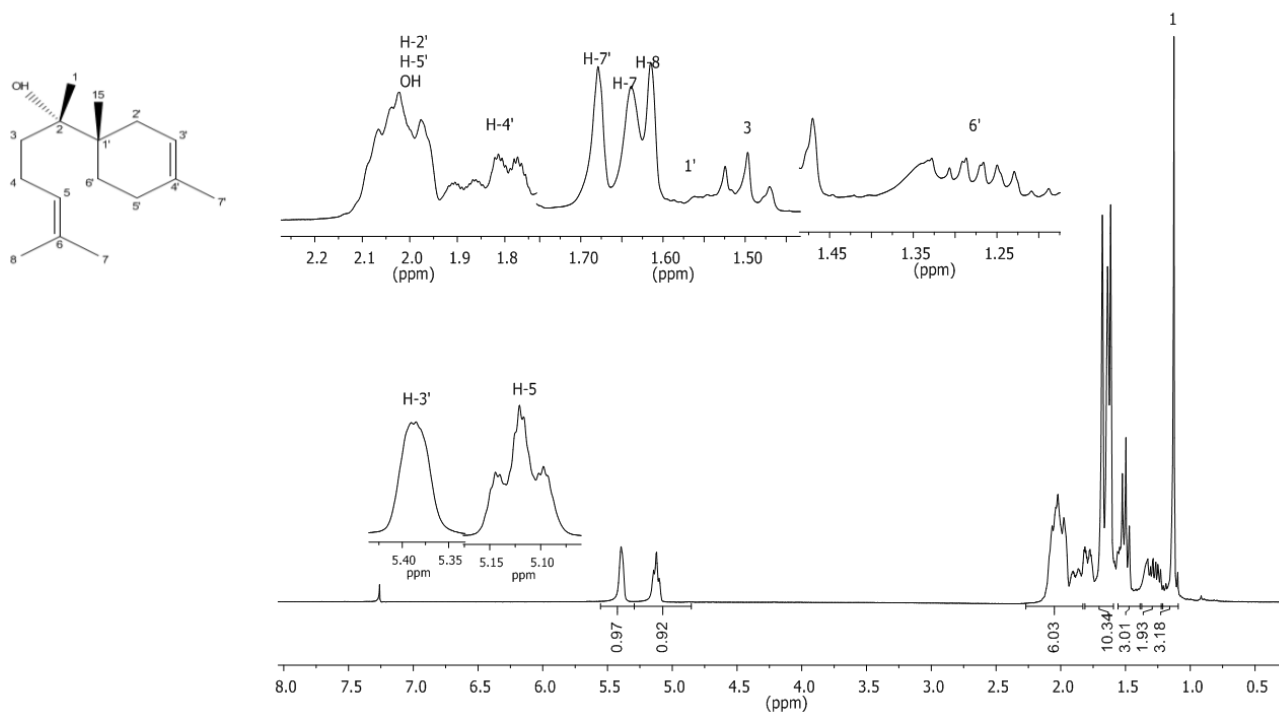
A.5- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta .



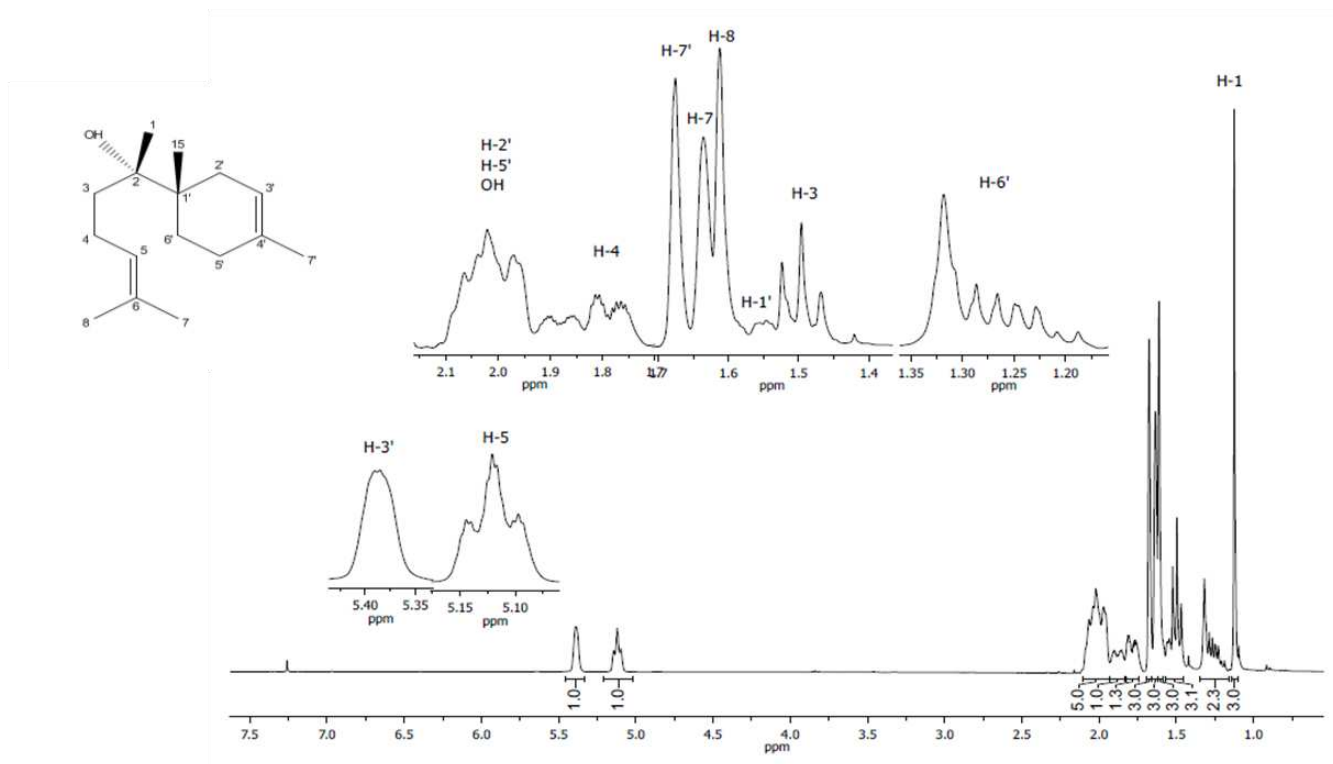
A.6- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins.



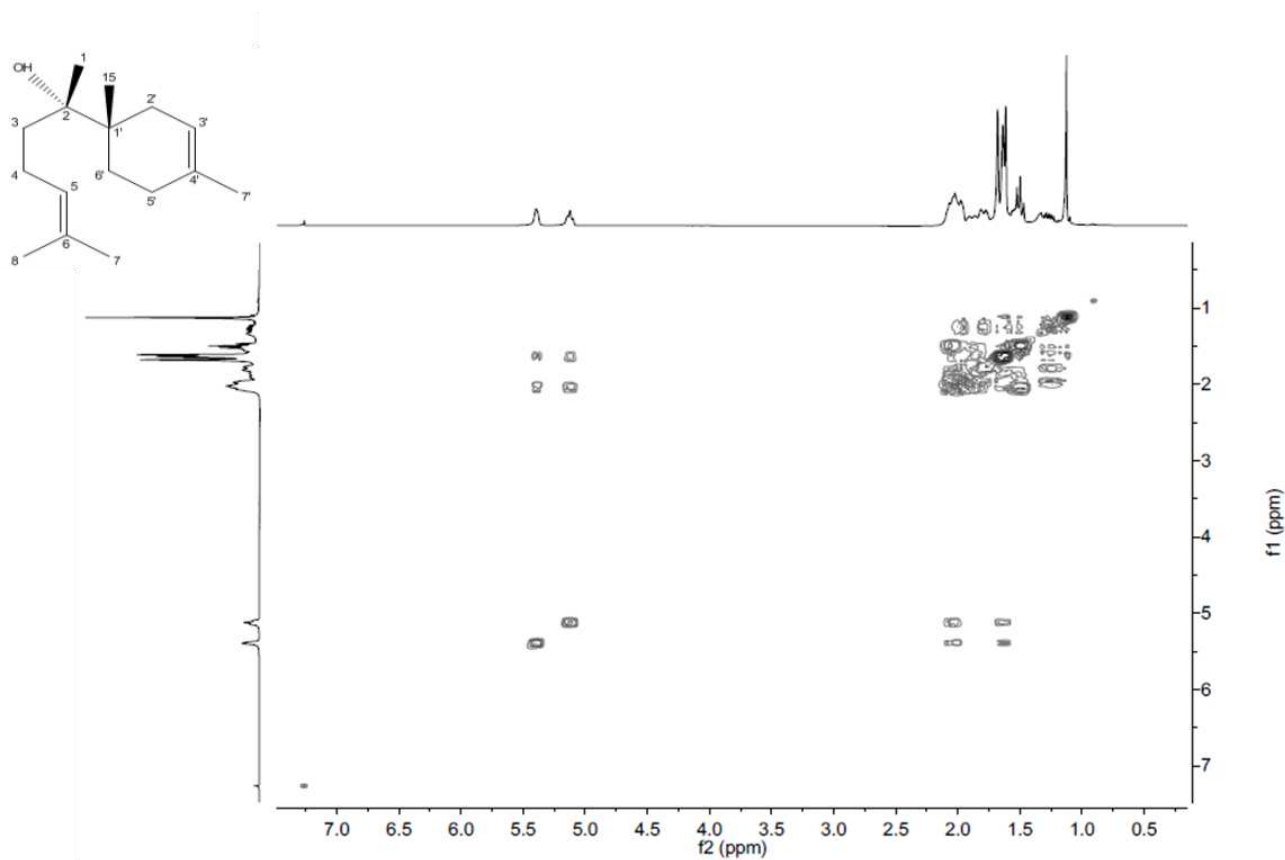
A.7- Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta .



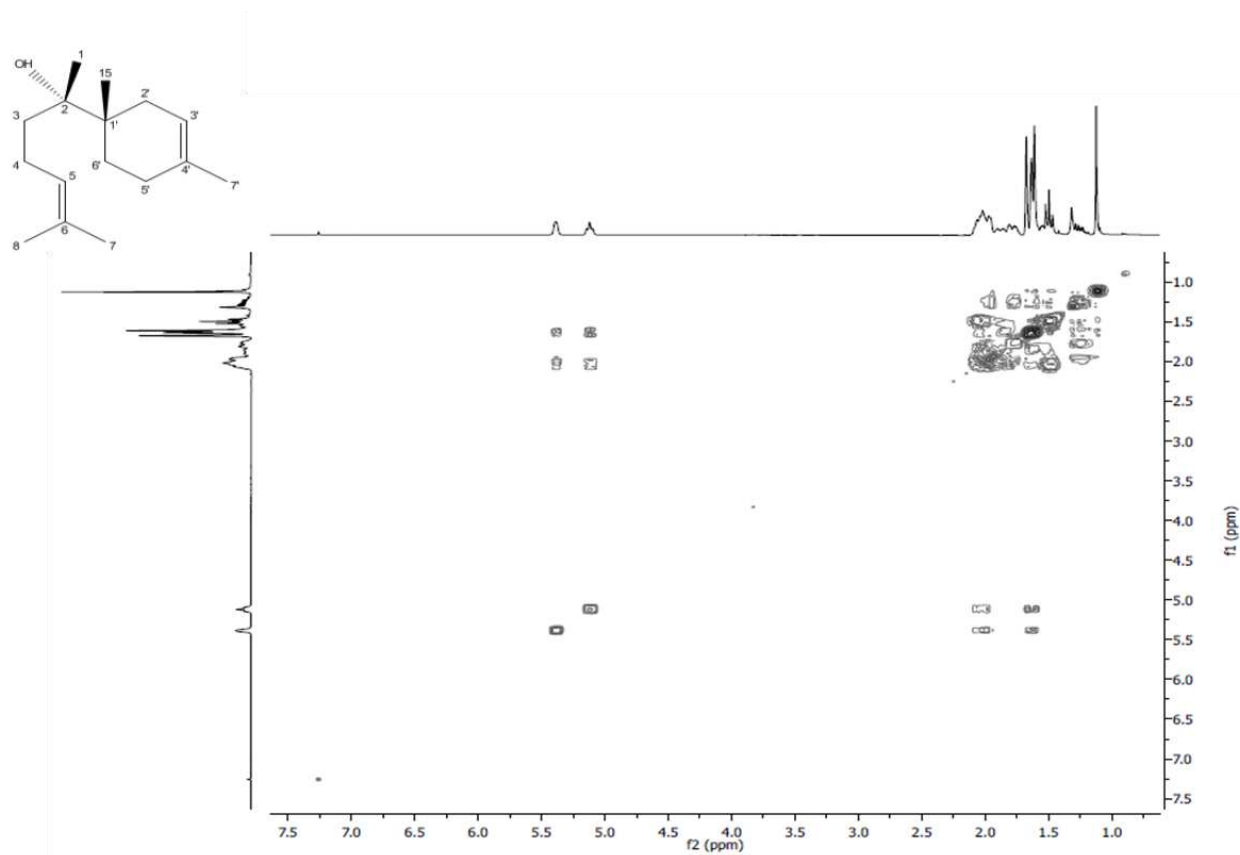
A.8- Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins.



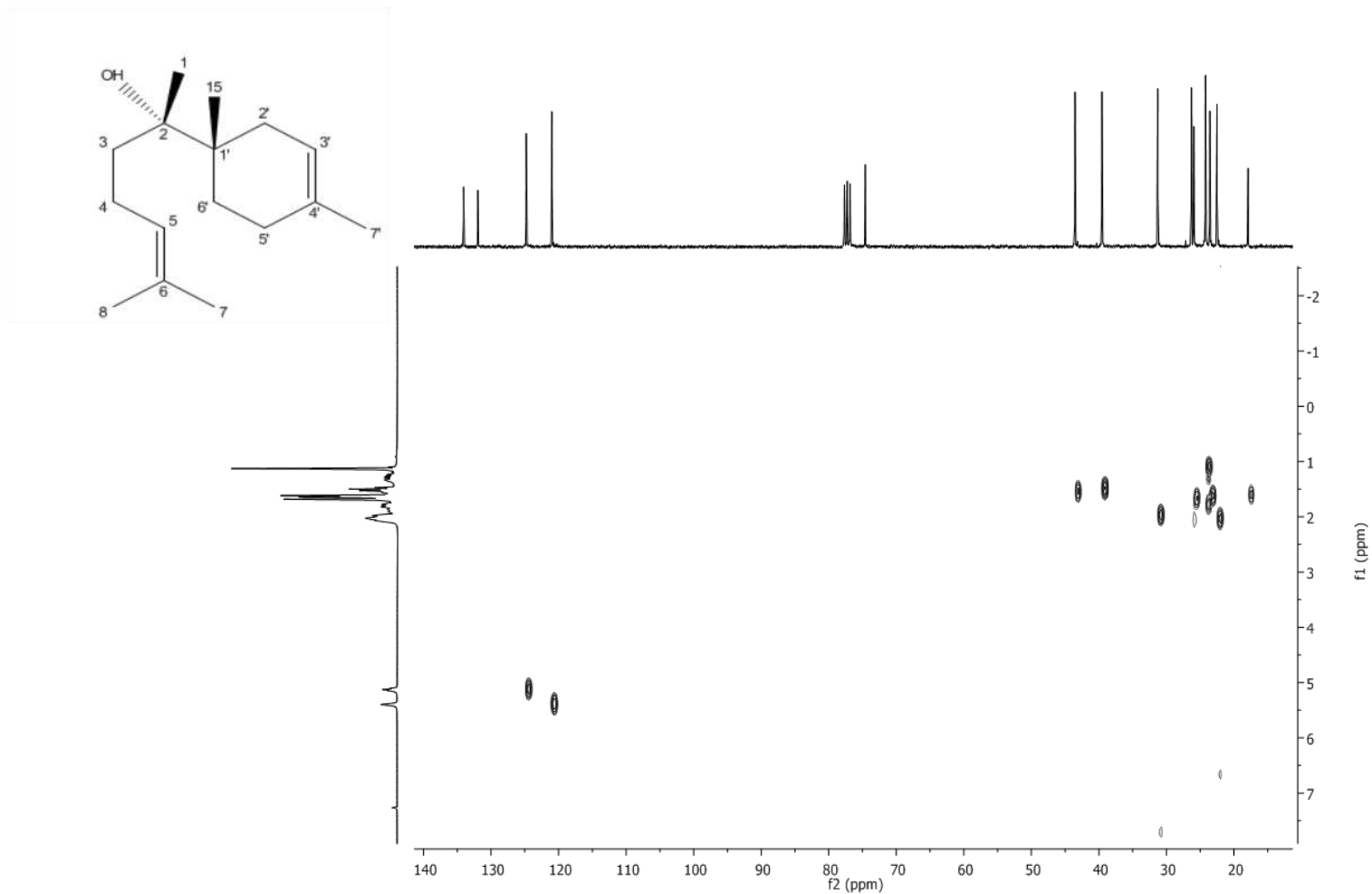
A.9- Mapa de contorno COSY do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta.



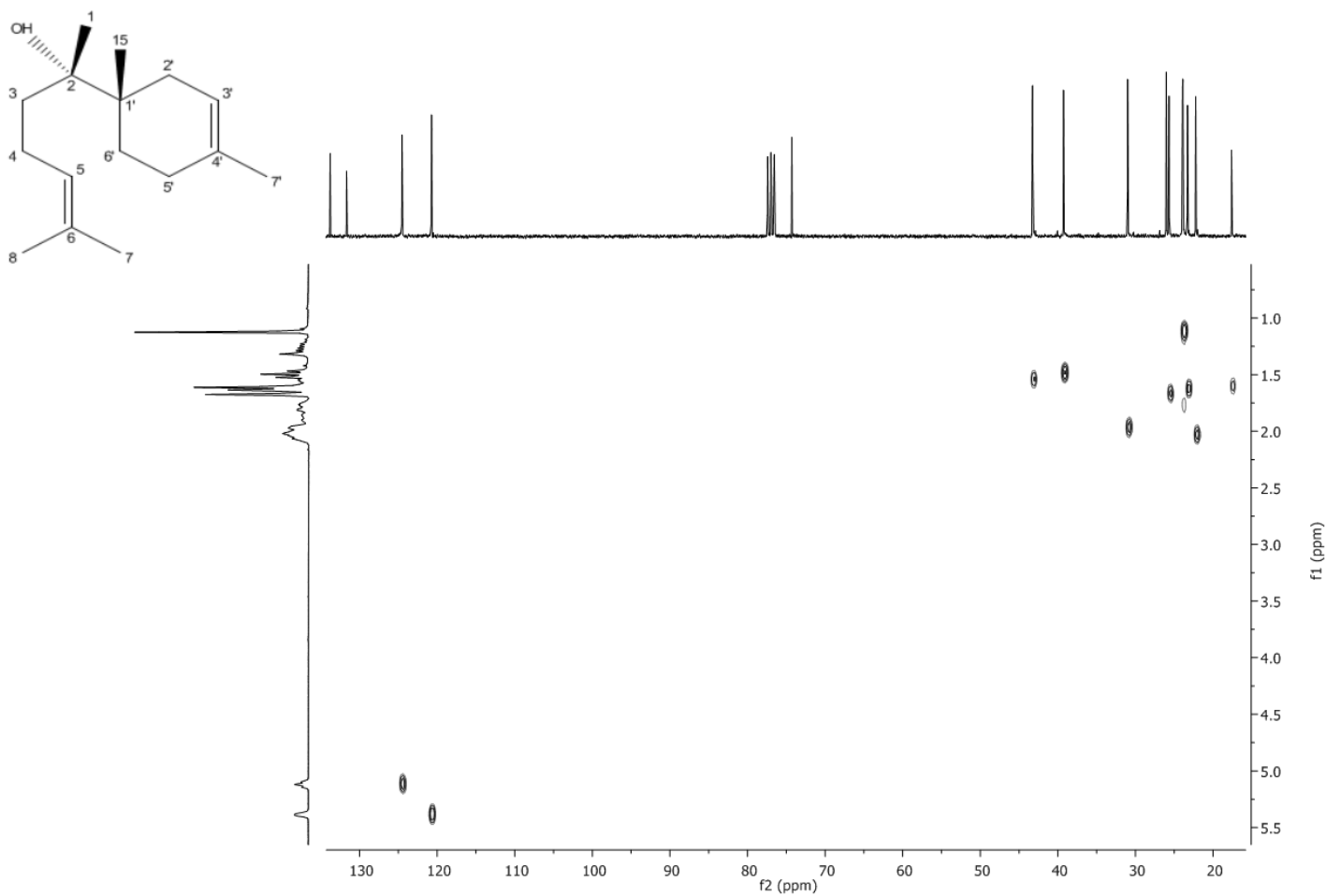
A.10- Mapa de contorno COSY do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins



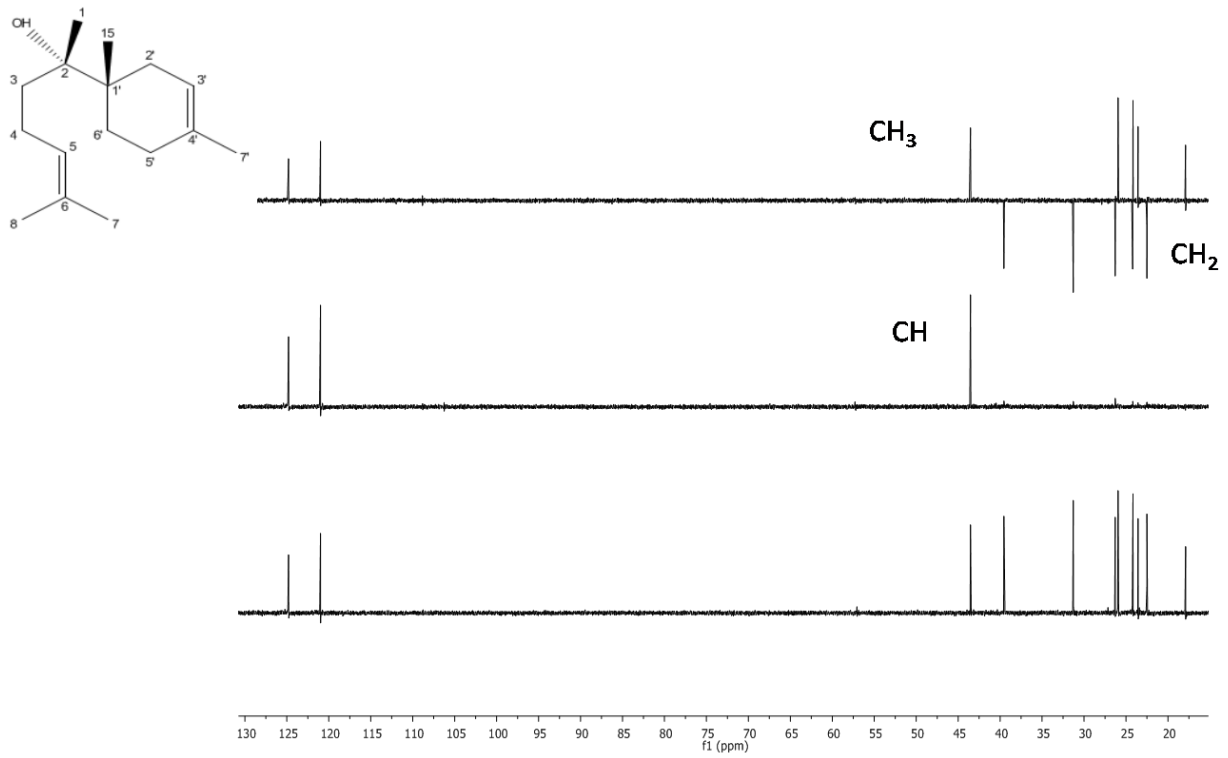
A.11- Espectro de RMN HETCOR em  $\text{CDCl}_3$  de  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta.



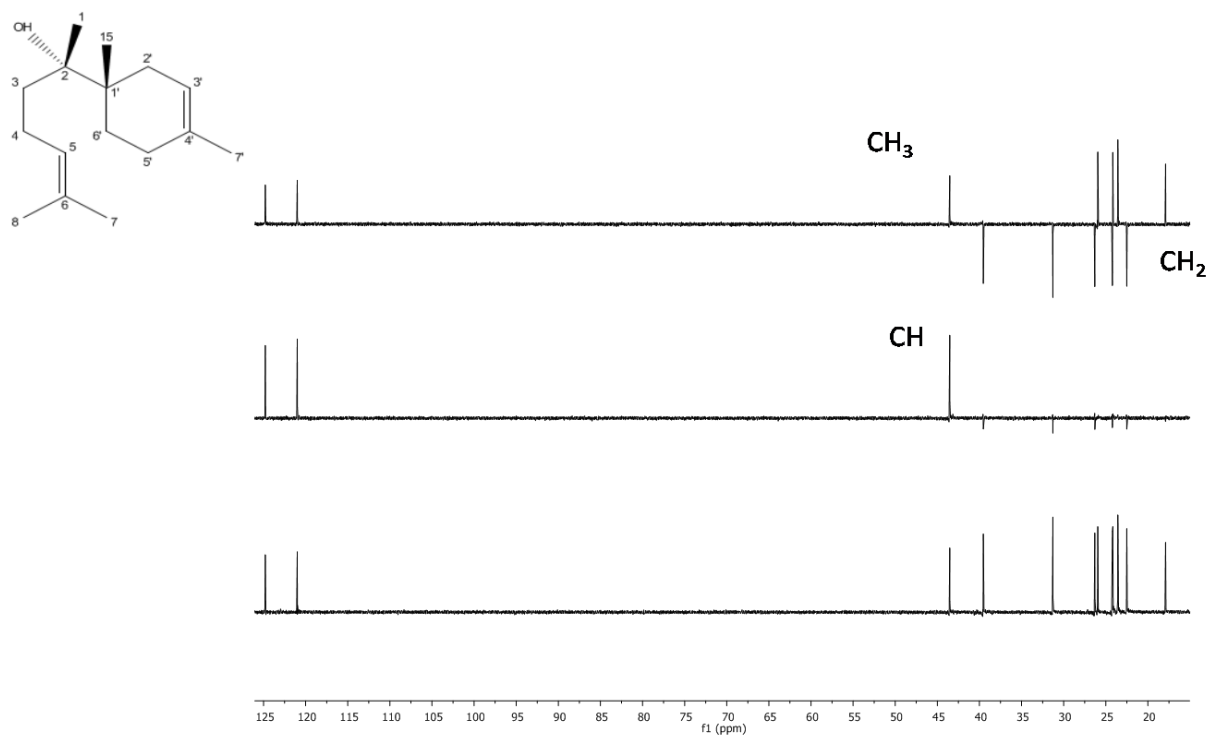
A.12- Espectro de RMN HETCOR em  $\text{CDCl}_3$  de  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins



A.13- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT 135 em  $\text{CDCl}_3$  do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em São Miguel do Anta.



A.14- Espectro de RMN DEPT 135 em  $\text{CDCl}_3$  do  $\alpha$ -bisabolol isolado a partir das folhas de *S. guianensis* coletadas em Tocantins



A.15- Tabela com parâmetros analisados no teste de imersão de fêmeas para análise da atividade carrapaticida.

Peso da fêmea antes da postura, peso da massa de ovos e Percentual de eclosão de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplustratadas* com diferentes concentrações de óleo essencial de *S. guianensis* coletadas em Tocantins (TO) e São Miguel do Anta (SMA) e do (BIS)  $\alpha$ -bisabolol.

Parâmetros analisados	Concentrações	TO	SMA	BIS
Peso da fêmea antes da postura (mg)	Controle	278,2 <sup>aA*</sup> ±30,7	278,2 <sup>aA</sup> ±30,7	278,2 <sup>aA</sup> ±30,7
	10 mg mL <sup>-1</sup>	277,2 <sup>aA</sup> ±32,1	279,9 <sup>aA</sup> ±25,4	279,1 <sup>aA</sup> ±23,7
	20 mg mL <sup>-1</sup>	277,9 <sup>aA</sup> ±30,0	279,0 <sup>aA</sup> ±27,9	278,4 <sup>aA</sup> ±27,3
	40 mg mL <sup>-1</sup>	277,5 <sup>aA</sup> ±25,7	278,5 <sup>aA</sup> ±38,4	279,4 <sup>aA</sup> ±33,2
	60 mg mL <sup>-1</sup>	277,2 <sup>aA</sup> ±25,7	277,8 <sup>aA</sup> ±22,6	279,6 <sup>aA</sup> ±25,1
Índice de produção de ovos (mg)	Controle	166,5 <sup>aA</sup> ±18,5	166,5 <sup>aA</sup> ±18,5	166,5 <sup>aA</sup> ±18,5
	10 mg mL <sup>-1</sup>	160,1 <sup>aA</sup> ±31,1	155,4 <sup>aA</sup> ±24,3	127,7 <sup>abA</sup> ±45,8
	20 mg mL <sup>-1</sup>	153,9 <sup>aA</sup> ±23,0	150,3 <sup>aA</sup> ±19,7	75,2 <sup>bcB</sup> ±50,8
	40 mg mL <sup>-1</sup>	134,2 <sup>bcA</sup> ±18,2	101,7 <sup>ba</sup> ±44,7	20,3 <sup>cdB</sup> ±34,4
	60 mg mL <sup>-1</sup>	114,5 <sup>ca</sup> ±29,0	87,5 <sup>ba</sup> ±65,2	20,5 <sup>cdB</sup> ±36,5
Percentual de eclosão (%)	Controle	95,9 <sup>aA</sup> ±4,7	95,9 <sup>aA</sup> ±4,7	95,9 <sup>aA</sup> ±4,7
	10 mg mL <sup>-1</sup>	93,8 <sup>aA</sup> ±3,4	82,1 <sup>aA</sup> ±16,4	90,8 <sup>aA</sup> ±8,2
	20 mg mL <sup>-1</sup>	94,6 <sup>aA</sup> ±2,6	84,5 <sup>aA</sup> ±19,0	35,0 <sup>bb</sup> ±29,6
	40 mg mL <sup>-1</sup>	72,9 <sup>ba</sup> ±18,3	39,2 <sup>bb</sup> ±29,8	15,0 <sup>bb</sup> ±26,0
	60 mg mL <sup>-1</sup>	38,3 <sup>ba</sup> ±27,6	22,3 <sup>ba</sup> ±24,9	11,3 <sup>ba</sup> ±16,5

\*As médias seguidas das mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

A.16- Constituintes das misturas de óleos essenciais utilizados para o teste de Dose Letal (DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub>)

<b>Constituintes</b>	<b>IA</b>	<b>IA*</b>	<b>SM</b>	<b>PF</b>	<b>TO</b>	<b>VI</b>
1. $\alpha$ -Pineno	<b>932</b>	<b>928</b>	0,1±0,0	0,4±0,1	-	-
2. $\beta$ -Pineno	<b>974</b>	<b>969</b>	-	0,2±0,0	-	-
3. Mirceno	<b>988</b>	<b>990</b>	0,4±0,2	14,0±4,0	0,4±0,0	-
4. $\alpha$ -Felandreno	<b>1002</b>	<b>999</b>	-	-	0,8±0,0	-
5. $\delta$ -3-Careno	<b>1008</b>	<b>1005</b>	-	-	0,6±0,0	-
6. $\alpha$ -Terpineno	<b>1014</b>	<b>1011</b>	-	-	0,5±0,0	-
7. Limoneno	<b>1024</b>	<b>1024</b>	-	1,0±0,1	0,1±0,0	-
8. $\alpha$ -Terpinoleno	<b>1086</b>	<b>1084</b>	-	-	17,0±0,0	-
9. Bicicloelemeno	<b>1330</b>	<b>1337</b>	0,2±0,0	0,7±0,1	-	-
10. $\delta$ -Elemeno	<b>1335</b>	<b>1337</b>	-	-	-	0,5±0,0
11. $\alpha$ -Cubebeno	<b>1345</b>	<b>1349</b>	1,4±1,7	0,1±0,0	-	-
12. $\alpha$ -Copaeno	<b>1374</b>	<b>1375</b>	-	0,5±0,0	-	1,6±0,0
13. $\beta$ -Bourboneno	<b>1387</b>	<b>1379</b>	-	0,3±0,0	-	-
14. $\beta$ -Elemeno	<b>1389</b>	<b>1393</b>	-	1,0±0,0	-	4,2±0,0
15. $\alpha$ -Gurjuneno	<b>1409</b>	<b>1413</b>	-	0,5±0,3	-	-
16. <i>trans</i> -Cariofileno	<b>1417</b>	<b>1418</b>	0,2±0,0	0,7±0,0	-	1,4±0,0
17. $\gamma$ -Elemeno	<b>1434</b>	<b>1434</b>	-	2,5±0,3	-	0,2±0,0
18. <i>cis</i> - $\beta$ - Farneseno	<b>1440</b>	<b>1445</b>	0,2±0,0	-	-	-
19. $\alpha$ -Humuleno	<b>1452</b>	<b>1450</b>	-	0,2±0,0	-	0,5±0,0
20. <i>Trans</i> - $\beta$ -Farneseno	<b>1454</b>	<b>1459</b>	1,2±0,4	-	0,7±0,0	-
21. (allo)-Aromadendreno	<b>1458</b>	<b>1454</b>	-	0,3±0,0	-	1,0±0,0
22. Germacreno D	<b>1484</b>	<b>1487</b>	0,5±0,3	7,7±0,3	0,7±0,0	<b>20,0±0,0</b>

23. $\beta$ -Selineno	1489	1480	-	0,3 $\pm$ 0,0	-	-
24. Bicyclgermacreno	1500	1501	3,5 $\pm$ 1,3	<b>30,0<math>\pm</math>2,4</b>	0,3 $\pm$ 0,0	10,0 $\pm$ 0,0
25. Curzereno	1499	1500				
26. $\beta$ -Bisaboleno	1505	1507	3,3 $\pm$ 1,2	-	1,5 $\pm$ 0,0	-
27. Cis- $\alpha$ -Bisaboleno	1506	1504	-	-	2,5 $\pm$ 0,0	-
28. $\gamma$ -Cadineno	1513	1516	-	-	-	6,1 $\pm$ 0,0
29. $\beta$ -Sesquifelandreno	1521	1517	0,7 $\pm$ 0,2	-	1,0 $\pm$ 0,0	-
30. $\delta$ -Cadineno	1522	1527	-	0,7 $\pm$ 0,0	-	3,0 $\pm$ 0,0
31. Elemol	1548	1555	5,1 $\pm$ 2,0	0,4 $\pm$ 0,1	-	4,0 $\pm$ 0,0
32. Germacreno B	1559	1559	-	11,0 $\pm$ 1,2	-	0,8 $\pm$ 0,0
33. Palustrol	1567	1570	-	0,2 $\pm$ 0,2	-	-
34. Espatulanol	1577	1580	-	3,0 $\pm$ 0,8	-	1,1 $\pm$ 0,0
35. Viridiflorol	1594	1587	-	0,3 $\pm$ 0,0	-	-
36. Ledol	1602	1605	-	0,7 $\pm$ 0,3	-	1,2 $\pm$ 0,0
37. $\gamma$ -Eudesmol	1630	1621	0,7 $\pm$ 0,3	-	-	1,8 $\pm$ 0,0
38. Torreiol	1644	1637	0,6 $\pm$ 0,2	-	-	5,6 $\pm$ 0,0
39. $\beta$ -Eudesmol	1649	1655	0,4 $\pm$ 0,0	-	-	4,4 $\pm$ 0,0
40. $\alpha$ -Cadinol	1652	1660	-	1,8 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,0	9,4 $\pm$ 0,0
41. $\alpha$ -Bisabolol	1685	1685	<b>62,6<math>\pm</math>19,5</b>	-	<b>48,0<math>\pm</math>0,0</b>	-
42. Germacrona	1693	1693	-	5,4 $\pm$ 1,2	-	-
43. $\alpha$ -Muuroleno	1767	1765	-	3,4 $\pm$ 2,5	-	-
<b>Total identificado</b>			<b>81,1</b>	<b>87,3</b>	<b>75,3</b>	<b>77,3</b>