



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia
Rede BIONORTE



**ESTUDO SAZONAL E CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis
brevipedunculata*, DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SOBRE *Rhipicephalus microplus* e
*Haemonchus contortus***

MARCOS BISPO PINHEIRO CAMARA

São Luís – MA

2023

MARCOS BISPO PINHEIRO CAMARA

**ESTUDO SAZONAL E CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis
brevipedunculata*, DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SOBRE *Rhipicephalus microplus* e
*Haemonchus contortus***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE,
na Universidade Federal do Maranhão - UFMA,
como requisito final para a obtenção do Título de
Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador(a): Prof^a Dr^a Claudia Quintino da Rocha

São Luís – MA

JUNHO/2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Camara, Marcos Bispo Pinheiro Camara.

ESTUDO SAZONAL E CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis
brevipedunculata*, DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SOBRE *Rhipicephalus microplus* e
Haemonchus contortus / Marcos Bispo Pinheiro Camara
Camara. - 2023.

129 f.

Orientador(a): Cláudia Quintino da Rocha Rocha.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2023.

1. Asteraceae. 2. Circadiano. 3. Citral. 4.
Microemulsão. 5. Sazonal. I. Rocha, Cláudia Quintino da
Rocha. II. Título.

MARCOS BISPO PINHEIRO CAMARA

ESTUDO SAZONAL E CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata*, DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SOBRE *Rhipicephalus microplus* e *Haemonchus contortus*.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão - UFMA, como requisito final para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



CLAUDIA QUINTINO DA ROCHA
Data: 30/01/2024 20:03:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. ^aDr^a Claudia Quintino da Rocha (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Documento assinado digitalmente



HERMES RIBEIRO LUZ
Data: 31/01/2024 11:43:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Documento assinado digitalmente



ANA LUCIA ABREU SILVA
Data: 31/01/2024 14:26:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^a. Ana Lucia Abreu Silva
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Documento assinado digitalmente



JOICY CORTEZ DE SA SOUSA
Data: 01/02/2024 10:03:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^aJoicy Cortez de Sá Sousa
Universidade Ceuma – UNICEUMA

Documento assinado digitalmente



JOSE GUILHERME SOARES MAIA
Data: 02/02/2024 12:40:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Guilherme Soares Maia
Universidade Federal do Pará - UFPA

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Marcos Bispo Pinheiro Camara, (X) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “ ESTUDO SAZONAL E CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata*, DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SOBRE *Rhipicephalus microplus* e *Haemonchus contortus*.” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Local/Data: São Luís - Maranhão, 28 de junho de 2023

Documento assinado digitalmente
 **MARCOS BISPO PINHEIRO CAMARA**
Data: 21/02/2024 14:21:17-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Marcos Bispo Pinheiro Camara

CPF: 460 784 443 87

RG: 046659962012-7

“Dedico este trabalho, a minha esposa Maria Deusa, e meus dois filhos, Adams da Conceição e Agatha da Conceição, pelo incentivo, apoio e paciência durante toda trajetória para conclusão do doutorado.”

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido saúde e força para seguir enfrente;

A minha orientadora professora doutora, Cláudia Quintino da Rocha, pela orientação, motivação, apoio e confiança em acreditar na conclusão deste trabalho a qual tenho tanto orgulho;

A minha amiga Aldilene da Silva Lima pela grande participação nos experimentos, disponibilidade nos momentos mais difícil e pelas valiosas sugestões e ensinamentos;

À professora doutora, Luce de Maria Brandão Torres, pela oportunidade e incentivo para os primeiros passos no curso superior;

A Aglaete Pinheiro Araújo, Jessyane Rodrigues do Nascimento, Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário, José Lima Pereira Filho e todos os colegas do Laboratório de Química de Produtos Naturais que sempre contribuíram apoiaram este trabalho;

Aos colegas do Bionorte Isa Rosete Mendes Araújo, Karla Karoline Muniz de Araújo, Ennio Patrezzi da Silva Costa e toda turma do primeiro período de 2019 que sempre foram companheiros e amigos;

Ao professor doutor, Odair dos Santos Monteiro, pela orientação, disponibilidade dos equipamentos, acessórios para extração do OE e amizade de longas datas;

A professora doutora Cáritas Mendonças pela amizade e ajuda na parte experimental das análises e injeção dos óleos; ao professor doutor José Maia, por importante ajuda na caracterização dos óleos essenciais;

A professora doutora Patrícia Rosa que sempre esteve disponível nos momentos de dúvida;

As professoras doutoras Kiany Sirley Brandão Cavalcante, Clenilma Marques Brandao e Georgiana Eurides de Carvalho Marques que sempre estiveram presente com seu incentivo e apoio;

A professora doutora Maria do Socorro de Sousa Cartágenes, por sua amizade desde a época da sua graduação, sempre presente;

Aos professores doutores Orlando José dos Santos e Vanisse Portela Ramos Bulcão Loureiro Pela forma amiga e generosa pela qual sempre me incentivou;

A Universidade Federal do Maranhão - UFMA pela oportunidade de aperfeiçoamento;

A SINFRA por ter concedido espaço e disponibilizado a rede hidráulica para irrigação do local de coleta da planta na estação seca;

Ao Bionorte - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pela estrutura em ter proporcionado cursar o doutorado;

À CAPES, pela possibilidade e apoio aos programas de Pós-graduação;

A FAPEMA pelo apoio ao desenvolvimento de pesquisas científicas internas e externas;

A todos aqueles que estiveram comigo, durante esta caminhada, os meus sinceros agradecimentos.

CAMARA, Marcos Bispo Pinheiro. Estudo sazonal e circadiano do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*, desenvolvimento de microemulsão e avaliação do potencial sobre *Rhipicephalus microplus* e *Haemonchus contortus*. 2023. 129 f. Tese (doutorado). Programa de pós graduação em biodiversidade e biotecnologia – Rede BIONORTE. Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2023.

RESUMO

Pectis brevipedunculata, pertencente à família Asteraceae é uma espécie nativa, conhecida popularmente como “chá de moça”, “alecrim do campo” e “capim limão de flor”, amplamente encontrada em ecossistemas secos e semi-áridos das regiões norte e nordeste, apresenta elevada produção de óleo essencial com alto teor de citral, conhecido pelo seu efeito antiparasitário. Os óleos essenciais (O.Es.) por serem voláteis podem ter seus constituintes químicos alterados por fatores climáticas e as formulações farmacêuticas podem reduzir tais alterações e melhorar os efeitos biológicos desses O.Es. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do ciclo circadiano e sazonal no O.E. de *P. brevipedunculata*, bem como o seu efeito acaricida e anti-helmíntico e desenvolver formulações, especialmente nanoemulsões para incorporação de E.Os. As partes aéreas foram hidrodestiladas e a composição química foi determinada por GC-MS. Para os ensaios com *Rhipicephalus microplus* foi realizado teste de imersão larval e avaliação anti-helmíntica em adultos de *Caenorhabditis elegans* e posterior, sobre *Haemonchus contortus*, usando o teste de eclodibilidade de ovos. Testes de toxicidade também foram realizados sobre organismos não alvos. Para o desenvolvimento da emulsão foi incorporado 20% do O.E. na proporção 7:3:1 de óleo:surfactante:água. O resultado de composição química identificou a presença de 30 constituintes, sendo os majoritários o citral, α -pineno e D-limoneno, com predominância de monoterpenos oxigenados. No estudo sazonal, o maior rendimento foi observado em abril (2,08%) e agosto (2,05%). Para o ciclo circadiano, os maiores rendimentos (2,0 % e 1,2%) foram às 18h, para estação seca e chuvosa, respectivamente. Em relação à atividade carrapaticida, os O.Es. de abril (LC₅₀ 1,17 mg/mL), março (LC₅₀ 1,28 mg/mL) e outubro (LC₅₀ 1,27 mg/mL) obtidos na análise sazonal foram os mais eficientes. No ritmo circadiano, na estação chuvosa e seca às 18h e 12h exibiram as menores CL₅₀. O O.E. demonstrou também ser seletivo para organismos não-alvo. Para *C. elegans* os O.Es. de *P. brevipedunculata* exibiu um efeito anti-helmíntico contra adultos do nematódeo, apresentando concentrações inibitórias menores que 0,8 mg/mL para ciclo sazonal e 1,85 mg/mL para o ritmo circadiano. Para *H. contortus*, todos os O.Es. testados sobre ovos demonstraram forte efeito anti-helmíntico, exibindo IC₅₀ abaixo de 0,5 mg/mL. O percentual de atividade carrapaticida da microemulsão contra larvas de *R. microplus* demonstrou 100% de eficiência, quando comparado ao O.E. sem formulação (inibição de 22%). Conclui-se que O.E. de *P. brevipedunculata* contém compostos bioativos com grande potencial de controle de parasitos e o processo biotecnológico de sistemas microemulsionados podem ser uma alternativa viável para tornar o bioproduto em uma formulação estável e mais eficiente no controle desses parasitos.

Palavras-chave: Astereaceae; Citral; Sazonal; Circadiano; Microemulsão

CAMARA, Marcos Bispo Pinheiro. Seasonal and circadian study of *Pectis brevipedunculata* essential oil, development of microemulsion and evaluation of potential on *Rhipicephalus microplus* and *Haemonchus contortus*. 2023. 129 f. thesis (doctorate). Graduate Program in Biodiversity and Biotechnology – Rede BIONORTE. Federal University of Maranhão, São Luís, 2023

ABSTRACT

Pectis brevipedunculata, belonging to the Astereaceae family is a native species, popularly known as “tea de girl”, “rosemary do campo” and “lemongrass”, is widely found in dry and semi-arid ecosystems in the north and northeast regions, has a high production of essential oil with a high content of Citral, known for its antiparasitic effect. The essential oils (E.Os.) for being volatile can alter their constituents by climatic factors and pharmaceutical formulations can reduce chemical modifications and improve the biological effects of these E.Os. Therefore, the aim of this study was to evaluate the circadian and seasonal variation of *P. brevipedunculata* E.Os., as well as their acaricidal and anthelmintic effects and to develop formulations, especially nanoemulsions for incorporation of E.Os. Aerial parts were hydrodistilled and the chemical composition was determined by GC-MS. For the trials with *Rhipicephalus microplus*, larval immersion test and anthelmintic evaluation was performed on adults of *Caenorhabditis elegans* and later, on *Haemonchus contortus*, using the egg hatchability test. Toxicity tests were also performed on non-target organisms. For the development of the microemulsion, 20% of the E.O. was incorporated in a 7:3:1 ratio of oil: surfactant:water. The chemical composition result identified the presence of 30 constituents, the majorities being citral, α -pinene, and D-limonene, with a predominance of oxygenated monoterpenes. For the seasonal period, the highest yield was observed in April (2.08%) and August (2.05%). For the circadian, the highest yields (2.0% and 1.2%) were at 18hs, for both dry and rainy seasons, respectively. Regarding the tick activity, the E.Os. from April (LC₅₀ 1.17 mg/mL), March (LC₅₀ 1.28 mg/mL) and October (LC₅₀ 1.27 mg/mL) obtained in the seasonal analysis were the most efficient. In the circadian rhythm, the rainy and dry seasons at 6 p.m. and 12 a.m. exhibited the lowest LC₅₀. The E.O. also proved to be selective for non-target organisms. For *C. elegans* the E.Os. of *P. brevipedunculata* exhibited an anthelmintic effect against adults of the nematode, showing inhibitory concentrations lower than 0.8 mg/mL for seasonal cycle and 1.85 mg/mL for circadian rhythm. For *H. contortus*, all E.Os. tested on *H. contortus* eggs showed strong anthelmintic effects, exhibiting IC₅₀ below 0.5 mg/mL. The percentage of tick activity of the microemulsion against *R. microplus* larvae showed 100% efficiency when compared to the non-formulated E.O. (22% inhibition). It is concluded that E.O. from *P. brevipedunculata* contain bioactive compounds with great potential to control parasites and the biotechnological process of microemulsion systems may be a viable alternative to turn the bioproduct into a stable formulation and more efficient in controlling these parasites.

Keywords: Astereaceae; Citral; Seasonal; Circadian; Microemulsion

LISTA DE FIGURAS

	p
Figura 10: Formação de unidade isoprênicas através da rota ácido mevalônico e DXP	18
Figura 2: Rota biossintética por intermédio do ácido mevalônico (MVA).....	19
Figura 3: Reação do DMAPP na formação do difosfato pela reação via SN1	20
Figura 4: Formação do 1-Desoxi-D-xilulose 5-fosfato via glicolítica do ácido pirúvica e gliceraldeído 3-fosfato com a perda do piruvato carboxílica	22
Figura 5: Formação do isopreno a partir da perda do próton do cátion alélico	23
Figura 6: Difosfato de geranil constituído pela combinação do DMAPP e IPP por enzima pernil transferase	24
Figura 7: Geração dos composto linalil PP e neril PP a partir do geranil PP	25
Figura 8: Monoterpenos formados por intermédio de linalil PP e neril PP e geranil PP	26
Figura 9: Monoterpenos derivados por reação de ciclização em formatos monocíclicos e bicíclicos	27
Figura 10: Formação de mentil diante do linalil PP	27
Figura 11: Compostos gerado a partir de cátion mentil na presença de água	28
Figura 12: Reação do geranil PP na transformação do difosfato de farnesil PP	30
Figura 13: Caracterização de configuração Z via inonização do geranil/neril PP	31
Figura 14: Demonstração de carbocations de esqueletos estruturais	32
Figura 15: Ciclização de sesquiterpenos similares ao monoterpenos metânicos	33
Figura 16: Estruturas de sesquiterpenos α -Santonina com potencial biológico para anti-helmíntico de várias espécies de Artemisia	34
Figure 17: Estrutura do (a) geranial and (b) neral	35
Figura 18: Biossíntese de geranial e neral a partir de geranil pirofosfato (GPP); GES, geraniol sintase; GEDH, geraniol desidrogenase; CAD álcool cinamílico desidrogenase	36
Figura 19: Estrutura de α - e β -pineno	37
Figura 20: Formação das moléculas de α -pineno e β -pineno a partir do geranil difosfato.....	38
Figura 21: Estrutura química dos isômeros R e S limoneno	39
Figura 22: Biossínteses a partir de pirofosfato de isopentila (IPP) para formação de limoneno	39

Figura 23:	Estruturas de monoterpenos majoritários encontrado no gênero <i>Pectis</i> : 1. geranial; 2. neral; 3. α -pineno; 4. Limoneno	41
Figura 24:	<i>Pectis brevipedunculata</i> fotografada na área do Campus Bacanga (UFMA).	43
Figura 25:	Esquema estrutural de uma microemulsões	45
Figura 26:	Representação esquemática do ciclo de vida do carrapato <i>R. microplus</i>	46
Figura 27:	Ciclo de vida <i>Haemonchus contortus</i>	49
Capítulo 1	Seasonal and Circadian Evaluation of the <i>Pectis brevipedunculata</i> Essential oil and Its Acaricidal Activity against <i>Rhipicephalus microplus</i> (Acari: Ixodidae)	63
Figure 1:	Monoterpenes found in <i>Pectis</i> oils and their biosynthetic relationship, involving interconversion by isomerization, cyclization, hydroxylation, and aromatization reactions. (1) nerol, (2) neral, (3) geranial, (4) geraniol, (5) cuminaldehyde, (6) perillaldehyde, (7) limonene, (8) <i>p</i> -cymene, (9) thymol, (10) α -pinene, (11) carvone, and (12) β -pinene.	67
Figure 2.:	Variation of toxicity of the essential oil of <i>Pectis brevipedunculata</i> against the <i>Rhipicephalus microplus</i> accord the season and hour extraction. Horizontal lines on the same level or grouping the same bars do not significantly differ by the confidential interval 95% at 95% probability	70
Figure 3:	Survival of not target organisms after 24h of exposed to highest LC ₅₀ estimated to <i>R. microplus</i>	71
Capítulo 2	Anthelmintic evaluation and essential oil composition of <i>Pectis brevipedunculata</i>	74
Figure 1:	Principal Component Analysis (PCA) of the aerial parts oils of <i>Pectis brevipedunculata</i> in the seasonal study, on January at December 2019 (A); and in the circadian study, on rainy (April) and dry (September) seasons, at 6 a.m., 9 a.m., 12 p.m., 3 p.m., and 6 p.m (B). RS: Rainy Season, DS: Dry Season	82
Figure 2:	Study between climatic parameters and <i>C. elegans</i> activity of the essential oil of <i>P. brevipedunculata</i> in a seasonal regime	85
Figure 3:	Relationship between climatic parameters and <i>Haemonchus contortus</i> activity of the essential oil of <i>P. brevipedunculata</i> in a seasonal regime	85

Capítulo 3	Microemulsão à base de óleo de babaçu para desenvolvimento de produtos de <i>Pectis brevipedunculata</i> : formulação, caracterização física, aplicação e avaliação	92
Figura 1:	Diagrama ternário de fases para o óleo de coco babaçu, água e surfactante	97
Figura 2:	Simulação dos isômeros (a) Neral, (b), ME Neral, (c) Geranial e (d) ME Geranial pelo método “stepwise fit regression” em função da temperatura e tempo	103

LISTA DE TABELAS

	P
Tabela 01: Nomenclatura dos terpenos mediante unidade isoprênicas	17
Capítulo 1: Seasonal and Circadian Evaluation of the <i>Pectis brevipedunculata</i> Essential oil and Its Acaricidal Activity against <i>Rhipicephalus microplus</i> (Acari: Ixodidae)	64
Tabela 1: Seasonal variation of the <i>Pectis brevipedunculata</i> essential oil	68
Tabela 2: Circadian rhythm of the <i>Pectis brevipedunculata</i> essential oil chemical composition during the rainy and dry seasons	69
Tabela 3: Efficacy of the oils of <i>Pectis brevipedunculata</i> against the <i>Rhipicephalus microplus</i> larvae LC ₅₀ , concentration (mg/mL) at which 50% of the <i>R. microplus</i> larvae died; 95% CI, confidence interval at 95% probability; r ² , coefficient of determination. The same lowercase letters in the rows inside each seasonal period do not have differences by the CI 95%	70
Capítulo 2 Anthelmintic evaluation and essential oil composition of <i>Pectis brevipedunculata</i>	75
Tabela 1: Seasonal variation of the <i>Pectis brevipedunculata</i> essential oil	80
Tabela 2: Circadian rhythm of the <i>Pectis brevipedunculata</i> essential oil chemical composition during the rainy and dry seasons	81
Tabela 3: Anthelmintic activities of <i>Pectis brevipedunculata</i> essential oils collected in seasonal and circadian regime against <i>C. elegans</i> Bristol N ₂ strains.	83
Tabela 4: Inhibition concentrations required for achieving 50% of egg hatching in <i>Haemonchus contortus</i> (IC ₅₀) of <i>Pectis brevipedunculata</i> essential oils collected in seasonal and circadian regime	84
Capítulo 3: Microemulsão à base de óleo de babaçu para desenvolvimento de produtos de <i>Pectis brevipedunculata</i> : formulação, caracterização física, aplicação e avaliação	92
Tabela 1: Reagentes em massa usados na formulação entre ME e OE	96
Tabela 2: Relação dos pesos dos componentes do sistema microemulsionado 7:3:1	97
Tabela 3: Resultados do estudo de estabilidade dos isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) da <i>Pectis brevipedunculata</i>	98

Tabela 4:	Condutividade do sistema 7:3:1(óleo:surfactante:água) microemulsionado encontrado no diagrama ternário de fases	99
Tabela 5:	Tabela ANOVA para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial)	100
Tabela 6:	Médias obtidas pelo método de múltiplas faixas LSD- Fisher ($\alpha=95\%$)	100
Tabela 7:	Comparativo das diferenças das médias de significância entre os pares analisados	100
Tabela 8:	Parâmetros estimados para os modelos dos isômeros obtidos utilizando o método “stepwise fit regression”	101
Tabela 9:	Comparação entre a atividade carrapaticida do óleo essencial de <i>P. brevipendunculata</i> livre e microencapsulado contra <i>R. microplus</i>	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

O.E- óleo essencial
IC - concentração inibitória
CL - concentração letal
L1- larva de primeiro estágio
L2- larva de segundo estágio
L3- larva de terceiro estágio
L4- larva de quarto estágio
C-5 – unidades isoprênicas de cinco carbonos
C-10 - unidades isoprênicas de dez carbonos
C-15 - unidades isoprênicas de 15 carbonos
C-20 - unidades isoprênicas de 20 carbonos
C-25 - unidades isoprênicas de 25 carbonos
C-30 - unidades isoprênicas de 30 carbonos
C-40 - unidades isoprênicas de 40 carbonos
CO₂ - dióxido de carbono
IPP - isopentenil pirofosfato
AMV - ácido Mevalônico
DMAPP- dimetilalil pirofosfato
GPP - geranyl pirofosfato
FPP - farnesil pirofosfato
DXP - 1-desoxixilulose-5-fosfato
CoA - coenzima A
HMG-CoA - β -hidroxi- β -metilglutaril- Coenzima A
ATP - trifosfato de adenosina
NADPH- fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida adenina hidreto
OPP - difosfato
SN1- Substituição Nucleofílica
CTP - trifosfato de citidina
PP - pirofosfato
FPS
 γ - gama

α - alfa

β - beta

GES - geraniol sintase

GEDH - geraniol desidrogenase

ME -microemulsão

RI_C -índice de retenção do composto

RI_L – índice de retenção da literatura

HPLC-PDA Cromatografia líquida de alta eficiência - com detector de arranjo de diodos

CG-EM – Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11
1.1. Objetivos	13
1.1.2 Geral	13
1.1.3 Específicos	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1. Plantas como fonte de biomoléculas.....	15
2.2. Óleos essenciais.....	16
2.3 Biossíntese dos Óleos Essenciais	17
2.3.1 Biossíntese dos Hemiterpenos (C5).....	23
2.3.2 Biossíntese dos Monoterpenos	23
2.3.3 Sesquiterpenos.....	29
2.3.4 Citral	35
2.3.5. α -Pineno	36
2.3.6 Limoneno	38
2.4. Família Asteraceae.....	40
2.4.1 Gênero <i>Pectis</i>	42
2.4.3 Espécie <i>Pectis brevipedunculata</i>	42
2.5. Formulações Microemulsionadas	44
2.5.1 Microemulsão.....	44
2.6 Parasitos de animais de produção.....	45
2.6.1. <i>Rhipicephalus microplus</i>	45
2.6.2. <i>Haemonchus contortus</i>	47
REFERÊNCIAS	51
Capítulo 1 Seasonal and Circadian Evaluation of the <i>Pectis brevipedunculata</i> Essential oil and Its Acaricidal Activity against <i>Rhipicephalus microplus</i> (Acari: Ixodidae)	64
Capítulo 2: Anthelmintic evaluation and essential oil composition of <i>P. brevipedunculata</i> ...	75
Capítulo 3: Microemulsão à base de óleo de babaçu para desenvolvimento de produtos de <i>P. brevipedunculata</i> : formulação, caracterização física, aplicação e avaliação	92
Capítulo 4: Formulação farmacêutica ectoparasiticida à base do óleo essencial de <i>P. brevipedunculata</i> e uso”	109
4. Conclusões Finais	110
RERÊNCIAS GERAIS	111

1 INTRODUÇÃO

As plantas representam uma das mais abundantes fontes de moléculas usadas para a produção de formulações farmacêuticas. Inúmeras famílias, tem-se destacado como fonte de biomoléculas (BHUIYAN et al., 2020). A família Asteraceae é representada por diversos gêneros e espécie dentre as Angiospermas, e são distribuídas em regiões temperadas e semiáridas (ROLNIK et al., 2021a). Plantas da família Asteraceae, tem sido cultivado devido a sua grande importância econômica, principalmente no que se refere às culturas alimentares e medicinal, além de serem ricas em óleos essenciais (CASIGLIA et al., 2019).

Pectis brevipedunculata é uma erva pertencente à família Asteraceae com aproximadamente 1600 gêneros e 23000 espécies (ROLNIK; STOCHMAL; OLAS, 2022), é nativa de ecossistema seco ou semiárido das regiões norte e nordeste, encontrada com facilidade nas regiões tropicais e subtropicais (MICHEL; ABD RANI; HUSAIN, 2020). Esta espécie é rica em óleos essenciais (O.Es.), e tem como componentes majoritários, o citral (uma mistura dos monoterpenos geranial e neral) e o limoneno (ROLNIK; OLAS, 2021).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários das plantas, constituídos de componentes voláteis, e podem ser classificados como, monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides. Os óleos essenciais são usados pelas plantas, como um mecanismo de defesa contra ataques de herbívoros, patógenos ou como atrativos de insetos polinizadores (SHARIFI-RAD et al., 2017). Devido as suas características biológicas, eles são usados nas indústrias farmacêuticas, perfumarias e cosméticos (BERBERT; FAGAN, 2012; CARDOSO et al., 2020; KIYAMA, 2017; OLIVEIRA, 2011).

A produção dos O.Es. pelas plantas, geralmente possui influência direta dos fatores ambientais, tal como temperatura, altitude, pluviosidade, estação anual, tipo de solo e reações específicas do próprio vegetal como idade da planta, órgão e ciclo vegetativo (DA SILVA JÚNIOR et al., 2019).

As variações climáticas, poluição atmosférica e fatores genéticos interferem direta ou indiretamente no rendimento, teor e na variabilidade da composição química dos óleos essenciais, ficando evidente que a escolha da época e horário de coleta é essencial para diminuir os interferentes na composição química dos O.Es. (GAD; AYOUB; WINK, 2019). A sazonalidade e ciclos circadianos são fatores que influenciam nos teores de produção dos óleos essenciais (SANTOS, 2017), o que pode influenciar diretamente no seu efeito biológico,

demonstrando a importância de estudos sazonais e circadianos sobre a produção dos O.Es. e atividade biológica.

O sistema de produção de bovinos tem sido afetado fortemente pelo parasitismo do carrapato *Rhipicephalus microplus*, provocando ao setor perdas econômicas em torno de bilhões de dólares (GRISI et al., 2014). É possível que os prejuízos econômicos estejam diretamente relacionados com diminuição da produção de carne e leite dos animais (BENDELE et al., 2015; KATIKI et al., 2017; LIMA et al., 2021). O controle destes parasitos tem sido realizado principalmente com o uso de carrapaticidas sintéticos (ARCEO-MEDINA et al., 2016; NANDI; MAZUMDAR; BEHRMAN, 2018). Entretanto, o uso descontrolado desses medicamentos tem acelerado o processo de resistência desses parasitos (AMARANTE, 2014; CANEVARI; et al., 2017).

Haemonchus contortus, está entre as endoparasitoses gastrintestinais de pequenos ruminantes que compromete a produção em decorrência da perda de apetite, diarreia, anemia e, em quadro severo, levando até a morte (SILVA et al., 2019). Esse tipo de nematoides causa vários tipos de anemia e hipoproteinemia aos animais (DE OLIVEIRA et al., 2017). Geralmente, o controle deste parasito é realizado com aplicações de anti-helminticos sintéticos como benzimidazóis, lactonas macrocíclicas e imidazotiazóis (ARCEO-MEDINA et al., 2016). Estima-se que os gastos com tratamentos e prevenção contra parasitos estão estimados em mais de 436 milhões de dólares anuais (FOGARTY et al., 2022). O controle inadequado do parasitismo, ocasiona o número de populações de nematoides resistentes ao tratamento e tem aumentado ao longo dos anos, causando vários problemas como alto custo, contaminação ambiental e resíduos nos alimentos. Por esta razão, tem-se procurado intensamente, meios alternativos e eficientes para o controle desses parasitos, tal como, o uso de substâncias naturais ativas, como O.Es. (DA SILVA LIMA et al., 2016; PEIXOTO, 2015).

Os óleos essenciais, por não garantir uma estabilidade eficaz de seus constituintes na presença de calor, luz e outros fatores ambientais, requer a necessidade de minimizar a interferência desses agentes (SILVA et al., 2020). A aplicação quanto ao uso de microemulsões proporciona a diminuição da alta volatilidade dos O.Es., o que pode desfavorecer os interferentes do meio natural. As M.Es. representa um agregado esférico de aproximadamente 1400Å (HE et al., 2022). Esse sistema envolve uma mistura de três a cinco componentes e se define como sistema estável termodinamicamente de dois líquidos imiscíveis, isotrópicos, transparente, geralmente estabilizado por filme de tensoativo que se localiza na interface,

óleo/água ou água e óleo (ALKRAD et al., 2022). Sistemas microemulsionados, por apresentar estabilidade termodinâmica, permitindo que substâncias hidrofílicas tenham um sistema de entrega mais eficiente no organismo alvo (PORTO; ALMEIDA; VICENTINI, 2020). Formulações farmacêuticas microemulsionadas usando o O.E. de *P. brevipedunculata* pode ser promissor em proteger e melhorar o efeito biológico do O.E. e seus componentes. A busca por formulações a base de produtos naturais de plantas que contribuem para o controle desses parasitos, torna-se indispensáveis, uma vez que, a pesquisa poderá disponibilizar uma fonte para a produção de um novo medicamento com ação mais prolongada e eficiente. Além do mais, o uso do O.E. de *P. brevipedunculata* poderá fortalecer toda uma cadeia de produção, seja ela, regional com a produção de plantas para obtenção do O.E. ou nacional, com a produção do medicamento.

A presença de terpenos da espécie da família Asteraceae, em especial *Pectis brevipedunculata* tem demonstrado forte ação biológica, principalmente sobre nematicida, larvicida, repelência, inseticida e carrapaticida (DA SILVA LIMA et al., 2016; DE ALBUQUERQUE et al., 2007; HAO, 2008). Com aplicação do O.E no sistema microemulsionado, podem impulsionar e prologar ainda mais o seu efeito por causa da sua eficiência de controle em comparação sem a incorporação (BARRETO et al., 2022), bem como de seus componentes sobre seus alvos biológicos, tal como, carrapatos e nematoides. Os resultados obtidos no desenvolvimento da proposta estão divididos em 4 capítulos:

É importante ressaltar que os resultados obtidos neste estudo poderão contribuir para o fortalecimento da economia local, uma vez que comprovada a eficácia e segurança de *Pectis brevipedunculata*, possibilita a agregação de valor a espécie vegetal. Isso, por sua vez, o que poderá promover um estímulo ao cultivo e preservação da espécie, valorizando a importância social e econômica da flora local. Além disso, estes resultados também poderão fornecer subsídios para a implementação de um polo produtor de bioativos para a indústrias veterinária auxiliando no desenvolvimento deste importante setor econômico para a região.

1.1. Objetivos

1.1.2 Geral

Avaliar a variação sazonal e circadiana do óleo essencial de *P. brevipedunculata*, bem como o efeito biológico do OE livre e microemulsionado sobre parasitos de ruminantes

1.1.3 Específicos

- Extrair e avaliar o rendimento do óleo essencial em função da sazonalidade e do ritmo circadiano presente nas partes aéreas de *P. brevipedunculata*
- Caracterizar a composição química do óleo essencial da planta em estudo;
- Determinar a variações sazonais e circadiana do OE de *P. brevipedunculata*;
- Analisar o efeito do óleo essencial frente ao *Rhipicephalus microplus*
- Avaliar a ação anti-helmíntico do óleo essencial de *P. brevipedunculata* sobre adultos de *C. elegans* e ovos de *Haemonchus contortus*.
- Desenvolver microemulsão a base de coco babaçu, surfactante e água, incorporada ao óleo essencial de *P. brevipedunculata*;
- Analisar o efeito biológico do óleo essencial de *P. brevipedunculata* incorporado à microemulsão contra larvas de *R. microplus*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Plantas como fonte de biomoléculas

Há séculos, as plantas têm sido um dos principais recursos terapêuticos usados para o tratamento de saúde da humanidade. Estas tem representado um importante meio para o desenvolvimento de estudos químico e biológicos dos compostos ativos presente nas plantas (DA CRUZ et al., 2022). Os avanços ocorridos no meio técnico-científico, instigam-se as tendências, práticas relacionadas aos saberes sociais e farmacológico, com aplicação de técnicas inovadoras voltado ao tratamento de enfermidades e na prevenção de doenças (SILVEIRA; BASSAN, 2021). Mesmo com o incentivo da indústria farmacêutica para a utilização de medicamentos industrializados, grande parte da população brasileira utiliza-se das práticas complementares para cuidar da saúde (SALAM; QUAVE, 2018).

Apesar do progresso da medicina moderna e do desenvolvimento de inúmeras drogas sintéticas, as plantas medicinais constituem-se uma importante fonte de compostos naturais amplamente utilizados no tratamento de diversas doenças devido a sua composição química e propriedade farmacológica (SABZI NOJADEH et al., 2021). As plantas compreendem uma abundância de metabólitos secundários, que podem ser classificados em diferentes classes, tais como, alcalóides, taninos, terpenóides, fenólicos, glicosídeos, flavonóides e saponinas (ALAEI; MAHNA, 2013). Essa grande diversidade de compostos químicos está ligada diretamente a influências de fatores ambientais ou do meio em que se encontra, como por exemplo, região geográfica, idade da planta, parte da planta, chuva, seca, poluição, solo, predação, polinização (KROYMANN, 2011).

A maioria dos compostos encontrados nos vegetais tem baixa toxicidade, o que não representa riscos aos animais (HERMENEAN et al., 2016). Novos compostos ativos com baixa toxicidade ou simplesmente atóxico para o homem e animal tem despertado grande interesse para a sociedade, e assim fortalecendo a busca por novas moléculas que seja eficiente e menos agressiva ao meio (ÁLVAREZ et al., 2022).

O uso de substâncias ativas de plantas, obtidos a partir de extratos ou óleos essenciais, representa uma alternativa com benefícios econômicos e ambientais desejáveis, desencadeando consideráveis esforços de pesquisa e de desenvolvimento para a produção de novos fitomedicamentos (HASTANTRAM SAMPANGI-RAMAIAH; VISHWAKARMA; UMA SHAANKER, 2020)

Os óleos essenciais são conhecidos por terem propriedades antioxidantes, antivirais, antibióticas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e antiacne, o que lhes permite por ser usado para a prevenção e tratamento das mais diversas doenças (CHI, 2022). Devido a essa diversidade de usos terapêuticos dos compostos bioativos de plantas, indústrias farmacêuticas, alimentícias e cosméticos tem buscado cada vez mais o uso destas moléculas para diferentes aplicações.

2.2. Óleos essenciais

Óleos essenciais (O.Es.) é denominado de um líquido oleoso volátil, lipofílico, provido de forte aroma, em sua maioria incolor, baixo peso molecular, são misturas complexas de hidrocarbonetos e seus derivados oxigenados decorrentes de duas vias isoprenóides diferentes, presente no metabolismo secundário das plantas (SHARIFI-RAD et al., 2017), (GIR et al., 2020); (LAINEZ-CERÓN et al., 2021). Geralmente os O.Es. são produzidos por tricomas glandulares e demais estruturas secretoras, tecidos secretores principalmente difundidos na superfície dos órgãos das plantas, em particular, flores e folhas, exercendo assim um papel ecológico fundamental na planta, como proteção ao ataque de herbívoros e patógenos ou como atrativos a insetos polinizadores (ZHAO et al., 2022).

Os O.Es. são produzidos por inúmeras famílias de plantas, como exemplo, as Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Rutaceae, e muitas outras famílias (LOURENÇO et al., 2018). Aproximadamente, 3000 O.Es. são conhecidos e 300 desses são importantes comercialmente para indústrias farmacêuticas (BAKKALI et al., 2008)(BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Poucos compostos presentes no óleo apresentam quantidade elevada em comparação aos demais, o que pode classificá-los como, como componentes majoritários do O.Es. De acordo com a composição química os O.Es. podem ser constituídos de monoterpenos, sesquiterpenos (Terpenos) e fenilpropanoides (GIR et al., 2020), e apresentarem grupos funcionais, como, álcoois, aldeídos, aldeídos cíclicos, cetonas, fenóis, éteres, éteres fenólicos, óxidos ou ésteres (FELIPE; BICAS, 2017). As moléculas terpenóides destacam-se por possuírem uma grande variedade estrutural.

Os terpenóides consistem em um grupo amplo de metabolitos secundário, que tem ação sob o sistema nervoso central, exibem atividades sedativa, ansiolítica, antinociceptiva, anticonvulsivante, pró-convulsivante e alucinógena. Como matéria-prima são amplamente utilizados nas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética (YANG et al., 2020). São

classificados pela quantidade de carbonos presentes na molécula e seus esqueletos químicos são formados por unidades isoprênicas (C₅) (LIAO et al., 2016), (Tabela 1).

Tabela 1: Nomenclatura dos terpenos mediante unidade isoprênicas

Átomos de carbonos	Unidades isoprênicas	Nomenclatura
10	2	Monoterpenos
15	3	Sesquiterpenos
20	4	Diterpenos
25	5	Sesterterpenos
30	6	Triterpenos
40	8	Tetraterpenos

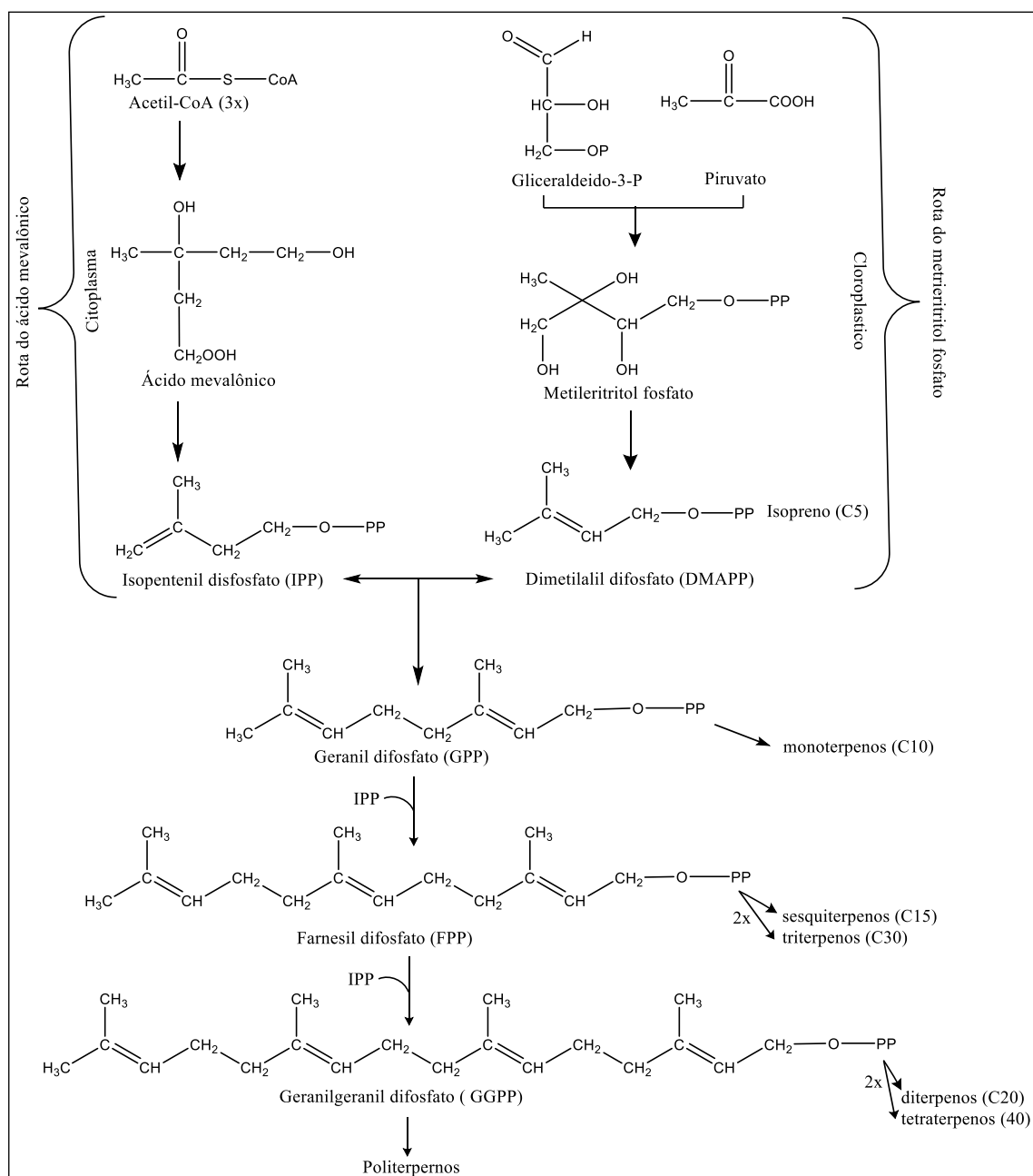
Os O.Es. são obtidos por processos de extração que variam de acordo com as partes dos vegetais, tais como hidrodestilação, prensagem, arraste a vapor, enfloração, extração por solvente, assistida por ultra-som e fluido supercrítico CO₂ (CECATI et al., 2021).

2.3 Biossíntese dos Óleos Essenciais

Os terpenos são produzidos pelas plantas por uma rota biossintética com aquisição adequado de cada composto formado. (MOSQUERA et al., 2021). A rota biossintética dos terpenos pode ocorrer, por vias diferentes na célula vegetal, tal como, **1-** a reação inicial para formação dos terpenos ocorre no citoplasma da célula por meio de reações de piro-fosforilação, descarboxilação e desidratação. A partir do produto acetil Coenzima A, é formado o ácido mevalônico (AMV) e este é convertido em isopentenil difosfato (IPP), uma molécula formada por unidades de cinco carbonos. O isopentenil difosfato (IPP) é fosfatado, formando o isômero dimetilali difosfato (DMAPP) e **2-** pela rota alternativa usando uma reação de condensação do piruvato mais gliceraldeído-3-fosfato, a conversão dos dois gerar o dimetilalil difosfato (DMAPP), e a partir desse é biossintetizado os terpenos (ORSI et al., 2020).

O IPP e seu isômero DMAPP são os precursores na unidade básica ativa da biossíntese dos terpenos. A obtenção dos monoterpenos, ocorre por meio da ligação de IPP e o DMAPP gerando o geranyl difosfato (GPP) (LIU et al., 2019). O GPP, ao reagir com outra molécula de IPP converte-se em farnesil difosfato (FPP), composto representado por 15 átomos

de carbono e indicador dos sesquiterpenos, e assim sucessivamente até formação dos politerpenos (CARRIL, 2009). As unidades isoprênicas possuem amplas variações e podem ser sintetizadas a partir do ácido mevalônico ou via 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXP) (Figura 1).



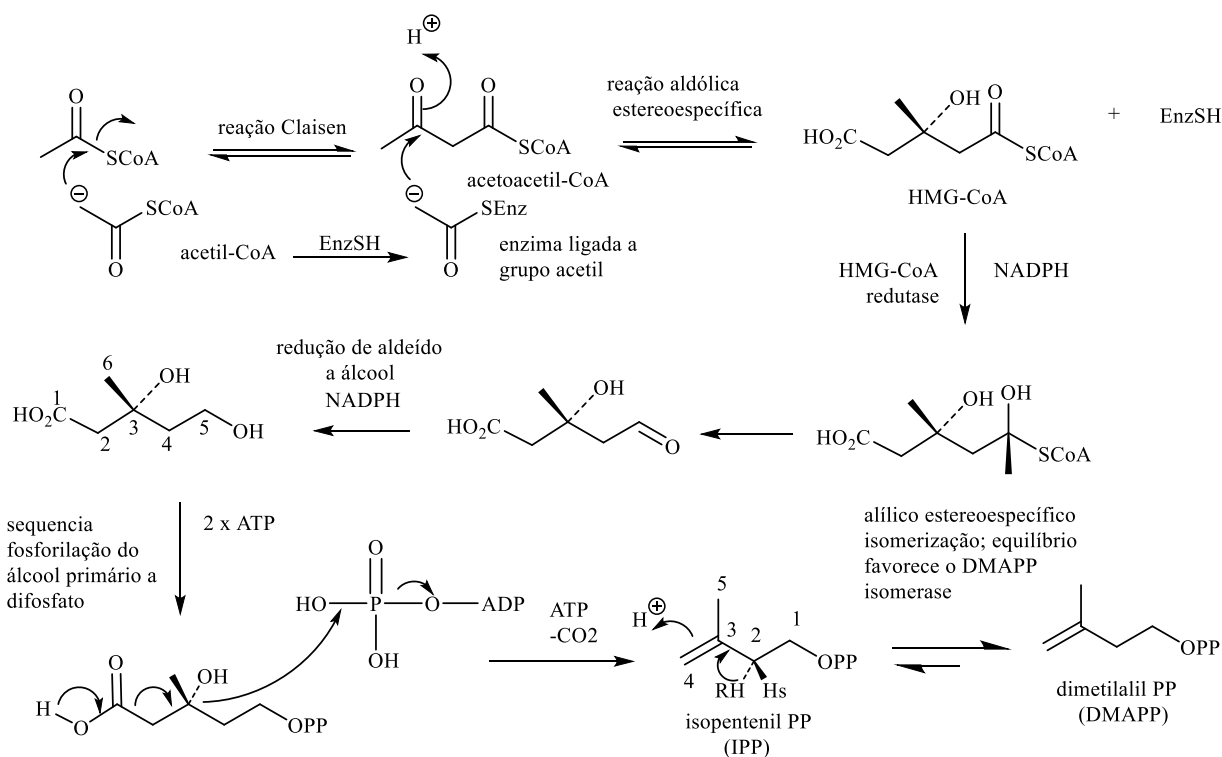
Fonte: GARCÍA; CARRIL, 2009

Figura 1: Formação de unidade isoprênicas através da rota ácido mevalônico e DXP.

As unidades dos isoprenos podem ser derivadas do ácido mevalônicos (MVA), (Figura 1) ou pelo 1-desoxi-D-xilulose 5-fosfato (DXP) (YANG et al., 2016). Ácido

mevalônico é um produto do metabolismo do acetato, o qual representa o precursor do colesterol animal. Por vários anos, as etapas da via do mevalonato eram considerados como a principal via de biossíntese de uma série de terpenóides, no entanto, outro caminho foi descoberto como alternativa para IPP e DMAPP, a via (DXP). Esta por sua vez, é provavelmente mais utilizada do que a via do mevalonato (DEWICK, 2011).

A partir de três moléculas de acetil-coenzima A, ocorre a formação do ácido mevalônico. Inicialmente, duas moléculas de acetil-coenzima A são combinadas em uma reação de condensação de Claisen para gerar o acetoacetyl-CoA, e uma terceira molécula do acetil-CoA é incorporado por meio de uma adição de aldol estereoespecífica produzindo o éster e cadeia ramificada β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) (Figura 2) (JONES; KLACKING; RYAN, 2021).



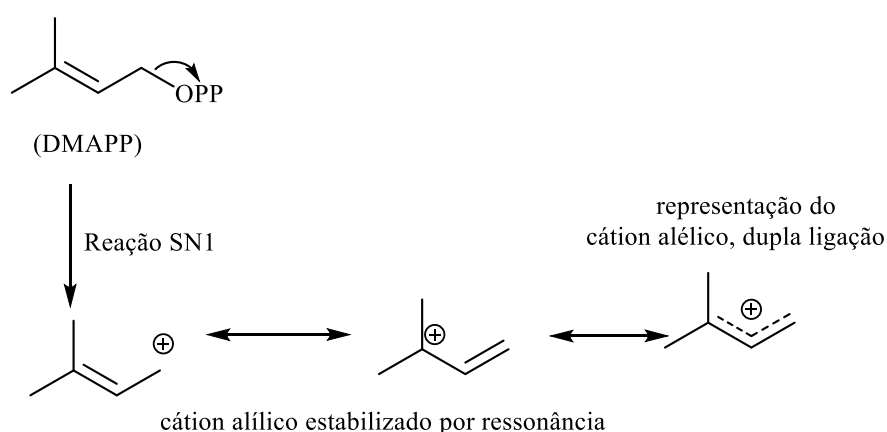
Fonte: JONES; KLACKING; RYAN, 2021

Figura 2: Rota biossintética por intermédio do ácido mevalônico (MVA).

A terceira molécula de acetil-CoA é ligada à enzima por meio de um grupo tiol, e esta ligação é posteriormente hidrolisada para formar um grupo de ácido livre de HMG-CoA (SONG; ZHENG, 2020). No acetato, um tioéster de ácido acetoacético, ligado à proteína transportadora de acila, se forma usando o tioéster e um nucleofílico do ácido malônico. No segundo passo, o acetoacetyl-CoA passa a ser o substrato do ácido e age como nucleófilo em

vez da terceira molécula de acetil-CoA, logo a enzima atinge uma reação menos favorável (MAHMOUD; CROTEAU, 2001). A conversão de HMG-CoA em (3R) -MVA envolve a redução em duas etapas do grupo tioéster em álcool primário, e a este, fornece uma transformação fundamental irreversível e limitante de taxa. A inibição por quantidade de amostra da enzima (HMG-CoA redutase), é o que pode ser usada para controlar a biossíntese do mevalonato e a última análise do colesterol esteróide (MIZIORKO, 2011). O MVA é convertido em isopreno fosforilado em uma série de reações de fosforilação do grupo álcool primário. Duas enzimas, HMG-CoA síntase and HMG-CoA redutase, dependentes de ATP são envolvidas até formar o difosfato de ácido mevalônico, ao passar por uma descarboxilação/desidratação, converte-se em IPP. A terceira molécula de ATP é necessária na transformação, o qual torna a hidroxila em um melhor grupo de saída. Através do ATP, ocorre a perda de uma hidroxila (Figura 2). O IPP passa por uma isomerização de uma unidade isoprênica a outra e a DMAPP por uma enzima isomerase e por estereoisômero específico, remove o próton pró-R (HR) de C-2, e incorpora um próton da água no C-4. Com a permanência da isomerização reversível, o equilíbrio se torna fortemente para o lado do DMAPP (JOHNSON et al., 2017).

A partir desta conversão, produz um eletrófilo reativo com um bom agente alquilante. O DMAPP possui um bom grupo de saída e o difosfato pode ser formado pela via da SN1, provoca um carbocátion alílico que é estabilizado pela deslocalização de carga (Figura 3) (SAID-AL AHL; HIKAL; MAHMOUD, 2017).

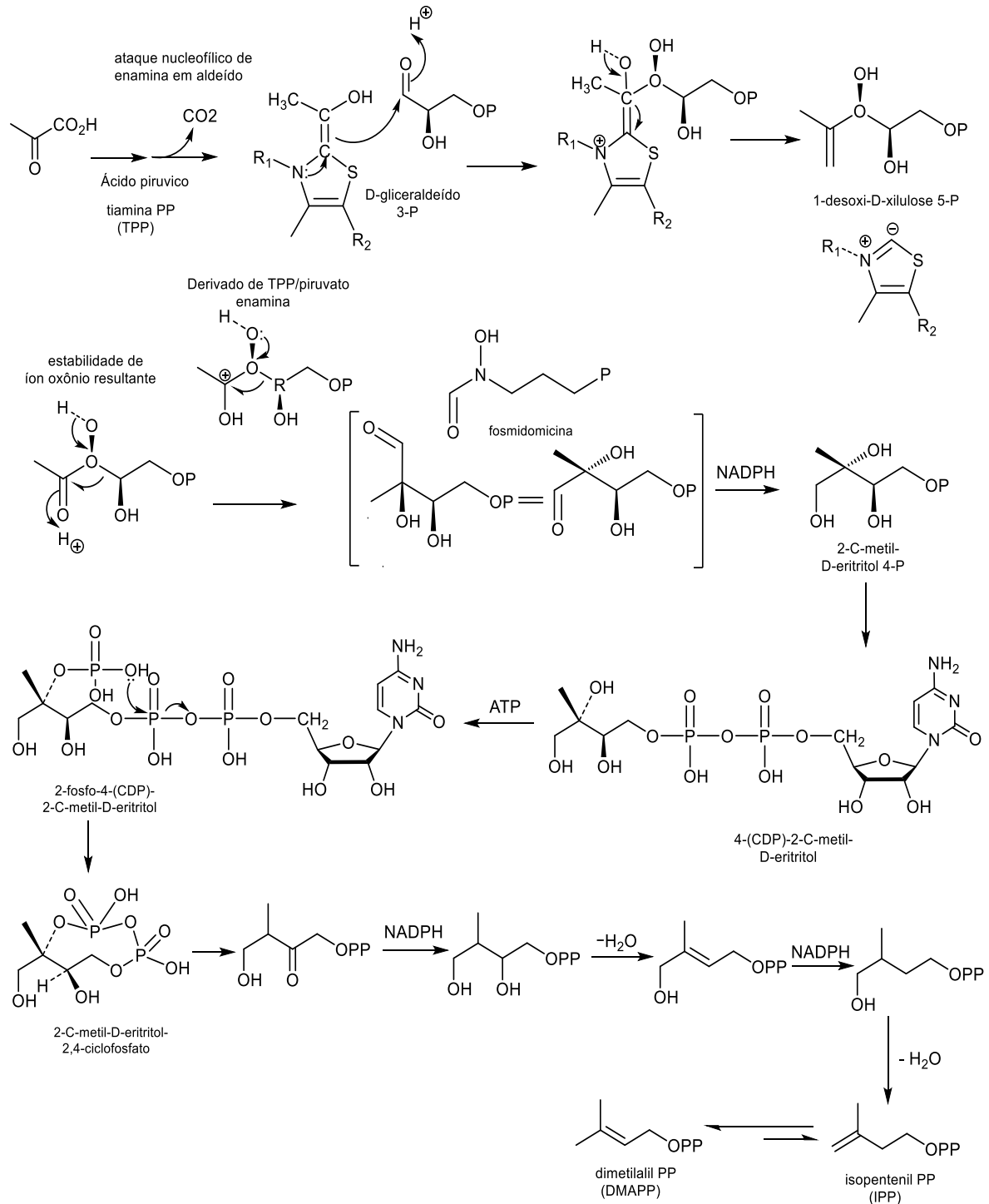


Fonte: SAID-AL AHL; HIKAL; MAHMOUD, 2017

Figura 3: Reação do DMAPP na formação do difosfato pela reação via SN1

Em comparação, o IPP com sua ligação dupla terminal é mais provável que aja como um nucleófilo, especialmente em direção ao DMAPP eletrofílico. Essa distinção da reatividade é a base da biossíntese dos terpenóides e carbocátions que mostra fortemente no caminho desenvolvido do mecanicismo de racionalizações (LI et al., 2021).

O 1-desoxi-D-xilulose 5-fosfato é formado dos intermediários da via glicolítica ácido pirúvica e gliceraldeído 3-fosfato com a perda da carboxila do piruvato. Tiamina descarboxilação de piruvato mediada por difosfato, fornece um acetaldeído semelhante a uma enamina, este reage como um nucleófilo em uma reação de adição com o gliceraldeído 3-fosfato. Em seguida, é liberado o transportador TPP, que gera o desoxixilulose fosfato, o qual se transforma em 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato através de um rearranjo da reação (Figura 4) (KOJIMA, 2016).



Fonte: KOJIMA, 2016

Figura 4: Formação do 1-desoxi-D-xilulose 5-fosfato via glicolítica do ácido pirúvica e gliceraldeído 3-fosfato com a perda do piruvato carboxílica.

O fosfato de metileritritol compreende o sistema de cadeia ramificada semelhante à unidade de isopreno. A reação do metileritritol fosfato com trifosfato de citidina (CTP) produz

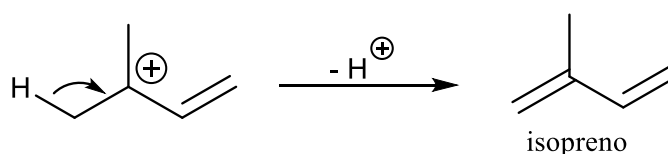
um derivado citidina difosfo, que é fosforilado via ATP. O 2-fosfato resultante é convertido em um fosfoanidrido devido a perda de fosfato de citidina. Este ciclofosfato, por uma sequência de reação, leva ao IPP, o que se liga a via da desoxixilulose com a via do mevalonato. O DMAPP, por derivação e isomerização, ocorre a formação do IPP (TRITSCH et al., 2010).

Tanto pela via do mevalonato quanto a via do fosfato de desoxixilulose, produzem as unidades de isopreno para a biossíntese de terpenos. Nas plantas, as duas vias, geralmente ocorrem por dois caminhos, na maioria, simultaneamente e com seguimentação, em que, as enzimas da via do mevalonato estejam localizadas no citosol, enquanto as enzimas da via de desoxixilulose fosfato são posicionadas nos cloroplastos. Assim sendo, os triterpenóides são gerados por uma via do mevalonato, enquanto os demais terpenóides são formados nos cloroplastos e são derivados de fosfato de desoxixilulose (BANERJEE et al., 2013).

2.3.1 Biossíntese dos Hemiterpenos (C5)

O hemiterpeno e seu intermediário IPP e DMAPP são compostos reativos e formam o esqueleto estrutural dos terpenoides, são utilizados como alquilantes e agente na formação de monoterpenos (QIAO et al., 2021).

Os verdadeiros hemiterpenos são produzidos em quantidade mínima na natureza, como o isopreno, composto volátil, encontrados em várias espécies de plantas, principalmente nas árvores. O isopreno é formado a partir da perda de um próton do do cátion alílico (Figura 5) (BARRETO; ALMEIDA; FILHO, 2021).



Fonte: BARRETO; ALMEIDA; FILHO, 2021

Figura 5: Formação do isopreno a partir da perda do próton do cátion alílico

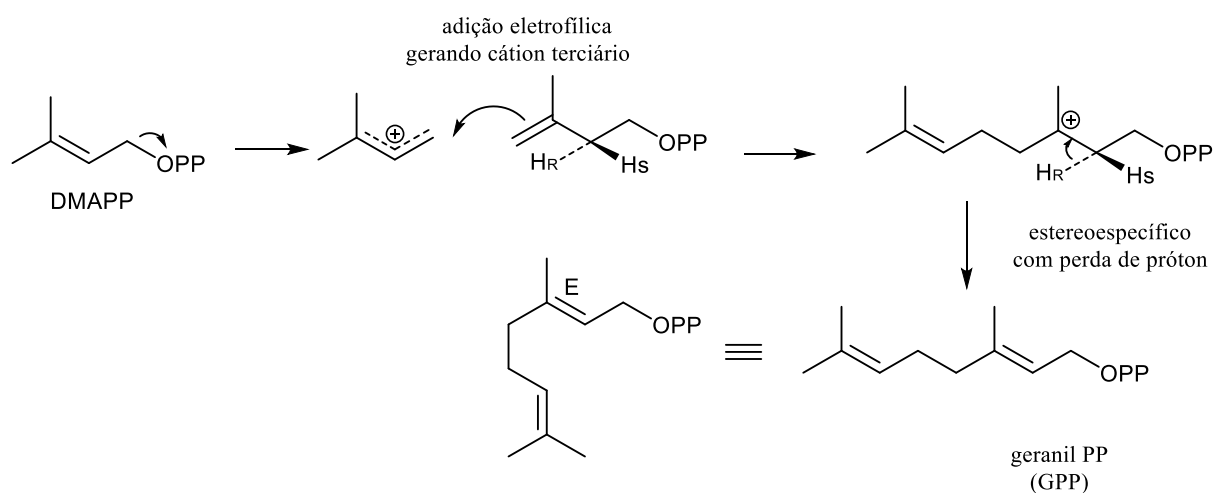
2.3.2 Biossíntese dos Monoterpenos

Os monoterpenos podem ser encontrados em diversas plantas aromáticas, assim como as que pertence à família Asteraceae e que predominam na composição química dos óleos

essencial. (HILLIER; LATHE, 2019). Os monoterpenos são compostos formados por duas unidades isoprênicas. Geralmente, seus constituintes são marcantes dos óleos essenciais, com estruturas terpênicas de baixa massa molecular e volatilidade elevada poder de volatilidade (MASYITA et al., 2022). Apresenta importância significativa para o aroma dos produtos comerciais, em especial às ervas aromáticas, especiarias e condimentos (FELIPE; BICAS, 2017).

Os monoterpenos são uma importante classe de produtos naturais com aroma e sabor intenso e que contém muitas moléculas que apresentam atividade biológica, incluindo antimicrobiana, aplicações na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia (PURSER et al., 2021).

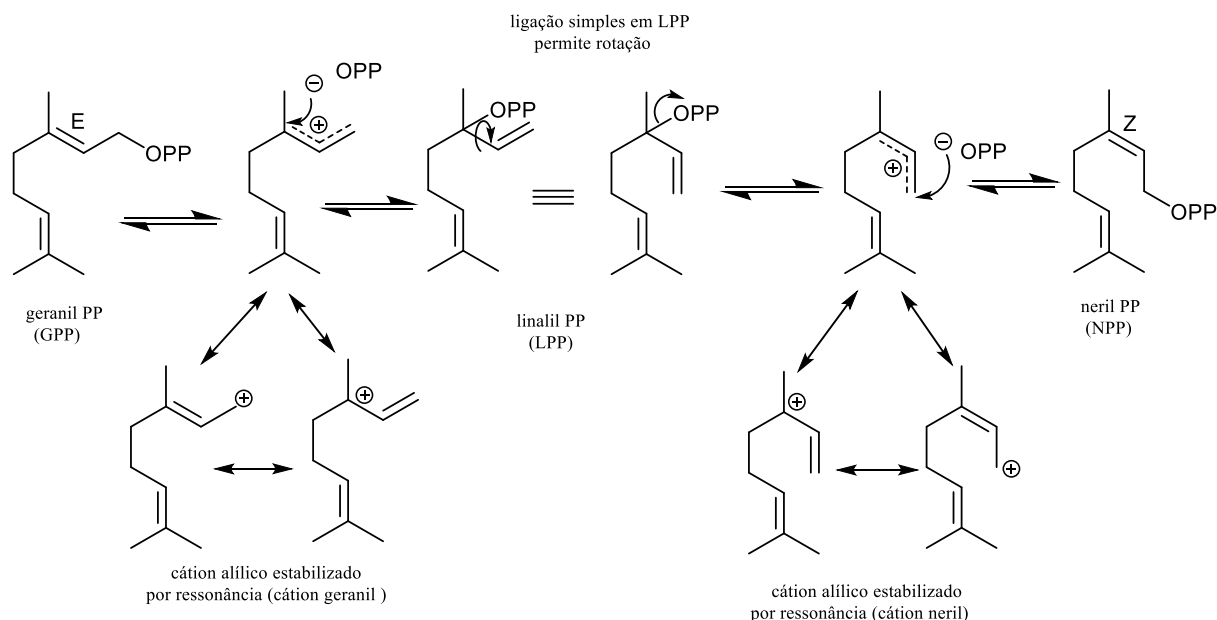
A biossíntese de monoterpenos inicia com a combinação do DMAPP e IPP mediante ação da enzima prenil transferase, que gera o difosfato de geranil (GPP) (Figura 6). Considera-se que a partir do envolvimento da ionização de DMAPP ao cátion alílico, inclusão à dupla ligação do IPP, seguidamente por uma perda de um próton. Através da estereoquímica, a saída do próton (HR) é semelhante à perda na isomerização do IPP a DMAPP. Com isso, há formação de um monoterpene difosfato, geranil PP, em que a existência de uma nova dupla ligação torna-se o trans (E) (MASYITA et al., 2022).



Fonte: MASYITA et al., 2022

Figura 6: Difosfato de geranil constituído pela combinação do DMAPP e IPP por enzima prenil transferase.

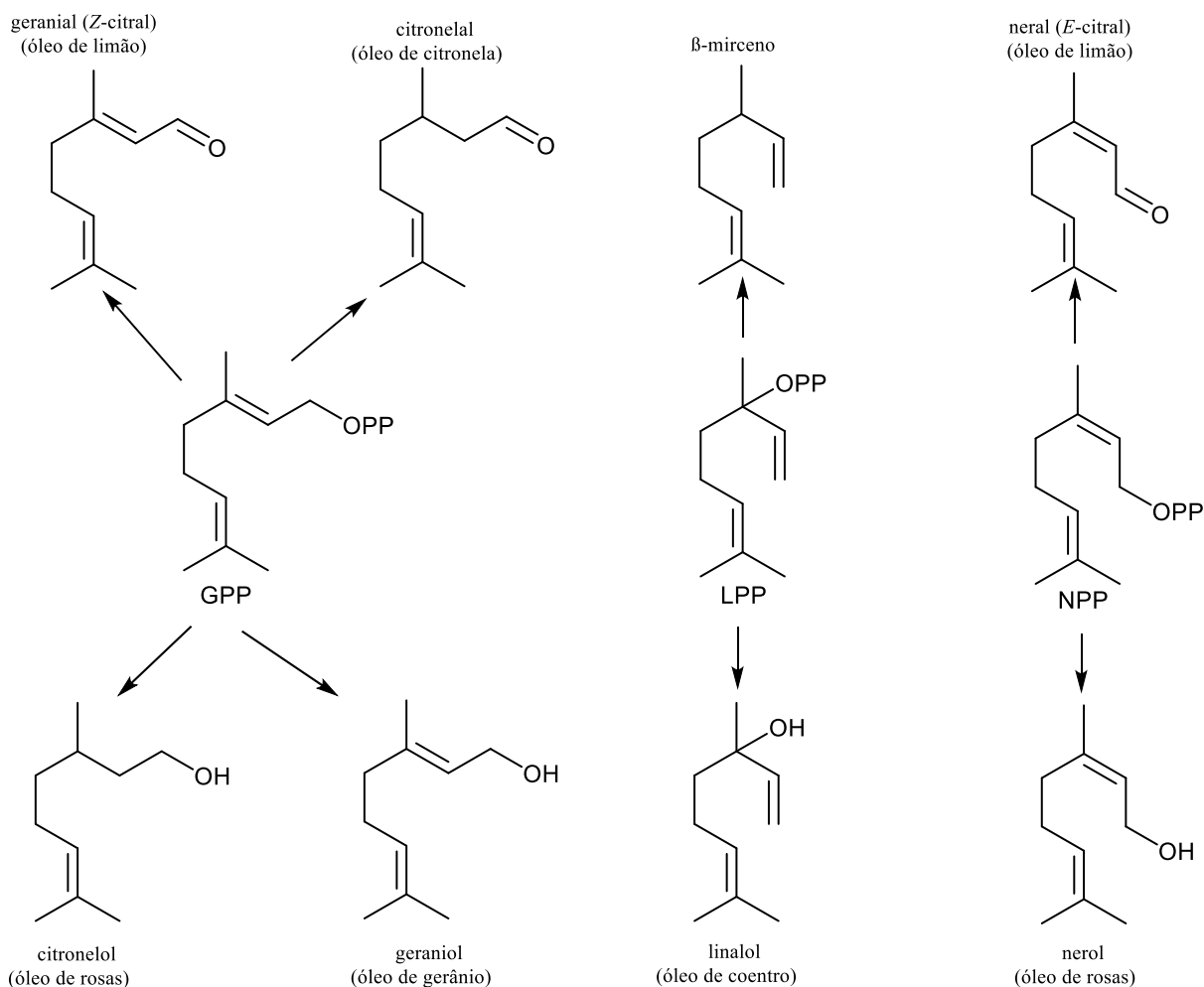
Os compostos linalil PP e neril PP são isômeros de geranil PP, e naturalmente são formados a partir do geranil PP por meio da ionização ao cátion alílico. Esse processo há possibilidade em permitir uma mudança na estabilização do grupo difosfato no carbono terciário em linalil PP, assim como pode ocorrer variação na estereoquímica da dupla ligação para Z em neril PP, (Figura 7) (BANERJEE et al., 2013).



Fonte: BANERJEE et al., 2013

Figura 7: Geração dos composto linalil PP e neril PP a partir do geranil PP.

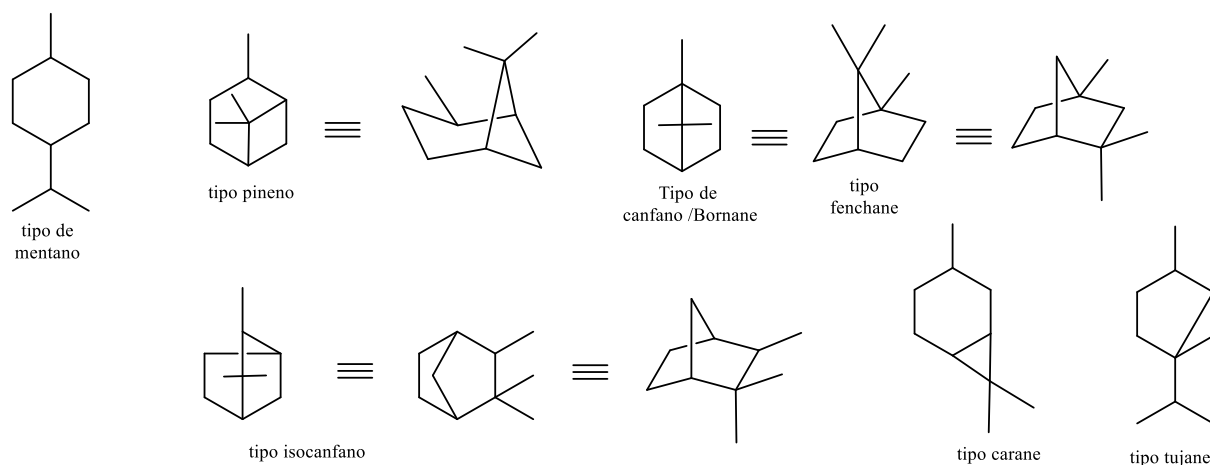
Os compostos químicos linalil PP e neril PP e geranil PP podem gerar uma série de monoterpenos lineares encontrados nos óleos essenciais, usados principalmente na produção de aromatizantes e perfumes. Os constituintes resultantes fazem partes de diversas funções, como hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos ou talvez ésteres, em particular, os acetatos (Figura 8).(UGIURA et al., 2011)



Fonte: UGIURA et al., 2011

Figura 8: Monoterpenos formados por intermédio de linalil PP e neril PP e geranil PP

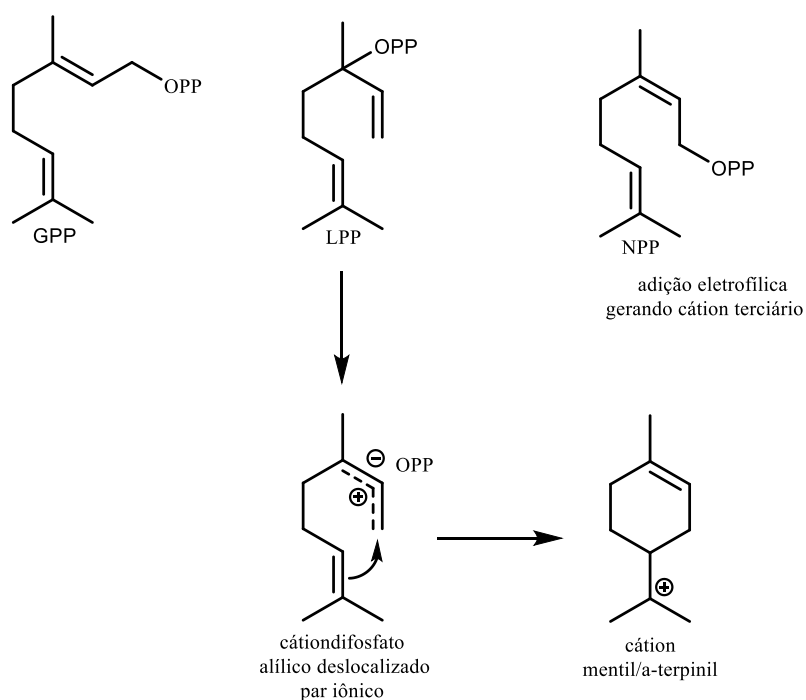
Existem uma exuberância de monoterpenos que são obtidos e desenvolvidos, especialmente pelas reações de ciclização e podem ser produzidos de forma monocíclicos ou bicíclicos. Os principais exemplos de maior desses sistemas de anéis são apresentados na (Figura 9) (JONES; KLACKING; RYAN, 2021).



Fonte: JONES; KLACKING; RYAN, 2021

Figura 9: Monoterpenos derivados por reação de ciclização em formatos monocíclicos e bicíclicos

O neril PP ou linalil PP, entretanto, têm estereoquímica favorável nos dois precursores, com preferência imediata no sistema mentano monocíclico, capaz de gerar um carbocátion de denominação, mentil ou α -terpinil, o qual é mostrado o mentano como esqueleto, (Figura 10) (UGIURA et al., 2011).

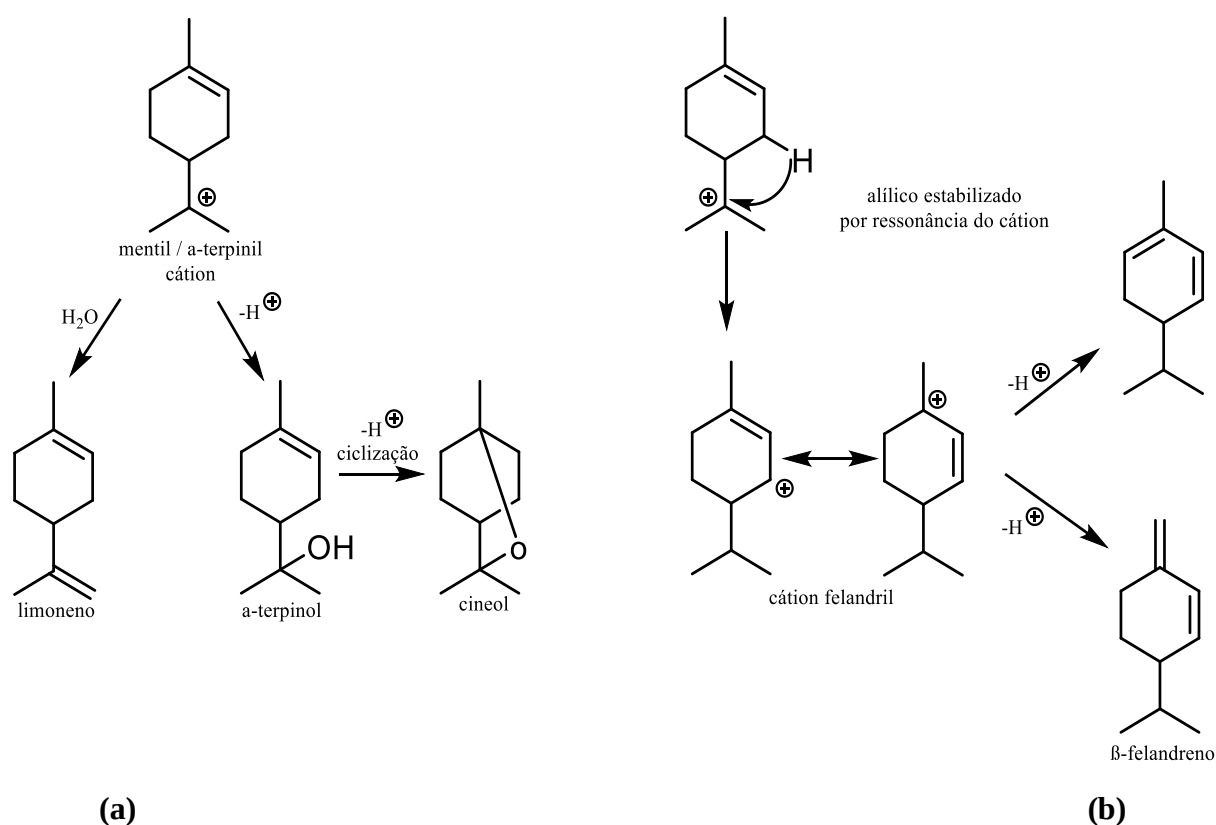


Fonte: UGIURA et al., 2011

Figura 10: Formação de mentil diante do linalil PP.

No monoterpreno, observou-se que enzimas ciclases são capazes de ceder todos os três difosfatos, o que torna, o linalil PP como melhor substrato. No linalil, é possível observar notadamente a capacidade para isomerizar os substratos inicial, bem como para ciclizá-los. Na figura 10, considera-se as espécies envolvidas na ciclização como o cátion alílico deslocado fortemente ligado ao ânion difosfato, e a formação da ligação segue devido à proximidade dos elétrons π (ORSI et al., 2020).

O cátion mentil do composto ao ser recém-gerado pode desaparecer pelo ataque da água para formação do limoneno, por outro lado, poderia perder um próton para gerar o álcool α -terpineol. (Figura 11a). Já o cátion mentil, poderá ser convertido através do deslocamento de 1,3-hidreto em um cátion alílico estabilizado por ressonância, o que permite a formação de α - e β -felandrenos devido a perda de um próton do carbocátion felandril (Figura 11 b) (DEWICK, 2011)



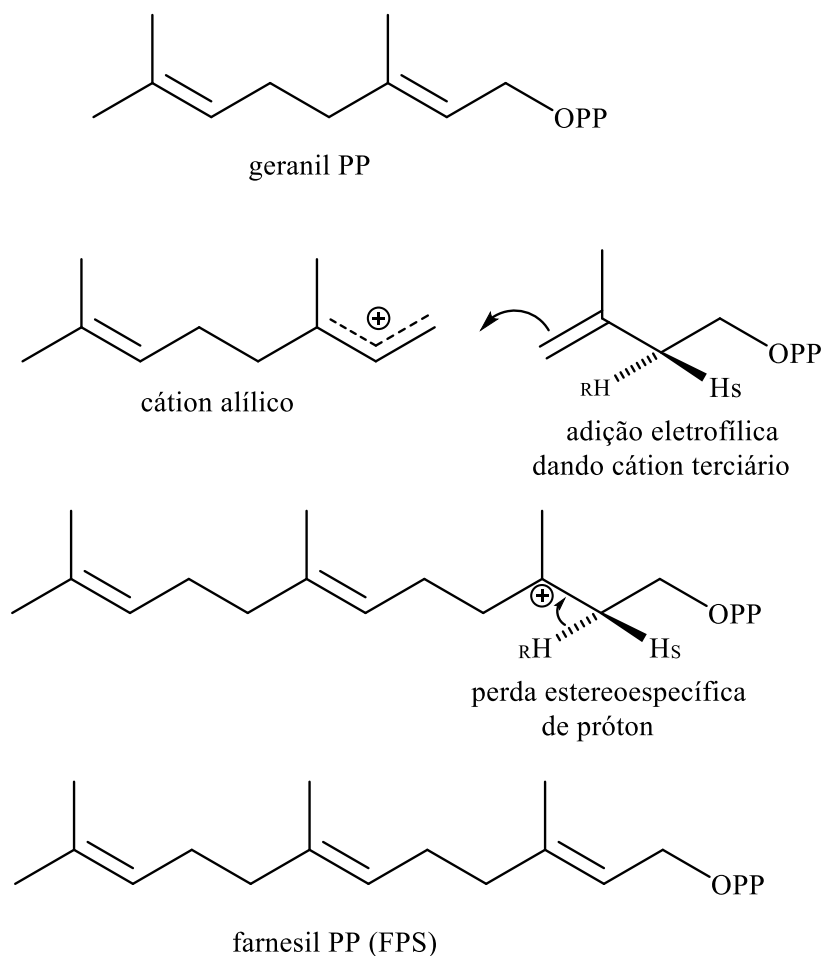
Fonte: DEWICK, 2011

Figura 11: Compostos gerado a partir de cátion mentil na presença de água.

2.3.3 Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são compostos formados por três unidades isoprênicas, com baixa solubilidade em água e em solução alcoólica tende a oxidar ligeiramente. Em geral, os sesquiterpenos demonstram atividades de proteção contra fungos e bactérias (ZOU et al., 2021)

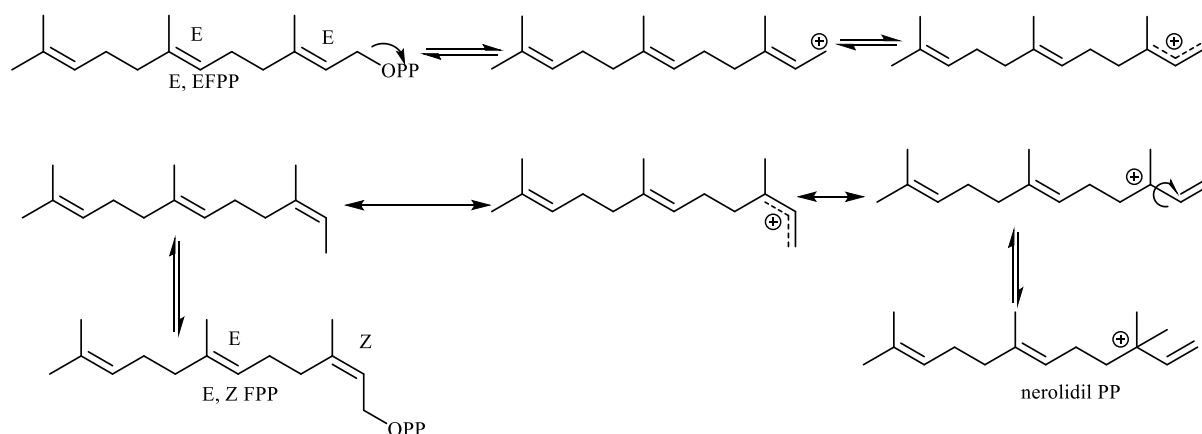
As diversas formações estruturais dos sesquiterpenoides são possíveis pela facilidade reativa do pirofosfato de farnesila. Os sesquiterpenos retratam a maior classe de estruturas diversificadas (LEITE, 2017). A união de mais uma unidade de C5 IPP no geranyl difosfato na ampliação do prenil transferase em que a reação leva ao sesquiterpeno, tem como precursor, difosfato de farnesil (FPP) (Figura 12). A ocorrência da ionização inicial de GPP se apresenta e o próton perdido do C-2 do IPP é estereoquimicamente análogo aos prótons cedidos na etapa da isoprenilação anterior (MIZIORKO, 2011). A partir do FPP, é possível a formação do sesquiterpenos lineares e dos cíclicos, pois ocorre o aumento do comprimento da cadeia e da adição da ligação. O número de ciclização também é possível ao seu complemento, além de uma variedade de estruturas resultante dos monocíclicos, bicíclico e tricíclicos (BARRETO; ALMEIDA; FILHO, 2021).



Fonte: MIZIORKO, 2011

Figura 12: Reação do geranyl PP na transformação do difosfato de farnesil PP.

A representação da estereoquímica da ligação dupla adjacente ao difosfato pode assumir uma configuração *E*, semelhante em FPP ou caracterizar uma configuração *Z* via ionização, de acordo com o geranyl/neril PP, (Figura 13). O difosfato terciário nerolidil PP refere-se como um precursor mais imediato do que o farnesil PP, o que proporciona diversas possibilidades de desdobramento a cadeia carbônica, o que é possível através da enzima envolvida, e ciclização por ataque a uma ligação dupla mais conveniente, semelhante com o que ocorre em monoterpenos (FENG et al., 2020).



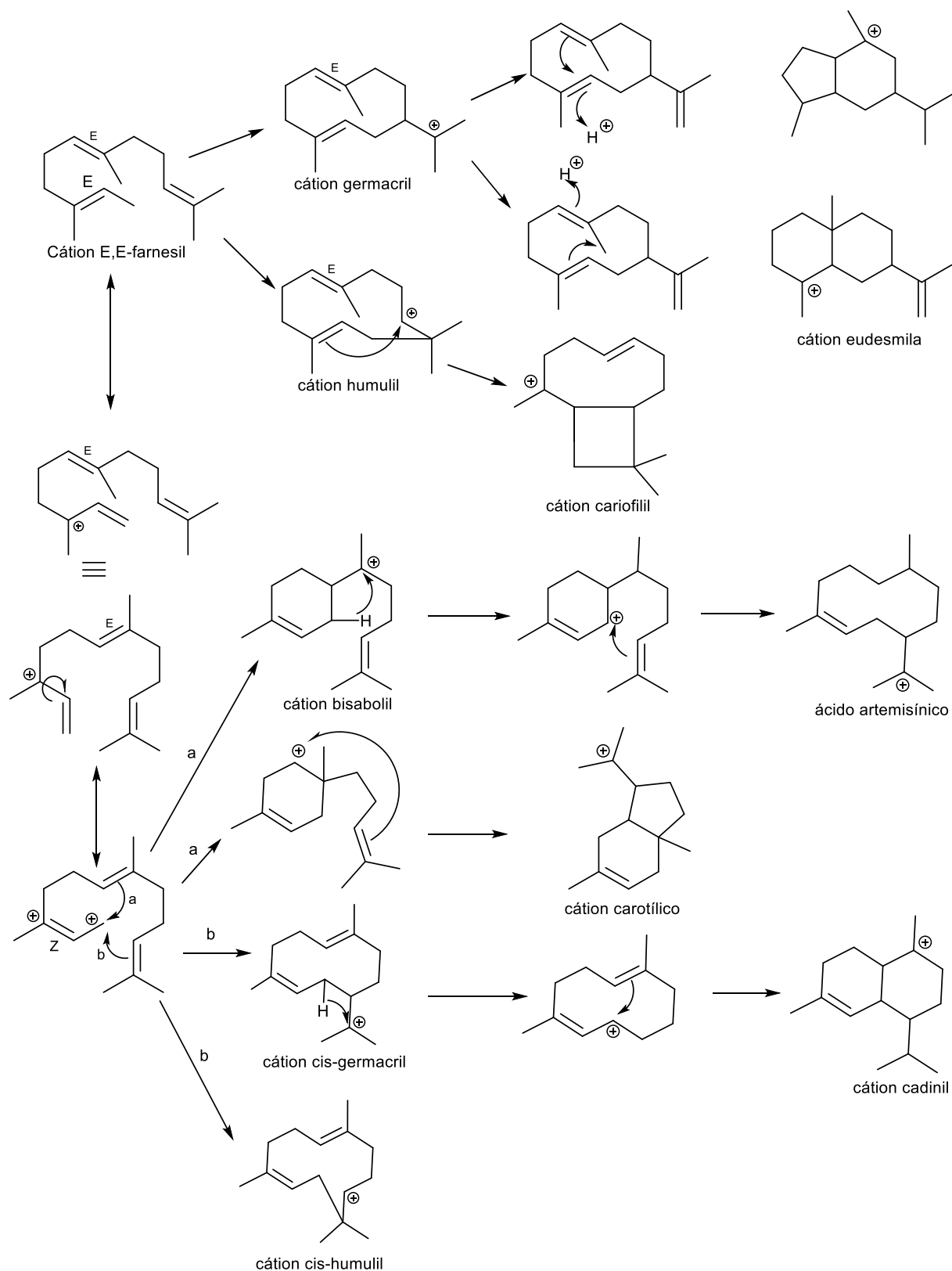
Fonte: FENG et al., 2020

Figura 13: Caracterização de configuração Z via ionização do geranyl/neril PP.

As reações padrões dos carbocátions demonstram racionalmente a generalidade dos esqueletos estruturais mais comuns encontrados, e uma seleção representativa destes é mostrada na Figura 14. Algumas ciclizações levam ao anel um conjunto maior do que seis e sete carbonos e anéis de dez e onze membros que podem ser formados. Os dois sistemas de anéis de dez membros, cátions germacril e *cis*-germacril, ou os dois sistemas de onze membros, humulil e cátions *cis*-humulil, diferem-se apenas estereoquimicamente relacionados às ligações duplas. Entretanto, influencia demais processos de ciclização e que é responsável por aumentar a variedade dos derivados de sesquiterpenos (FENG et al., 2020).

O esqueleto básico do eudesmane é formado a partir do cátion germacril por protonação e ciclização via eudesmila cátion, enquanto a protonação na extremidade mais substituída de uma ligação dupla, poderia formar o cátion guail e o esqueleto guaiane.

Enquanto isso, um anel de seis membros, possivelmente é formado primeiro dando o cátion bisabolil, e novamente, um deslocamento de 1,3-hidreto estará incluso antes mesmo da formação do sistema de decalina (LIAO et al., 2016).

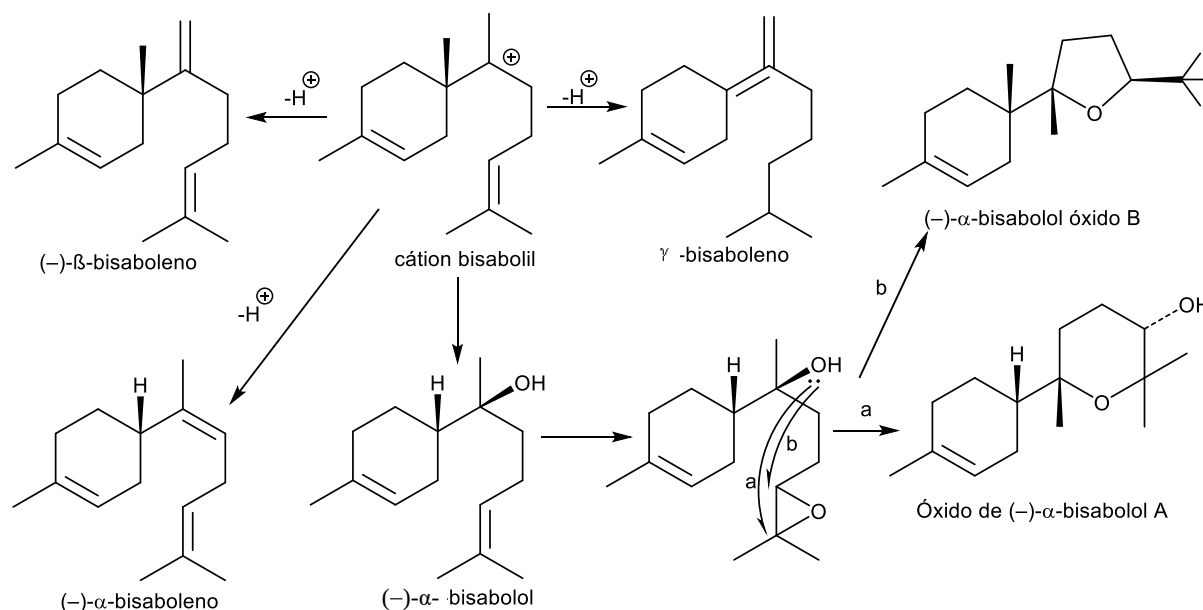


Fonte: FENG et al., 2020

Figura 14: Demonstração de carbocátions de esqueletos estruturais.

Alguns dos conjuntos de procedimentos de ciclização, o cátion bisabolil, é similar ao dos monoterpenos de classificação dos mentanos, demais alterações no anel de seis membros podem decorrer para formação de variantes essencialmente para monoterpeno em relação substituinte de hidrocarboneto e γ -bisaboleno (Figura 15) (SONG; ZHENG, 2020).

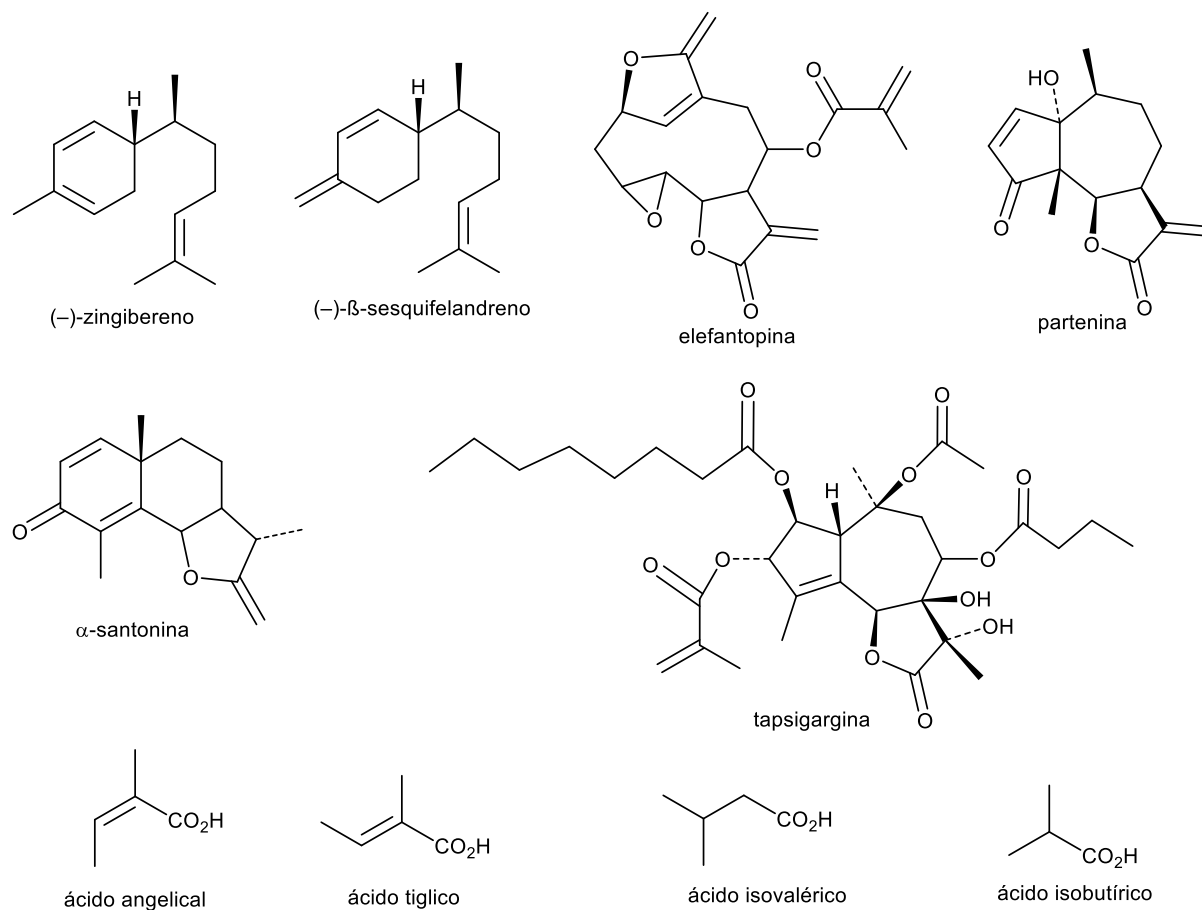
Os sesquiterpenos são em geral menos voláteis que os monoterpenos. Uma eliminação simples do cátion bisabolil, leva ao α -bisabolol, um dos principais constituintes da *Matricaria chamomilla*. Os óxidos de bisabolol A e B também são compostos possivelmente derivados do bisabolol por meio de reações de ciclização.



Fonte: SONG; ZHENG, 2020

Figura 15: Conjuntos de ciclização de sesquiterpenos similares ao monoterpenos metânicos.

A unidade da lactona α,β -insaturada é uma representatividade básica de muitos terpenos biologicamente ativos. A atividade se manifesta frequentemente como uma toxicidade, especialmente a citotoxicidade como visto com o germacranolide elefantopina de *Elephantopus elatus*. O α -Santonina foi um dos compostos identificada como sendo, o principal componente anti-helmíntico de várias espécies de *Artemisia* (SAKIPOVA et al., 2017). Estruturalmente, a α -santonina tem muita semelhança com partenolide, e a diferença mais marcante está na presença da decalina bicíclica de sistema de anéis (Figura 16).



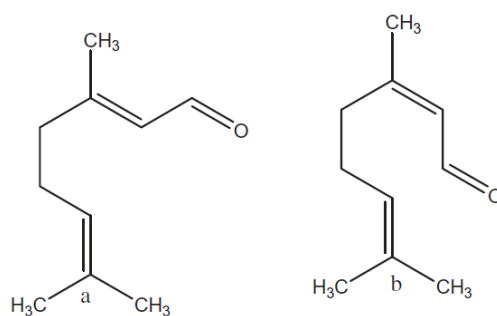
Fonte: SAKIPOVA et al., 2017

Figura 16: Estruturas de sesquiterpenos α-Santonina com potencial biológico para anti-helmíntico de várias espécies de *Artemisia*.

Investigações sobre a presença de monoterpenos na família Asteraceae, revelou que o óleo essencial extraído de *Pectis brevipedunculata* demonstrou que entre os constituintes predominantes, está o citral, um composto com elevado potencial como agente nematicida e larvicida natural (ALBUQUERQUE et al., 2007).

2.3.4 Citral

O citral é uma mistura de dois constituintes, o geranial e neral (Figura 17). São aldeídos monoterpênicos conhecidos pelo seu aroma agradável e característicos. Comumente encontrados nas cascas de frutos cítricos como o limão e laranja (YOPLAC et al., 2021).

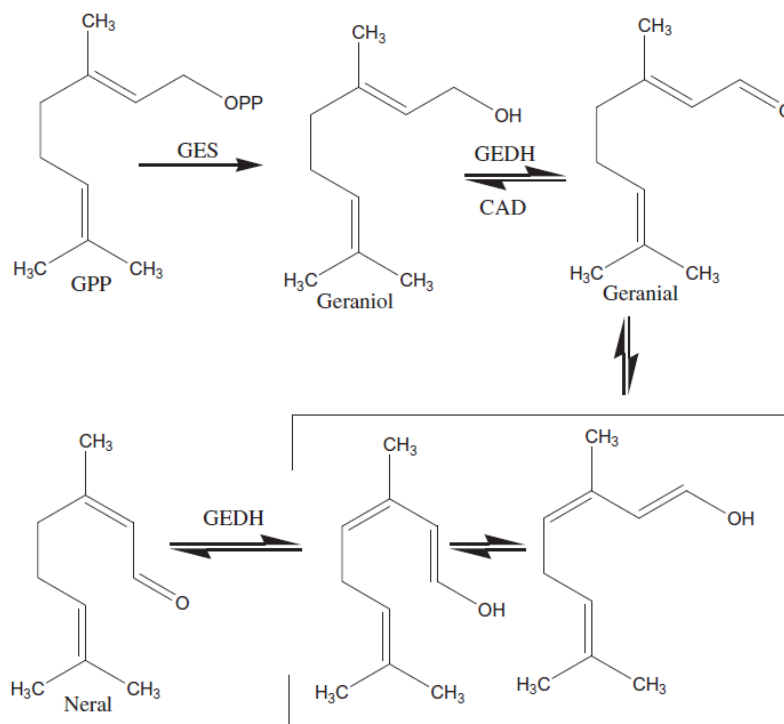


Fonte: YOPLAC et al., 2021

Figure 17: Estrutura do (a) geranial and (b) neral.

A mistura citral tem sido amplamente aplicada na indústria de alimentos, cosméticos e bebidas, como componente natural por sua fragrância e sabor do limão. (FERRARIO et al., 2020). Os óleos essenciais que contêm o citral, evidenciam ações como antioxidante, anticancerígenas, antimicrobianas, antifúngicas e antiparasitárias. (MASWAL; DAR, 2014).

A biossíntese de geraniol e citral ocorrem em três etapas: Quando as fosfatases catalisam a reação de remoção do pirofosfato (PPI) do GPP para produzir o geraniol (HYPERICACEAE; CROCKETT, 2010). O geraniol é acetilado para formar acetato de geranila através da ação da geraniol-acetil transferase. Após, é formando o neral e o geranial (figura 18). A hidrólise, ocorre no sentido de gerar proveito do geraniol pela ação de geranil acetato esterase em função do desenvolvimento de inflorescência (GANJEWALA; GUPTA, 2016).



Fonte: GANJEWALA; GUPTA, 2016

Figura 18: Biossíntese de geranial e neral a partir de geranyl pirofosfato (GPP); GES, geraniol sintase; GEDH, geraniol desidrogenase; CAD álcool cinâmico desidrogenase.

O mecanismo dos compostos geranial e neral através das vias biossintéticas demonstrou que o geranial é obtido a partir do geraniol e o neral é formado pela tautomerização ceto-enol do geranial, o que revela uma acessível rotação trans-para-cis da ligação C2 – C3, observado na configuração cis encontrada em neral (RANA; DAS; BLAZQUEZ, 2016).

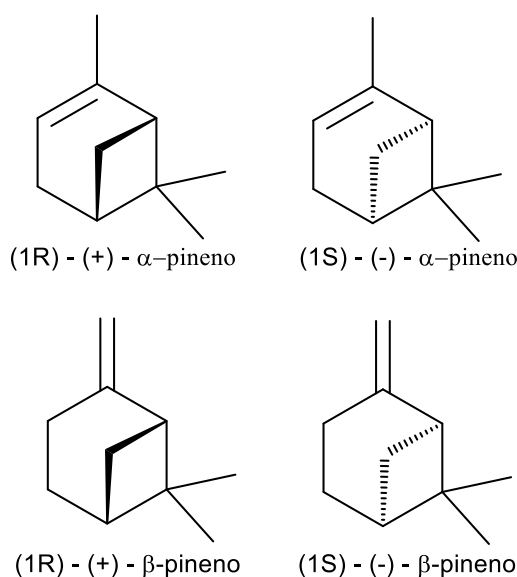
Os terpenos, embora que exista diferenças estruturais entre si, todos são formados por estruturas em blocos de cinco carbonos, o que especifica as regras do isopreno. Entre os terpenos, temos o pineno, que um monoterpene formado por duas unidades isoprênicas (COSTA, 2017). São constituintes encontrados em diversos óleos essenciais e possuem dois isômeros constitucionais ativos, o alfa e beta pineno, (FELIPE; BICAS, 2017).

2.3.5. α -Pineno

O α -pineno é um monoterpene promissor no tratamento de doenças inflamatórias (SALEHI et al., 2019). O composto pode ser encontrado facilmente no óleo essencial do eucalipto e demais plantas aromáticas. Possui atividades antimicrobianas, apoptóticas,

antibióticas, antimetastáticas, antimalárica, anti-leishmanicida e efeitos analgésicos (SALEHI et al., 2019). Apresenta ainda propriedade antiproliferativa com inibição significativa do crescimento com interrupção do ciclo celular de levedura na fase G2/M, o que poderá propiciar em modelo animal a inibição do ciclo celular e uma alternativa terapêutica do câncer (KUMAR; DEV; SOURIRAJAN, 2021).

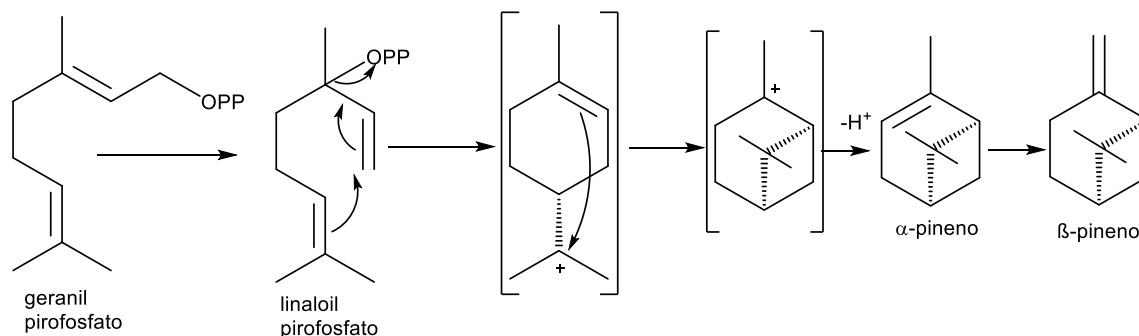
O hidrocarboneto pineno de fórmula molecular ($C_{10}H_{16}$) é um terpeno isomérico biciclico α e β -pineno (Figura 19). São constituintes presentes em vários óleos essenciais, visto que, pode representar o componente majoritário de determinadas espécies de plantas. São compostos que caracterizam a família de monoterpenos (+) e (-) enantiômero pineno e que dispõe de diferentes interações com a luz polarizada (SALEHI et al., 2019) .



Fonte: SALEHI et al., 2019

Figura 19: Estrutura de α - e β -pineno.

O α -pineno contém quatro carbonos reativos, é um alceno que pode ser encontrado na natureza na forma de dois enantiômeros (1S, 5S)- α -pineno e o (1R, 5R) – α -pineno. Estes compostos são aplicados como aromatizantes e aditivos alimentares (LIMA et al., 2013). Os isômeros podem ser gerados a partir do geranil pirofosfato por meio de uma ciclização do linaloil pirofosfato, com a perda de um próton através do carbocátion, (Figura 20) (ANDRADE, 2017).



Fonte: ANDRADE, 2017

Figura 20: Formação das moléculas de α -pineno e β -pineno a partir do geranil difosfato.

Entre os compostos monoterpenos com potencial biológico, encontra-se o limoneno, um dos principais constituintes de óleos essenciais encontrados em frutas cítricas, como o limão e a laranja. Em geral, o R-(+) -limoneno é o composto majoritário em grande parte encontrados nos cítricos (SANTOS, 2014). Estudo realizado por Oliveira, (2011), detectou que o limoneno é terceiro componente majoritário em *Pectis brevipedunculata*, assim como trabalhos desenvolvidos por (SILVA et al., 2021)), usando *Pectis elongata* e Albuquerque et al (2007) trabalhando com *Pectis oligocephala*, observaram também que o limoneno foi o terceiro constituinte predominante nos óleos essenciais.

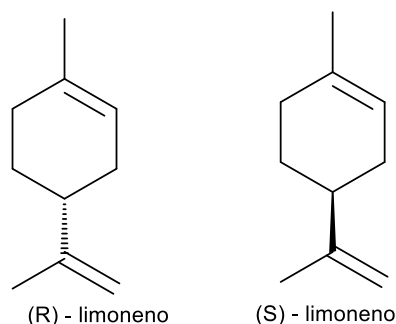
2.3.6 Limoneno

O monoterpene limoneno é considerado um dos principais constituintes em diversos óleos essenciais de cascas de frutas cítricas (LU et al., 2014). Através de processos industriais com utilização de resíduo de sucos cítricos é possível se obter alta concentração de limoneno, o que tem despertado grande interesse por fonte renováveis pela obtenção a baixo custo (ARRIETA et al., 2013).. Este constituinte pode ser adicionado em uma variedade alimentos, perfumes, bebidas e sabonetes. Além disso, o limoneno é possível ser utilizado em produtos de limpeza doméstica (OZTURK; WINTERBURN; GONZALEZ-MIQUEL, 2019).

Substâncias como o limoneno, apresentam alta atividade antimicrobiana, antimalárico, antitumoral, anti-inflamatório e inseticidas. (HĄC-WYDRO; FLASIŃSKI; ROMANÓCZUK, 2017). ação (D’ALESSIO et al., 2013).

Entre os óleos essenciais obtido de cítricos, o R- (+) limoneno é o componente de maior percentual, sua concentração pode atingir até 96% (ARRIETA et al., 2013). Os isômeros,

(R)-(+)-limoneno (D-limoneno) e (S)-(-)-limoneno (L-limoneno) quando em quantidade iguais, chama-se DL-limoneno ou ($\pm$) limoneno (Figura 21) (KIYOTA et al., 2014).

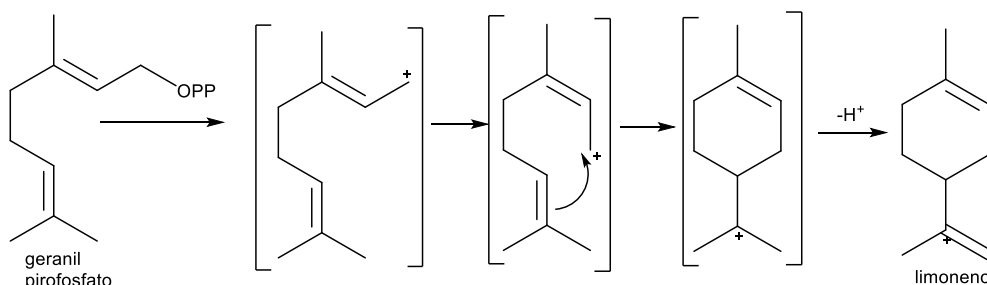


Fonte: KIYOTA et al., 2014

Figura 21: Estrutura química dos isômeros R e S limoneno

D-limoneno é um produto biodegradável e inóxico ao ser humano, muito utilizado pela indústria na produção de inseticidas e aplicações como solvente para limpeza e afins (SANTOS, 2014). Por meio do processo de formação, através do geranyl pirofosfato é possível obter o limoneno, mediante ciclização do carbocátion neril ou outro composto semelhante. A obtenção segue por envolvimento da perda de um próton devido ao cátion para gerar o alceno (NAOKI KITAOKAA, 1, XUAN LUA, BING YANGB, 2016).

Nos vegetais ocorre a sintetização do limoneno por meio de reações enzimáticas por intermédio do linalil difosfato (Figura 22). Com a perda do grupo difosfato, o LPP gera o composto catiônico que através do rearranjo catalisado por enzimas das ciclases, forma o cátion α -terpinil. Em seguida, ocorre a desidrogenação do α -terpinil, proporcionada pelo limoneno sintase, então gerado o limoneno (DEWICK, 2009).



Fonte: DEWICK, 2009

Figura 22: Biossíntese a partir de pirofosfato de isopentila (IPP) para formação de limoneno.

A reação com o pirofosfato de geranilo e pirofosfato de isopentenilo obtém-se um composto de 15 carbonos denominado pirofosfato de farnesilo, um precursor responsável para geração dos sesquiterpenos. O farnesol é o álcool é equivalente ao pirofosfato de farnesilo, geralmente pode ser encontrado no óleo essencial da casca do limiã (FELIPE; BICAS, 2017).

No Brasil, existe uma grande variedade de plantas medicinais e por esta razão, a química de produtos naturais busca investigar os metabolitos secundários como os princípios ativos em diversas espécies de plantas, em especial, os óleos essenciais (SILVA et al., 2021). Um produto que pode ser obtido a partir de plantas aromáticas por diferentes técnicas de extração e que possui uma vasta aplicabilidade nas indústrias como matéria prima para diversos fins. Plantas da família Asteraceae, conhecidas como cuminho-bravo, alecrim-bravo são usadas pelas comunidades tradicionais para dores de estômago, câibras, hipertensão, gripe e resfriado (HULLEY et al., 2019).

2.4. Família Asteraceae

A família Asteraceae representa um grupo predominante entre as angiospermas, contendo cerca de 23.000 espécies com 1.535 gêneros (ROLNIK et al., 2021b). No Brasil essa família compreende aproximadamente 14 tribos, 275 gêneros e 2.034 espécies, das quais estima-se que 1.302 espécies são representadas de forma endêmicas com distribuição em todo território nacional (RIBEIRO; TELES, 2015).

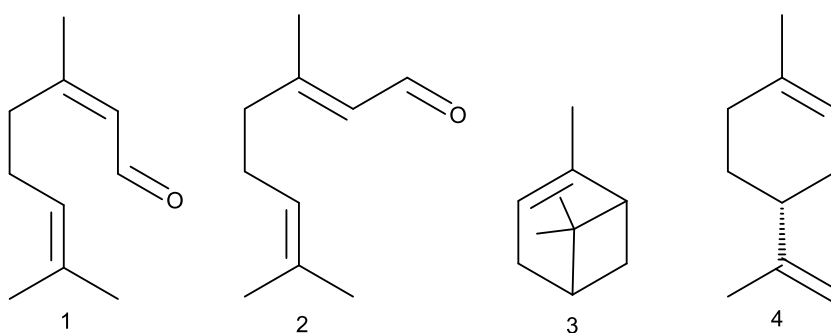
As plantas da família Asteraceae são predominantemente de espécie herbácea e não lenhosa, em algumas ocasiões como plantas latescentes, consideradas como uma das maiores famílias de planta com flores do mundo e mais distinta e também a mais natural entre as angiospermas (ROLNIK et al., 2021b). As folhas das plantas são do tipo alternadas, espiraladas, opostas, com lobadas profundas, as mais notáveis são o estilete indiviso, glabro, estigma capitado e um óvulo apical pêndulo, as vezes dentadas com venação palmada, sua morfologia é muito diversificada, possui alta biodiversidade contém inúmeros compostos fitoquímicos (JUDD et al., 2009).

São ervas anuais ou bienais, arbusto e subarbusto, inflorescência em capítulo, capítulos solitários no ápice do pedúnculo floral capítulo formado de flores sésseis, circundado por um involúcro de brácteas, cilíndrico, hemisférico, globoso. As flores podem ser bissexuais ou unissexuais, estéreis, flores gamopétalas, zigomorfas e normalmente actinomorfas compostas de tubo basal e porção superior bilateral, caule geralmente cilíndrico, raramente

alado e ramos glabros (NAKAJIMA, 2017). Em virtude da grande importância econômica, algumas espécies de Asteraceae tem sido bastante explorada, particularmente pela relação cultural, alimentícias, e extração de óleos essenciais (ROQUE, 2017).

A família Asteraceae pode ser encontrada frequentemente em terrenos arenosos e rochosos tanto ao nível do mar quanto em montanhas. São distribuídas por vegetação diversificadas e disseminadas por todos os continentes com maior abundância, nas regiões temperadas, semi-áridas dos trópicos e subtropicais (SOARES; SANTOS; LOEUILLE, 2021). Na medicina popular são utilizadas para diferentes tratamentos, bem como, no consumo alimentício pelos humanos. Algumas espécies possuem importância econômica mundial e são protótipos para fitomedicamentos com inúmeras ações biológicas (PESSOA et al., 2014). Por comparação entre outras famílias de plantas, família Asteraceae têm sido a mais utilizada como fins medicinais; devido a ampla gama de compostos biologicamente ativos (RUSTAIYAN; FARIDCHEHR, 2021).

De acordo com Albuquerque et al (2003), o óleo essencial de plantas do gênero *Pectis*, tem como componente majoritário o citral, α -pineno, timol e o limoneno (Figura 23). Albuquerque et al (2007) realizando ensaios com atividade nematocida e larvicida com espécies do gênero comprovou que o monoterpenos são os principais compostos presente no óleo essencial destas espécies.



Fonte: ALBUQUERQUE et al 2007

Figura 23: Estruturas de monoterpenos majoritários encontrado no gênero *Pectis*: 1. geranial; 2. neral; 3. α -pineno; 4. limoneno

2.4.1 Gênero *Pectis*

O gênero *Pectis* foi descrito pela primeira vez por Linnaeus em 1759, seu registro está presente na Flora Brasiliensis. As plantas deste gênero são de pequeno porte, tribo Tageteae, com 18 gênero inseridos, dos quais apenas três, *Pectis*, *Porophyllum* e *Tagetes* são encontrados no Brasil (AGRA et al., 2007). No Nordeste brasileiro o gênero *Pectis* compreende seis espécies de plantas, tal como, *P. brevipedunculata* (Gardener) Sch. Bip., *P. congesta* (Gardener) Sch. Bip., *P. decumbens* (Gardener) Sch. Bip., *P. elongata* Kunt, *P. linifolia* L. var. *linifolia*, *P. oligocephala* (Gardener) Sch. Bip. var. *oligocephala* e *P. oligocephala* (Gardener) Sch. Bip. var. *affinis* (Gardner) Baker. (BARBOSA, 2006)

As espécies do gênero *Pectis* são ervas anuais, subarbusto com folhas opostas ou alterna, glabras ou pilosas, apresentando longas cerdas nos bordos e com cavidade ou glândulas secretoras perlucidas, carregado de óleo essencial com cheiro ativo (FERREIRA; CARVALHO-OKANO; NAKAJIMA, 2009). Apresentam caule prostrado a ereto que vai desde simples a ramificado, folhas caulinares, opostas e frequentemente sésseis, lineares a elípticas, margens ciliadas em especial na base, faces glabras ou peludas; capítulos radiais simples ou em grupo; pedúnculo de 5 a 8 brácteas oblanceoladas rígidas; involúcro campanulado, cilíndrico, elipsóide ou fusiforme, variando de 2 a 8 mm de diâmetro; receptáculo geralmente hemisférico plano; corolas amarelas constantemente rosadas na face abaxial.

O gênero *Pectis*, é nativo das Américas, Novo México, Índias Ocidentais até a Sonora, que possui altitudes muito variadas em relação ao nível do mar (HERBARIUM, 2022). Nos campos cultiváveis, o gênero *Pectis*, não tem muita resistência em relação às espécies que sobrevivem sobre erva daninhas (ALBUQUERQUE et al., 2020). Além do mais, o gênero *Pectis* tem um percentual de produção de óleo essencial aproximadamente semelhante a outras espécies de plantas, sendo considerado um gênero com alto percentual de rendimento (HERBARIUM, 2022).

2.4.3 Espécie *Pectis brevipedunculata*

Pectis brevipedunculata (Figura 24) apresenta porte pequeno, rica em óleo essencial, nativa de ambientes xerófilos, encontrada em solos arenosos, rochosos, e terrenos baldios e não cultivados (OLIVEIRA, 2011). É uma planta de folha pequena, fina, suporta longos períodos sem chuva e sem perder o teor de água (MARQUES et al., 2013a).

Estudos sobre a anatomia e a ultra-estrutura foliar de *P. brevipedunculata* foi observado várias características referentes a limitações de perda de água e resistência a alta irradiância, o que permitem eficácia em fixar CO₂ pela via fotossintética C4 (AZEVEDO, 2007a). O óleo essencial, neste tipo de espécie, é armazenado em cavidades subepidérmicas, próximas à superfície e associadas a processos de excreção. Tem as cavidades secretoras de origem esquizolisígenas. Enormes vacúolos e aspecto granular, constituem as células secretoras e apresentam secreção lipofílica (MARQUES et al., 2013a).



Fonte: próprio autor, 2020

Figura 24: *Pectis brevipedunculata* fotografada na área do Campus Bacanga (UFMA)

Estudos realizados por (MARQUES et al., 2013) com partes aéreas de três espécimens de *Pectis brevipedunculata* coletadas no Rio de Janeiro; Espírito Santo, e no Ceará, nos meses de abril e julho de 2005, detectou os monoterpenos geranial, neral e limoneno como os constituintes majoritários e semelhantes em termo de rendimento.

No trabalho desenvolvido por (AZEVEDO, 2007b) sobre a anatomia e a ultra-estrutura foliar de *P. brevipedunculata* evidenciou características relacionadas à restrição da perda de água e resistência a alta irradiância, o que permitem eficiência na fixação de CO₂. Ainda com (AZEVEDO, 2007b), o óleo essencial, nesta espécie, é armazenado em cavidades subepidérmicas, próximas à superfície e associadas a processos de excreção.

A composição química dos óleos essenciais (O.Es.) pode interferir diretamente no efeito biológico desempenhado por esses O.Es sobre espécies alvos, como demonstrado por

(DEMO, MIRTA SUSANA; OLIVA, MARIA DE LAS MERCEDESICON ; LÓPEZ, MARÍA LIZAICON; ZUNINO, MARÍA PAULAICON; ZYGADLO, 2005) em ensaios antimicrobianos com *Pectis odorata* coletada na Argentina, que demonstrou um efeito inibidor frente as bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* e *Enterococcus faecales*. O óleo essencial de *P. apodocephala* apresentou eficiência sobre nematoides e larvas de *Aedes aegypti* no terceiro instar larval. *P. brevipedunculata* por apresentar a composição química parecida a outras espécies do gênero, podemos predizer que esta espécie apresenta uma série de benefícios para seu uso, que vai desde a disponibilidade de acesso ao material vegetal, estabilidade de sua composição química durante todo o ano e potencial para ser usado como fonte de moléculas para repelentes, inseticidas, carrapaticida e nematicida, evidenciando assim o seu potencial para o desenvolvimento de produtos biotecnológico.

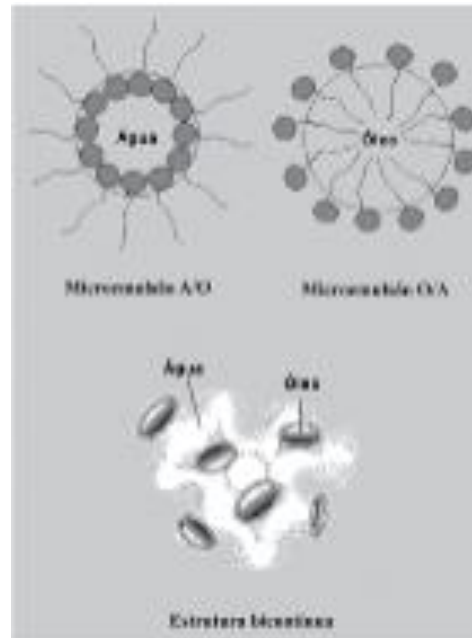
2.5. Formulações Microemulsionadas

A aplicação biotecnológica do óleo essencial de *P. brevipedunculata* pode ser feito com uso de sistemas microemulsionados, as formulações microemulsionadas tornam um sistema atrativo e favorável para diversas utilidades, assim como sua importância na alta capacidade de solubilizar compostos hidrofílica, em proporciona o transporte de substâncias poucos solúveis em água, já que os constituintes no óleos essenciais por serem compostos voláteis em contato com o meio podem apresentar baixa eficiência.

2.5.1 Microemulsão

As microemulsões (MEs) são sistemas termodinamicamente estáveis que compreendem em dimensões minúsculas dispersas num meio conhecido como pseudo-fase, que é imiscível com a fase dispersa (DILSON et al., 2015). A MEs pode ser formada por meio da mistura entre dois líquidos imiscíveis, sendo estes O/W e W/O, na presença de um surfactante, redutor de tensão superficial da água e do óleo, e um co-surfactante que é um álcool de cadeia média, empregado quando há intenção de ampliar mais ainda a área superficial (SILVA et al., 2015; SOUZA et al., 2017). Porém, considera-se destacar que, a composição da estrutura de uma micela intumescida regular (O/W) ou reversa (W/O) se torna possível em MEs diluídas, figura 25 (DAMASCENO et al., 2011).

Na Figura 25, observam-se os tipos de MEs. O sistema estrutural é formado por gotículas de tamanho nanométrico, basicamente menor que 0,001 μm (SOUZAA et al., 2017).



Fonte: CASTILO 2002.

Figura 25: Esquema estrutural de uma microemulsões

Por volta de 1943, Hoar e Shulman estabeleceram as MEs, como um sistema transparentes formados espontaneamente pela mistura de óleo e água em quantidades adequadas de surfactante iônicos envolvido a um álcool de cadeia média (ROBERTO, 2010).

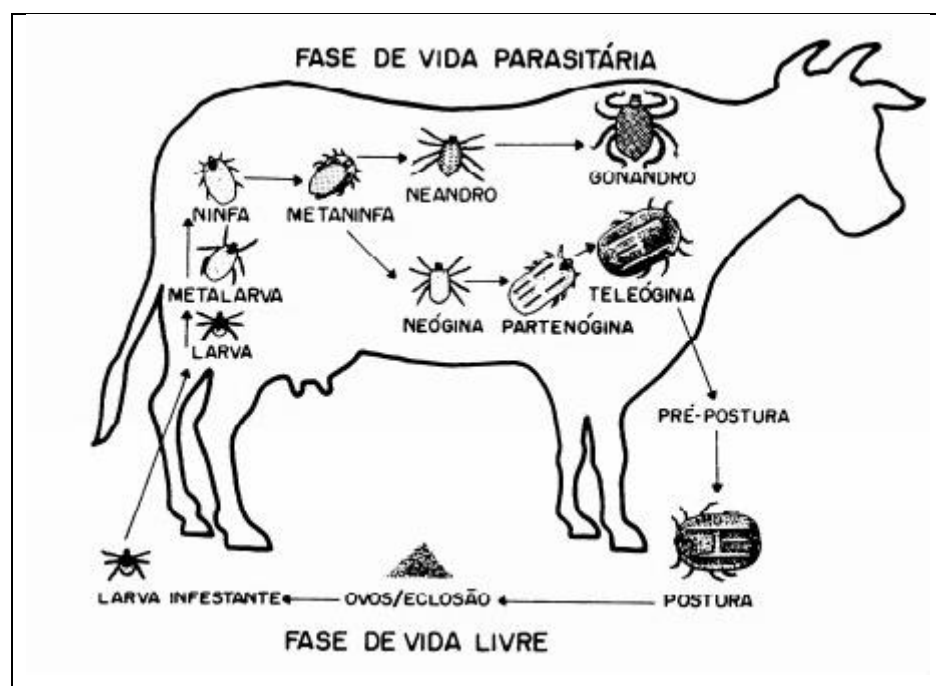
2.6 Parasitos de animais de produção

2.6.1. *Rhipicephalus microplus*

Rhipicephalus microplus é um ectoparasito da família Ixodidae, que parasita preferencialmente bovinos, tem sua importância por causar enormes prejuízos econômicos, e está presente em regiões tropicais e subtropicais como na América, África e Ásia (PENICHE-CARDEÑA et al., 2022). Esse carrapato é originário da Ásia e foi introduzido no Brasil durante o século XVIII com fácil adaptação, devido as condições climáticas e raças bovinas susceptíveis, favorecendo a fixação da população de carrapato pelo país (MONTEIRO, 2017).

O *R. microplus* é classificado como pertencente ao gênero *Rhipicephalus*, subgênero *Boophilus* (MURRELL; BARKER, 2003). Os carrapatos em geral, são ectoparasitos hematófagos que provocam grandes prejuízos econômicos na pecuária bovina mundial, logo estão associados à transmissão de patógenos, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, provocando a Babesiose, e pela rickettsia *Anaplasma marginale*, que provoca a Anaplasmose. causadores da conhecida tristeza parasitária bovina (FERREIRA, 2011).

O carrapato bovino é um parasito monóxico, dependente de apenas um hospedeiro para completar o seu ciclo. O ciclo biológico do *R. microplus* é dividido em duas fases, a fase parasitária e a fase de vida livre (Figura 26). A fase parasitária apresenta desde a fixação da larva em um hospedeiro até o estágio adulto. Após desprendimento das fêmeas ingurgitadas, inicia a fase de vida livre, ao cair no solo, início a ovipostura e posteriormente, incubação dos ovos e posterior eclosão das larvas (PEREIRA, 2008). No período de 3 a 5 dias após o desprendimento da teleogina, em condições adequadas, ocorre o período de pré-postura dos ovários, produção e maturação dos ovos. Após a ovipostura, a fêmea morre, finalizando assim seu ciclo de vida (CAMPOS PEREIRA et al., 2008).



Fonte: Fortes (2004).

Figura 26: Representação esquemática do ciclo de vida do carrapato *R. microplus*.

A fase parasitária tem início com fixação da larva no hospedeiro susceptível, ao corpo do animal (CAMPOS PEREIRA et al., 2008). Em um tempo de 4 a 7 dias depois da fixação da

larva, ocorre a mudança do estágio larval para ninfa. Entre 9 a 16 dias a ninfa sofre ecdise e se transforma em adultos. Logo os adultos realizam cópula e as fêmeas vão se desprender do hospedeiro entre 18 e 30 dias. Os machos permanecem no hospedeiro por um período maior em busca de novas fêmeas para cópula. (CAMPOS PEREIRA et al., 2008; MONTEIRO, 2017).

O controle do carrapato bovino é realizado exclusivamente por uso de compostos carrapaticidas sintéticos, como arsênicos, organoclorados, organofosforados, formamidínicos, piretróides sintéticos, lactonas macrocíclicas e o grupo das milbemicinas, fenilpirazóis e benzofenilureas (GASTÓN et al., 2016; LE GALL; KLAFKE; TORRES, 2018b). Estes estão disponíveis no mercado com uma variedade de composições, diferentes mecanismos de ação e formas de aplicações (pulverização, imersão, injeção ou pour-on).

Contudo, nas últimas décadas o uso inadequado dessas bases químicas tem ocasionado a ineficiência desses medicamentos, levando ao aumento de cepas resistentes aos carrapaticidas sintéticos, de modo a não atingirem mais sua eficiência total (ZALDÍVAR, 2020). A resistência aos produtos sintéticos, significa uma resposta evolutiva dos parasitos contra sua eliminação. O tratamento com químicos sintéticos, geralmente elimina indivíduos de uma população mais suscetível, e assim, provocando um aumento de cepas resistentes em relação aos susceptíveis (LE GALL; KLAFKE; TORRES, 2018a). (LE GALL; KLAFKE; TORRES, 2018b)

Os produtos, piretróides sintéticos e organofosforados encontram-se entre as substâncias mais utilizada para o controle do *R. microplus* de diferentes populações de carrapatos resistentes em vários estados do Brasil (GUERRERO; DAVEY; MILLER, 2001).

Atualmente, método alternativo tem sido testado para o controle do carrapato bovino. Diferentes tipos de plantas têm demonstrado efeito acaricida contra *R. microplus*, dentre elas, *Azadirachta indica* (DE SOUZA CHAGAS et al., 2016), diferentes espécies de *Eucalyptus* (Myrtaceae), *Anadenanther amacrocarpa*, *Mormodica charantia*, *Artemisia annua* e *Jatropha curcas* (ZALDIVAR et al., 2017).

2.6.2. *Haemonchus contortus*

A caprinocultura brasileira é estimada em um rebanho de 11,3 milhões de cabeças, com mais alta densidade de animais na região Nordeste, sendo uma das principais produtoras, com maior concentração nas zonas árida e semiárida (MAGALHAES et al., 2020). Os ovinos e caprinos podem ser infestados por vários nematódeos gastrointestinais simultaneamente, no

qual a importância das diferentes espécies varia em função de fatores como, a intensidade da infecção, prevalência e patogenicidade do parasito. *Haemonchus contortus* é considerado o principal parasito de ovinos e caprinos no Brasil, apresentando uma alta incidência e patogenicidade (PROFILE; AMARANTE, 2021)

Este é responsável por grande parte das perdas já registrada em criações de ovinos e caprinos, ocasionando a redução do potencial produtivo destes animais (PROFILE; AMARANTE, 2021).

Haemonchus contortus, é conhecido por causar a Hemoncose, uma doença parasitária que acomete uma grande parte de ovinos e caprinos (SILVA et al., 2019). Trata-se de um nematoide gastrointestinal hematófago que causa diferente graus de anemia e hipoproteinemia aos animais (ZHANG et al., 2019). O parasito pode ser facilmente observado, pois mede de 1 a 2,5 cm de comprimento. Este nematoide pertence ao Filo Nematelminthes, Classe Nematoda, ordem Strongylida, Superfamília Trichostrongyloidea, Família Trichostrongylidae, Gênero *Haemonchus* (MONTEIRO, 2011; SCZESNY-MORAES et al., 2010). *H. contortus* é um nematóide hematófago que pode ser encontrado nas diferentes regiões do Brasil, em função do clima, raça de animais e manejo inadequado (MELO, 2005).

O ciclo biológico do *H. contortus* é direto, com uma fase de vida livre que ocorre no ambiente e outra fase de vida parasitária que se desenvolve no animal. A fase de vida livre inicia-se com a eliminação de ovos nas fezes. Ao depositar os ovos tornam-se embrionados, a larva de primeiro estágio (L1) eclode, as quais muda para segunda fase, L2 e evolui para o terceiro estágio, L3, fase infectante. O período desde a eliminação do ovo até L3, varia de cinco a dez dias, de acordo com as condições do ambiente, principalmente umidade e temperatura. A L3 migra do bolo fecal para a pastagem, o qual é ingerida pelos animais ao se alimentarem do pasto, iniciando-se a fase parasitária. As larvas chegam ao abomaso ou ao intestino onde evoluem para o quarto estágio larval (L4) (Figura 27). Em seguida, atingem o estágio adulto na luz do órgão, após a cópula, as fêmeas iniciam a ovipostura, com liberação de ovos através das fezes (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).



Fonte: Adaptado de KHATTAK *et al.*, 2018.

Figura 27: Ciclo de vida *Haemonchus contortus*.

As fêmeas adultas de *H. contortus* medem aproximadamente 3 cm de comprimento e são altamente fecundas, chegando a produzir até 10.000 ovos ao dia. O período pré-patente geralmente é de 17 a 21 dias. Os adultos têm vida curta, em geral, sobrevive por meses ou até um ano no hospedeiro (ZAJAC, A. M.; GARZA, 2020).

O controle do *H. contortus* é amplamente realizado com uso de anti-helmínticos sintéticos, sendo as classes químicas mais utilizadas: benzimidazóis, Imidazotiazóis, derivados do amino-acetonitrila, lactonas macrocíclicas, spiroindoles, organosfosforados, salicilanilidas e substitutos nitrofenólicos (PONTES, 2018). Assim como para carrapatos, o manejo inadequado dos anti-helmínticos sintéticos provocou a baixa na eficiência dessas drogas sintéticas, aumentando a tolerância dos parasitos a dose letais, logo provocando a aumentos de populações resistentes entre o rebanho de caprinos e ovinos.

A resistência anti-helmíntica é uma preocupação crescente para o controle eficaz de parasitos em ruminantes, pesquisas são intensificadas ao desenvolver diagnósticos inovadores para detectar infecções por helmintos e resistências aos anti-helmínticos sintéticos, estratégias sustentáveis de tratamento e abordagens complementares, como vacinação e controle baseado em substâncias ativas de plantas tem sido cada vez mais estudados (CHARLIER *et al.*, 2022).

Estudos usando produtos de origem natural têm demonstrado resultados eficientes para o controle de *H. contortus*. Óleos essenciais e extratos vegetais de plantas foram capazes de inibir eclodibilidade dos ovos, desembainhamento e desenvolvimento larvar (DE

OLIVEIRA et al., 2017; GRANDO et al., 2016). A seleção de compostos de plantas tem sido dificultada através da necessidade do uso de testes *in vivo* para o *screening* de moléculas ativas, uma vez que os animais são abatidos para as análises experimentais. Entretanto, o uso de modelos experimentais tem facilidade este tipo de seleção, excluído a possibilidade do abate de um grande número de animais.

Caenorhabditis elegans é um modelo experimental muito usado para essa finalidade. É um modelo para a triagem de compostos para várias áreas da biologia (KATIKI et al., 2017). *C. elegans* é um nematóide de vida livre, de fácil manutenção em laboratório, baixo custo, ciclo de vida rápido e expressa genes semelhantes ao nematoda *H. contortus*, seguindo linhagem genética semelhante (SLOAN et al., 2015), o que facilita o uso como modelo experimental para selecionar drogas eficientes e depois destiná-las para testes contra o *H. contortus*.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.
- ALAEI, S.; MAHNA, N. Comparison of Essential Oil Composition in *Dracocephalum moldavica* in Greenhouse and Field. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 3, p. 346–351, 2013.
- ALBUQUERQUE, M. R. J. R. et al. Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 79, n. 2, p. 209–213, 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants and animals of an important seasonal dry forest in Brazil. **Ethnobiology and Conservation**, v. 9, p. 1–53, 2020.
- ALESSANDRO FRANCISCO TALAMINI DO AMARANTE, A. M. A. R. B. F. DA S. **Os parasitas de ovinos**. [s.l.] SciELO Books - Editora UNESP, [s.d.].
- ALKRAD, J. A. et al. Microemulsions as nanocarriers for oral and transdermal administration of enoxaparin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 70, n. February, p. 103248, 2022.
- ÁLVAREZ, M. et al. Proteomic approach to unveil the ochratoxin A repression by *Debaryomyces hansenii* and rosemary on *Penicillium nordicum* during dry-cured fermented sausages ripening. **Food Control**, v. 137, 1 jul. 2022.
- ANDRADE, A. C. D. M. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO (+) - α -pineno E (+) - β -pineno ISOLADOS E ASSOCIADOS SOBRE *Candida* spp . DE INTERESSE CLÍNICO PARA. 2017.
- ARCEO-MEDINA, G. N. et al. Synergistic action of fatty acids, sulphides and stilbene against acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 121–125, 15 set. 2016.
- ARRIETA, M. P. et al. Characterization of PLA-limonene blends for food packaging applications. **Polymer Testing**, v. 32, n. 4, p. 760–768, 2013.
- AZEVEDO, C. S. DE. ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA FOLIAR DE *Pectis brevipedunculata*: ONTOGENIA DE CAVIDADES SECRETORAS E ESTRUTURA KRANZ. 2007a.
- AZEVEDO, C. S. DE. Anatomia e ultra-estrutura foliar de *Pectis brevipedunculata*: ontogenia de cavidades secretoras e estrutura Kranz. 2007b.
- BAKKALI, F. et al. **Biological effects of essential oils - A review**. **Food and Chemical Toxicology**, fev. 2008.

BANERJEE, A. et al. Feedback inhibition of deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase regulates the methylerythritol 4-phosphate pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 23, p. 16926–16936, 2013.

BARBOSA, M. R. DE V. **Checklist das plantas do nordeste brasileiro: angiospermas e gymnospermas**. 2006.

BARRETO, I. C. et al. Incorporation of essential oil from *Vitex gardneriana* (Lamiaceae) in microemulsions systems based on mineral and cottonseed oils increased its bioactivity against a coconut pest mite. **Industrial Crops and Products**, v. 183, n. April, 2022.

BARRETO, I. C.; ALMEIDA, A. S. DE; FILHO, J. G. S. Taxonomic Insights and Its Type Cyclization Correlation of VolaTile Sesquiterpenes in Vitex Species and Potential Source Insecticidal Compounds : A Review. p. 1–31, 2021.

BENDELE, K. G. et al. Acetylcholinesterase 1 in populations of organophosphate-resistant North American strains of the cattle tick, *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 114, n. 8, p. 3027–3040, 28 ago. 2015.

BERBERT, J. M.; FAGAN, W. F. How the interplay between individual spatial memory and landscape persistence can generate population distribution patterns. **Ecological Complexity**, v. 12, p. 1–12, dez. 2012.

BHUIYAN, F. R. et al. Plants Metabolites: Possibility of Natural Therapeutics Against the COVID-19 Pandemic. **Frontiers in Medicine**, v. 7, n. August, p. 1–26, 2020.

BIZZO, H. R.; HOVELL, M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**Quim. Nova. [s.l: s.n.].

CAMPOS PEREIRA, M. et al. *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: biologia, controle e resistência. Medicina Veterinária, São Paulo, 2008.169 p. n. May, 2008.

CANEVARI, G.; MAJUMDAR, A.; SPICER, A. Order reconstruction for nematics on squares and hexagons: A Landau-de Gennes study. **SIAM Journal on Applied Mathematics**, v. 77, n. 1, p. 267–293, 2017.

CARDOSO, A. DOS S. et al. Terpenes on *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: Acaricidal activity and acetylcholinesterase inhibition. **Veterinary Parasitology**, v. 280, 1 abr. 2020.

CARRIL, A. Á. GARCÍA. E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. **Hidrobiológica**, v. 2, n. 2, p. 119–145, 2009.

CASIGLIA, S. et al. Chemical composition of essential oils of *Anthemis secundiramea* Biv. subsp. secundiramea (Asteraceae) collected wild in Sicily and their activity on micro-organisms affecting historical art craft. **Natural Product Research**, v. 33, n. 7, p. 970–979, 2019.

CECATI, F. M. et al. Eupatorium buniifolium aroma profile assessment by HS-SPME, steam distillation and organic solvent extraction. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 1, p. 80–93, 2021.

CHARLIER, J. et al. Anthelmintic resistance in ruminants: challenges and solutions. **Advances in Parasitology**, v. 115, p. 171–227, 2022.

COSTA, D. F. N. Potencial Imunomodulador E Antimicrobiano do (+) - α -Pineno e (+)- β -Pineno. p. 1–53, 2017.

DA CRUZ, J. E. R. et al. A review of medicinal plants used in the Brazilian Cerrado for the treatment of fungal and bacterial infections. **Journal of Herbal Medicine**, v. 31, n. February 2021, p. 100523, 2022.

DA SILVA JÚNIOR, A. Q. et al. Seasonal and circadian evaluation of a citral-chemotype from *Lippia alba* essential oil displaying antibacterial activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 85, n. May, p. 35–42, 2019.

DA SILVA LIMA, A. et al. Assessment of the repellent effect of *Lippia alba* essential oil and major monoterpenes on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 30, n. 1, p. 73–77, 1 mar. 2016.

D’ALESSIO, P. A. et al. Oral administration of d-Limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans. **Life Sciences**, v. 92, n. 24–26, p. 1151–1156, 2013.

DAMASCENO, B. P. G. L. et al. Microemulsão: Um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9–18, 2011.

DE ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, p. 76–91, 1 mar. 2007.

DE OLIVEIRA MONTESCHIO, J. et al. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. **Meat Science**, v. 130, p. 50–57, 1 ago. 2017.

DE SOUZA CHAGAS, A. C. et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 427–432, 2016.

DEMO, MIRTA SUSANA; OLIVA, MARIA DE LAS MERCEDESICON; LÓPEZ, MARÍA LIZAICON; ZUNINO, MARÍA PAULAICON; ZYGADLO, J. A. Antimicrobial activity of essential oils obtained from aromatic plants of Argentina. **Pharmaceutical Biology**, n. 1388–0209, 2005.

DEWICK, P. M. **The Mevalonate and Methylerythritol Phosphate Pathways: Terpenoids and Steroids**. [s.l: s.n.].

DILSON, J. et al. MICROEMULSÕES: COMPONENTES, CARACTERÍSTICAS, POTENCIALIDADES EM QUÍMICA DE ALIMENTOS E OUTRAS APLICAÇÕES. v. 38, n. 9, p. 1196–1206, 2015.

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

FENG, Y. et al. Crystal Structure of Geranylgeranyl Pyrophosphate Synthase (CrtE) Involved in Cyanobacterial Terpenoid Biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, p. 1–14, 2020.

FERRARIO, M. et al. Hurdle processing of turbid fruit juices involving encapsulated citral and vanillin addition and UV-C treatment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 332, n. July, p. 108811, 2020.

FERREIRA, L. L. RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO: Interação entre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* e bovinos suscetíveis e resistentes LORENA LOPES FERREIRA
RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO: Interação entre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* e bovinos suscetíveis e resis. 2011.

FERREIRA, S. DA C.; CARVALHO-OKANO, R. M. DE; NAKAJIMA, J. N. A família Asteraceae em um fragmento florestal, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 903–942, 2009.

FOGARTY, E. S. et al. Sensor-based detection of a *Haemonchus contortus* (Barber's pole worm) infection in sheep. **Smart Agricultural Technology**, v. 3, n. September 2022, p. 100112, 2022.

GAD, H. A.; AYOUB, I. M.; WINK, M. Phytochemical profiling and seasonal variation of essential oils of three *Callistemon* species cultivated in Egypt. **PLoS ONE**, v. 14, n. 7, p. 1–15, 2019.

GANJEWALA, D.; GUPTA, A. K. 8 Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats Essential Oil: Overview and Biological Activities MEP pathway View project MDR and their treatment View project. **Researchgate.Net**, v. 7, n. September, p. 909–917, 2016.

GASTÓN, M. S. et al. Sedative effect of central administration of *Coriandrum sativum* essential oil and its major component linalool in neonatal chicks. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 10, p. 1954–1961, 2 out. 2016.

GIR, K. et al. Effect of Different Plant Extracts on Sprouting, Storability and Post-Harvest Loss of Potato in Baglung District, Nepal. **Malaysian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 16–21, 2020.

GRANDO, T. H. et al. In vitro activity of essential oils of free and nanostructured *Melaleuca alternifolia* and of terpinen-4-ol on eggs and larvae of *Haemonchus contortus*. **Journal of Helminthology**, v. 90, n. 3, p. 377–382, 2016.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Das wirtschaftliche Futter**, v. 38, n. 2, p. 105–123, 2014.

GUERRERO, F. D.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J. Use of an Allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 44–50, 2001.

HAÇ-WYDRO, K.; FLASIŃSKI, M.; ROMAŃCZUK, K. Essential oils as food eco-preservatives: Model system studies on the effect of temperature on limonene antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 235, p. 127–135, 2017.

HAO, Z. Thermoelastic damping in the contour-mode vibrations of micro- and nano-electromechanical circular thin-plate resonators. **Journal of Sound and Vibration**, v. 313, n. 1–2, p. 77–96, 3 jun. 2008.

HASTANTRAM SAMPANGI-RAMAIHA, M.; VISHWAKARMA, R.; UMA SHAANKER, R. **Molecular docking analysis of selected natural products from plants for inhibition of SARS-CoV-2 main protease**CURRENT SCIENCE. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://sts.bioe.uic.edu/castp/index.html?3igg>>.

HE, X. et al. Preparation of water-in-oil (W/O) cinnamaldehyde microemulsion loaded with epsilon-polylysine and its antibacterial properties. **Food Bioscience**, v. 46, n. October 2021, 2022.

HERBARIUM, G. A SYSTEMATIC STUDY OF THE UNITED STATES AND MEXICAN SPECIES OF PECTIS Author (s): M . L . Fernald Source : Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University , No . 12 (1897), pp . Published by : Harvard University Herbaria Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/2422862>. v. 12, n. 12, p. 57–86, 2022.

HERMENEAN, A. et al. Plant-Derived Biomolecules and Drug Delivery Systems in the Treatment of Liver and Kidney Diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 35, p. 5415–5441, 18 nov. 2016.

HILLIER, S. G.; LATHE, R. Terpenes, hormones and life: Isoprene rule revisited. **Journal of Endocrinology**, v. 242, n. 2, p. R9–R22, 2019.

HULLEY, I. M. et al. Essential oil composition of a medicinally important Cape species: *Pentzia punctata* (Asteraceae). **South African Journal of Botany**, v. 127, n. March 2016, p. 208–212, 2019.

HYPERICACEAE, H.; CROCKETT, S. L. Natural Product Communications Essential Oil and Volatile Components of the Genus. 2010.

JOHNSON, S. R. et al. Bioenergetics of monoterpenoid essential oil biosynthesis in nonphotosynthetic glandular trichomes. **Plant Physiology**, v. 175, n. 2, p. 681–695, 2017.

JONES, D. E.; KLACKING, E.; RYAN, R. O. Inborn errors of metabolism associated with 3-methylglutaconic aciduria. **Clínica Chimica Acta**, v. 522, n. June, p. 96–104, 2021.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática Vegetal - Um Enfoque Filogenético**. Taxon, 2009.

KATIKI, L. M. et al. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 47–51, 30 ago. 2017.

KIYAMA, R. **DNA microarray-based screening and characterization of traditional Chinese medicine**. **Microarrays**MDPI AG, 1 mar. 2017.

KIYOTA, H. et al. Engineering of cyanobacteria for the photosynthetic production of limonene from CO₂. **Journal of Biotechnology**, v. 185, p. 1–7, 2014.

KOJIMA, J. T. Atendendo solicitação d o (a) autor (a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 04/02/2018. 2016.

KROYMANN, J. **Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism**. **Current Opinion in Plant Biology**, jun. 2011.

KUMAR, A.; DEV, K.; SOURIRAJAN, A. Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., and the phyto-compounds, delta-carene and alpha-pinene mediate cell cycle arrest at G2/M transition in budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 296–305, 2021.

LAINEZ-CERÓN, E. et al. Effect of process variables on heating profiles and extraction mechanisms during hydrodistillation of *eucalyptus* essential oil. **Heliyon**, v. 7, n. 10, 2021.

LE GALL, V. L.; KLAFKE, G. M.; TORRES, T. T. **Detoxification mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus***. **Scientific Reports**, 2018a.

LE GALL, V. L.; KLAFKE, G. M.; TORRES, T. T. Detoxification mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018b.

LEITE, J. L. Estudo químico e atividade antifúngica de *Anemia tomentosa* (Anemiaceae). 2017.

LI, D. SEN et al. An extremely promiscuous terpenoid synthase from the Lamiaceae plant *Colquhounia coccinea* var. *mollis* catalyzes the formation of sester-/di-/sesqui-/monoterpenoids. **Plant communications**, v. 2, n. 5, p. 100233, 2021.

LIAO, P. et al. The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 697–713, 2016.

LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, 1 jun. 2021.

LIMA, I. O. et al. Antifungal activity and mode of action of carvacrol against *Candida albicans* strains. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 2, p. 138–142, 2013.

LIU, Z. et al. De novo biosynthesis of antimycobacterial agent geranylgeranyl acetate from glucose. **Biochemical Engineering Journal**, v. 142, n. October 2018, p. 84–88, 2019.

LOURENÇO, A. M. et al. Essential oil of *Siparuna guianensis* as an alternative tool for improved lepidopteran control and resistance management practices. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018.

LU, W. C. et al. Skin permeation of d-limonene-based nanoemulsions as a transdermal carrier prepared by ultrasonic emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 2, p. 826–832, 2014.

MAGALHAES, K. A. et al. Caprinos e ovinos no Brasil: análise da Produção da Pecuária Municipal 2019. **CIM . Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos**, v. 11, n. Tabela 1, 2020.

MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R. B. Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and menthofuran synthase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 15, p. 8915–8920, 2001.

MARCIA TEREZINHA RAMOS DE OLIVEIRA. SECAGEM E QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip. MARCIA TEREZINHA RAMOS DE OLIVEIRA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO-UENF CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ FEVEREIRO-2011. [s.l: s.n.].

MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 798–808, 2013a.

MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 798–808, 2013b.

MASWAL, M.; DAR, A. A. Formulation challenges in encapsulation and delivery of citral for improved food quality. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 182–195, 2014.

MASYITA, A. et al. Food Chemistry: X Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils , their roles in human health and potential application as natural food preservatives. **Food Chemistry: X**, v. 13, n. October 2021, p. 100217, 2022.

MELO, A. C. F. L. Caracterização do nematóide de ovino *Haemonchus contortus*, resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis no Estado do Ceará, Brasil. **Tese**, p. 104, 2005.

MICHEL, J.; ABD RANI, N. Z.; HUSAIN, K. A Review on the Potential Use of Medicinal Plants From Asteraceae and Lamiaceae Plant Family in Cardiovascular Diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. June, p. 1–26, 2020.

MIZIORKO, H. M. Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 505, n. 2, p. 131–143, 2011.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária (Vol. 1). São Paulo: Roca. , 2011.**

MONTEIRO, S. G. Parasitologia na medicina veterinária – 2ª ed. – Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370 p. p. 2–3, 2017.

MOSQUERA, MARTA. E. G. et al. Terpenes and Terpenoids: Building Blocks to Produce Biopolymers. **Sustainable Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 467–492, 2021.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus Curtice*, 1891 with *Rhipicephalus Koch*, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 3, p. 169–172, 2003.

NAKAJIMA, J. N. **A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade.** [s.l: s.n.].

NANDI, A.; MAZUMDAR, S.; BEHRMAN, J. R. The effect of natural disaster on fertility, birth spacing, and child sex ratio: evidence from a major earthquake in India. **Journal of Population Economics**, v. 31, n. 1, p. 267–293, 1 jan. 2018.

NAOKI KITAOKAA, 1, XUAN LUA, BING YANGB, AND R. J. P. HHS Public Access. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 1, p. 100–106, 2016.

NGUYEN MINH CHI. Pathogenicity of *Ceratocystis manginecans* in inoculated Acacia roots. **Indian Phytopathology**, v. 75, n. 1, p. 231–237, 1 mar. 2022.

OLIVEIRA, M. T. R. Secagem e qualidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (gardner) Sch. Bip. p. 197, 2011.

ORSI, E. et al. Metabolic flux ratio analysis by parallel ¹³C labeling of isoprenoid biosynthesis in *Rhodobacter sphaeroides*. **Metabolic Engineering**, v. 57, n. December 2019, p. 228–238, 2020.

OZTURK, B.; WINTERBURN, J.; GONZALEZ-MIQUEL, M. Orange peel waste valorisation through limonene extraction using bio-based solvents. **Biochemical Engineering Journal**, v. 151, n. March, p. 107298, 2019.

PEIXOTO, J. Relações entre sujeitos sociais e objetos técnicos: Uma reflexão necessária para investigar os processos educativos mediados por tecnologias. **Revista Brasileira de Educacao**, v. 20, n. 61, p. 317–332, 2015.

PENICHE-CARDEÑA, Á. et al. Acaricidal activity of Mexican plants against *Rhipicephalus microplus* resistant to amitraz and cypermethrin. **Veterinary Parasitology**, v. 307–308, n. May, p. 109733, 2022.

PEREIRA, A. A. Aspectos Ecológicos de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARINA: IXODIDAE) no Município de Franca, Nordeste de São Paulo. p. 125, 2008.

PESSOA, M. et al. Estudo taxonômico e etnobotânico sobre a família Asteraceae (Dumortier) em uma comunidade rural no Nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 2, p. 110–123, 2014.

PONTES, T. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR, CRESCIMENTO MICELIAL E CAPACIDADE PREDATÓRIA IN VITRO E IN VIVO DE ISOLADOS DE FUNGOS NEMATÓFAGOS DA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DE GUAXINDIBA, RJ. **Biomass Chem Eng**, v. 3, n. 2, p. 2018, **تفتتاح**.

PORTO, A. S.; ALMEIDA, I. V.; VICENTINI, V. E. P. Nanoemulsões formuladas para uso tópico: estudo de síntese e toxicidade Nanoemulsions formulated for topical use: a study of synthesis and toxicity. **Fitos**, v. 14, n. 4, p. 513–527, 2020.

PROFILE, S. . E. E.; AMARANTE, A. F. T. . DO. **Os parasitas de ovinos**. [s.l: s.n.].

PURSER, G. et al. A first assessment of the sources of isoprene and monoterpene emissions from a short-rotation coppice *Eucalyptus gunnii* bioenergy plantation in the United Kingdom. **Atmospheric Environment**, v. 262, n. June, p. 118617, 2021.

QIAO, Z. et al. An update on the function, biosynthesis and regulation of floral volatile terpenoids. **Horticulturae**, v. 7, n. 11, p. 1–22, 2021.

RANA, V. S.; DAS, M.; BLAZQUEZ, M. A. Essential Oil Yield, Chemical Composition, and Total Citral Content of Nine Cultivars of *Cymbopogon* Species from Western India. **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, v. 22, n. 4, p. 289–299, 2016.

RIBEIRO, R. N.; TELES, A. M. Eupatorieae (Asteraceae) in Serra Dourada State Park, Goiás, Brazil. **Rodriguesia**, v. 66, n. 3, p. 887–903, 2015.

ROBERTO, E. C. Caracterização e aplicação de sistemas micelares e microemulsionados como inibidores de corrosão. **Dissertação**, p. 152, 2010.

ROLNIK, A. et al. Antioxidant and hemostatic properties of preparations from Asteraceae family and their chemical composition – Comparative studies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 142, n. July, p. 111982, 2021a.

ROLNIK, A. et al. Antioxidant and hemostatic properties of preparations from Asteraceae family and their chemical composition – Comparative studies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 142, n. July, p. 111982, 2021b.

ROLNIK, A.; OLAS, B. The plants of the asteraceae family as agents in the protection of human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 1–10, 2021.

ROLNIK, A.; STOCHMAL, A.; OLAS, B. The in vitro anti-platelet activities of plant extracts from the Asteraceae family. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 149, n. March, p. 112809, 2022.

ROQUE, N. TELES, A.M., and NAKAJIMA, J.N., comp. Introdução. In: A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade [online]. Salvador: EDUFBA, 2017, pp. 19-35.

RUSTAIYAN, A.; FARIDCHEHR, A. Constituents and biological activities of selected genera of the Iranian Asteraceae family. **Journal of Herbal Medicine**, v. 25, n. September 2019, p. 100405, 2021.

SABZI NOJADEH, M. et al. Phytochemical profile of fennel essential oils and possible applications for natural antioxidant and controlling *Convolvulus arvensis* L. **Natural Product Research**, v. 35, n. 21, p. 4164–4168, 2021.

SAID-AL AHL, H.; HIKAL, W.; MAHMOUD, A. Essential Oils: Biosynthesis, chemistry and biological functions. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 8, p. 190–200, 2017.

SAKIPOVA, Z. et al. Quantification of santonin in eight species of *Artemisia* from Kazakhstan by means of HPLCUV: Method development and validation. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–12, 2017.

SALAM, A. M.; QUAVE, C. L. Opportunities for plant natural products in infection control. **Current Opinion in Microbiology**, v. 45, p. 189–194, 2018.

SALEHI, B. et al. Therapeutic potential of α -and β -pinene: A miracle gift of nature. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 1–34, 2019.

SANTOS, H. R. DOS. FATORES ABIÓTICOS NA BIOMASSA, TEOR E QUALIDADE DO. 2017.

SANTOS, P. B. DOS. Preparação e caracterização físico-química de complexos de inclusão de limoneno em α e β - Ciclodextrina. **Dissertação Mestrado Núcleo de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Sergipe**, v. 103, 2014.

SCZESNY-MORAES, E. A. et al. Anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes in sheep, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 229–236, 2010.

SHARIFI-RAD, J. et al. **Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems**. [s.l: s.n.]. v. 22

SILVA, J. D. F. DA et al. Microemulsions: Components, Characteristics, Potentialities in Food Chemistry and Other Applications. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1196–1206, 2015.

SILVA, M. J. F. DA et al. Development and characterization of a babassu nut oil-based moisturizing cosmetic emulsion with a high sun protection factor. **RSC Advances**, v. 10, n. 44, p. 26268–26276, 2020.

SILVA, G. M. F. et al. *Haemonchus contortus* em ovinos e caprinos. **Pubvet**, v. 13, n. 9, p. 1–4, 2019.

SILVA, G. R. et al. Identificação dos constituintes químicos e ensaio biológico do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae) Identification of chemical constituents and biological testing of the essential oil of *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae). **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 7, n. Atcc 18804, p. 1–14, 2021.

SILVEIRA, A. P. DA; BASSAN, J. S. Plantas medicinais e suas possíveis contribuições: um estudo bibliográfico em dissertações e teses presentes na BDTD no período 2015-2020. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e451101119907, 2021.

SLOAN, M. A. et al. Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits from parasitic nematodes in *Caenorhabditis elegans*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 204, n. 1, p. 44–50, 1 nov. 2015.

SOARES, G.; SANTOS, C. A. G.; LOEUILLE, B. Asteraceae na microrregião do Curimataú Ocidental, Estado da Paraíba, Brasil. **Hoehnea**, v. 48, 2021.

SONG, J.; ZHENG, Y. G. Bioorthogonal Reporters for Detecting and Profiling Protein Acetylation and Acylation. **SLAS Discovery**, v. 25, n. 2, p. 148–162, 2020.

SOUZAA, Á. D. N. DE et al. INIBIÇÃO À CORROSÃO DE AÇO-CARBONO EM MEIO SALINO PELO HETEROCICLO ISATINA VEICULADO EM MICROEMULSÕES. v. 40, n. 7, p. 760–768, 2017.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Veterinary Parasitology. 4th Edition. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 7, p. 1032, 2016.

TRITSCH, D. et al. Plant isoprenoid biosynthesis via the MEP pathway: In vivo IPP/DMAPP ratio produced by (E)-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase in tobacco BY-2 cell cultures. **FEBS Letters**, v. 584, n. 1, p. 129–134, 2010.

UGIURA, M. S. et al. Molecular Cloning and Characterization of a Linalool Synthase from *Lemon* Molecular Cloning and Characterization of a Linalool Synthase from *Lemon Myrtle*. n. September 2019, 2011.

YANG, J. et al. Biosynthesis of β -caryophyllene, a novel terpene-based high-density biofuel precursor, using engineered *Escherichia coli*. **Renewable Energy**, v. 99, p. 216–223, 2016.

YANG, W. et al. Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. **Natural Product Communications**, v. 15, n. 3, 2020.

YOPLAC, I. et al. Characterization and antimicrobial activity of microencapsulated citral with dextrin by spray drying. **Heliyon**, v. 7, n. 4, p. e06737, 2021.

ZAJAC, A. M.; GARZA, J. Biology, Epidemiology, and Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v.36, p.73-87, 2020. p. 1–31, 2020.

ZALDIVAR, M. F. et al. en teleoginas de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* In vitro acaricidal activity of the oil from *Jatropha curcas* L. in engorged females of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. v. 40, n. 1, p. 49–54, 2017.

ZALDÍVAR, M. F. Resistência a acaricidas no carrapato bovino *Rhipicephalus microplus* (Canestrini 1887): identificação de mutações e desenvolvimento de novos métodos de controle. n. Canestrini 1887, p. 113, 2020.

ZHANG, R. et al. Transcriptome analysis unraveled potential mechanisms of resistance to *Haemonchus contortus* infection in Merino sheep populations bred for parasite resistance. **Veterinary Research**, v. 50, n. 1, p. 1–13, 2019.

ZHAO, R. et al. Essential oil obtained from *Thlaspi arvense* L. leaves and seeds using microwave-assisted hydrodistillation and extraction in situ by vegetable oil and its antifungal activity against *Penicillium expansum*. **LWT**, v. 165, n. June, p. 113718, 2022.

ZOU, J. X. et al. Bisabolane, cadinane, and cyclonerane sesquiterpenes from an algicolous strain of *Trichoderma asperelloides*. **Bioorganic Chemistry**, v. 115, n. May, p. 105223, 2021.

Capítulo 1: Seasonal and Circadian Evaluation of the *Pectis brevipedunculata* Essential Oil and Its Acaricidal Activity against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)

Journal of the Brazilian Chemical Society
J. Braz. Chem. Soc., Vol. 00, No. 00, 1-10, 2023

<https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230017>

Marcos B. P. Camara,^a Aldilene S. Lima,^b Luis Oswaldo V. Jumbo,^{c,d,e} Caio P. Tavares,^f Cáritas de Jesus S. Mendonça,^b Odair S. Monteiro,^b Sabrina Helena C. Araújo,^e Eugênio Eduardo de Oliveira,^e José S. L. Neto,^g José Guilherme S. Maia,^b Livio M. Costa-Junior^f and Cláudia Q. da Rocha ^{*,a,b}

^aPrograma de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Universidade Federal do Maranhão, 65080-805 São Luís-MA, Brazil

^bDepartamento de Química, Universidade Federal do Maranhão, 65080-805 São Luís-MA, Brazil

^cCarrera de Agronomía, Universidad Nacional de Loja, Loja, 110103, Ecuador

^dPrograma de Pós-Graduação Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins (UFT), 77410-530 Gurupi-TO, Brazil

^eDepartamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa-MG, Brazil

^fDepartamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão, 65080-805 São Luís-MA, Brazil

^gDepartamento de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, 64049-550 Teresina-PI, Brazil

Pectis brevipedunculata are native species and widely available in dry and semi-arid ecosystems showing high biotechnological potential. The objective of this study was to evaluate the circadian and seasonal chemical variation of the essential oil (EO) of *P. brevipedunculata*, as well as its acaricide effect on *Rhipicephalus microplus* larvae. Aerial parts were collected and submitted to the hydrodistillation process, and the chemical composition was determined by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). For the assays with *R. microplus*, the larval immersion test was performed. The main constituents were citral (75% of the EO), followed by α -pinene and limonene. In the seasonality analysis, the highest yields were in the months of April (2.08%) and August (2.05%), while in the study of circadian rhythm, the percentage was 2.0% at 6 p.m. in the rainy season, and 1.2%, dry season at 6 p.m. Concerning acaricidal activity (50% lethal concentration (LC₅₀)), the April (1.17 mg mL⁻¹), March (1.28 mg mL⁻¹), June (1.37 mg mL⁻¹), and October (1.27 mg mL⁻¹) oils obtained were the most active and assays performed with circadian rhythm revealed in the rain season (April) at 6 p.m. and dry season (September) at 12 a.m. LC₅₀ values of 1.75 and 1.75 mg mL⁻¹, respectively. Additionally, this EO is selective to non-target organisms, i.e., ladybeetles and lacewing.

Keywords: Asteraceae, citral, acaricide, circadian, seasonal

Introduction

Natural products and their derivatives represent more than 50% of all the drugs in clinical use globally, and higher plants contribute no less than 25% of the total.^{1,2} Half of the flowering plant species of the world live in tropical forests, which continue to support a vast reservoir of potential drug species. The potential for finding more therapeutic compounds is significant, and until now only 1-2% of tropical species have been studied for their pharmaceutical potential. The existence of undiscovered pharmaceuticals for modern medicine has been cited as one of the most important reasons for protecting the tropical forests.³

Asteraceae is the most important family among the phanerogams, representing 10% of the total angiosperm flora and comprising about 1,600 genera and 23,000 species. It is represented by about 180 genera and 1,900 species in different vegetation formations in Brazil. Asteraceae have a cosmopolitan distribution, being spread across all continents, but with a broader representation in temperate and semi-arid regions of the tropics and subtropics.^{4,5} *Pectis* L. is the largest genus of the marigold tribe (Pectidinae: Tageteae), comprising about 90 annual and perennial species, adapted to warm regions of the New World, and occurring in savannas and openings of dry tropical forests of North America, Mexico, West Indies, Central and South America, and Pacific Islands. It is also characterized by opposite leaves with pairs of bristles at their bases, adnate phyllaries, having a floret as a single unit at maturity, and concise and densely papillose style branches.^{6,7}

Pectis brevipedunculata (Gardner) Sch. Bip. (syn. *P. rubiacea* Baker) is an endemic terrestrial herb, 2-26 cm tall, pubescent stems with simple trichomes, 2.5 cm internodes; membranous opposite leaves, linear to oblong blades, acute apex, and numerous circular oil glands; dimorphic flowers with yellow ligulate corolla 3.5-4.5 mm long, 3-toothed apex, with occurrence from North to Southeast Brazil. In addition, it is an ornamental aromatic herb found in a xenophilic environment, producing valuable essential oil (EO) with a strong lemongrass odor and various therapeutic uses.⁸⁻¹⁰ Although variation in EO composition is expected, *P. brevipedunculata* oil has citral (3,7-dimethyl-2,6-octadienal) as its primary constituent, a mixture of neral and geranial, which are two oxygenated monoterpene isomers.⁸⁻¹¹ The plants produce EOs as a defense mechanism against herbivorous and pathogens, and biotic and abiotic factors usually influence their chemical compositions.^{12,13} Abiotic factors, such as temperature and humidity influence the biotic organisms triggering a physiological circadian and seasonal change in plants that can be measured. The circadian cycle is correlated with the time of collecting plants throughout the day and the seasonal cycle in tropical regions with the rainy and dry seasons throughout the year.¹⁴ The tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) is the main ectoparasite responsible for severe economic losses to cattle breeding.^{15,16} Synthetic acaricides have been most frequently used for *R. microplus* control.^{17,18} On the other hand, the indiscriminate use of these synthetic acaricides has attributed resistance to ticks, as well as multiple acaricide-resistance has been reported.^{16,19} Thus, the plant biomolecules, such as the EOs, emerge as an alternative to synthetic chemicals in the tick control, showing significant advantages, such as the quick degradation in the environment, the synergistic effect of the constituents, selectivity to non-target organisms, and the resistance to these bioproducts which occurs in a slower form.²⁰⁻²²

Acaricidal and insecticide activity has been reported for neral and geranial, the major constituents of *P. brevipedunculata* essential oil.^{23,24} However, there is no report for the acaricidal effect of essential oil obtained at the different circadian and seasonal regimes and their selectivity to a non-target organism. Thus, this study aimed to evaluate the circadian and seasonal variation of the essential oil of *P. brevipedunculata* and its acaricide effect on *R. microplus* larvae and the selectivity to non-target organisms such as *Coleomegilla maculata* and *Eriopsis connexa* (lady beetle) and *Chrysoperla externa* (lacewing). On the other hand, it emphasizes the need for this study as a biotechnological potential since there were no significant changes in the oil yield and chemical composition to climatic factors, making it favorable for the development of new drugs.

Experimental

Collection and the plant identification

The herbaceous *P. brevipedunculata* was sampled at the campus of Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brazil, coordinates: 2°33'20.5"S/44°18'32.7"W. A voucher specimen was deposited in the Herbarium Rosa Mochel (SLUI), Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brazil, under the No. 5287. For the seasonal study, the plant was collected from January to December 2019, at 6 a.m., and for the circadian rhythm

evaluation, the collections were made in April (rainy season) and September (dry season), at 6, 9, and 12 a.m., and 3 and 6 p.m. The experiments were performed in triplicate. The plant was collected according to the Brazilian law for biodiversity protection (SisGen No. AAFB38B).

Oil extraction and composition

The entire plant of *P. brevipedunculata* (excepting root) was submitted to hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus (100 g, 2 h).²⁵ For the seasonal study, the plants were air-dried for 24 h before the hydrodistillation process, while for circadian rhythm, the fresh plants were used. The oils were dried over anhydrous sodium sulfate (ISOFAR, RJ, Brazil), and their yields were calculated in percentagem/v (mL per 100 g).²⁶

Essential oil analysis was performed on a gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)-QP2010 (Shimadzu Corporation, Japan) using a DB-5ms capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, USA) and equipped with the GCMS Solution software containing libraries.²⁷⁻²⁹ The analysis conditions were injector temperature of 250 °C; oven temperature programming of 35 °C for 6 min and then with a heating ramp of 10 °C min⁻¹ to 240 °C remaining for 10 min; split mode injection for 1.0 µL of the sample (oil 6.0 µL: *n*-hexane 500 µL), split ratio 1/30; ionization by electronic impact at 70 eV; ionization source and transfer line temperatures of 250 and 200 °C, respectively. The mass spectra were obtained by automatic scanning every 0.3 s, with mass fragments in the range of 35–400 *m/z*. Quantitative data regarding the volatile constituents were obtained by peak area normalization using gas chromatography with flame-ionization detection (GC-FID) 2010 series, operated under similar conditions of the GC-MS. Compound identification was achieved by comparison of the retention indices, determined using a homologous series of *n*-alkanes (C₈–C₃₂, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).³⁰ Oil components were identified by comparing their retention indices and mass spectra (molecular mass and fragmentation pattern) with those existing in the GCMS Solution system libraries.²³

Biological assay

Tick collection and rearing

The engorged *R. microplus* females (Santa Rita strain) were collected from artificially infected calves, washed with water, and dried with a paper towel. These engorged females were selected morphologically and kept under controlled laboratory conditions (27 ± 2 °C and relative humidity ≥ 80%) for 15 days until the eggs were laid. After egg hatching, larvae with 14 to 21 days were used for the subsequent larval immersion test. This study was approved by the UFMA ethics committee, under No. 23.115.008186/2017-18.

Larval immersion test

The *R. microplus* larvae immersion test was performed according to Klafke *et al.*¹⁹ Briefly, different concentrations (400–5000 µg mL⁻¹) of the EO were prepared, diluting it in 1.0% ethanol and 0.02% Triton X-100 solution, which served as a negative control of the test. Then, different concentrations (1 mL each) were transferred to 1.5 mL microtubes, and approximately 500 larvae were added to each tube, using the treatment and control solution for 10 min. The larvae were then dried, and about 100 larvae were transferred to a filter paper packet (8.5 cm × 7.5 cm), with subsequent sealing, and then were kept in an incubator at 27.0 ± 1.0 °C and 85% relative humidity for 24 h. After this time, alive and dead larvae were counted. Larvae without movement were considered dead. The experiment was performed with three replicates for each concentration.

Selectivity of essential oil to non-target organisms

The methodology described previously by Toledo *et al.*^{31,32} was used for this bioassay. A concentration of 0.11 mg cm² of *P. brevipedunculata* oil was used in the bioassay, corresponding to the highest value of the LC₅₀ (50% lethal concentration) applied against the *R. microplus* tick. The aliquots were dissolved in a mixture of dimethyl sulfoxide (2%), Tween 80 (1%), and distilled water, used as the solvent. Petri dishes (9 cm diameter, 1 cm depth) had their bottom-side covered with filter paper (Whatman No.1) and impregnated with 400 µL of solution. The filter paper was left to air-

dry(1 h) and, subsequently, groups of five ladybeetles adults of “ladybeetle” (*Coleomeguilla maculata* or *Eriopsis connexa*) with less than 10 days age were placed in the Petri dish. Six replicates for each species and treatment were performed, and the mortality was recorded after 24 h. In the case of “green lacewing” *Chrysoperla externa* was exposed to the same concentrations that ladybeetle (0.11 mg cm^{-2}) and with a similar procedure as described above, except that they were exposed individually in 20 smaller Petri dishes (6 cm diameter) to avoid cannibalism.³³

Six replicates for each species and treatment were performed, and the mortality was recorded after 24 h.

Statistical analysis

Statistical significance was assessed by the multivariate analysis ($P < 0.05$), and the Pearson correlation coefficients (R) were calculated to determine the relationship between the parameters analyzed (GraphPad Prism, version 8.0, San Diego, California, USA).³⁴ The doses were initially transformed to log (X), and the percentage of mortality normalized; subsequently, nonlinear regression was performed to obtain the LC_{50} using the GraphPad Prism 8.0.2 software.³⁴

Results and Discussion

Yield and composition of oils in the seasonal and circadian study

The yield and composition of the *P. brevipedunculata* essential oils during the seasonal study are displayed in Table 1. The yield of oils showed a higher content in January (2.1%) and May (2.1%) and the lower content in February (1.1%) and September (1.1%). Thirty-four constituents were identified and quantified by GC-MS and GC-FID, representing 99.6% of the total oils. The primary constituent of the oils was citral, a mixture of the isomers geranial (27.0 to 42.7%) and neral (22.8 to 33.2%), followed by α -pinene (7.2 to 19.8%), and limonene (5.3 to 9.4%), comprising an average value of 83.6% of the composition of the oils. The oil from January also showed the highest geranial (42.7%) and neral (33.2%) contents and the lowest α -pinene (7.2%) and limonene (5.3%) contents when compared with the other months of the year. On the other hand, the months of March and August presented the lowest contents for geranial (27.0 and 29.6%) and neral (22.8 and 22.9%), while the α -pinene (18.4 and 19.8%) and limonene (9.4 and 8.4%) contents were highest for the seasonal period. The variation between the main constituents can also be followed in analyzing the main classes of compounds in oils: oxygenated monoterpenes (OM) and monoterpene hydrocarbons (MH). In January, OM = 82.0% and MH = 12.8%. In March, June and August, OM = 66.4, 66.1 and 64.8% and MH = 30.0, 28.4 and 30.4% (see Table 1). About 2.0% of the composition of seasonal rhythm oils was also composed of fatty acids and their derivatives.

The yield and composition of *P. Brevipedunculata* essential oils during the circadian study are shown in Table 2. The average oil yields were higher in the rainy season, with 1.9% than in the dry season, with 1.1%. Low light hours (6 a.m., 2.1%; 6 p.m., 2.0%) seem to contribute to higher daily oil yields. Forty-five constituents were identified and quantified by GC-MS and GC-FID, representing 99.5% of the total oils. The lowest citral levels were observed at 9:00 a.m. (geranial, 30.3% + neral, 20.3%) and 3 p.m. (geranial, 32.2% + neral, 21.6%) in the rainy season, in contrast to the α -pinene (11.5 and 11.3%) and limonene (6.0 and 5.5%) which were the highest at the same time of day and seasonal period. The daily variation in the rainy season for oxygenated monoterpenes (OM) and monoterpene hydrocarbons (MH) was OM, 35.36%, and MH, 25.53%, respectively. For the dry period, the variation was OM, 38.7%, and MH, 28.3%, respectively, with more significant values. About 2.0% of the composition of seasonal rhythm oils is also composed of fatty acids and their derivatives. The rainy season showed a significant mean value for fatty acids and their derivatives, around 11.0%, compared to the dry season, only 3.1%.

Except for the common constituents identified in both seasonal and circadian cycle oils, the presence of other terpenoids and fatty acid derivatives, in small amounts, was observed in one or the other of these oils. In the seasonal study were α -thujene, germacrene B, and α -cadinene. In contrast, the circadian study included α -campholenal, neryl and geranyl formate, ethyl nerolate, *trans-p*-menth-6-en-2,8-diol, *trans*-myrtanol acetate, citronellyl acetone and citronellyl butanoate, caryophyllene oxide, humulol, humulene epoxide II, fluorensadiol, and the linoleic and oleic acids.

In the seasonal study of *P. brevipedunculata*, the plant samples were submitted to a previous drying for 24 h to know the monthly variation in the composition of its essential oils. In the circadian study, fresh plant samples were used to know the daily variation of the constituents of essential oils. The results obtained were a slight variation in the composition of oils from the seasonal period, in contrast to a more expressive variation in the composition of oils from the circadian period. Concerning the main constituents of the oils, it is also observed that the drying process has less influence in the citral content (neral + geranial), showing a slight variation when compared to the α -pinene and limonene contents, which had

significant variation between fresh and previously dried samples (see Tables 1 and 2). This influence of drying temperature on the chemical composition of *P. brevipedunculata* was evaluated by Oliveira *et al.*⁸ This information seems to be very important for the economic use of the plant.

The secondary metabolites represent a chemical interface between plants and the surrounding environment, and their biosynthesis is frequently affected by environmental conditions, with variation in their contents and relative proportions. Seasonality, circadian rhythm, developmental stage and age, temperature, water availability, UV radiation, soil nutrients, altitude, atmospheric composition, and tissue damage influence secondary metabolism.¹³

In previous works,^{9,10,35} the essential oils of *P. brevipedunculata* from Rio de Janeiro and Ceará, Brazil, were also characterized by a high percentage of citral (neral + geranial), followed by α -pinene and limonene. Nerol and geraniol, considered their precursor alcoholic enantiomers, were also identified with a much lower percentage.³⁶

Essential oils from other *Pectis* species were previously reported. The oil of *Pectis texana* Cory (syn. *P. angustifolia* var. *fastigiata* (A. Gray) D.J. Keil) from Texas, USA, showed thymol (48%) as the main constituent. The oil of *Pectis papposa* Harv. & A. Gray from California, USA, presented cuminaldehyde (47%), α -pinene (27%), and carvone (12%).³⁷ The oil of *Pectis prostrata* Cav. from Camagüey, Cuba, exhibited perillaldehyde (70%) and limonene (16%).³⁸ The oils of two samples of *Pectis apodocephala* Baker from Ceará, Brazil, were characterized by significant percentages of citral (78 and 53%), followed by α -pinene (11 and 4%) and limonene (7 and 6%).^{35,39} The oil of *Pectis oligocephala* (Gardner) Sch. Bip., from Ceará, Brazil, showed *p*-cymene (71%) and thymol (24%) as its primary constituents.³⁹ The oil of *Pectis odorata* Griseb. from Córdoba, Argentina, showed citral (50%) and limonene (50%) as their primary constituents.⁴⁰ Samples of *Pectis elongata* from Martinique, West Indies, have produced essential oils rich in citral (39 to 67%).⁴¹ The oil of *Pectis floribunda* A. Rich. (syn. *Pectis elongata* Kunth), existing in Cuba, showed perillaldehyde (44%), limonene (10%), and *cis*- and *trans*-limonene oxide (8%) as their primary constituents.⁴² Also, the oils of two *Pectis elongata* chemotypes from the Amazon presented citral (neral, 39% + geranial, 48%) plus perillaldehyde (52 to 82%) and limonene (34 to 44%) as their primary constituents.⁶

Pectis species have pleasant scents-like as citric, cumin, and oregano, due to the presence of monoterpene constituents in their volatile compositions. The main C₁₀-skeletal monoterpenes found in *Pectis* oils can be depicted according to their biosynthetic pathways: (1) nerol/neral and geraniol/geranial arranged in an acyclic-type skeleton, (2) α -pinene and α -pinene in a pinane-type skeleton, and (3) limonene, perillaldehyde, cuminaldehyde, carvone, *p*-cymene and thymol in a *p*-menthane-type skeleton (see Figure 1).^{6,43}

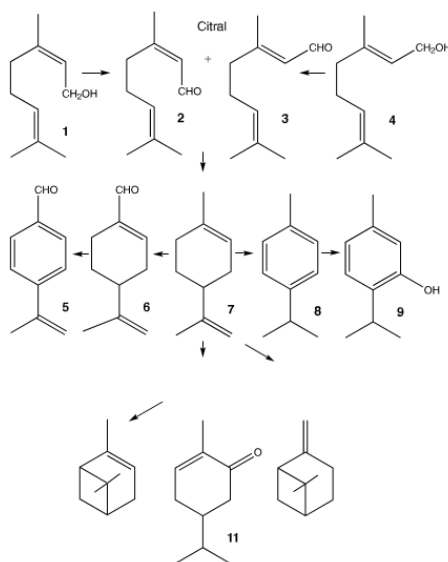


Figure 1. Monoterpenes found in *Pectis* oils and their biosynthetic relationship, involving interconversion by isomerization, cyclization, hydroxylation, and aromatization reactions. (1) Nerol, (2) neral, (3) geranial, (4) geraniol, (5) cuminaldehyde, (6) perillaldehyde, (7) limonene, (8) *p*-cymene, (9) thymol, (10) α -pinene, (11) carvone, and (12) β -pinene.

Table 1. Seasonal variation of the *Pectis brevipedunculata* essential oil

Yield / %			2.1	1.1	1.3	1.4	2.1	1.3	1.8	1.5	1.1	1.9	1.3	1.2
Constituent / %	RI _C	RI _L	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
α -Thujene	928	924 ^a			0.1					0.1	0.1			
α -Pinene ^b	935	932 ^a	7.2	15.4	18.4	17.7	16.5	17.9	16.2	19.8	18.1	18.4	18.1	18.6
Sabinene	975	969 ^a	0.3	0.6	0.7	0.6	0.7	0.8	0.6	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8
β -Pinene	979	974 ^a		0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4
6-Methyl-5-hepten-2-one	988	986 ^c	0.6	1.5	1.0	0.9	1.2	1.5	1.0	0.7	1.1	0.6	1.1	0.6
Myrcene	992	988 ^a		0.3	0.4	0.3	0.3		0.3	0.3	0.3	0.2	0.4	0.2
Limonene ^b	1032	1024 ^a	5.3	8.3	9.4	8.6	9.4	9.0	8.1	8.4	7.5	8.1	7.5	8.3
(E)- β -Ocimene	1050	1046 ^a		0.4	0.6	0.4	0.6	0.3	0.4	0.6	0.5	0.2	0.5	0.2
3-Methyl-1,2-cyclohexanedione	1094	1089 ^a	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.5	0.2	0.3	0.2	0.3
Linalool	1102	1095 ^a	0.7	0.9	1.3	1.3	1.3	1.5	1.2	0.9	0.8	1.1	0.9	1.3
exo-Isocitral	1147	1140 ^c		0.2	0.2	0.2		0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.4	0.1
(Z)-Isocitral	1165	1160 ^a	0.4	1.3	0.9	0.8	0.7	0.8	1.0	0.9	1.3	0.6	1.5	0.6
(E)-Isocitral	1183	1177 ^a	0.9	2.3	1.5	1.5	1.1	1.3	1.7	1.5	2.0	1.2	2.1	1.2
Terpinen-4-ol	1186	1180 ^a	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3	0.2
α -Terpineol	1200	1195 ^c	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2
Nerol	1228	1227 ^a	0.3	0.7	3.0	1.2	1.7	1.7	1.1	1.7	0.6	0.8	0.5	0.9
Neral ^b	1244	1235 ^a	33.2	27.5	22.8	26.3	24.8	24.0	26.7	22.9	26.3	25.6	26.0	25.1
Geraniol	1253	1249 ^a	1.9	2.5	8.5	3.9	5.0	4.4	3.4	6.2	2.3	3.5	2.0	3.7
Carvenone	1261	1255 ^a	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.1		0.2	0.1	0.3	
Geranial ^b	1273	1264 ^a	42.7	33.9	27.0	32.0	31.4	29.9	33.9	29.6	34.5	34.4	33.0	33.8
1-Tridecene	1295	1290 ^a	0.3	0.2		0.1	0.3	0.3	0.2	0.7	0.2	0.1	0.2	0.2
2,4-Octanediol	1339	1339 ^a	0.3			0.2		0.5	0.2			0.3	0.4	0.3
trans-p-Menth-6-en-2,8-diol	1369	1371 ^a	0.4		0.2	0.3	0.2	0.8	0.1			0.1	0.5	0.1
2-Undecen-1-ol	1374	1370 ^c	0.5		0.1	0.2	0.1	0.8	0.3			0.5	0.7	0.6
Geranyl acetate	1379	1379 ^a	0.4	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3	0.4
β -Elemene	1396	1389 ^a	0.6	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3
(E)-Caryophyllene	1430	1424 ^c	0.6	0.5	0.4	0.4	0.6	0.4	0.4	0.7	0.4	0.4	0.4	0.4
trans-Prenyl limonene	1467	1357 ^a	0.7	0.5	0.5	0.5	0.6	0.4	0.5	0.7	0.3	0.4	0.3	0.4
Germacrene D	1492	1484		0.3	0.3	0.2	0.3		0.1	0.3	0.1		0.1	
α -Alaskene	1520	1515 ^c	0.3	0.3	0.2		0.3		0.1	0.4	0.2	0.1		0.1
δ -Cadinene	1526	1522		0.1			0.1			0.1				
α -Muurolol (Torreyol)	1649	1644 ^a	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2
Valerianol	1663	1657 ^c	0.2	0.1	0.1					0.1	0.1	0.2		0.1
Linoleic acid	2133	2132 ^a						0.3				0.1	0.1	0.1
Monoterpene hydrocarbons / %			12.8	25.3	30.0	27.9	27.8	28.4	25.9	30.4	27.7	27.9	27.7	28.5
Oxygenated monoterpenes / %			82.0	70.2	66.4	68.5	67.2	66.1	70.1	64.8	68.8	68.1	68.1	67.6
Sesquiterpene hydrocarbons / %			2.2	2.0	1.7	1.4	2.3	1.3	1.4	2.5	1.2	1.1	1.0	1.2
Oxygenated sesquiterpenes / %			0.5	0.3	0.3	0.1	0.1		0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.3
Fatty acids and derivatives / %			2.0	1.9	1.4	1.7	2.0	3.8	2.0	1.9	1.5	1.9	2.7	2.1
Total / %			99.5	99.7	99.8	99.6	99.4	99.6	99.5	99.7	99.4	99.4	99.6	99.7

^aReference 26; ^bmain constituents; ^creference 27. RI_C: retention index calculated (Durabond-5ms column); RI_L: retention index from literature.

Table 2. Circadian rhythm of the *Pectis brevipedunculata* essential oil chemical composition during the rainy and dry seasons

Yield / %			2.1	1.9	1.8	1.8	2.0	1.3	1.1	1.1	0.9	1.2
Constituent / %	RI _C	RI _L	April (rainy season)					September (dry season)				
			6 a.m.	9 a.m.	12 a.m.	3 p.m.	6 p.m.	6 a.m.	9 a.m.	12 a.m.	3 p.m.	6 p.m.
α -Pinene ^a	935	932 ^b	4.7	11.5	8.2	11.3	8.2	8.4	12.6	14.0	12.6	10.1
Sabinene	975	969 ^b			0.2			0.3	0.4	0.5	0.4	0.4
β -Pinene	979	974 ^b							0.2	0.2	0.2	0.1
6-Methyl-5-hepten-2-one	988	986 ^c	0.4	0.4	0.7	0.4	0.7	0.4	0.8	0.5	0.8	0.5
Myrcene	992	988 ^b								0.1	0.1	
Limonene ^a	1032	1024 ^b	3.4	6.0	6.1	5.5	5.7	4.8	8.0	6.8	7.8	5.6
(<i>E</i>)- β -Ocimene	1050	1046 ^b								0.3	0.1	
3-Methyl-1,2-cyclohexanedione	1094	1089 ^b		0.4	0.2			0.2	0.3	0.3	0.2	0.3
Linalool	1102	1095 ^b	0.6	0.4	0.7	0.3	0.9	0.7	1.1	0.5	0.8	0.5
α -Campholenal	1131	1126 ^c		1.5		1.2	0.4		0.3			
<i>exo</i> -Isocitral	1147	1140 ^c						0.1		0.1	0.1	0.2
(<i>Z</i>)-Isocitral	1165	1160 ^b			0.4		0.4	0.5	0.4	0.6	0.5	0.7
(<i>E</i>)-Isocitral	1183	1177 ^b		0.4	0.8		0.7	1.1	0.9	1.2	1.0	1.1
Terpinen-4-ol	1186	1180 ^b								0.1	0.1	
α -Terpineol	1200	1195 ^c						0.2	0.3	0.1	0.2	
Nerol	1228	1227 ^b	1.1	0.4	0.9	0.4	0.7	1.3	0.5	0.9	0.6	1.0
Neral ^a	1243	1235 ^b	28.4	20.3	29.7	21.6	27.5	28.9	28.1	27.0	29.2	28.2
Geraniol	1253	1249 ^b	4.5	2.5	3.4	2.0	2.9	5.6	2.4	5.0	2.8	4.7
Carvenone	1261	1255 ^b	0.7	0.4	0.5	0.4	0.6	0.4	0.5	0.2	0.3	0.3
Geranial ^a	1273	1264 ^b	39.9	30.3	38.8	32.2	34.7	41.1	36.7	38.1	38.1	39.7
Neryl formate	1287	1280 ^b	0.3	0.4		0.7	0.4					
1-Tridecene	1294	1290 ^b	2.2	1.8	0.6	1.3	0.6	0.9	0.5	0.6	0.3	1.1
Geranyl formate	1300	1298 ^b	0.5	0.4		0.3						
Undecanal	1306	1305 ^b	0.4			0.5	0.4					
2,4-Octanediol	1338	1339 ^b	1.4	4.2	1.1	4.1	2.0	0.3	0.8	0.1	0.4	0.6
Ethyl nerolate	1348	1351 ^b	0.4	2.7	0.5	2.3	1.5	0.3			0.2	0.3
<i>trans</i> - <i>p</i> -Menth-6-en-2,8-diol	1369	1371 ^b	1.1	1.0	1.1	0.8	2.1	0.6	0.8	0.3	0.4	0.6
2-Undecen-1-ol	1374	1370 ^c	2.5	5.9	1.7	6.1	2.9	0.7	1.2	0.3	0.7	1.1
Geranyl acetate	1379	1379 ^b	0.7	0.7	0.4	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.3	0.4
<i>trans</i> -Myrtenol acetate	1387	1385 ^b		1.2	0.3	1.1	0.5					
β -Elemene	1396	1389 ^b	0.7	0.4	0.4	0.3	0.4	0.6	0.5	0.2	0.3	0.2
(<i>E</i>)-Caryophyllene	1430	1424 ^c			0.2			0.5	0.2	0.5	0.2	0.5
Citronellylacetone	1438	1435 ^c	0.7	0.6	0.3	0.7	0.4		0.2			
<i>trans</i> -Prenyl limonene	1467	1357 ^b			0.3			0.5	0.3	0.4	0.3	0.3
α -Alaskene	1520	1515 ^c	0.3					0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
Citronellyl butanoate	1531	1530 ^b	0.2		0.3		0.2				0.1	
Caryophyllene oxide	1595	1587 ^c	0.5	0.6		0.4	0.3	0.2				0.2
Humulol	1605	1604 ^c		0.4		0.4						
Humulene epoxide II	1623	1613 ^b	0.3	0.4	0.2	0.3	0.4	0.1	0.2			
α -Muurolool (torreyol)	1649	1644 ^b	0.3		0.2			0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
Valerianol	1663	1657 ^c						0.2				0.1
Fluorensadiol	1872	1869 ^b	0.4	0.5		0.4						
Linoleic acid	2133	2132 ^b	1.1	1.9	0.8	1.8	1.4	0.1	0.4		0.3	0.3
Oleic acid	2141	2141 ^b	0.7	1.2	0.4	1.1	0.8				0.1	0.2
Monoterpene hydrocarbons / %			8.1	17.5	14.5	16.8	13.9	13.5	21.2	21.9	21.2	16.2
Oxygenated monoterpene / %			79.8	64.0	78.5	65.3	75.4	81.3	72.9	74.5	74.7	77.7
Sesquiterpene hydrocarbons / %			1.0	0.4	0.9	0.3	0.4	1.8	1.2	1.2	0.9	1.2
Oxygenated sesquiterpene / %			1.5	1.9	0.4	1.5	0.7	0.7	0.4	0.1	0.1	0.5
Fatty acids and derivatives / %			8.7	15.8	5.5	15.3	8.8	2.6	4.0	1.8	2.8	4.1
Total / %			99.1	99.2	99.8	99.2	99.2	99.9	99.7	99.5	99.7	99.7

^aMain constituents; ^breference 26; ^creference 27. RI_C: retention index calculated (Durabond-5ms column); RI_L: retention index from literature.

Acaricidal activity assay

The lethal concentration of the *P. brevipedunculata* EO exhibited variation according to the collection month and hours. The EO obtained in March, April and October was the most toxic to *R. microplus* with the $LC_{50} = 1.280$ (1.126-1.413); $LC_{50} = 1.170$ (1.158-1.191); $LC_{50} = 1.270$ (1.089-1.408) $mg\ mL^{-1}$, respectively; conversely, the lowest lethal concentration was observed for May $LC_{50} = 2.840\ mg\ mL^{-1}$ (2.706-2.972), (Table 3). In the circadian rhythm, the oil obtained in the rainy season at 6 p.m. was the most toxic, with $LC_{50} = 1.750\ mg\ mL^{-1}$ (1.709-1.798) and the essential oil extracted at 6 p.m. was the least toxic with $LC_{50} = > 5\ mg\ mL^{-1}$ (Figure 2). On the dry season, the essential oil extracted at 12 p.m. was the most toxic $LC_{50} = 1.750$ (1.669-1.823) and the extracted at 9 a.m. and 3 p.m. were the less toxic with $LC_{50} = > 5\ mg\ mL^{-1}$ (Figure 2).

Table 3. Efficacy of the oils of *Pectis brevipedunculata* against the *Rhipicephalus microplus* larvae

Oil/seasonal	Month	LC_{50} / ($mg\ mL^{-1}$)	$CI_{95\%}$	R^2
<i>Pectis brevipedunculata</i>	January	1.89af	1.744-2.054	0.94
	February	1.79a	1.716-1.868	0.98
	March	1.28beg	1.126-1.413	0.87
	April	1.17bg	1.158-1.191	0.99
	May	2.84c	2.706-2.972	0.98
	June	1.37de	1.248-1.475	0.92
	July	1.78a	1.725-1.839	0.99
	August	1.96f	1.925-2.000	0.99
	September	2.02f	1.967-2.077	0.99
	October	1.27gbe	1.089-1.408	0.85
	November	1.72ha	1.642-1.794	0.97
	December	2.38i	2.299-2.476	0.98

The same lowercase letters in the rows inside each seasonal period do not have differences by the $CI_{95\%}$. LC_{50} : concentration at which 50% of the *R. microplus* larvae died; 95% CI: confidence interval at 95% probability; R^2 : coefficient of determination.

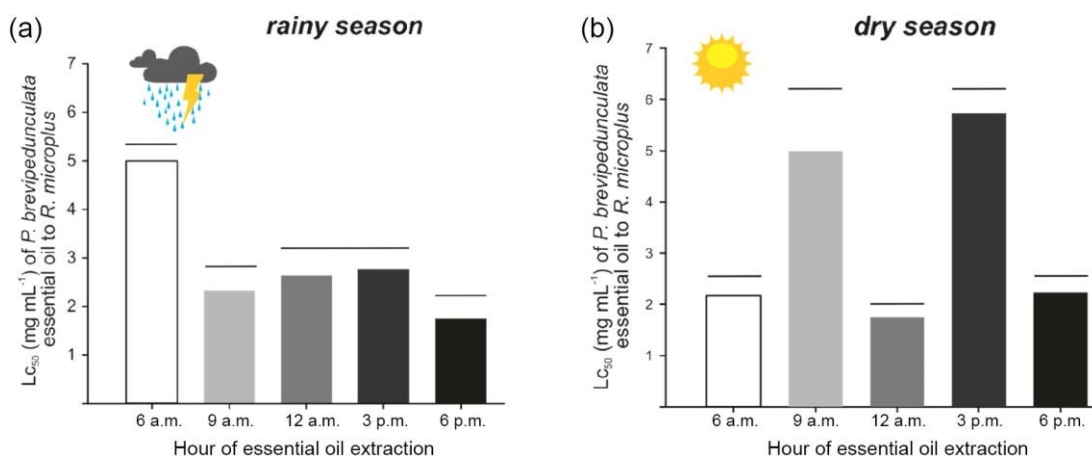


Figure 2. Variation of toxicity of the essential oil of *Pectis brevipedunculata* against the *Rhipicephalus microplus* according to the season and hour of extraction. Horizontal lines on the same level or grouping the same bars do not significantly differ by the confidential interval 95% at 95% probability.

Selectivity to non-target organism

Essential oil of *P. brevipedunculata* was selective to non-target organisms. Neither predator insect (*E. connexa*, *C. maculate*) nor the lacewings (*C. externa*) died with the applied concentration (0.11 $mg\ cm^2$) corresponding to the highest LC_{50} (7 $mg\ mL^{-1}$) estimated to *R. microplus* (Figure 3).

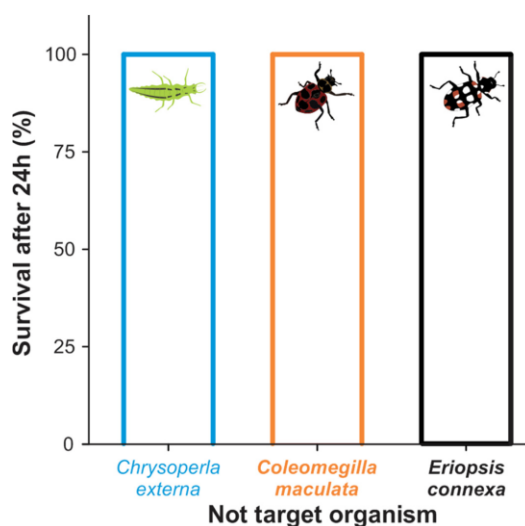


Figure 3. Survival of non-target organisms after 24 h of exposed to highest LC₅₀ estimated to *R. microplus*.

The high production of neral and geranial could be related to direct defense against herbivorous due to the toxicity previously demonstrated.^{36,44-48} However, the plants also need to attract pollinators and benefic organisms. Previous studies⁴⁹⁻⁵³ related that emission in moderate quantities of α -pinene alone or with limonene attract pollinators, parasitoids and predator insects. This would also explain the higher production in the dry season, and the balanced production of these compounds during the highest solar radiation that is when the arthropods are most active. As the production of biocompounds by *P. brevipedunculata* varied with the seasonal and the hours of day, this directly influenced in the toxicity of this essential oil against *R. microplus*. Here, essential oil extracted in March, April and October was most toxic against this tick; as well as the extracted at 6 p.m. and 12 a.m. for rainy and dry season, respectively. Although exist few studies on acaricidal proprieties of this plant, *R. microplus* resistant to amidines and synthetic pyrethroids or organophosphates are susceptible to EO with neral and geranial or citral isolated.^{12,24} On the other hand, the toxicity of these compounds against different organisms was also demonstrated.^{8,47,48,54} So, EO of *P. brevipedunculata* can be an alternative for the control *R. microplus*, with a major efficiency if this product is extracted in certain seasonal periods, without affecting non-target organisms.

Conclusions

The specie *P. brevipedunculata* can represent an important source of bioproducts to control *R. microplus* due to the high yield of EO; and with less chemical variation in their compounds, both in the seasonal and circadian period. Additionally, this essential oil is selective to non-target organisms, i.e., ladybeetles and lacewings.

Acknowledgments

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) - Finance Code 001 and grant No. 88887.472618/2019-00-PROCAD-AM, (CQR), Financiadora de Estudos e Projetos (INCT Biotecnologia (LMCJ)) and Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (grant No. INFRA-02263/21 (CQR), INCT-2677/17 (LMCJ)). The authors wish to thank CAPES (Brazilian Federal Agency for support and evaluation of Postdoctoral) for the research fellowship to A. S. Lima.

Author Contributions

MBPC, ASL, LMCJ, LOVJ, JGSM and CQR were responsible for data curation, investigation, methodology and writing original draft; MBPC, ASL, OSM, CJSM, JSLN, JGSM and CQR for chemical analysis and writing original draft; ASL, LMCJ, SHCA, EEO and LMCJ for biological studies; CQR for project administration; LMCJ and CQR for funding acquisition; LMCJ, JGSM and CQR for supervision; MBPC, ASL, LVJ, LOVJ, JGSM and CQR for visualization.

References

1. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 629. [Crossref]
2. Pan, S.-Y.; Zhou, S.-F.; Gao, S.-H.; Yu, Z.-L.; Zhang, S.-F.; Tang, M.-K.; Sun, J.-N.; Ma, D.-L.; Han, Y.-F.; Fong, W.-F.; Ko, K.-M.; *J. Evidence-Based Complementary Altern. Med.* **2013**, *2013*, ID 627375. [Crossref]
3. Gurib-Fakim, A.; *Mol. Aspects Med.* **2006**, *27*, 1. [Crossref]
4. Andenberg, A. A.; Baldwin, B. G.; Bayer, R. G.; Breitwieser, J.; Jeffrey, C.; Dillon, M. O. In *The Families and Genera of Vascular Plants, Flowering Plants Eudicots Asterales*, vol. VIII; Kubitski, K.; Cadereit, J. W.; Jeffrey, C., eds.; Springer-Verlag: Heidelberg, 2007.
5. Roque, N.; Bautista, H.; *Asteraceae: Caracterização e Morfologia Floral*; Edufba: Salvador, 2008.
6. Massing, L. T.; Suemitsu, C.; Sarrazin, S. L. F.; Tremea, A.; Maia, J. G. S.; Mourão, R. H. V.; *Eur. J. Med. Plants* **2021**, *32*, 37. [Crossref]
7. Keil D. J. In *Flora of North America: Magnoliophyta, Asteridae, Asteraceae*, vol. 21; Flora North America Editorial Committee, ed.; Flora North America Association, Oxford University Press: Oxford, 2006, p. 222-230.
8. de Oliveira, M. T. R.; Berbert, P. A.; Matos, C. R. R.; Mathias, L.; Moreira, R. O.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1200. [Crossref]
9. Pereira, S.; Marques, A.; Sudo, R. T.; Kaplan, M. A.; Zapata-Sudo, G.; *Molecules* **2013**, *18*, 3072. [Crossref]
10. Marques, A. M.; Lima, C. H. P.; Alviano, D. S.; Alviano, C. S.; Esteves, R. L.; Kaplan, M. A. C.; *Emirates J. Food Agric.* **2013**, *25*, 798. [Crossref]
11. Long, N.; Tang, H.; Sun, F.; Dai, M.; *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *99*, 4423. [Crossref]
12. Cardoso, A. S.; Santos, E. G. G.; Lima, A. S.; Temeyer, K. B.; Pérez de León, A. A.; Costa, L. M.; Soares, A. M. S.; *Vet. Parasitol.* **2020**, *280*, 109090. [Crossref]
13. Gobbo-neto, L.; Lopes, N. P.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 374. [Crossref]
14. Silva, S. G.; Figueiredo, P. L. B.; Nascimento, L. D.; da Costa, W. A.; Maia, J. G. S.; Andrade, E. H. A.; *Chem. Cent. J.* **2018**, *113*. [Crossref]
15. Kumar, R.; Klafke, G. M.; Miller, R. J.; *Ticks Tick-Borne Dis.* **2020**, *11*, 101404. [Crossref]
16. Vilela, V. L. R.; Ferreira, T.; Bezerra, R. A.; Klafke, G. M.; Riet-Correa, F.; *Ticks Tick-Borne Dis.* **2020**, *11*, 101413. [Crossref]
17. Castro Janer, E.; Klafke, G. M.; Capurro, M. L.; Schumaker, T. T. S.; *Vet. Parasitol.* **2015**, *210*, 77. [Crossref]
18. Rodríguez-Vivas, R. I.; Miller, R. J.; Ojeda-Chi, M. M.; Rosado-Aguilar, J. A.; Trinidad-Martínez, I. C.; Pérez de León, A. A.; *Vet. Parasitol.* **2014**, *200*, 179. [Crossref]
19. Klafke, G. M.; Sabatini, G. A.; de Albuquerque, T. A.; Martins, J. R.; Kemp, D. H.; Miller, R. J.; Schumaker, T. T. S.; *Vet. Parasitol.* **2006**, *142*, 386. [Crossref]
20. Borges, L. M. F.; Ferri, P. H.; Silva, W. J.; Silva, W. C.; Silva, J. G.; *Med. Vet. Entomol.* **2003**, *17*, 228. [Crossref]
21. Díaz, E. L.; Camberos, E. P.; Adolfo, G.; Herrera, C.; Espinosa, M. E.; Andrews, H. E.; Angélica, N.; Buelnas, P.; Ortega, A. G.; Velázquez, M. M.; *Exp. Parasitol.* **2019**, *201*, 26. [Crossref]
22. Politi, A. F. S.; Regina, R.; Alves, A.; Jacob, I.; Bruno, M.; Sampieri, R.; Izabel, M.; Mathias, C.; Figueiredo, A.; Carolina, A.; Chagas, D. S.; Furlan, M.; *Exp. Appl. Acarol.* **2019**, *77*, 601. [Crossref]
23. Lima, A. S.; Costa Jr., H. N. P.; Costa Jr., L. M.; Monteiro, O. S.; Maia, J. G. S.; Rocha, C. Q.; *Acta Trop.* **2021**, *218*, 105912. [Crossref]
24. Peixoto, M. G.; Costa-Júnior, L. M.; Blank, A. F.; Lima, A. S.; Menezes, T. S. A.; Santos, D. A.; Alves, P. B.; Cavalcanti, S. C. H.; Bacci, L.; Arrigoni-Blank, M. F.; *Vet. Parasitol.* **2015**, *210*, 118. [Crossref]
25. Maia, J. G. S.; Andrade, E. H. A.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 595. [Crossref]

26. Raposo, J. D. A.; Figueiredo, P. L. B.; Santana, R. L.; da Silva Jr., A. Q.; Suemitsu, C.; da Silva, R.; Mourão, R. H. V.; Maia, J. G. S.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2018**, 79, 21. [Crossref]
27. Mondello, L.; *Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds: Mass Spectral Database*, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2011.
28. Adams, R. P.; *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 4th ed.; Allured Publishing: Carol Stream, 2007.
29. National Institute of Standards and Technology (NIST); *Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH, v.2.0d)*; The NIST Mass Spectrometry Data Center: Gaithersburg, USA, 2005.
30. Dool, H. V. D.; Kratz, P. D.; *J. Chromatogr.* **1963**, 11, 463. [Crossref]
31. Toledo, P. F. S.; Viteri Jumbo, L. O.; Rezende, S. M.; Haddi, K.; Silva, B. A.; Mello, T. S.; Della Lucia, T. M. C.; Aguiar, R. W. S.; Smagghe, G.; Oliveira, E. E.; *Sci. Total Environ.* **2020**, 718, 137328. [Crossref]
32. Toledo, P. F. S.; Ferreira, T. P.; Bastos, I. M. A. S.; Rezende, S. M.; Viteri Jumbo, L. O.; Didonet, J.; Andrade, B. S.; Melo, T. S.; Smagghe, G.; Oliveira, E. E.; Aguiar, R. W. S.; *Environ. Pollut.* **2019**, 255, 113153. [Crossref]
33. Britto, I. O.; Araújo, S. H. C.; Toledo, P. F. S.; Lima, G. D. A.; Salustiano, I. V.; Alves, J. R.; Mantilla-Afanador, J. G.; Kohlhoff, M.; Oliveira, E. E.; Leite, J. P. V.; *Pest Manage. Sci.* **2021**, 77, 4638. [https://doi.org/10.1002/ps.6504]
34. GraphPad Software; *GraphPad Prism 8.2*; GraphPad Software, USA, 2019.
35. Craveiro, A. A.; Andrade, C. H. S.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Machado, M. I.; *J. Nat. Prod.* **1986**, 49, 361.
36. Chen, W.; Viljoen, A. M.; *S. Afr. J. Bot.* **2010**, 76, 643. [Crossref]
37. Bradley, C. E.; Haagen-Smit, A. J.; *Chemurg. Dig.* **1949**, 8, 12.
38. Pino, J. A.; Rosado, A.; Fuentes, V.; *J. Essent. Oil Res.* **1996**, 8, 579. [Crossref]
39. Albuquerque, M. R. J. R.; Souza, E. B. D.; Mesquita, E. F.; Nunes, E. P.; Cunha, A. N.; Silveira, E. R.; *J. Essent. Oil Res.* **2003**, 15, 372. [Crossref]
40. Duschatzky, C. B.; Possetto, M. L.; Talarico, L. B.; García, C. C.; Michis, F.; Almeida, N. V.; de Lampasona, M. P.; Schuff, C.; Damonte, E. B.; *Antiviral Chem. Chemother.* **2005**, 16, 247. [Crossref]
41. Pino, J. A.; Rosado, A.; Fuentes, V.; *J. Essent. Oil Res.* **1999**, 11, 31. [Crossref]
42. Dewick, P. M.; *Nat. Prod. Rep.* **2002**, 19, 181. [Crossref]
43. Aungtikun, J.; Soonwera, M.; Sittichok, S.; *Ind. Crops Prod.* **2021**, 164, 113386. [Crossref]
44. Bossou, A. D.; Mangelinckx, S.; Yedomonhan, H.; Boko, P. M.; Akogbeto, M. C.; De Kimpe, N.; Avlessi, F.; Sohounhloue, D. C. K.; *Parasites Vectors* **2013**, 6, 337. [Crossref]
45. Jang, M.; Kim, J.; Yoon, K. A.; Lee, S. H.; Park, C. G.; *Pest Manage. Sci.* **2017**, 73, 404. [Crossref]
46. Plata-rueda, A.; Da, G.; Rolim, S.; Wilcken, C. F.; Zancunio, C.; Serr, E.; Carlos, L.; *Insects* **2020**, 11, 1. [Crossref]
47. Tak, J.-H.; Isman, M. B.; *Pestic. Biochem. Physiol.* **2016**, 133, 20. [Crossref]
48. Stökl, J.; Strutz, A.; Dafni, A.; Svatos, A.; Doubisky, J.; Knaden, M.; Sachse, S.; Hansson, B. S.; Stensmyr, M. C.; *Curr. Biol.* **2010**, 20, 1846. [Crossref]
49. Alsabte, A.; Hussain, N. H.; *Iraqi J. Soil Sci.* **2020**, 20, 248.
50. Zhang, T.; Wang, B.; Miao, B.-G.; Peng, Y.-Q.; *Chinese J. Plant Ecol.* **2017**, 41, 549. [Crossref]
51. Wang, S.; Fu, W.-L.; Du, W.; Zhang, Q.; Li, Y.; Lyu, Y. S.; Wang, X.-F.; *Ecol. Evol.* **2018**, 8, 3187. [Crossref]
52. Song, C.; Rohr, R. P.; Saavedra, S.; *J. Anim. Ecol.* **2017**, 86, 1417. [Crossref]
53. Fagodia, S. K.; Singh, H. P.; Batish, D. R.; Kohli, R. K.; *Ind. Crops Prod.* **2017**, 108, 708. [Crossref]

Capítulo 2: Anthelmintic evaluation and essential oil composition of *Pectis brevipedunculata*

Acta Tropica

Status: a ser publicado

Marcos Bispo Pinheiro Camara^a, Aldilene da Silva Lima^a, Dauana Mesquita-Sousa^b, Rayssa de Queiroz Araújo^b, Cáritas de Jesus S. Mendonça^a, José Guilherme Soares Maia^a, Livio Martins Costa-Junior^b; Claudia Quintino da Rocha^a

^a Department of Chemistry, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

^b Department of Pathology, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

Abstract

Pectis brevipedunculata, native species and widely available in dry and semi-arid ecosystems, has a high production of essential oil with Citral as major compound, known for its antiparasitic effect. The aim of the present study was to determine the anthelmintic activity of *P. brevipedunculata* essential oil, obtained from seasonal and circadian collections, against the experimental model of *Caenorhabditis elegans* and *Haemonchus contortus* eggs. Aerial parts of *P. brevipedunculata* were collected and submitted to the hydrodistillation process and the chemical composition was determined by GC-MS. Thirty essential oil constituents were identified by gas chromatography (GC) and mass spectrometry (MS). The main constituents were Citral (Geranial, Neral - 75% of the EO), followed by α -Pinene, D-Limonene, with a predominance of oxygenated monoterpenes. The results of the motility tests for seasonal and circadian oils of *P. brevipedunculata* performed on adults of *C. elegans* showed high anthelmintic activity. The *P. brevipedunculata* oil collected in November showed the lowest inhibitory value with an IC₅₀ value of 0.04 mg/mL for the Bristol N₂ strain, followed by the month of December with an IC₅₀=0.14 mg/mL. For the circadian rhythm, the 6 hours of April and September had the lowest inhibitory concentration, with 0.64 and 0.56 mg/mL, respectively. As for *H. contortus*, tested seasonal EOs showed inhibitory concentrations lower than 0.3 mg/mL, with the lowest for December (IC₅₀=0.01 mg/mL, CI 95 %=0.00308 - 0.03769) and the highest in July (IC₅₀=0.37 mg/mL, IC₉₅%=0.342 - 0.395). In the seasonal collection, the best result was obtained at 6 am and 6 pm, in September, IC₅₀ of 0.08 mg/mL and 0.09 mg/mL, with a difference of 3 times between 6 a.m and 5 times 6 pm in April. The oils collected in seasonal and circadian regimes showed significant anthelmintic activity against *C. elegans* and *H. contortus*, showing great biotechnological potential of this plant species for pharmaceutical preparations against *H. contortus*.

Keywords: Nematodes, *Caenorhabditis elegans*, *Haemonchus contortus*, Essential oil, Citral

1. Introduction

Plants naturally produce numerous volatile chemical substances, which are used for plant attractant or repellent purposes, and as an important source of molecules for medicine (ADENUBI et al., 2018; ROLNIK; OLAS, 2021). The volatile chemical of essential oils (EO) is a mixture of compounds lipophilic, consisting mainly of carbon and hydrogen, with one or more functional groups, such as, terpenes and sesquiterpenes (AZIZ et al., 2018). The Asteraceae family including over 1,600 genera and 25,000 species worldwide (ROLNIK; OLAS, 2021). *Pectis* is a genus this family, comprises about 90 annual and perennial species, is a small herb (10-20 cm), native to the Americas, with diverse in México, Caribbean, northern Argentina and Brazil, adapted to the climate of tropical, subtropical and temperate regions (HANSEN et al., 2016; KEIL, 1984). Most *Pectis* species are rich in essential oil, and are widely used in traditional medicine (DE FÁTIMA AGRA; DE FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007). *Pectis* species were described with hypertension, stomach disorders, colds, analgesic, nematicidal and larvicidal activities (MARQUES et al., 2013; PEREIRA et al., 2013).

Pectis brevipedunculata (Gardner) Sch. Bip., is an aromatic ornamental species, small size, of lemongrass odor (MARQUES et al., 2013). Its EO has a characteristic aroma, characterized by the high concentration of citral monoterpene (cis- and trans-isomers: geranial and neral) (DE OLIVEIRA et al., 2011; PEREIRA et al., 2013). In medicine traditional *P. brevipedunculata* has been used as sedative, vasodilator, and others.

Under the influence of environmental factors, the chemical composition of the EO can change in yield or percentage of the compounds, among them factors, the circadian regime (time of collection of the leaves of plant throughout the day), and the seasonality (collection during the year) can undergo a qualitative and quantitative change the OEs of many plants (SILVA et al., 2018). The plant can change its oil production, when it exposes the temperature, relative humidity, precipitation and solar radiation during the day or a rainy or dry period (seasonal) (GOBBO-NETO; LOPES, 2007a). This chemical variation of the EOs can directly interfere with the biological effect of the EOs. The combination of drug with natural products becomes efficient against anthelmintic, demonstrating the chemical association between the compounds, which justifies its effectiveness by the change in the egg's ultrastructure (SILVA et al., 2021).

Essential oils have been explored for their anthelmintic activity and your effect have been reported as alternative in controlling of gastrointestinal nematodes in small ruminants (FERREIRA et al., 2016; KATIKI et al., 2017; LIMA et al., 2021). Small ruminants are infected

by *Haemonchus contortus*, causing significant losses in the production (DE OLIVEIRA et al., 2017). In the last decades, the control of this gastrointestinal nematodes has been based on chemotherapy's preventive or curative use. However, failures in treatment regimens have accelerated the process of nematode resistance to available synthetic drugs (CHAGAS et al., 2013; NICIURA et al., 2020).

The selection *in vitro* of plant E.Os. with anthelmintic effect has been facilitated by using experimental models, as the nematode *Caenorhabditis elegans* (Rhabditida) (LIMA et al., 2021, 2022), enabling more rapid selection of numerous molecules. *C. elegans* is a free-living nematode naturally found, which has a genetic similar the *H. contortus* (LAING et al., 2013). This study aimed to determine the activity anthelminthic of the essential oil of *P. brevipedunculata*, obtained in seasonal and circadian collections against *C. elegans* model experimental and eggs from *H. contortus*.

2 Materials and methods

2.1 Collection and identification of plant

Pectis brevipedunculata plants were collected at the campus of Federal University of Maranhão (UFMA), São Luis, Brazil (2° 33' 20.5 "S 44° 18' 32.7 "W). A voucher specimen was deposited at Herbarium Rosa Mochel (SLUI) of State University of Maranhão (UEMA), Brazil under the number 5287. For the seasonal study, the aerial parts of the plant were collected during the months of January to December 2019, at 6 a.m. For the circadian cycle evaluation, the collections were made in April and September (rainy and dry season, respectively) at 6, 9, and 12 a.m; and 3 and 6 p.m (CAMARA, et al., 2023). The plant was collected in agreement with the Brazilian laws concerning the protection of biodiversity (SISGEN n° AAFB38B).

2.2 Essentials oil extraction and of Chemical Composition Analysis

Aerial parts of *P. brevipedunculata* were submitted to hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus (100 g, 2 h) (MAIA; ANDRADE, 2009). For seasonal study analysis, aerial parts were air-dried for 24 hours before the extraction process and for circadian cycle were used fresh material (CAMARA, et al., 2023). The oils were dried over anhydrous sodium sulfate (ISOFAR, RJ, Brazil) and oil yield was calculated in % m/v (mL/100 g).

Analysis of essential oil was carried out by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using (CG-EM QP2010 Plus - Shimadzu), using a DB-5MS capillary column (30m x 0.25mm x 0.25µm), The carrier gas flow rate, Helium at a linear velocity of 47.5 cm/sec and column flow rate 1.0 mL/min, programmed temperature, 35 °C for 6 min with a heating ramp of 10 °C/min to 240 °C remaining for 10 min. Injector and ion source temperature was 250 °C and 200 °C, respectively, Split injection mode with 1/30 ratio, Run time 36-50 min. Mass spectra will be obtained by electron impact at 70 eV energy. Quantitative data regarding the volatile constituents were obtained by peak area normalization using a GC/FID, operated under conditions like those used for GC-MS. The retention index was calculated for all volatile constituents using a homologous series of n-alkanes (C8–C32, Sigma-Aldrich). Individual components will be identified by comparison of both mass spectra data and retention indices of authentic compounds, previously analyzed and stored in commercial library (ADAMS, 2007), NIST014s equipment (National Institute of Standards and Technology) and mass spectra of volatile compounds commonly found in essential oils (LIMA et al., 2021).

3 Biological assay

3.1 Maintenance of *C. elegans*

Adults of *C. elegans*, susceptible (wild strain, Bristol N2), were maintained in a nematode growth medium (NGM) and fed with the *Escherichia coli* NA22 bacteria, at 22°C. Young adult worms and adult nematodes aged four to five days old were isolated from the culture plates, selected in an inverted optical microscope (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany), and used for the *C. elegans* motility test.

3.2 *Caenorhabditis elegans* motility test

The motility test was performed according to Katiki et al. (2011). A balanced saline solution (M9), containing KH₂PO₄ (3 g), Na₂HPO₄ (6 g), NaCl (5 g), MgSO₄ (1.0 mL), and H₂O (1.0 L) was used for the preparation of the various treatments with the nematodes. The test was carried out in 96-well plates, with three replicates for each concentration. Negative and positive controls were M9 solution and Tween 80 (3%) and ivermectin, respectively. About 50 adult nematodes were added in 200 µL of M9 solution. The concentration of oil and the monoterpenes used as standards (Sigma-Aldrich, USA), diluted in 3% Tween 80, varied from

0.001 to 10.0 mg/mL. The solutions were incubated for 24 h, at 24 °C. After this period, the number of live and dead nematodes were evaluated using an inverted microscope (Carl Zeiss). Nematodes without movement during five seconds of observation were considered dead.

3.3 Anthelmintic test against *Haemonchus contortus*

Eggs were obtained from a donor sheep with a monospecific experimental infection of *H. contortus* (Silva et al., 2021b). The test was performed according to Coles et al., 1992. The eggs were recovered using a saturated solution of sodium chloride solution, followed by centrifugation for three minutes. The floating eggs were collected and washed in distilled water. Approximately 100 eggs/well were placed in a 96-well plate containing the different treatments tested. The OEs of *P. brevipendunculata* collected in seasonal and circadian regime were individually diluted in 3% Tween in different concentrations, ranging from 10.0 to 0.001 mg/mL. Each samples test was performed in triplicate, using at least twelve concentrations. The negative control was performed with 3% Tween. The eggs were incubated for 48 h at 27°C. Eggs and first-stage larvae (L1) were counted under an inverted microscope.

3.4 Statistical analysis

The obtained data were subjected to nonlinear regression to get 50% inhibitory concentration (IC₅₀), using the GraphPad Prism 8.0 software (GraphPad Inc., San Diego, USA). Significant differences between the strains were considered ($p < 0.05$ ANOVA). The oils components with a percentage higher than 0.1 % of the total were subjected to principal component analysis (PCA) using SPSS v22.0 software (Chicago, IL, USA). The PCA was applied to verify the relationship of E.O composition, whose plant samples were collected at different day-times and months.

4 Results

4.1 Oil-composition analysis

The yields of essential oils from *P. brevipedunculata* collected in seasonal and circadian regime, ranged from 1.0-2.1% and 0.8-2.0%, respectively. GC and GC–MS analyzed the EO (seasonal), and their 30 identified constituents are listed in Table 1. The main constituents of *P. brevipedunculata* in seasonal collection, were Citral (neral - 22.7-32.6% and geranial - 27.4-42.4%), α -pinene (7.9-19.4 %), and D-limonene (5.8-10.2%) (table 1). From circadian, neral (22.2-29.3%), geranial (31.1- 42.4%), was the compound with the highest percentage (table 2). For seasonal and circadian collections oxygenated monoterpenes are predominant in the oil.

Table 1. Seasonal variation of the *Pectis brevipedunculata* essential oil

Yield / %			2.1	1.1	1.3	1.4	2.1	1.3	1.8	1.5	1.1	1.9	1.3	1.2
Constituent / %	RI _C	RI _L	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
□-Thujene	928	924 ^a			0.1					0.1	0.1			
□-Pinene ^b	935	932 ^a	7.2	15.4	18.4	17.7	16.5	17.9	16.2	19.8	18.1	18.4	18.1	18.6
Sabinene	975	969 ^a	0.3	0.6	0.7	0.6	0.7	0.8	0.6	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8
□-Pinene	979	974 ^a		0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4
6-Methyl-5-hepten-2-one	988	986 ^c	0.6	1.5	1.0	0.9	1.2	1.5	1.0	0.7	1.1	0.6	1.1	0.6
Myrcene	992	988 ^a		0.3	0.4	0.3	0.3		0.3	0.3	0.3	0.2	0.4	0.2
Limonene ^b	1032	1024 ^a	5.3	8.3	9.4	8.6	9.4	9.0	8.1	8.4	7.5	8.1	7.5	8.3
(E)-□-Ocimene	1050	1046 ^a		0.4	0.6	0.4	0.6	0.3	0.4	0.6	0.5	0.2	0.5	0.2
3-Methyl-1,2-cyclohexanedione	1094	1089 ^a	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.5	0.2	0.3	0.2	0.3
Linalool	1102	1095 ^a	0.7	0.9	1.3	1.3	1.3	1.5	1.2	0.9	0.8	1.1	0.9	1.3
exo-Isocitral	1147	1140 ^c		0.2	0.2	0.2		0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.4	0.1
(Z)-Isocitral	1165	1160 ^a	0.4	1.3	0.9	0.8	0.7	0.8	1.0	0.9	1.3	0.6	1.5	0.6
(E)-Isocitral	1183	1177 ^a	0.9	2.3	1.5	1.5	1.1	1.3	1.7	1.5	2.0	1.2	2.1	1.2
Terpinen-4-ol	1186	1180 ^a	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.3	0.2
□-Terpineol	1200	1195 ^c	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2
Nerol	1228	1227 ^a	0.3	0.7	3.0	1.2	1.7	1.7	1.1	1.7	0.6	0.8	0.5	0.9
Neral ^b	1244	1235 ^a	33.2	27.5	22.8	26.3	24.8	24.0	26.7	22.9	26.3	25.6	26.0	25.1
Geraniol	1253	1249 ^a	1.9	2.5	8.5	3.9	5.0	4.4	3.4	6.2	2.3	3.5	2.0	3.7
Carvenone	1261	1255 ^a	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.1		0.2	0.1	0.3	
Geranial ^b	1273	1264 ^a	42.7	33.9	27.0	32.0	31.4	29.9	33.9	29.6	34.5	34.4	33.0	33.8
1-Tridecene	1295	1290 ^a	0.3	0.2		0.1	0.3	0.3	0.2	0.7	0.2	0.1	0.2	0.2
2,4-Octanediol	1339	1339 ^a	0.3			0.2		0.5	0.2			0.3	0.4	0.3
trans-p-Menth-6-en-2,8-diol	1369	1371 ^a	0.4		0.2	0.3	0.2	0.8	0.1			0.1	0.5	0.1
2-Undecen-1-ol	1374	1370 ^c	0.5		0.1	0.2	0.1	0.8	0.3			0.5	0.7	0.6
Geranyl acetate	1379	1379 ^a	0.4	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3	0.4
□-Elemene	1396	1389 ^a	0.6	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3
(E)-Caryophyllene	1430	1424 ^c	0.6	0.5	0.4	0.4	0.6	0.4	0.4	0.7	0.4	0.4	0.4	0.4
trans-Prenyl limonene	1467	1357 ^a	0.7	0.5	0.5	0.5	0.6	0.4	0.5	0.7	0.3	0.4	0.3	0.4
Germacrene D	1492	1484		0.3	0.3	0.2	0.3		0.1	0.3	0.1		0.1	
□-Alaskene	1520	1515 ^c	0.3	0.3	0.2		0.3		0.1	0.4	0.2	0.1		0.1
□-Cadinene	1526	1522		0.1			0.1			0.1				
□-Muurolol (Torreyol)	1649	1644 ^a	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2
Valerianol	1663	1657 ^c	0.2	0.1	0.1					0.1	0.1	0.2		0.1
Linoleic acid	2133	2132 ^a						0.3				0.1	0.1	0.1
Monoterpene hydrocarbons / %			12.8	25.3	30.0	27.9	27.8	28.4	25.9	30.4	27.7	27.9	27.7	28.5
Oxygenated monoterpenes / %			82.0	70.2	66.4	68.5	67.2	66.1	70.1	64.8	68.8	68.1	68.1	67.6
Sesquiterpene hydrocarbons / %			2.2	2.0	1.7	1.4	2.3	1.3	1.4	2.5	1.2	1.1	1.0	1.2
Oxygenated sesquiterpenes / %			0.5	0.3	0.3	0.1	0.1		0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.3
Fatty acids and derivatives / %			2.0	1.9	1.4	1.7	2.0	3.8	2.0	1.9	1.5	1.9	2.7	2.1
Total / %			99.5	99.7	99.8	99.6	99.4	99.6	99.5	99.7	99.4	99.4	99.6	99.7

^aReference 26; ^bmain constituents; ^creference 27. RI_C: retention index calculated (Durabond-5ms column); RI_L: retention index from literature.

Table 2. Circadian rhythm of the *Pectis brevipedunculata* essential oil chemical composition during the rainy and dry seasons

Yield / %			2.1	1.9	1.8	1.8	2.0	1.3	1.1	1.1	0.9	1.2
Constituent / %	R _{IC}	R _{IL}	April (rainy season)					September (dry season)				
			6 a.m.	9 a.m.	12 a.m.	3 p.m.	6 p.m.	6 a.m.	9 a.m.	12 a.m.	3 p.m.	6 p.m.
α -Pinene ^a	935	932 ^b	4.7	11.5	8.2	11.3	8.2	8.4	12.6	14.0	12.6	10.1
Sabinene	975	969 ^b			0.2			0.3	0.4	0.5	0.4	0.4
β -Pinene	979	974 ^b							0.2	0.2	0.2	0.1
6-Methyl-5-hepten-2-one	988	986 ^c	0.4	0.4	0.7	0.4	0.7	0.4	0.8	0.5	0.8	0.5
Myrcene	992	988 ^b								0.1	0.1	
Limonene ^a	1032	1024 ^b	3.4	6.0	6.1	5.5	5.7	4.8	8.0	6.8	7.8	5.6
(<i>E</i>)- β -Ocimene	1050	1046 ^b								0.3	0.1	
3-Methyl-1,2-cyclohexanedione	1094	1089 ^b		0.4	0.2			0.2	0.3	0.3	0.2	0.3
Linalool	1102	1095 ^b	0.6	0.4	0.7	0.3	0.9	0.7	1.1	0.5	0.8	0.5
α -Campholenal	1131	1126 ^c		1.5		1.2	0.4		0.3			
<i>exo</i> -Isocitral	1147	1140 ^c						0.1		0.1	0.1	0.2
(<i>Z</i>)-Isocitral	1165	1160 ^b			0.4		0.4	0.5	0.4	0.6	0.5	0.7
(<i>E</i>)-Isocitral	1183	1177 ^b		0.4	0.8		0.7	1.1	0.9	1.2	1.0	1.1
Terpinen-4-ol	1186	1180 ^b								0.1	0.1	
α -Terpineol	1200	1195 ^c						0.2	0.3	0.1	0.2	
Nerol	1228	1227 ^b	1.1	0.4	0.9	0.4	0.7	1.3	0.5	0.9	0.6	1.0
Neral ^a	1243	1235 ^b	28.4	20.3	29.7	21.6	27.5	28.9	28.1	27.0	29.2	28.2
Geraniol	1253	1249 ^b	4.5	2.5	3.4	2.0	2.9	5.6	2.4	5.0	2.8	4.7
Carvenone	1261	1255 ^b	0.7	0.4	0.5	0.4	0.6	0.4	0.5	0.2	0.3	0.3
Geranial ^a	1273	1264 ^b	39.9	30.3	38.8	32.2	34.7	41.1	36.7	38.1	38.1	39.7
Neryl formate	1287	1280 ^b	0.3	0.4		0.7	0.4					
1-Tridecene	1294	1290 ^b	2.2	1.8	0.6	1.3	0.6	0.9	0.5	0.6	0.3	1.1
Geranyl formate	1300	1298 ^b	0.5	0.4		0.3						
Undecanal	1306	1305 ^b	0.4			0.5	0.4					
2,4-Octanediol	1338	1339 ^b	1.4	4.2	1.1	4.1	2.0	0.3	0.8	0.1	0.4	0.6
Ethyl nerolate	1348	1351 ^b	0.4	2.7	0.5	2.3	1.5	0.3			0.2	0.3
<i>trans</i> - <i>p</i> -Menth-6-en-2,8-diol	1369	1371 ^b	1.1	1.0	1.1	0.8	2.1	0.6	0.8	0.3	0.4	0.6
2-Undecen-1-ol	1374	1370 ^c	2.5	5.9	1.7	6.1	2.9	0.7	1.2	0.3	0.7	1.1
Geranyl acetate	1379	1379 ^b	0.7	0.7	0.4	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.3	0.4
<i>trans</i> -Myrtanol acetate	1387	1385 ^b		1.2	0.3	1.1	0.5					
β -Elemene	1396	1389 ^b	0.7	0.4	0.4	0.3	0.4	0.6	0.5	0.2	0.3	0.2
(<i>E</i>)-Caryophyllene	1430	1424 ^c			0.2			0.5	0.2	0.5	0.2	0.5
Citronellylacetone	1438	1435 ^c	0.7	0.6	0.3	0.7	0.4		0.2			
<i>trans</i> -Prenyl limonene	1467	1357 ^b			0.3			0.5	0.3	0.4	0.3	0.3
α -Alaskene	1520	1515 ^c	0.3					0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
Citronellyl butanoate	1531	1530 ^b	0.2		0.3		0.2				0.1	
Caryophyllene oxide	1595	1587 ^c	0.5	0.6		0.4	0.3	0.2				0.2
Humulol	1605	1604 ^c		0.4		0.4						
Humulene epoxide II	1623	1613 ^b	0.3	0.4	0.2	0.3	0.4	0.1	0.2			
α -Muurolool (torreyol)	1649	1644 ^b	0.3		0.2			0.2	0.2	0.1	0.1	0.2
Valerianol	1663	1657 ^c						0.2				0.1
Fluorensadiol	1872	1869 ^b	0.4	0.5		0.4						
Linoleic acid	2133	2132 ^b	1.1	1.9	0.8	1.8	1.4	0.1	0.4		0.3	0.3
Oleic acid	2141	2141 ^b	0.7	1.2	0.4	1.1	0.8				0.1	0.2
Monoterpene hydrocarbons / %			8.1	17.5	14.5	16.8	13.9	13.5	21.2	21.9	21.2	16.2
Oxygenated monoterpene / %			79.8	64.0	78.5	65.3	75.4	81.3	72.9	74.5	74.7	77.7
Sesquiterpene hydrocarbons / %			1.0	0.4	0.9	0.3	0.4	1.8	1.2	1.2	0.9	1.2
Oxygenated sesquiterpene / %			1.5	1.9	0.4	1.5	0.7	0.7	0.4	0.1	0.1	0.5
Fatty acids and derivatives / %			8.7	15.8	5.5	15.3	8.8	2.6	4.0	1.8	2.8	4.1
Total / %			99.1	99.2	99.8	99.2	99.2	99.9	99.7	99.5	99.7	99.7

^aMain constituents; ^breference ²⁶; ^creference ²⁷. R_{IC}: retention index calculated (Durabond-5ms column); R_{IL}: retention index from literature.

4.2 Principal component analysis of the substances identified in the essential oils

The PCA evidenced by the loading plot or plot of principal components not rotated and rotated (var-ax method) that there was no variation of constituents by the months of the year, because the weights of each month analyzed show very close, with virtually no distinction. When analyzing the circadian cycle (collection time) and dry or rainy season, principal component factor analysis also showed that the analyzed data behaved similarly to seasonality.

Regarding the principal components analysis of the seasonality data of *Pectis brevipedunculata*, it was observed that: For seasonality data, the matrix data showed a statistical KMO ratio in the value of 0.887 and significance less than 0.05 being classified as good overall adequacy of factor analysis. In addition, Bartlett's χ^2 test of sphericity showed that the calculated value is greater than the critical value, showing that Pearson's correlation between pairs of variables are statistically different, thus meeting the assumptions of factor analysis.

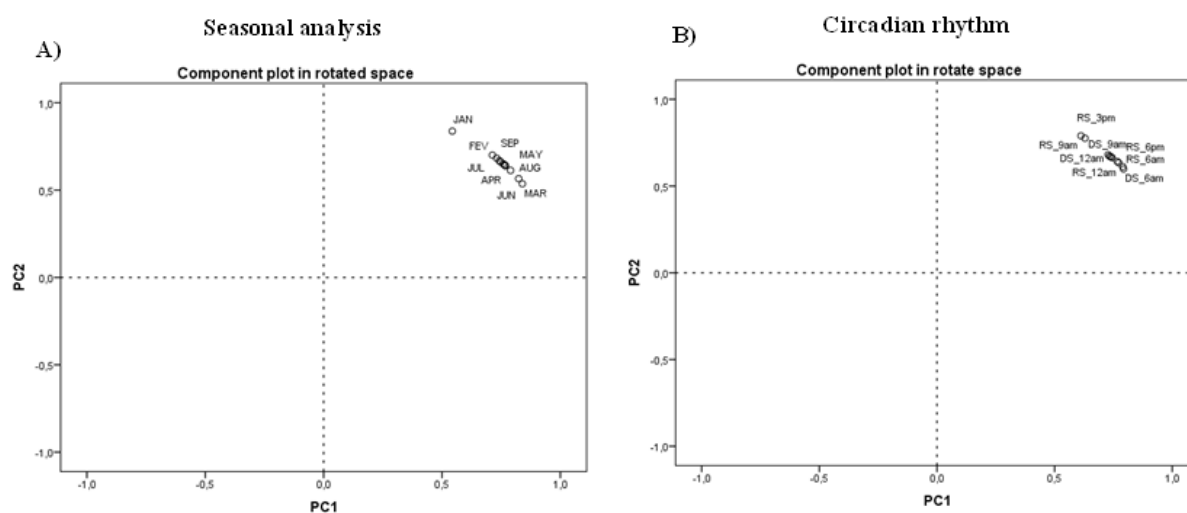


Figure 1: Principal Component Analysis (PCA) of the aerial parts oils of *Pectis brevipedunculata* in the seasonal study, on January at December 2019 (A); and in the circadian study, on rainy (April) and dry (September) seasons, at 6 a.m., 9 a.m., 12 p.m., 3 p.m., and 6 p.m (B). RS: Rainy Season, DS: Dry Season

4.2 Motility test

The motility test results for the seasonal and circadian oils of *P. brevipedunculata* carried out in *C. elegans* adult highly showed activity anthelmintic (table 3). The oil of *P. brevipedunculata* collected in the month of November exhibited the lower inhibitory concentration (IC_{50}) among the oils tested, with an IC_{50} value of 0.04 mg/mL (CI 95%= 0.033 - 0.0400, $R^2=0.98$) for Bristol N2 strain, followed by month of december ($IC_{50}=0.140$ mg/mL, CI 95 %=0.119

- 0.162). For circadian rhythm, 6 a.m. in month April and September showed lower inhibitory concentration, with 0.64 and 0.56 mg/ml, respectively (table 3).

Table 3: Anthelmintic activities of *Pectis brevipedunculata* essential oils collected in seasonal and circadian regime against *C. elegans* Bristol N₂ strains.

Oils/ Seasonal	Month (6 a.m)	IC ₅₀ (mg/mL)	IC 95%	R ²
<i>Pectis brevipedunculata</i>	Jan	0.43	0.400 - 0.468	0.98
	Feb	0.21	0.147 - 0.285	0.82
	Mar	0.21	0.163 - 0.267	0.93
	Apr	0.52	0.446 - 0.599	0.96
	May	0.77	0.646 - 0.917	0.93
	Jun	0.44	0.391 - 0.511	0.95
	Jul	0.31	0.290 - 0.322	0.99
	Aug	0.20	0.186 - 0.223	0.98
	Sep	0.20	0.127 - 0.332	0.80
	Oct	0.28	0.243 - 0.322	0.97
	Nov	0.04	0.033 - 0.040	0.98
	Dec	0.14	0.119 - 0.162	0.96
Circadian rhythm				
	Hours			
April	6 a.m	0.64	0.545 - 0.755	0.95
	9 a.m	0.72	0.618 - 0.840	0.96
	12 a.m	>10	-	-
	3 p.m	0.71	0.487 - 0.985	0.86
	6 p.m	0.67	0.441 - 0.998	0.85
September	6 a.m	0.56	0.519 - 0.605	0.98
	9 a.m	>10	-	-
	12 a.m	0.87	0.787 - 0.971	0.96
	3 p.m	1.85	1.716 - 1.998	0.98
	6 p.m	>10	-	-

4.3 Egg hatch test

The EOs from seasonal and circadian regime tested on eggs of *H. contortus* highly exhibited inhibitory activity (table 4). All tested EOs from the seasonal regimen demonstrated

inhibitory concentrations less than 0.3 mg/mL, the lowest being in the month of December (IC_{50} =0.01 mg/mL, CI 95 %=0.00308 - 0.03769) and highest in July (IC_{50} =0.37 mg/mL, CI95 %=0.342 - 0.395). In seasonal collection the best result was obtained at 6 a.m and 6 p.m (September), with IC_{50} of 0.08 mg/mL and 0.09 mg/mL, representing a difference reached up to 3-fold and 5-fold, between 6 a.m and 6 p.m (April), respectively.

Table 4: Inhibition concentrations required for achieving 50% of egg hatching in *Haemonchus contortus* (IC_{50}) of *Pectis brevipedunculata* essential oils collected in seasonal and circadian regime

Oils/ Seasonal	Month (6 a.m)	IC_{50} (mg/mL)	IC95%	R^2
<i>Pectis brevipedunculata</i>	Jan	0.17	0.156 - 0.178	0.99
	Feb	0.17	0.152 - 0.189	0.98
	Mar	0.18	0.166 - 0.194	0.99
	Apr	0.14	0.127 - 0.153	0.99
	May	0.18	0.165 - 0.196	0.98
	Jun	0.29	0.267 - 0.316	0.99
	Jul	0.37	0.342 - 0.395	0.99
	Aug	0.23	0.208 - 0.244	0.99
	Sep	0.27	0.249 - 0.293	0.98
	Oct	0.24	0.190- 0.212	0.99
	Nov	0.20	0.190- 0.212	0.99
	Dec	0.01	0.003 - 0.037	0.45
Circadian rhythm				
April	6 a.m	0.24	0.226 - 0.258	0.99
	9 a.m	0.39	0.355 - 0.420	0.98
	12 a.m	0.51	0.490 - 0.524	0.99
	3 p.m	0.31	0.298 - 0.332	0.99
	6 p.m	0.48	0.417 - 0.546	0.97
September	6 a.m	0.08	0.068 - 0.092	0.97
	9 a.m	0.13	0.113 - 0.141	0.98
	12 a.m	0.16	0.143 - 0.174	0.98
	3 p.m	0.12	0.098 - 0.138	0.96
	6 p.m	0.09	0.078 - 0.099	0.98

5 Climatological Parameters vs Anthelmintic Activity

The climatological parameters regarding precipitation and temperature were observed during the period from January to December 2019, in order to evaluate the influence of seasonality in relation to the activity of *Haemonchus contortus* (figure 2) and *C. elegans* (figure 3). The average temperature values varied between 26 – 28 °C and media precipitation between 20 – 0 mm³ in the months of January to December 2019, figures 2 and 3. The lowest IC₅₀ to *C. elegans* and *H. contortus* were recorded in the rainiest months, when compared to the months with the least rainfall. This may be related to the with high percentages of the majority compounds, which was influenced by high rainfall (Fig. A and B).

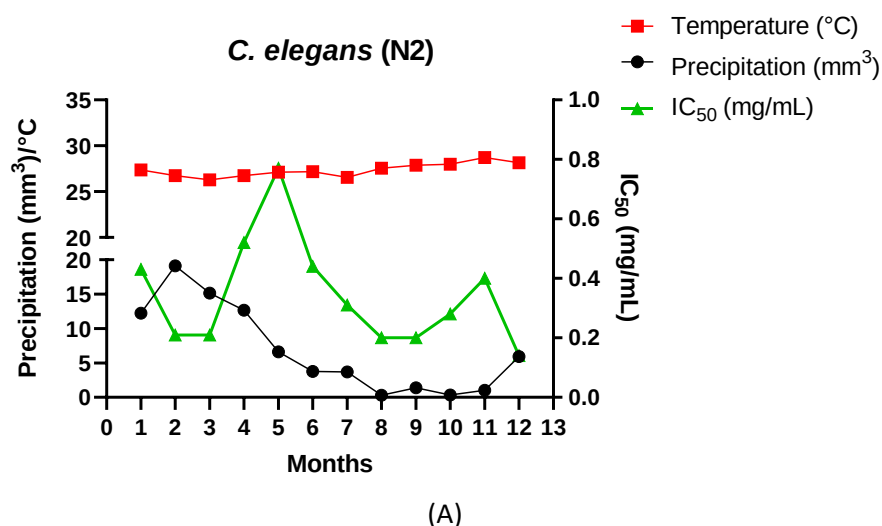


Figure 2: Study between climatic parameters and *C. elegans* activity of the essential oil of *P. brevipedunculata* in a seasonal regime.

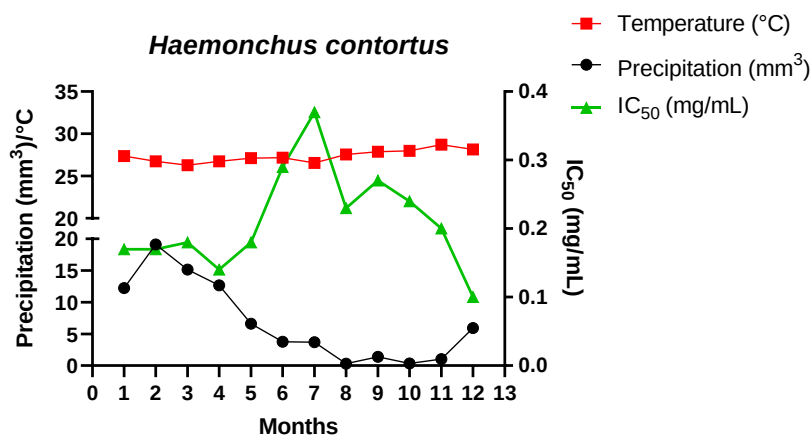


Figure 3: Relationship between climatic parameters and *Haemonchus contortus* activity of the essential oil of *P. brevipedunculata* in a seasonal regime

6 Discussion

The composition of the OE from *P. brevipedunculata* can change the percentage of its chemical components according to the time of collection, consequently, the biological effect could also change. It has been possible to observe seasonal and circadian variation in oil composition, it is known that, environmental factors (biotic and abiotic) can cause this variation (DOS SANTOS et al., 2020; PAVELA; BENELLI, 2016). In the present study, the *P. brevipedunculata* EO change the percentages of major compound (Cital - neral and geranial), according to the month of collection: January (42.4% and 32.6%), March (27.4% and 22.7%), July (34.1% and 26.7%), September (35.2% and 26.9%) and December (32.9% and 24.7%) (table 1). Regarding collection hour, the variation can be seen in α -pinene, for exemple: rainy season - 6 a.m (4.8%) and 9 a.m (11.7%) and dry season - 6 a.m (8.2%) and 12 p.m (13.9%) (table 2).

The main constituents found in the oil of *P. brevipedunculata* are the monoterpenes geranial, neral, α -pinene, limonene (table 1). Aerial parts essential oil of *P. brevipedunculata* displayed neral (35.6%), geranial (46.2%), limonene (2.9%) and α -pinene (2.6%), as its major chemical compounds (MARQUES et al., 2013). Oil from *P. brevipedunculata* collected in southeastern Brazil was dominant also by neral (31.7%), geranial (18.8%), limonene (7.9%) and α -pinene (17.5%) (DE OLIVEIRA et al., 2011). Volatile constituents of *Pectis elongata* current oils from the Amazon was neral (39.1%), geranial (47.7%), and limonene (1.5%) (MASSING et al., 2021).

Essential oil of *Pectis apodocephala* and *Pectis oligocephala* exhibited nematocidal effect on soil nematode *Meloidogyne incognita* (ALBUQUERQUE et al., 2007). Antimicrobial activity also has been showed to oil of *P. brevipedunculata* (MARQUES et al., 2013), which can be attributed to oxygenated monoterpene citral. No anthelmintic activity on *C. elegans* and *H. contortus*, evaluations concerning essential oil activity.

In the present study, a significant anthelmintic effect on *C. elegans* adults and inhibition of *H. contortus* eggs hatch was observed for the *P. brevipedunculata* EO, collected seasonal and circadian regime, showed different values according to the collection month and hours: November oil (IC₅₀ 0.04 mg/mL) and 6 a.m – rainy season, april (IC₅₀ 0.64 mg/mL) being the most active to *C. elegans*. And for hatching eggs of *H. contortus* were, December (IC₅₀ 0.01 mg/mL), and 6 p.m – dry season, september (IC₅₀ 0.09 mg/mL).

The highest anthelmintic activity for the December and November oil can be related to the high concentration of the monoterpene citral, limonene and α -pinene or a possible synergistic action between them. The high incidence of ultraviolet rays may have provided

increased photosynthetic activity and species growth, favoring a greater amount of carbon skeletons for the production of secondary metabolites (LEMOS et al., 2017). The α -pinene standard was effective against the IVR15 strain, with an IC_{50} of 1.69 mg/mL, while the (S)-(-)-limonene standard exhibited an IC_{50} of 1.66 mg/mL against the Bristol N2 strain carried out in *C. elegans* adult (LIMA et al., 2021), in the study of ABDEL-RAHMAN; ALANIZ; SALEH (2013), limonene also exhibited a more significant activity on *C. elegans*. The monoterpene citral tested on *H. contortus* showed highest efficacy in inhibition of egg hatching, exhibited IC_{50} of 0.30 mg/ml (SOUSA et al., 2021). The data reported here demonstrate the possibility of use of *P. brevipedunculata* EO to control gastrointestinal nematodes.

The temperature variation that occurs from cold to extreme heat can trigger different responses in plants, as a way to keep themselves in balance. High temperatures act directly on the stomatal opening, it stays closed longer to prevent water loss (transpiration), and negatively impacts photosynthesis, essential for normal plant growth (VERMA; SHUKLA, 2015).

Water participates in all physiological reactions and its decrease can lead to a reduction in total size, lower number of leaves, delayed flowering, late reproductive maturation, directly influencing photosynthesis due to the limiting stomatal opening (GOBBO-NETO; LOPES, 2007b).

A study carried out by demonstrated that plants with larger heights and branches produced larger amounts of essential oil. The plants with the highest water stress obtained the lowest amount of essential oil due to the reduction of dry biomass, but not influencing the final composition of the oil (MORAIS, 2009). Thus, it is demonstrated that the climatic conditions and the seasonal period can correlated with the variation of the essential oil yield and the anthelmintic activity.

6 Conclusion

The oils of *P. brevipedunculata* are constituted by monoterpene hydrocarbons and Oxygenated hydrocarbons in the main. Oils collected seasonal and circadian regime showed significant anthelmintic activity against *C. elegans* and *H. contortus*, showed a great biotechnological potential of this plant species for pharmaceutical preparations to combat *H. contortus*.

CRedit authorship contribution statement

Marcos Bispo Pinheiro Camara, Aldilene S. Lima: Methodology, Validation, Investigation, Formal analysis, Writing – original draft. **Dauana Mesquita-Sousa:** Methodology, Validation, Investigation. **Cáritas de Jesus S. Mendonça:** Methodology, Validation, Investigation. **Rayssa de Queiroz Araújo:** Methodology, Validation, Investigation. **Lívio M. Costa-Junior:** Conceptualization, Investigation, Resources, Writing – review & editing. **José G. Soares Maia:** Conceptualization, Investigation, Resources, Writing – review & editing. **Claudia Q. da Rocha:** Methodology, Validation, Conceptualization, Investigation, Resources, Writing – original draft, Writing – review & editing, Project administration, Funding acquisition, Formal analysis.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflicts of interest in relation to this work.

References

- ABDEL-RAHMAN, F. H.; ALANIZ, N. M.; SALEH, M. A. Nematicidal activity of terpenoids. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 48, n. 1, p. 16–22, 2013.
- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Edition. **Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream**, p. 804–806, 2007.
- ADENUBI, O. T. et al. In vitro bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: A critical review. **Veterinary Parasitology**, v. 254, n. May 2017, p. 160–171, 2018.
- ALBUQUERQUE, M. R. J. R. et al. Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 79, n. 2, p. 209–213, 2007.
- AZIZ, Z. A. A. et al. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100–1110, 2018.
- CAMARA, MARCOS B. P, LIMA, A. S. et al. Seasonal and Circadian Evaluation of the. v. 00, n. 00, p. 1–10, 2023.
- CHAGAS, A. C. S. et al. *Haemonchus contortus*: A multiple-resistant Brazilian isolate and the costs for its characterization and maintenance for research use. **Parasitology International**, v. 62, n. 1, p. 1–6, 2013.
- COLES GC, BAUER C, BORGSTEEDE FH, GEERTS S, K. T.; TAYLOR MA; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W . A . A . V . P .) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance . **Veterinary Parasitology**, v. 44, n. 1–2, p. 35–44, 1992.
- DE FÁTIMA AGRA, M.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.
- DE OLIVEIRA, M. T. R. et al. Efeito da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*. **Quimica Nova**, v. 34, n. 7, p. 1200–1204, 2011.
- DE OLIVEIRA, P. A. et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: Frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 797–801, 2017.
- DOS SANTOS, E. L. et al. Seasonal and Circadian Rhythm of a 1,8-Cineole Chemotype

- Essential Oil of *Calycolpus goetheanus* From Marajó Island, Brazilian Amazon. **Natural Product Communications**, v. 15, n. 6, 2020.
- FERREIRA, L. E. et al. Thymus vulgaris L . essential oil and its main component thymol : Anthelmintic effects against Haemonchus contortus from sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 70–76, 2016.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. PLANTAS MEDICINAIS: FATORES DE INFLUÊNCIA NO CONTEÚDO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS Leonardo Gobbo-Neto e Norberto P. Lopes*. v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007a.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007b.
- HANSEN, D. R. et al. MOLECULAR PHYLOGENY OF PECTIS (TAGETEAE, ASTERACEAE), A C₄ GENUS OF THE NEOTROPICS, AND ITS SISTER GENUS POROPHYLLUM. **Lundellia**, n. 19, p. 6–38, 2016.
- KATIKI, L. M. et al. Synergistic interaction of ten essential oils against Haemonchus contortus in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 243, n. December 2016, p. 47–51, 2017.
- KEIL, D. J. New Species of Pectis (Asteraceae) from the West Indies, Mexico, and South America. **Brittonia**, v. 36, n. 1, p. 74, 1984.
- LAING, R. et al. The genome and transcriptome of Haemonchus contortus, a key model parasite for drug and vaccine discovery. **Genome Biology**, v. 14, n. 8, 2013.
- LEMOS, M. F. et al. Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of Thymus vulgaris. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 543–548, 2017.
- LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from Hedychium coronarium Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, p. 105912, 2021.
- LIMA, A. S. et al. Anthelmintic evaluation and essential oils composition of Hyptis dilatata Benth. and Mesosphaerum suaveolens Kuntze from the Brazilian Amazon. **Acta Tropica**, v. 228, n. November 2021, p. 1–5, 2022.
- MAIA, O. G. S.; ANDRADE, L. H. A. Database of the amazon aromatic plants and their essential oils. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 595–622, 2009.
- MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of Pectis brevipedunculata essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 798–808, 2013.
- MASSING, L. T. et al. Oils Variability of Pectis elongata in the Amazon and an Overview of the Neotropical Pectis Species. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 32, n. 1, p. 37–45, 2021.

- MORAIS, L. A. S. DE. Influência Dos Fatores Abióticos Na Composição Química Dos Óleos Essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050–4063, 2009.
- NICIURA, S. C. M. et al. In vivo selection for *Haemonchus contortus* resistance to monepantel. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. 10–14, 2020.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000–1007, 2016.
- PEREIRA, S. L. et al. Vasodilator activity of the essential oil from aerial parts of *Pectis brevipedunculata* and its main constituent citral in rat aorta. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3072–3085, 2013.
- ROLNIK, A.; OLAS, B. The plants of the asteraceae family as agents in the protection of human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 1–10, 2021.
- SILVA, C. R. et al. Combination of synthetic anthelmintics and monoterpenes: Assessment of efficacy, and ultrastructural and biophysical properties of *Haemonchus contortus* using atomic force microscopy. **Veterinary Parasitology**, v. 290, n. December 2020, 2021.
- SILVA, S. G. et al. Planting and seasonal and circadian evaluation of a thymol - type oil from *Lippia*. **Chemistry Central Journal**, p. 1–11, 2018.
- SOUSA, A. I. P. et al. Essential oils from *Ocimum basilicum* cultivars: Analysis of their composition and determination of the effect of the major compounds on *Haemonchus contortus* eggs. **Journal of Helminthology**, 2021.
- VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105–113, 2015.

Capítulo 3: Microemulsão à base de óleo de babaçu para desenvolvimento de produtos de *Pectis brevipedunculata*: formulação, caracterização física, aplicação e avaliação

Status: finalizar para publicação

Marcos Bispo Pinheiro Camara^a, Aldilene da Silva Lima^a, Harvey Alexander Villa Vélez^b, Cáritas de Jesus S. Mendonça^a, Claudia Quintino da Rocha^a

^aDepartamento de Química – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil

^bDepartamento de Engenharia Química – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil

RESUMO

As microemulsões são representadas como um sistema promissor na liberação de fármacos, com estabilidade por compostos tensoativos geralmente associados a co-tensoativo, normalmente um álcool ou um outro solvente anfifílico apropriada, sendo que esses compostos são caracterizados por fase oleosa, aquosa, surfactante e co-surfactante, demonstram equilíbrio termodinâmico. Estudos são amplamente desenvolvidos em diversas áreas, tanto pela importância técnico/científica, quanto pela importância econômica através de formulação do sistema para aplicações industriais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar e avaliar o uso das MEs como veículo encapsulador de proteção e estabilidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*, quando exposto a fatores degradantes como variação de temperatura e incidência de luz. A avaliação dos componentes do O.E. e suas estabilidades quando encapsulado foram determinados por HPLC-UV com detecção a 254 nm, fase móvel ACN/água deionizada. Os dados foram tratados estatisticamente pela ANOVA, por diferença mínima significativa de Fisher (LSD) e método “*stepwise fit regression*”. Conforme a análise, ocorreu o encapsulamento da mistura, já que as MEs demonstraram translúcidas e estáveis após a adição do O.E. No teste de estabilidade, a coloração do composto evidenciou uma alteração na coloração, amarelo mais claro a 30 °C e amarelo mais escuro a 60 °C, ocorrendo uma mudança no comportamento das amostras. O valor *p* (0,0025), resultou em algumas médias diferentes e significativas, em especial ao comparar os componentes majoritários Neral e Geranial, devido a distinções entre características e concentrações das mesmas. Todos os isômeros tiveram erro médio relativo (MRE) inferiores a 10%, e coeficiente de determinação próximos a 1, o que demonstrou um melhor ajuste, principalmente dos isômeros Geranial e Neral. Na comparação entre valores teóricos e experimentais, quantidade de resíduos e frequência dos mesmos, ocorreu melhores ajustes para todos os isômeros avaliados. Em função da temperatura e tempo, os isômeros apresentaram relações eficientes dos modelos, considerando a influência destes fatores primordiais na característica das formulações obtidas, por determinarem alterações na composição das mesmas. Em Síntese, o encapsulamento a base de óleo essencial na MEs, poderá ser uma opção favorável em formulações estáveis, na indústria farmacêutica ou em outras áreas. Estudos futuros serão fundamentais para verificar a eficiência e a viabilidade econômica do sistema.

Palavras Chaves: estabilidade; degradação; encapsulamento

1 INTRODUÇÃO

O Brasil engloba grande biodiversidades de espécies de plantas, frutos, algas e fungos já identificados e catalogados com excelente potencial para desenvolvimento de produtos (Dutra et al., 2016; de Souza et al., 2021; Neri-Numa et al., 2018). O babaçu (*Attalea speciosa*), um fruto nativo da região nordeste e seu óleo fixo representa cerca de 65% da massa total da amêndoas, o qual foi relatado por Ponte et al., (2017) e Silva et al., (2020). Além disso, uma quantidade significativa de ácidos como o láurico, mirístico, oleico, palmítico, esteárico, caprílico, caprino, caproico e araquídico. Estes componentes conferem ao óleo, propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, nutritivas, higiênicas, e de limpeza (produção de sabão). Além disso, a presença de ácidos insaturados dá-lhe um maior tempo de estabilidade favorecendo a sua utilização como material transportado de biocomponentes ou na formulação de sistemas emulsionados tais como nanoemulsões (Santos et al., 2021) e microemulsões (Silva et al., 2020).

Atualmente as microemulsões foram consolidadas como um dos sistemas coloidais com aplicações potenciais de solubilização para compostos hidrofóbicos/hidrofílicos devido à sua elevada estabilidade termodinâmica e à exigência de energia mecânica mínima para sua produção (Fernández-Peña et al., 2019; Rahdar et al., 2021). As inúmeras possibilidades de configurações entre óleos-agentes tensoativos têm um campo de grande interesse e que encontra aplicações de largo espectro em nutrição, cosméticos e produtos biomédicos para melhorar a biodisponibilidade de moléculas terapêuticas ou drogas (Barreto et al., 2022; Kalaitzaki et al., 2013; Kalaitzaki et al., 2014; Sargazi et al., 2021).

Para as indústrias farmacêutica, alimentícia e veterinária a utilização de microemulsões é restrita devido à limitação de materiais de qualidade alimentar utilizados nas formulações (Mendonça et al., 2009; Pavela et al., 2019). Assim, o foco dos investigadores é na busca por um sistema de base para substituição, total ou parcial, de uma fase contínua de água ou óleo para adição de um componente bioativo, como óleos essenciais (Barreto et al., 2022; de Sá et al., 2020), vitaminas (Yang e McClements, 2013) e outras (Ziani et al., 2012).

Recentemente, os sistemas de microemulsões que incorporam óleos essenciais permitem observar de uma forma simples a sua aplicação nas indústrias acima citadas, sendo este campo de aplicação novo com infinitas possibilidades de estudos (Amparo et al., 2021; Barreto et al., 2022; Fernández-Peña et al., 2019; Silva et al., 2020). Apesar de toda esta diversidade e vasta utilização, poucas espécies estão licenciadas como, ingredientes farmacêuticos porque há poucos dados científicos publicados, protocolos de garantia de qualidade e segurança para plantas nativas, bem como as rigorosas normas brasileiras de acesso à biodiversidade, e a falta de documentação adequada para o uso e regulamentação destas espécies (Carvalho et al., 2018; Dutra et al., 2016).

Este trabalho visa o desenvolvimento de uma microemulsão com óleo de babaçu e posterior aplicação como material de transporte de óleo essencial (O.E.) de *Pectis*

brevipedunculata, avaliando-o a partir de teste de estabilidade (em várias condições de tempo e temperatura) e por fim avaliar a atividade antiparasitária *in vitro* do O.E. encapsulado na microemulsão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e extração do EO

Partes áreas de *Pectis brevipedunculata* foram coletadas as 06:00h da manhã no mês de julho no campus Bacanga da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), município de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil. A posição geográfica do local de coleta foi determinada por GPS, resultando nas seguintes coordenadas: 2° 33' 20.5" S e 44° 18' 32.7" W. Exemplos testemunhos foram depositados no herbário Rosa Mochel (SLUI) da Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão, Brasil, sob o número 5287. O OE, obtido por hidrodestilação (proporção de 1:10 (p/v) por 2,5h), foi desidratado com sulfato de sódio e caracterizado de acordo com metodologias descritas nos capítulos 2 e 3 deste manuscrito.

2.2 Preparo da Microemulsão

Para esta pesquisa, foram utilizados óleos comerciais de babaçu provenientes do mercado local da cidade de São Luís, monoleato de sorbitano "SPAN 80" (Synth, Diadema, Brasil) com balanço lipofílico hidrofílico (HLB) de 4,3, polissorbato 80 "TWEEN 80" (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) com HLB de 15, água destilada e álcool etílico com 99,5% de pureza (Quimex, Uberaba, Brasil).

2.3 Construção do diagrama de fases

Para a construção do diagrama de fases, fez-se inicialmente a mistura de óleo de babaçu:surfactante nas proporções de 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 e 9:1 (p/p), em seguida, cada proporção foi intitulada com água destilada sob agitação manual com incremento de volume de 5 - 10 % (p/p), formando linhas de diluição com 5 a 90 % de água, mantendo constantes as proporções estabelecidas para o diagrama. A quantidade de cada componente foi registrada e a porcentagem e calculada seu percentual. A região ME foi marcada no diagramas de fase com o uso do software Matlab® R2022a (licença acadêmica da UFMA, Mathworks, EUA).

2.4 Caracterização por difusão química

As microemulsões, para serem identificadas como W/O ou O/W, foram desenvolvidas pelo método Roohinejad et al. (2015) modificado, em que, o hidrofílico, azul de metileno e o lipofílico, cúrcuma foram adicionadas no sistema microemulsionado (sistema macroscópico, homogêneo e translúcido). Desta forma, com a difusão rápida do azul de metileno, classifica-se como ME tipo O/W ou ainda, para a adição de cúrcuma, difundindo ligeiramente, significa representa uma ME tipo W/O.

2.5 Teste da estabilidade da ME quanto a incidência da luz ultravioleta e diferentes temperaturas

Os testes de estabilidade são responsáveis por fazer uma avaliação eficaz da capacidade de um produto em manter seu aspecto original, ou seja, suas características físicas,

químicas e microbiológicas.

A avaliar da estabilidade do óleo essencial na ME quanto à degradação do composto foi por meio da incidência de luz negra e temperatura máxima e mínima. Através de uma caixa escura acoplada a luz negra fluorescente (26 W, 1300 lm, Taschibra, Brasil) e armazenadas em B.O.D a 60°C e 30°C, a observação foram feita seis em seis dias durante trinta dias.

Para o preparo da solução, as amostras (5 mg) foram diluídos em 1 mL de ACN grau HPLC. Aliquotas de 10 µL foram injetadas diretamente no HPLC-UV com detecção a 254 nm. Utilizou-se um sistema (Shimadzu Corp. Quioto, Japão), constituído por um módulo de bombas binário, detector UV-VIS (SPA-10A). A coluna utilizada foi Luna 5µm C18 100 °A (150 µm x 4,6 µm). A fase móvel foi constituída por água deionizada e ACN, em sistema gradiente: 60– 100% de ACN em 70 min, fluxo de 1 mL/min, a temperatura da coluna foi de 20 °C

2.6 Medida da condutividade na microemulsão

Foi analisado para cada sistema que apresentou formação de ME a condutividade elétrica empregando um condutivímetro acoplado a uma célula de condutividade. A medição foi realizada na temperatura ambiente (ROOHINEJAD et al., 2015).

2.7 Análise estatística e modelagem matemática

Abordagens estatísticas foram realizadas o software Statgraphics 19 (Statgraphics Technologies, Inc.) e as avaliações matemáticas por Matlab® R2020b (The Mathworks Inc., Natick, MA, USA). A análise de variância entre as médias dos grupos e intergrupos, $\alpha = 95\%$, e a significância ($p < 0,05$), modelos de regressão múltipla. O método foi em função “stepwisefit”, com teste de significância ($p < 0,05$) (CEVIK, 2007; HEN et al, 2013; GOODENOUGH; HART; STAFFORD, 2012). Na validação da modelagem e simulação, aplicou-se o coeficiente ajustado (R^2_{adj}), Equação 1, e o erro médio relativo (MRE), Equação 2. O R^2_{adj} determina a eficiência sob à variação dos dados e MRE é um critério que avalia a precisão das estimativas, um modelo em MRE menor que 10% é considerado como um modelo com boa precisão (CASTELL-PALOU et al, 2012).

$$R^2_{adj} = 1 - \left(1 - R^2\right) \frac{n-1}{n-m} \quad (1)$$

$$MRE = \frac{100}{n} \sum_{k=1}^n \frac{|y_k - y_k^*|}{y_k^*} \quad (2)$$

2.8 Encapsulamento do óleo essencial no sistema microemulsionado

Os encapsulamentos do óleos essenciais foram avaliados em três concentrações 5%, 10% e 20% em relação ao óleo de coco babaçu, cuja maior concentração mostrou-se melhor para o estudo, uma vez que se apresentou com características de MEs. Após o desenvolvimento, procedeu-se com a incorporação do óleo essencial na microemulsão selecionada (proporção 7:3:1 óleo:surfactante:água) com concentração de 20% do óleo essencial na fase oleosa.

Os valores das massas dos reagentes na formulação para formar o sistema

microemulsionado com OE adicionado, encontram-se na tabela abaixo.

Tabela 1: Reagentes em massa usados na formulação entre ME e OE

Reagentes	Massa (g)
Span 80	2, 454
Tween 80	1, 060
Óleo babaçu	1, 2128
Óleo essencial	0, 3032
Água deionizada	0, 264
Etanol	0, 264

Logo a após a mistura, reagente/óleo, o tubo de ensaio foi agitado manualmente até a obtenção visivelmente de uma fase homogênea. Em seguida, a microemulsão foi armazenada em local isento da luminosidade, calor e umidade.

2.9 Teste de Imersão de larvas de *R. microplus*

O teste foi realizado de acordo com a técnica de Klafke et al. (2006). Foram realizados experimentos com o 1) microemulsão 20%, 2) OE de *P. brevipedunculata* 20%, e o 3) controle negativo. Para o teste com a microemulsão (MI) foi adicionado 500µl da MI em um tubo eppendorf sem diluição. Para o OE de *P. brevipedunculata* foi preparada uma diluição, usando a mesma concentração do OE presente na microemulsão (20%). Para o experimento quatro repetições de cada concentração foram realizadas. De cada tratamento foi transferido 0,5 mL para microtubos de eppendorf, em seguida aproximadamente 500 larvas foram adicionadas a cada tubo. Após 10 minutos os tubos foram abertos e as larvas transferidas para um papel filtro para secagem. Aproximadamente 100 larvas foram transferidas para um envelope de papel filtro (8,5cm x 7,5cm), que foi fechado e acondicionado em estufa a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR 80%, durante 24 horas. Após este período, as larvas vivas e mortas foram contadas. Para este teste, os controles negativos usados foram o OE de *P. brevipedunculata* 20% e uma solução de etanol 1% e triton 0,02%. Os dados obtidos foram analisados pelo software GraphPad Prism 8.0, obtendo a concentração letal (CL_{50}) para 50% das populações estudadas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do sistema microemulsionado

Dos sistemas estudados previamente, o que se mostrou mais eficiente para a formulação de uma microemulsão foi o 7:3:1, representando respectivamente, óleo, surfactante e água, em fase O/W, com características W-IV, típicos de sistemas microemulsionados, translúcidos e estáveis termodinamicamente, de acordo com a classificação de Winsor. Segundo Tan et al. (2011), este sistema é fundamental, sobretudo ao adicionar o co-surfactante, que provoca uma diminuição do HBL dos surfactantes e ajuste da conformação geométrica do

mesmo na interface para facilitar a formação da ME. A Tabela 2, mostra os valores das proporções (p/p) utilizadas no sistema microemulsionado 7:3:1.

Tabela 2: Relação dos pesos dos componentes do sistema microemulsionado 7:3:1 (óleo:surfactante:água) determinado por estudo prévio do diagrama ternário de fases

Proporção	Span 80 (g)	Tween 80 (g)	Óleo babaçu (g)	Água deionizada (g)	Etanol (g)
7:3:1	2,454	1,060	1,516	0,264	0,264

Uma vez conhecidos os componentes e seus respectivos valores de equilíbrio hidrofílico-lipofílico ou EHL, calculou-se o ponto EHL de 8 como start para a construção do diagrama ternário, utilizando como surfactantes a mistura na proporção 50/50 de Twen 80 e Span 80.

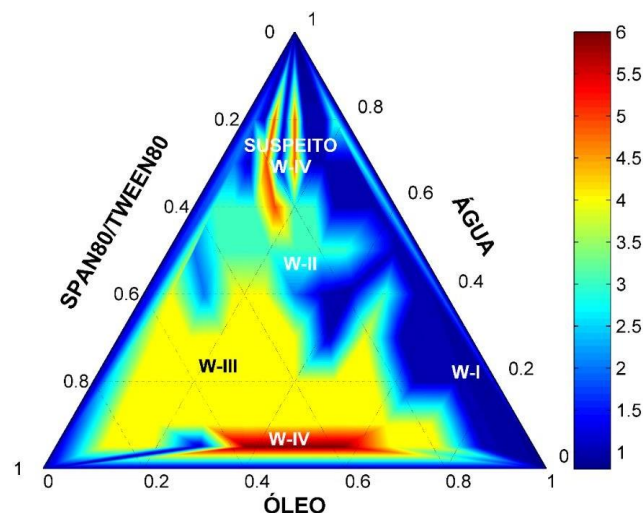


Figura 1: Diagrama ternário de fases para o óleo de coco babaçu, água e surfactante.

A Figura acima, mostra de todas as proporções avaliadas, a que obteve melhor característica de ME foi a proporção óleo:surfactante:água, 7:3:1. Apesar da proporção já apresentar propriedades de ME, adicionou-se o álcool etílico, como co-surfactante, com a finalidade de aumentar sua área superficial e assegurar ainda mais um maior espectro de formação da microemulsão, além de promover a fluidificação do filme interfacial que é formado pelo surfactante, impossibilitando a elevação significativa da viscosidade do sistema.

Obtendo a região de microemulsão no diagrama de fase, foram selecionadas amostras para caracterização. A seguir serão apresentados alguns resultados preliminares da caracterização da ME. Os demais resultados serão apresentados na versão final da tese.

3.2 Caracterização por difusão química

Nesta caracterização utilizou-se o critério descrito por Roohinejad et al. (2015) com

modificações. Neste, o corante hidrofílico, azul de metileno, e o corante lipofílico, curcumina, foram adicionados aos sistemas que apresentaram formação de ME (sistema homogêneo e translúcido), com a finalidade de identificar se a ME pode ser considerada W/O ou O/A. Assim, se o azul de metileno se difundir rapidamente considera-se ME tipo O/W ou, se a curcumina difundir-se rapidamente, indica-se uma ME tipo W/O. No entanto é preciso destacar que a utilização deste método não indica com veracidade o tipo de ME, já que elas podem ter características bicontínuas ou até mesmo de outras estruturas.

No experimento foi possível analisar que a proporção 7:3:1 tornou-se nitidamente uma microemulsão, e já apresentou transparência adequada às condições de caracterização do sistema.

3.3 Teste da estabilidade da ME quanto a incidência da luz ultravioleta e diferentes temperaturas

A análise da estabilidade foi realizada seis vezes num intervalo de 6 dias. Ou seja, a cada seis dias as amostras eram injetadas no HPLC-PDA e submetidas novamente à incidência de luz negra e temperaturas de 60°C e 30°C, com a finalidade de obter o nível de degradação e resistência das mesmas.

O método desenvolvido por Gaonkar et al., (2016) utilizando cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa na presença de acetonitrila grau HPLC e água (70:30) a 1 mL/min, foi considerada uma condição eficiente ao analisar o Neral e Geranial, mostrando uma boa separação e a pureza dos picos.

Tabela 3: Resultados do estudo de estabilidade dos isômeros (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) da *Pectis brevipedunculata*.

Temperatura (oC)	Tempo (dia)	Neral (%)	ME Neral (%)	Geranial (%)	ME Geranial (%)
30	0	40,094±0,758	39,880±0,716	59,906±0,758	60,120±0,716
	6	48,035±0,026	54,081±0,437	51,965±0,026	45,919±0,437
	12	48,910±0,014	51,601±2,499	51,090±0,014	48,399±2,499
	18	50,170±1,321	51,215±1,759	49,830±1,321	48,785±1,759
	24	51,280±0,045	52,639±1,863	48,720±0,045	47,361±1,863
	30	50,101±0,152	53,625±0,888	49,899±0,152	46,375±0,888
60	0	39,666±0,770	40,207±0,508	60,334±0,770	59,793±0,508
	6	39,813±0,070	41,577±0,458	60,187±0,070	58,423±0,458
	12	36,997±0,104	39,914±0,296	63,003±0,104	60,086±0,296
	18	37,861±1,030	41,681±1,304	62,139±1,030	58,319±1,304
	24	37,745±0,061	43,343±1,018	62,255±0,061	56,657±1,018
	30	36,567±0,226	36,567±0,226	63,433±0,226	63,433±0,226

De acordo com os resultados observados, tabela 3, verifica-se que os marcadores encontrados foram o Geranial (isômero *trans*) e o Neral (isômero *cis*), considerados assim, majoritários.

Observa-se que, através do comportamento na tabela, as microemulsões protegeram os compostos voláteis do óleo essencial, pois visualiza-se um aumento das áreas de pico, funcionando assim como veículo encapsulador e protetor das características do mesmo.

3.4 Caracterização por condutividade elétrica

A condutividade elétrica é analisar estruturalmente análise estrutural de uma ME em diferenciar as microemulsões do tipo gotícula bicontínua e do tipo solução, se o sistema microemulsionado é tipo O/W ou W/O, onde o microemulsão O/W (tipo gotícula) possui condutividade mais baixa, enquanto W/O, registra alta condutividade (tipo bicontínuas) (NAOUI et al., 2011). Assim, valores de 0,05 até 0,29 $\mu\text{S}/\text{cm}$ são valores aceitam na literatura e estabelecidos para caracterizar uma microemulsão do tipo O/W (DAS et al., 2012). No entanto é importante destacar, que em um sistema pressuposto, como é no caso deste estudo que, somente a medida da condutividade não garante a certeza da estrutura das MEs. A Tabela 4 demonstra o valor de condutividade obtido durante a análise.

Tabela 4: Condutividade do sistema 7:3:1(óleo:surfactante:água) microemulsionado encontrado no diagrama ternário de fases.

Proporção	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
7:3:1	0,06

O valor de condutividade mostrado na proporção 7:3:1 foi de 0,06 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dentro da faixa para microemulsão, sugerindo característica de difusão em sistema aquoso. No entanto, reforça-se que esta característica é apenas uma hipótese, sendo necessários estudos com equipamento SAXS (espalhamento de raios-X a baixo ângulo), para confirmação da veracidade da estrutura das MEs, permitindo assim, o acompanhamento das mudanças morfológicas e estruturais em escala nanométrica, o que pode ser correlacionadas às transições de fase do sistema, em função de tamanho das partículas, forma, distribuição, razão entre a área e o volume (BRAS et al., 1995; RYAN, 1993).

3.5 Anova para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial)

A representação estatística na Tabela 5 demonstra se há diferença entre distribuição de uma medida entre três ou mais grupos. A variação dos dados em dois componentes, ou entre grupos que representa a variação entre os quatro grupos existentes (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) e o intra grupos, que expressa à relação da variação da temperatura e dias dentro de um mesmo grupo.

Tabela 5: Tabela ANOVA para os grupos (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial).

Fonte	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	Fator F	Valor-P
entre grupos	$4,091 \times 10^{19}$	3	$1,363 \times 10^{19}$	5,00	0,0025
intra grupos	$3,822 \times 10^{20}$	140	$2,730 \times 10^{18}$		
Total	$4,231 \times 10^{20}$	143			

Nos resultados estatísticos, observa-se que o Fator F, foi de 4,9953, muito próximo de 5,00 e o valor-P do teste-F foi de 0,0025, ou seja, inferior a 0,05. Isto demonstra que não há hipótese nula, e nem todas as médias da população são iguais. Assim, há uma diferença estaticamente significativa entre as médias entre grupos, ao comparar a variação entre os quatro grupos de isômeros existentes (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial) com nível de confiança de 95,0%. Segundo Sodeifian, Sajadian e Ardestani (2017), os menores valores de p associados demonstram que os coeficientes correspondentes são mais significativos e também demonstram que o melhor ajuste do modelo desenvolvido. Enquanto valores de quadrado médio apresentam o grau de precisão e confiabilidade dos experimentos

3.6 Método da diferença mínima significativa de Fisher (LSD)

A diferença mínima significativa de Fisher (LSD), no qual consiste em um risco de 5,0% para cada par de médias é significativamente diferente, quando a diferença real é igual a 0. As tabelas 6 e 7 representam as médias pelo método de múltiplas faixas, respectivamente.

Tabela 6: Médias obtidas pelo método de múltiplas faixas LSD- Fisher ($\alpha=95\%$).

Amostras	Dados	Média	Grupos homogêneos
Neral	36	$3,889 \times 10^9$	X
ME Neral	36	$3,911 \times 10^9$	X
Geranial	36	$4,813 \times 10^9$	X
ME G	36	$5,085 \times 10^9$	X

Tabela 7: Comparativo das diferenças das médias de significância entre os pares analisados.

Comparativo	Sig.	Diferença	+/- Limites
Neral – ME Neral		$-2,201 \times 10^7$	$7,7 \times 10^8$
Neral – ME Geranial	*	$-1,195 \times 10^9$	$7,7 \times 10^8$
Neral – ME Geranial	*	$-9,234 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$
ME Neral – Geranial	*	$-1,173 \times 10^9$	$7,7 \times 10^8$
ME Neral – ME Geranial	*	$-9,014 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$
Geranial – ME Geranial		$-2,720 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$

* Indica que há diferença significativa entre os grupos.

Na tabela 7, está representado a maior média relacionada a ME, logo se referente ao Geranial que permaneceu com mais presente em relação ao Neral, além disso, o Geranial também teve maior média em comparação ao Neral.

Na comparação da significância das médias, observa-se na Tabela 7 que, para os pares com asterisco há uma diferença significativa entre as médias, com um nível de confiança de 95,0%. O Geranial e Neral. Isso acontece devido as concentrações, características e até mesmo, a presença, de cada composto são distintas umas das outras (CARNEIRO et al. 2013). Ressalta-se, que há influências como, tamanho de partículas, e a concentração de um determinado composto na formulação, por exemplo, na qual o diâmetro médio das microemulsões estão relacionados ao diâmetro médio da gotícula das emulsões de entrada, ou seja, microcápsulas com tamanho de partícula maior, foram obtidas a partir de emulsões com tamanho de gota e viscosidade maior. Assim sendo, as modificações e as interações desses componentes, geram afinidades e quantidades diferentes dos mesmos em cada amostra, tanto de OE ou microemulsionada.

Neste sentido, os resultados obtidos nos mostram que não há diferenças significativas entre OE e a ME, o que significa que ocorreu o esperado quanto à estabilidade dos mesmos.

3.7 Modelagem utilizando o método “Stepwise Fit Regression”

A modelagem utilizando o método “stepwise fit regression” (Figura 8) em que são mostrados os parâmetros dos modelos de ajustes, como, valores dos coeficientes calculados, o valor-P, além do coeficiente de determinação adjacente (R^2_{adj}) e do erro relativo médio (MRE).

Tabela 8: Parâmetros estimados para os modelos dos isômeros obtidos utilizando o método “stepwise fit regression”

Isômeros	Coefficiente	Valor do coeficiente	$p < 0,05$	R^2_{adj}	MRE (%)
Neral	<i>Intercepto</i>	40,463	---	0,968	1,868
	<i>t</i>	1,451	$4,365 \times 10^{-16}$		
	t^2	$-3,333 \times 10^{-2}$	$5,420 \times 10^{-11}$		
	$t \times T^2$	$-4,682 \times 10^{-4}$	$5,637 \times 10^{-16}$		
	$t^2 \times T^2$	$1,035 \times 10^{-5}$	$1,175 \times 10^{-9}$		
ME Neral	<i>Intercepto</i>	50,985	---	0,891	4,671
	<i>t</i>	0,632	$5,804 \times 10^{-6}$		
	<i>T</i>	-0,208	$2,168 \times 10^{-5}$		
	$t \times T^2$	$-3,745 \times 10^{-4}$	$3,886 \times 10^{-5}$		
Geranial	<i>Intercepto</i>	59,537	---	0,968	1,406
	<i>t</i>	-1,451	$4,365 \times 10^{-16}$		
	t^2	$3,333 \times 10^{-2}$	$5,420 \times 10^{-11}$		
	$t \times T^2$	$4,682 \times 10^{-4}$	$5,637 \times 10^{-16}$		

	$t^2 \times T^2$	$-1,035 \times 10^{-5}$	$1,175 \times 10^{-9}$		
	<i>Intercepto</i>	49,015	---		
ME Geranial	<i>t</i>	-0,632	$5,804 \times 10^{-6}$	0,891	3,981
	<i>T</i>	0,208	$2,168 \times 10^{-5}$		
	$t \times T^2$	$3,745 \times 10^{-4}$	$3,886 \times 10^{-5}$		

De acordo com Sodeifian et al. (2017), a qualidade do ajuste do modelo de regressão pode ser avaliada pelo valor estimado do coeficiente de determinação adjacente. Dessa forma, para verificar o grau de ajuste dos modelos dos isômeros, consideraram-se as magnitudes de determinação (R^2_{adj}) e do erro médio relativo (MRE), quanto menores forem seus valores, melhores são os resultados dos ajustes dos isômeros aos dados obtidos. O R^2_{adj} determina a eficiência dos isômeros propostos frente à variação dos dados. Já o parâmetro estatístico MRE é um critério que avalia a precisão das estimativas, que neste caso, relaciona-se a estabilidade dos compostos (VILLAVÉLEZ, et al, 2012).

Os valores demonstrados na tabela 9, o erro médio relativo (MRE) foram inferiores a 10%, o que demonstra um melhor ajuste para a degradação de compostos bioativos, representando com maior precisão a eficácia da estabilidade e do encapsulamento dos mesmos. No entanto, verifica-se que para os isômeros Geranial e Neral, obteve-se um maior coeficiente de determinação (0,968), sendo mais próximo de 1, e menores erros percentuais (0,01406 %; 0,01868 %), respectivamente, quando comparados aos isômeros microemulsionados, com coeficiente de determinação (0,891), e erros percentuais (0,03981 %; 0,04671 %), respectivamente. Sendo assim, destaca-se que o melhor ajuste para descrever com maior precisão os diagramas residuais e de frequência obtidos, foram os modelos de isômeros Geranial e Neral, sendo o primeiro ainda mais eficiente. Esses valores são importantes para indicar as condições de estabilidade e degradação do material analisado.

Para o valor-P, ao analisar o nível de significância ($p < 0,05$), Tabela 9, todos os modelos de isômeros possuem valor abaixo do nível de significância. Os menores valores de p foram aos modelos Geranial e Neral, que há diferenças significativas entre si, devido a concentrações e outras características dos compostos, inclusive da sua predominância na formulação, variações de temperaturas e dias expostos.

Na Figura 3, encontram-se os diagramas de residuais e frequência entre valores experimentais e calculados (Neral, ME Neral, Geranial e ME Geranial).

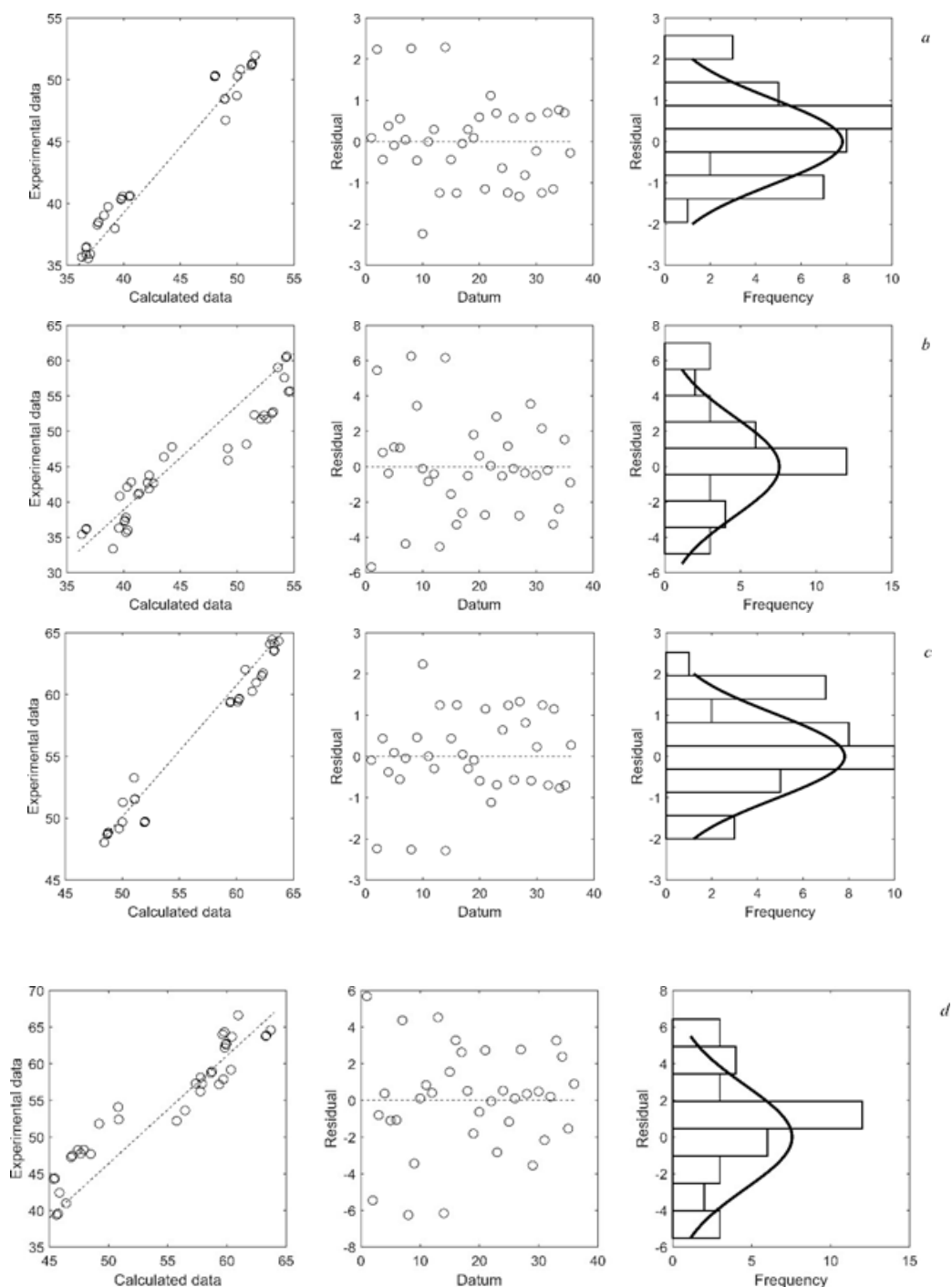


Figura 2: Diagrama de residuais e frequência entre valores experimentais e calculados pelo método “stepwise fit regression” (a) Neral, (b), ME Neral, (c) Geranial e (d) ME Geranial.

Observa-se que ao comparar os valores teóricos com os experimentais, ocorre uma tendência na qual os valores experimentais comportaram-se semelhantemente aos teóricos, sobretudo aos modelos Neral (a) e Geranial (c). Isto indica que ocorreu uma boa precisão e exatidão nos resultados obtidos. A mesma tendência foi descrita por Maran et al. (2015), no qual os pontos de dados do gráfico estavam razoavelmente próximos da linha reta demonstrando uma concordância adequada entre os dados reais e os dados obtidos a partir dos modelos empíricos desenvolvidos. Dessa forma, pode-se confirmar que os dados são normalmente distribuídos e dentro dos limites aceitos.

A análise dos resíduos consiste na diferença entre o valor teórico e o experimental, e pode ser considerada eficiente quando os valores se encontram próximos ao zero. Ao verificar que houve um bom ajuste para todos os modelos, especialmente para Neral (a) e Geranial (c), que apresentaram, resíduos concentrados entre 1 e -1 e presença de poucos resíduos extremos abaixo e acima do intervalo encontrado. Os resíduos ficaram distribuídos aleatoriamente em torno de zero, indicando o comportamento esperado para a distribuição de erros. Um modelo é considerado aleatório se os valores residuais se encontrarem próximos à faixa horizontal em torno de zero e não formarem figuras definidas, não indicando tendenciosidade dos resultados. Se apresentar distribuição tendenciosa, o modelo é considerado inadequado para representar o fenômeno em questão (GONELI, 2011).

Em relação à frequência, que indica a quantidade de vezes que ocorreu determinado valor de resíduo, observa-se que a média central de cada amostra esteve em torno de zero e os modelos Neral (a) e Geranial (b), com distribuição central, apresentando o maior ponto do gráfico na coluna que está em zero, conclui-se que as amostras tiveram resíduo zero, significando que houve correlação entre os valores experimentais e teóricos. Evidências estatísticas deixam claro que as MEs preservaram os princípios ativos do OE da *Pectis brevipedunculata*, tornando-os estáveis.

Na figura 4, os valores dos isômeros obtidos pelo método “stepwise fit regression” em função da temperatura e do tempo, representado pelo gráfico de dispersão 3D, utilizado para explorar as relações potenciais entre três variáveis nos eixos x, y e z. Esta última é considerada a variável de reposta.

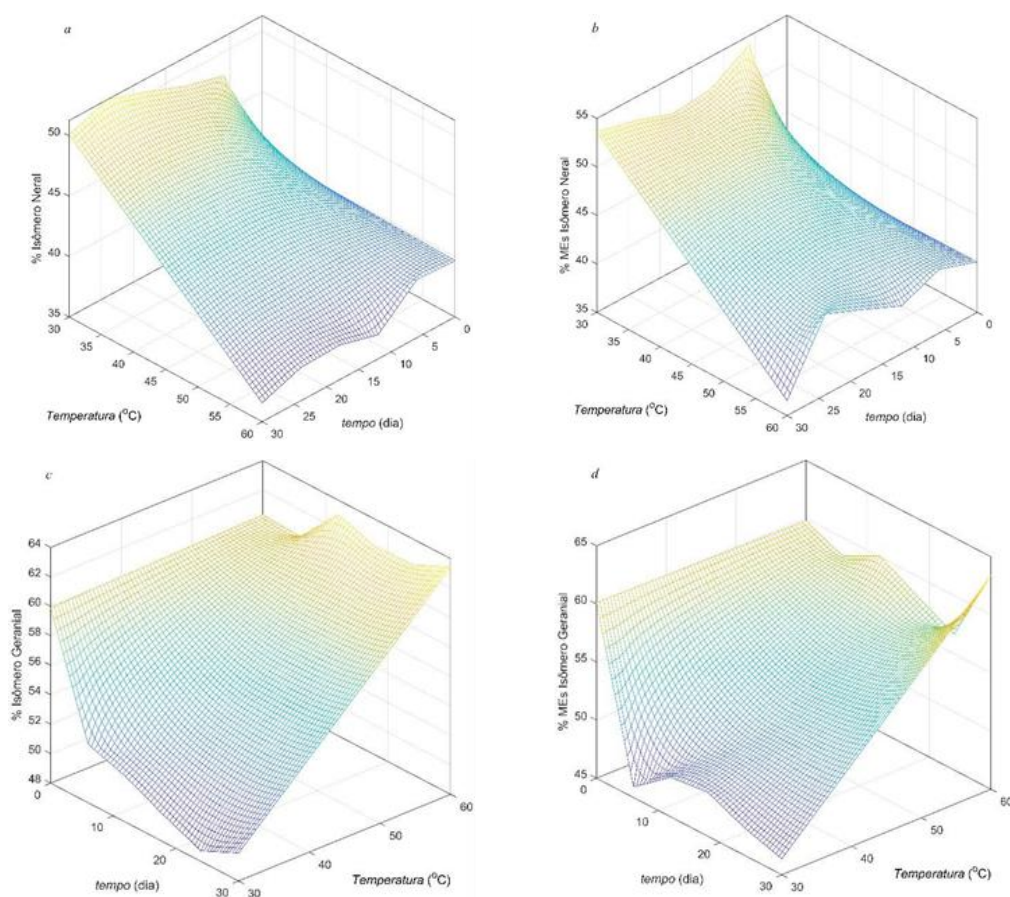


Figura 4: Simulação dos isômeros (a) Neral, (b), ME Neral, (c) Geranial e (d) ME Geranial pelo método “stepwise fit regression” em função da temperatura e tempo.

No geral nas representações identificou bom ajuste dos modelos. Além disso, as mesmas exibiram o comportamento encontrado na Tabela 3 e Figura 2, onde a porcentagem do componente Neral aumenta na temperatura de 30°C e diminui com o uso de 60°C. Já o Geranial tem sua porcentagem aumentada na temperatura de 60°C e diminui em 30°C. Isto se explica pelo comportamento de interconversão dos isômeros, devido a influência da temperatura, que é um fator muito importante no comportamento dos OEs. Esta mesma característica se repete nos componentes microemulsionados. Ranitha et al. (2014) demonstra em seus estudos que composições de OE podem ser qualitativamente semelhantes, no entanto apresentam-se quantitativamente diferentes. Isso é causado pela presença de compostos que sofreram processo de oxidação, hidrólise ou outras reações químicas que podem sofrer no processo de extração, onde são submetidos a temperaturas e períodos de análises diferentes. Segundo Liu et al. (2018) as diferenças de extração produzem quantidades distintas de componentes principais e resultarão em aumentos de temperatura durante o processo de extração que causa mudanças na composição de óleos essenciais.

3.8 Atividade carrapaticida de microcápsulas contendo OE de *P. brevipedunculata*

No presente estudo, o processo de microencapsulação, além de apresentar eficácia na retenção dos principais constituintes voláteis do OE desta espécie, também apresentou eficácia na manutenção de seu potencial antiparasitário, tabela 9.

Tabela 9: Comparação entre a atividade carrapaticida do óleo essencial de *P. brevipedunculata* livre e microencapsulado contra *R. microplus*.

Óleo essencial livre	Óleo essencial microencapsulado
(20%)	(20%)
% mortalidade	76
22,56	

De acordo com a tabela 9, é possível avaliar o potencial do óleo essencial incorporado à em relação ao óleo puro. Uma vez que o óleo essencial incorporado a microemulsão, terá um controle maior na liberação dos compostos quando aplicado ao bioensaio e permitindo com que a ação dos compostos permaneça por mais tempo.

4 CONCLUSÃO

A retenção dos principais constituintes voláteis e a manutenção do potencial antiparasitário do OE de *P. brevipendulata* após microencapsulação, evidenciam a viabilidade técnica do processo. Por outro lado, sabendo que as propriedades das microcápsulas (tamanho e morfologia da superfície, rendimento percentual, eficiência de encapsulação, comportamentos de libertação e potencial bioativo) dependem diretamente das variáveis do processo, futuros estudos devem ser conduzidos, visando sua otimização.

Referências

Amparo, T.R., Seibert, J.B., Silveira, B.M., Costa, F.S.F., Almeida, T.C., Braga, S.F.P., da Silva, G.N., dos Santos, O.D.H., de Souza, G.H.B., 2021. Brazilian essential oils as source for the discovery of new anti-COVID-19 drug: a review guided by in silico study. *Phytochemistry Reviews* 20, 1013-1032.

AOCS-Cs7-25, 1993. Refractive index measurement. AOCS, Champaign.

Barreto, I.C., Costa, S.P.M., de Jesus Santos, A., Farias, A.P., Sarmento, V.H.V., Teodoro, A.V., de Souza Nunes, R., Guedes de Sena Filho, J., 2022. Incorporation of essential oil from *Vitex gardneriana* (Lamiaceae) in microemulsions systems based on mineral and cottonseed oils increased its bioactivity against a coconut pest mite. *Industrial Crops and Products* 183, 114963.

Carvalho, A.C.B., Lana, T.N., Perfeito, J.P.S., Silveira, D., 2018. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. *Journal of Ethnopharmacology* 212, 29-35.

de Sá, A.Á.M., Santos, E.W.P.d., dos S. Santana, M.H., Santos, A.d.J., de Araujo, G.R.S., Santana, D.G., de Lara P. de M. Arguelho, M., de O. e Silva, A.M., Correa, C.B., de S. Nunes, R., Sarmento, V.H.V., Lira, A.A.M., 2020. Evaluation of the incorporation of essential oils in microemulsions as a promising formulation in the inhibition of tyrosinase. *Industrial Crops and Products* 154, 112654.

de Souza, F.G., Náthia-Neves, G., de Araújo, F.F., Dias Audibert, F.L., Delafiori, J., Neri-Numa, I.A., Catharino, R.R., de Alencar, S.M., de Almeida Meireles, M.A., Pastore, G.M., 2021. Evaluation of antioxidant capacity, fatty acid profile, and bioactive compounds from biritirana (*Mauritiella armata* Mart.) oil: A little-explored native Brazilian fruit. *Food Research International* 142, 110260.

Dutra, R.C., Campos, M.M., Santos, A.R.S., Calixto, J.B., 2016. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research* 112, 4-29.

Fernández-Peña, L., Gutiérrez-Muro, S., Guzmán, E., Lucia, A., Ortega, F., G. Rubio, R., 2019. Oil-In-Water Microemulsions for Thymol Solubilization. 3, 64.

Kalaitzaki, A., Emo, M., Stébé, M.J., Xenakis, A., Papadimitriou, V., 2013. Biocompatible nanodispersions as delivery systems of food additives: A structural study. *Food Research International* 54, 1448-1454.

Kalaitzaki, A., Pouloupoulou, M., Xenakis, A., Papadimitriou, V., 2014. Surfactant-rich biocompatible microemulsions as effective carriers of methylxanthine drugs. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 442, 80-87.

Li, X., Wang, R., Huang, S., Wang, Y., Shi, H., 2018. Capillary rise method for effective surface tension of monolayer nanoparticle-covered liquid marbles. *Soft Matter* 14.

McClements, D.J., 2012. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter* 8, 1719-1729.

Mendonça, C.R.B., Silva, Y.P., Böckel, W.J., Simó-Alfonso, E.F., Ramis-Ramos, G.,

Piatnicki, C.M.S., Bica, C.I.D., 2009. Role of the co-surfactant nature in soybean w/o microemulsions. *Journal of Colloid and Interface Science* 337, 579-585.

Neri-Numa, I.A., Soriano Sancho, R.A., Pereira, A.P.A., Pastore, G.M., 2018. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. *Food Research International* 103, 345-360.

Pavela, R., Benelli, G., Pavoni, L., Bonacucina, G., Cespi, M., Cianfaglione, K., Bajalan, I., Morshedloo, M.R., Lupidi, G., Romano, D., Canale, A., Maggi, F., 2019. Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils—Towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides? *Industrial Crops and Products* 129, 631-640.

Ponte, F.A.F., Rodrigues, J.S., Malveira, J.Q., Ramis-Filho, J.A.S., Albuquerque, M.C.G., 2017. Physical-chemical evaluation of babassu oil (*Orbinya speciosa*) and coconut oil (*Cocos nucife*) with high acidity and fatty acids (C6 to C16). *Scientia Plena* 13, 1-8.

Rahdar, A., Hajinezhad, M.R., Sargazi, S., Zaboli, M., Barani, M., Baino, F., Bilal, M., Sanchooli, E., 2021. Biochemical, Ameliorative and Cytotoxic Effects of Newly Synthesized Curcumin Microemulsions: Evidence from In Vitro and In Vivo Studies. 11, 817.

Santos, D.S., Moura, L.D., Radicchi, M.A., Azevedo, R.B., Costa, M.C.P., Souza, P.E.N., Camara, A.L., da Silva, J.R., Muehlmann, L.A., Longo, J.P.F., 2021. Nanoemulsion Improves Babassu Palm Oil (*Orbignya phalerata*) Antioxidant Properties. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 64, 1-14.

Sargazi, S., Hajinezhad, M.R., Barani, M., Mukhtar, M., Rahdar, A., Baino, F., Karimi, P., Pandey, S., 2021. F127/Cisplatin Microemulsions: In Vitro, In Vivo and Computational Studies. 11, 3006.

Silva, M.J.F.d., Rodrigues, A.M., Vieira, I.R.S., Neves, G.d.A., Menezes, R.R., Gonçalves, E.d.G.d.R., Pires, M.C.C., 2020. Development and characterization of a babassu nut oil-based moisturizing cosmetic emulsion with a high sun protection factor. *RSC Advances* 10, 26268- 26276.

Stetefeld, J., McKenna, S.A., Patel, T.R., 2016. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophys Rev* 8, 409-427.

Yang, Y., McClements, D.J., 2013. Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. *Food Chemistry* 141, 473-481.

Ziani, K., Fang, Y., McClements, D.J., 2012. Fabrication and stability of colloidal delivery systems for flavor oils: Effect of composition and storage conditions. *Food Research International* 46, 209-216.

Capítulo 4: FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA ECTOPARASITICIDA À BASE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PECTIS BREVIPEDUNCULATA E USO

Status: publicada



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102021013060-1 A2



(22) Data do Depósito: 30/06/2021

(43) Data da Publicação Nacional: 10/01/2023

(54) Título: FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA ECTOPARASITICIDA À BASE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PECTIS BREVIPEDUNCULATA E USO

(51) Int. Cl.: A61K 36/28; A61K 36/889; A61K 31/215; A61P 33/14.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO.

(72) Inventor(es): MARCOS BISPO PINHEIRO CAMARA; CLÁUDIA QUINTINO DA ROCHA; ALDILENE DA SILVA LIMA; LIVIO MARTINS COSTA JÚNIOR; CÁRITAS DE JESUS SILVA MENDONÇA; HARVEY ALEXANDER VILLA VÉLEZ.

(57) Resumo: FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA ECTOPARASITICIDA À BASE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PECTIS BREVIPEDUNCULATA E USO A presente invenção descreve o uso do óleo essencial do gênero Pectis, em especial, Pectis brevipendunculata, conhecida popularmente como chá de moça e alecrim bravo, como constituinte único ou em uma composição farmacêutica ectoparasiticida, para o controle de carrapatos. Óleo essencial foi microencapsulado em um sistema de microemulsão a fim de conservar seus princípios ativos e aumentar a eficiência carrapaticida. Tais composições apresentam atividade ectoparasiticida comprovada a partir de resultados obtidos de ensaios biológicos, podendo ser utilizadas no combate, controle e repelência de ectoparasitos, principalmente carrapatos, seja por aplicações em vertebrados terrestres ou ambientes peridomociliares.

4. CONCLUSÕES FINAIS

A espécie *Pectis brevipedunculata* demonstrou estabilidade tanto no rendimento quanto na produção qualitativa e quantitativa de compostos na avaliação sazonal e ciclo circadiano. O que nos mostra que a espécie além de manter a produção constante de metabólitos ao longo dos períodos estudados, pode ser uma espécie de fácil cultivo. O óleo essencial de *P. brevipedunculata*, é constituído em sua maior parte por monoterpenos oxigenados, o que poderá facilitar sua incorporação na microemulsão e solubilidade. O O.E. de *P. brevipedunculata*, apresentou-se como um potente bioprodutos para o controle de *Rhipicephalus microplus* e *Haemonchus contortus*. Além disso, apresentou excelente seletividade para organismos não-alvo. Estudos mais detalhados sobre formulação, deveram ser realizados para caracterização química e comprovação da eficácia e segurança.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.
- ALAEI, S.; MAHNA, N. Comparison of Essential Oil Composition in *Dracocephalum moldavica* in Greenhouse and Field. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 16, n. 3, p. 346–351, 2013.
- ALBUQUERQUE, M. R. J. R. et al. Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 79, n. 2, p. 209–213, 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants and animals of an important seasonal dry forest in Brazil. **Ethnobiology and Conservation**, v. 9, p. 1–53, 2020.
- ALESSANDRO FRANCISCO TALAMINI DO AMARANTE, A. M. A. R. B. F. DA S. **Os parasitas de ovinos**. [s.l.] SciELO Books - Editora UNESP, [s.d.].
- ALKRAD, J. A. et al. Microemulsions as nanocarriers for oral and transdermal administration of enoxaparin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 70, n. February, p. 103248, 2022.
- ÁLVAREZ, M. et al. Proteomic approach to unveil the ochratoxin A repression by *Debaryomyces hansenii* and rosemary on *Penicillium nordicum* during dry-cured fermented sausages ripening. **Food Control**, v. 137, 1 jul. 2022.
- ANDRADE, A. C. D. M. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO (+) - α -pineno E (+) - β - pineno ISOLADOS E ASSOCIADOS SOBRE *Candida* spp . DE INTERESSE CLÍNICO PARA. 2017.
- ARCEO-MEDINA, G. N. et al. Synergistic action of fatty acids, sulphides and stilbene against acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 121–125, 15 set. 2016.
- ARRIETA, M. P. et al. Characterization of PLA-limonene blends for food packaging applications. **Polymer Testing**, v. 32, n. 4, p. 760–768, 2013.
- AZEVEDO, C. S. DE. ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA FOLIAR DE *Pectis brevipedunculata*: ONTOGENIA DE CAVIDADES SECRETORAS E ESTRUTURA KRAZ. 2007a.
- AZEVEDO, C. S. DE. Anatomia e ultra-estrutura foliar de *Pectis brevipedunculata*: ontogenia de cavidades secretoras e estrutura Kranz. 2007b.
- BAKKALI, F. et al. **Biological effects of essential oils - A review**. **Food and Chemical Toxicology**, fev. 2008.
- BANERJEE, A. et al. Feedback inhibition of deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase regulates the methylerythritol 4-phosphate pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 23, p. 16926–16936, 2013.

BARBOSA, M. R. DE V. **Checklist das plantas do nordeste brasileiro: angiospermas e gymnospermas**. 2006.

BARRETO, I. C. et al. Incorporation of essential oil from *Vitex gardneriana* (Lamiaceae) in microemulsions systems based on mineral and cottonseed oils increased its bioactivity against a coconut pest mite. **Industrial Crops and Products**, v. 183, n. April, 2022.

BARRETO, I. C.; ALMEIDA, A. S. DE; FILHO, J. G. S. Taxonomic Insights and Its Type Cyclization Correlation of Volatile Sesquiterpenes in Vitex Species and Potential Source Insecticidal Compounds : A Review. p. 1–31, 2021.

BENDELE, K. G. et al. Acetylcholinesterase 1 in populations of organophosphate-resistant North American strains of the cattle tick, *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 114, n. 8, p. 3027–3040, 28 ago. 2015.

BERBERT, J. M.; FAGAN, W. F. How the interplay between individual spatial memory and landscape persistence can generate population distribution patterns. **Ecological Complexity**, v. 12, p. 1–12, dez. 2012.

BHUIYAN, F. R. et al. Plants Metabolites: Possibility of Natural Therapeutics Against the COVID-19 Pandemic. **Frontiers in Medicine**, v. 7, n. August, p. 1–26, 2020.

BIZZO, H. R.; HOVELL, M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**Quim. Nova. [s.l: s.n.].

CAMPOS PEREIRA, M. et al. *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: biologia, controle e resistência. Medicina Veterinária, São Paulo, 2008.169 p. n. May, 2008.

CANEVARI, G.; MAJUMDAR, A.; SPICER, A. Order reconstruction for nematics on squares and hexagons: A Landau-de Gennes study. **SIAM Journal on Applied Mathematics**, v. 77, n. 1, p. 267–293, 2017.

CARDOSO, A. DOS S. et al. Terpenes on *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: Acaricidal activity and acetylcholinesterase inhibition. **Veterinary Parasitology**, v. 280, 1 abr. 2020.

CARRIL, A. Á. GARCÍA. E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. **Hidrobiológica**, v. 2, n. 2, p. 119–145, 2009.

CASIGLIA, S. et al. Chemical composition of essential oils of *Anthemis secundiramea* Biv. subsp. *secundiramea* (Asteraceae) collected wild in Sicily and their activity on micro-organisms affecting historical art craft. **Natural Product Research**, v. 33, n. 7, p. 970–979, 2019.

CECATI, F. M. et al. Eupatorium buniifolium aroma profile assessment by HS-SPME, steam distillation and organic solvent extraction. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 1, p. 80–93, 2021.

CHARLIER, J. et al. Anthelmintic resistance in ruminants: challenges and solutions. **Advances in Parasitology**, v. 115, p. 171–227, 2022.

COSTA, D. F. N. Potencial Imunomodulador E Antimicrobiano do (+) - α -Pineno e (+)- β -Pineno. p. 1–53, 2017.

DA CRUZ, J. E. R. et al. A review of medicinal plants used in the Brazilian Cerrado for the treatment of fungal and bacterial infections. **Journal of Herbal Medicine**, v. 31, n. February 2021, p. 100523, 2022.

DA SILVA JÚNIOR, A. Q. et al. Seasonal and circadian evaluation of a citral-chemotype from *Lippia alba* essential oil displaying antibacterial activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 85, n. May, p. 35–42, 2019.

DA SILVA LIMA, A. et al. Assessment of the repellent effect of *Lippia alba* essential oil and major monoterpenes on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 30, n. 1, p. 73–77, 1 mar. 2016.

D’ALESSIO, P. A. et al. Oral administration of d-Limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans. **Life Sciences**, v. 92, n. 24–26, p. 1151–1156, 2013.

DAMASCENO, B. P. G. L. et al. Microemulsão: Um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9–18, 2011.

DE ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, p. 76–91, 1 mar. 2007.

DE OLIVEIRA MONTESCHIO, J. et al. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. **Meat Science**, v. 130, p. 50–57, 1 ago. 2017.

DE SOUZA CHAGAS, A. C. et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 427–432, 2016.

DEMO, MIRTA SUSANA; OLIVA, MARIA DE LAS MERCEDESICON; LÓPEZ, MARÍA LIZAICON; ZUNINO, MARÍA PAULAICON; ZYGADLO, J. A. Antimicrobial activity of essential oils obtained from aromatic plants of Argentina. **Pharmaceutical Biology**, n. 1388–0209, 2005.

DEWICK, P. M. **The Mevalonate and Methylerythritol Phosphate Pathways: Terpenoids and Steroids**. [s.l.: s.n.].

DILSON, J. et al. MICROEMULSÕES: COMPONENTES, CARACTERÍSTICAS, POTENCIALIDADES EM QUÍMICA DE ALIMENTOS E OUTRAS APLICAÇÕES. v. 38, n. 9, p. 1196–1206, 2015.

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

FENG, Y. et al. Crystal Structure of Geranylgeranyl Pyrophosphate Synthase (CrtE) Involved in Cyanobacterial Terpenoid Biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, p. 1–14, 2020.

FERRARIO, M. et al. Hurdle processing of turbid fruit juices involving encapsulated citral and vanillin addition and UV-C treatment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 332, n. July, p. 108811, 2020.

FERREIRA, L. L. RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO: Interação entre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* e bovinos suscetíveis e resistentes LORENA LOPES FERREIRA
RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO: Interação entre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* e bovinos suscetíveis e resis. 2011.

FERREIRA, S. DA C.; CARVALHO-OKANO, R. M. DE; NAKAJIMA, J. N. A família Asteraceae em um fragmento florestal, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 903–942, 2009.

FOGARTY, E. S. et al. Sensor-based detection of a *Haemonchus contortus* (Barber's pole worm) infection in sheep. **Smart Agricultural Technology**, v. 3, n. September 2022, p. 100112, 2022.

GAD, H. A.; AYOUB, I. M.; WINK, M. Phytochemical profiling and seasonal variation of essential oils of three *Callistemon* species cultivated in Egypt. **PLoS ONE**, v. 14, n. 7, p. 1–15, 2019.

GANJEWALA, D.; GUPTA, A. K. 8 Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats Essential Oil: Overview and Biological Activities MEP pathway View project MDR and their treatment View project. **Researchgate.Net**, v. 7, n. September, p. 909–917, 2016.

GASTÓN, M. S. et al. Sedative effect of central administration of *Coriandrum sativum* essential oil and its major component linalool in neonatal chicks. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 10, p. 1954–1961, 2 out. 2016.

GIR, K. et al. Effect of Different Plant Extracts on Sprouting, Storability and Post-Harvest Loss of Potato in Baglung District, Nepal. **Malaysian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 16–21, 2020.

GRANDO, T. H. et al. In vitro activity of essential oils of free and nanostructured *Melaleuca alternifolia* and of terpinen-4-ol on eggs and larvae of *Haemonchus contortus*. **Journal of Helminthology**, v. 90, n. 3, p. 377–382, 2016.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Das wirtschaftliche Futter**, v. 38, n. 2, p. 105–123, 2014.

GUERRERO, F. D.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J. Use of an Allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 44–50, 2001.

HĄC-WYDRO, K.; FLASIŃSKI, M.; ROMAŃCZUK, K. Essential oils as food eco-preservatives: Model system studies on the effect of temperature on limonene antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 235, p. 127–135, 2017.

HAO, Z. Thermoelastic damping in the contour-mode vibrations of micro- and nano-electromechanical circular thin-plate resonators. **Journal of Sound and Vibration**, v. 313, n. 1–2, p. 77–96, 3 jun. 2008.

HASTANTRAM SAMPANGI-RAMAIHA, M.; VISHWAKARMA, R.; UMA SHAANKER, R. **Molecular docking analysis of selected natural products from plants for inhibition of SARS-CoV-2 main protease**CURRENT SCIENCE. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://sts.bioe.uic.edu/castp/index.html?3igg>>.

HE, X. et al. Preparation of water-in-oil (W/O) cinnamaldehyde microemulsion loaded with epsilon-polylysine and its antibacterial properties. **Food Bioscience**, v. 46, n. October 2021, 2022.

HERBARIUM, G. A SYSTEMATIC STUDY OF THE UNITED STATES AND MEXICAN SPECIES OF PECTIS Author (s): M . L . Fernald Source : Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University , No . 12 (1897), pp . Published by : Harvard University Herbaria Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/240288>. v. 12, n. 12, p. 57–86, 2022.

HERMENEAN, A. et al. Plant-Derived Biomolecules and Drug Delivery Systems in the Treatment of Liver and Kidney Diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 35, p. 5415–5441, 18 nov. 2016.

HILLIER, S. G.; LATHE, R. Terpenes, hormones and life: Isoprene rule revisited. **Journal of Endocrinology**, v. 242, n. 2, p. R9–R22, 2019.

HULLEY, I. M. et al. Essential oil composition of a medicinally important Cape species: *Pentzia punctata* (Asteraceae). **South African Journal of Botany**, v. 127, n. March 2016, p. 208–212, 2019.

HYPERICACEAE, H.; CROCKETT, S. L. Natural Product Communications Essential Oil and Volatile Components of the Genus. 2010.

JOHNSON, S. R. et al. Bioenergetics of monoterpenoid essential oil biosynthesis in nonphotosynthetic glandular trichomes. **Plant Physiology**, v. 175, n. 2, p. 681–695, 2017.

JONES, D. E.; KLACKING, E.; RYAN, R. O. Inborn errors of metabolism associated with 3-methylglutaconic aciduria. **Clínica Chimica Acta**, v. 522, n. June, p. 96–104, 2021.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática Vegetal - Um Enfoque Filogenético**. Taxon, 2009.

KATIKI, L. M. et al. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 47–51, 30 ago. 2017.

KIYAMA, R. **DNA microarray-based screening and characterization of traditional Chinese medicine**. MicroarraysMDPI AG, 1 mar. 2017.

KIYOTA, H. et al. Engineering of cyanobacteria for the photosynthetic production of limonene from CO₂. **Journal of Biotechnology**, v. 185, p. 1–7, 2014.

KOJIMA, J. T. Atendendo solicitação d o (a) autor (a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 04/02/2018. 2016.

KROYMANN, J. **Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism**. **Current Opinion in Plant Biology**, jun. 2011.

KUMAR, A.; DEV, K.; SOURIRAJAN, A. Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., and the phyto-compounds, delta-carene and alpha-pinene mediate cell cycle arrest at G2/M transition in budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **South African Journal of Botany**, v. 141, p. 296–305, 2021.

LAINEZ-CERÓN, E. et al. Effect of process variables on heating profiles and extraction mechanisms during hydrodistillation of *eucalyptus* essential oil. **Heliyon**, v. 7, n. 10, 2021.

LE GALL, V. L.; KLAFKE, G. M.; TORRES, T. T. **Detoxification mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Scientific Reports**, 2018a.

LE GALL, V. L.; KLAFKE, G. M.; TORRES, T. T. Detoxification mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018b.

LEITE, J. L. Estudo químico e atividade antifúngica de *Anemia tomentosa* (Anemiaceae). 2017.

LI, D. SEN et al. An extremely promiscuous terpenoid synthase from the Lamiaceae plant *Colquhounia coccinea* var. *mollis* catalyzes the formation of sester-/di-/sesqui-/monoterpenoids. **Plant communications**, v. 2, n. 5, p. 100233, 2021.

LIAO, P. et al. The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 697–713, 2016.

LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, 1 jun. 2021.

LIMA, I. O. et al. Antifungal activity and mode of action of carvacrol against *Candida albicans* strains. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 2, p. 138–142, 2013.

LIU, Z. et al. De novo biosynthesis of antimycobacterial agent geranylgeranyl acetate from glucose. **Biochemical Engineering Journal**, v. 142, n. October 2018, p. 84–88, 2019.

LOURENÇO, A. M. et al. Essential oil of *Siparuna guianensis* as an alternative tool for improved lepidopteran control and resistance management practices. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2018.

LU, W. C. et al. Skin permeation of d-limonene-based nanoemulsions as a transdermal carrier prepared by ultrasonic emulsification. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 2, p. 826–832, 2014.

MAGALHAES, K. A. et al. Caprinos e ovinos no Brasil: análise da Produção da Pecuária Municipal 2019. **CIM . Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos**, v. 11, n. Tabela 1, 2020.

MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R. B. Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and

menthofuran synthase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 15, p. 8915–8920, 2001.

MARCIA TEREZINHA RAMOS DE OLIVEIRA. SECAGEM E QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip. MARCIA TEREZINHA RAMOS DE OLIVEIRA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO-UENF CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ FEVEREIRO-2011. [s.l: s.n.].

MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 798–808, 2013a.

MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 798–808, 2013b.

MASWAL, M.; DAR, A. A. Formulation challenges in encapsulation and delivery of citral for improved food quality. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 182–195, 2014.

MASYITA, A. et al. Food Chemistry: X Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils , their roles in human health and potential application as natural food preservatives. **Food Chemistry: X**, v. 13, n. October 2021, p. 100217, 2022.

MELO, A. C. F. L. Caracterização do nematóide de ovino *Haemonchus contortus*, resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis no Estado do Ceará, Brasil. **Tese**, p. 104, 2005.

MICHEL, J.; ABD RANI, N. Z.; HUSAIN, K. A Review on the Potential Use of Medicinal Plants From Asteraceae and Lamiaceae Plant Family in Cardiovascular Diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. June, p. 1–26, 2020.

MIZIORKO, H. M. Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 505, n. 2, p. 131–143, 2011.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária (Vol. 1)**. São Paulo: Roca. , 2011.

MONTEIRO, S. G. Parasitologia na medicina veterinária – 2ª ed. – Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370 p. p. 2–3, 2017.

MOSQUERA, MARTA. E. G. et al. Terpenes and Terpenoids: Building Blocks to Produce Biopolymers. **Sustainable Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 467–492, 2021.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus Curtice*, 1891 with *Rhipicephalus Koch*, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 3, p. 169–172, 2003.

NAKAJIMA, J. N. **A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade**. [s.l: s.n.].

NANDI, A.; MAZUMDAR, S.; BEHRMAN, J. R. The effect of natural disaster on fertility, birth spacing, and child sex ratio: evidence from a major earthquake in India. **Journal of Population Economics**, v. 31, n. 1, p. 267–293, 1 jan. 2018.

NAOKI KITAOKAA, 1, XUAN LUA, BING YANGB, AND R. J. P. HHS Public Access. **Physiology & behavior**, v. 176, n. 1, p. 100–106, 2016.

NGUYEN MINH CHI. Pathogenicity of *Ceratocystis manginecans* in inoculated Acacia roots. **Indian Phytopathology**, v. 75, n. 1, p. 231–237, 1 mar. 2022.

OLIVEIRA, M. T. R. Secagem e qualidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (gardner) Sch. Bip. p. 197, 2011.

ORSI, E. et al. Metabolic flux ratio analysis by parallel ^{13}C labeling of isoprenoid biosynthesis in *Rhodobacter sphaeroides*. **Metabolic Engineering**, v. 57, n. December 2019, p. 228–238, 2020.

OZTURK, B.; WINTERBURN, J.; GONZALEZ-MIQUEL, M. Orange peel waste valorisation through limonene extraction using bio-based solvents. **Biochemical Engineering Journal**, v. 151, n. March, p. 107298, 2019.

PEIXOTO, J. Relações entre sujeitos sociais e objetos técnicos: Uma reflexão necessária para investigar os processos educativos mediados por tecnologias. **Revista Brasileira de Educacao**, v. 20, n. 61, p. 317–332, 2015.

PENICHE-CARDEÑA, Á. et al. Acaricidal activity of Mexican plants against *Rhipicephalus microplus* resistant to amitraz and cypermethrin. **Veterinary Parasitology**, v. 307–308, n. May, p. 109733, 2022.

PEREIRA, A. A. Aspectos Ecológicos de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARINA: IXODIDAE) no Município de Franca, Nordeste de São Paulo. p. 125, 2008.

PESSOA, M. et al. Estudo taxonômico e etnobotânico sobre a família Asteraceae (Dumortier) em uma comunidade rural no Nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 2, p. 110–123, 2014.

PONTES, T. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR, CRESCIMENTO MICELIAL E CAPACIDADE PREDATÓRIA IN VITRO E IN VIVO DE ISOLADOS DE FUNGOS NEMATÓFAGOS DA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DE GUAXINDIBA, RJ. **Biomass Chem Eng**, v. 3, n. 2, p. 2018, ثقافتی.

PORTO, A. S.; ALMEIDA, I. V.; VICENTINI, V. E. P. Nanoemulsões formuladas para uso tópico: estudo de síntese e toxicidade Nanoemulsions formulated for topical use: a study of synthesis and toxicity. **Fitos**, v. 14, n. 4, p. 513–527, 2020.

PROFILE, S. . E. E.; AMARANTE, A. F. T. . DO. **Os parasitas de ovinos**. [s.l: s.n.].

PURSER, G. et al. A first assessment of the sources of isoprene and monoterpene emissions from a short-rotation coppice *Eucalyptus gunnii* bioenergy plantation in the United Kingdom. **Atmospheric Environment**, v. 262, n. June, p. 118617, 2021.

QIAO, Z. et al. An update on the function, biosynthesis and regulation of floral volatile terpenoids. **Horticulturae**, v. 7, n. 11, p. 1–22, 2021.

RANA, V. S.; DAS, M.; BLAZQUEZ, M. A. Essential Oil Yield, Chemical Composition, and Total Citral Content of Nine Cultivars of *Cymbopogon* Species from Western India. **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, v. 22, n. 4, p. 289–299, 2016.

RIBEIRO, R. N.; TELES, A. M. Eupatorieae (Asteraceae) in Serra Dourada State Park, Goiás, Brazil. **Rodriguesia**, v. 66, n. 3, p. 887–903, 2015.

ROBERTO, E. C. Caracterização e aplicação de sistemas micelares e microemulsionados como inibidores de corrosão. **Dissertação**, p. 152, 2010.

ROLNIK, A. et al. Antioxidant and hemostatic properties of preparations from Asteraceae family and their chemical composition – Comparative studies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 142, n. July, p. 111982, 2021a.

ROLNIK, A. et al. Antioxidant and hemostatic properties of preparations from Asteraceae family and their chemical composition – Comparative studies. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 142, n. July, p. 111982, 2021b.

ROLNIK, A.; OLAS, B. The plants of the asteraceae family as agents in the protection of human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 1–10, 2021.

ROLNIK, A.; STOCHMAL, A.; OLAS, B. The in vitro anti-platelet activities of plant extracts from the Asteraceae family. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 149, n. March, p. 112809, 2022.

ROQUE, N. TELES, A.M., and NAKAJIMA, J.N., comp. Introdução. In: A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade [online]. Salvador: EDUFBA, 2017, pp. 19-35.

RUSTAIYAN, A.; FARIDCHEHR, A. Constituents and biological activities of selected genera of the Iranian Asteraceae family. **Journal of Herbal Medicine**, v. 25, n. September 2019, p. 100405, 2021.

SABZI NOJADEH, M. et al. Phytochemical profile of fennel essential oils and possible applications for natural antioxidant and controlling *Convolvulus arvensis* L. **Natural Product Research**, v. 35, n. 21, p. 4164–4168, 2021.

SAID-AL AHL, H.; HIKAL, W.; MAHMOUD, A. Essential Oils: Biosynthesis, chemistry and biological functions. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 8, p. 190–200, 2017.

SAKIPOVA, Z. et al. Quantification of santonin in eight species of *Artemisia* from Kazakhstan by means of HPLC-UV: Method development and validation. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–12, 2017.

SALAM, A. M.; QUAVE, C. L. Opportunities for plant natural products in infection control. **Current Opinion in Microbiology**, v. 45, p. 189–194, 2018.

SALEHI, B. et al. Therapeutic potential of α - and β -pinene: A miracle gift of nature. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 1–34, 2019.

SANTOS, H. R. DOS. FATORES ABIÓTICOS NA BIOMASSA, TEOR E QUALIDADE DO. 2017.

SANTOS, P. B. DOS. Preparação e caracterização físico-química de complexos de inclusão de limoneno em α e β - Ciclodextrina. **Dissertação Mestrado Núcleo de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Sergipe**, v. 103, 2014.

SCZESNY-MORAES, E. A. et al. Anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes in sheep, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 229–236, 2010.

SHARIFI-RAD, J. et al. **Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems**. [s.l: s.n.]. v. 22

SILVA, J. D. F. DA et al. Microemulsions: Components, Characteristics, Potentialities in Food Chemistry and Other Applications. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1196–1206, 2015.

SILVA, M. J. F. DA et al. Development and characterization of a babassu nut oil-based moisturizing cosmetic emulsion with a high sun protection factor. **RSC Advances**, v. 10, n. 44, p. 26268–26276, 2020.

SILVA, G. M. F. et al. *Haemonchus contortus* em ovinos e caprinos. **Pubvet**, v. 13, n. 9, p. 1–4, 2019.

SILVA, G. R. et al. Identificação dos constituintes químicos e ensaio biológico do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae) Identification of chemical constituents and biological testing of the essential oil of *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae). **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 7, n. Atcc 18804, p. 1–14, 2021.

SILVEIRA, A. P. DA; BASSAN, J. S. Plantas medicinais e suas possíveis contribuições: um estudo bibliográfico em dissertações e teses presentes na BDTD no período 2015-2020. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e451101119907, 2021.

SLOAN, M. A. et al. Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits from parasitic nematodes in *Caenorhabditis elegans*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 204, n. 1, p. 44–50, 1 nov. 2015.

SOARES, G.; SANTOS, C. A. G.; LOEUILLE, B. Asteraceae na microrregião do Curimataú Ocidental, Estado da Paraíba, Brasil. **Hoehnea**, v. 48, 2021.

SONG, J.; ZHENG, Y. G. Bioorthogonal Reporters for Detecting and Profiling Protein Acetylation and Acylation. **SLAS Discovery**, v. 25, n. 2, p. 148–162, 2020.

SOUZAA, Á. D. N. DE et al. INIBIÇÃO À CORROSÃO DE AÇO-CARBONO EM MEIO SALINO PELO HETEROCICLO ISATINA VEICULADO EM MICROEMULSÕES. v. 40, n. 7, p. 760–768, 2017.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Veterinary Parasitology. 4th Edition. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 7, p. 1032, 2016.

TRITSCH, D. et al. Plant isoprenoid biosynthesis via the MEP pathway: In vivo IPP/DMAPP ratio produced by (E)-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase in tobacco BY-2 cell cultures. **FEBS Letters**, v. 584, n. 1, p. 129–134, 2010.

UGIURA, M. S. et al. Molecular Cloning and Characterization of a Linalool Synthase from *Lemon* Molecular Cloning and Characterization of a Linalool Synthase from *Lemon Myrtle*. n. September 2019, 2011.

YANG, J. et al. Biosynthesis of β -caryophyllene, a novel terpene-based high-density biofuel precursor, using engineered *Escherichia coli*. **Renewable Energy**, v. 99, p. 216–223, 2016.

YANG, W. et al. Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. **Natural Product Communications**, v. 15, n. 3, 2020.

YOPLAC, I. et al. Characterization and antimicrobial activity of microencapsulated citral with dextrin by spray drying. **Heliyon**, v. 7, n. 4, p. e06737, 2021.

ZAJAC, A. M.; GARZA, J. Biology, Epidemiology, and Control of Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v.36, p.73-87, 2020. p. 1–31, 2020.

ZALDIVAR, M. F. et al. en teleoginas de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* In vitro acaricidal activity of the oil from *Jatropha curcas* L. in engorged females of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. v. 40, n. 1, p. 49–54, 2017.

ZALDÍVAR, M. F. Resistência a acaricidas no carrapato bovino *Rhipicephalus microplus* (Canestrini 1887): identificação de mutações e desenvolvimento de novos métodos de controle. n. Canestrini 1887, p. 113, 2020.

ZHANG, R. et al. Transcriptome analysis unraveled potential mechanisms of resistance to *Haemonchus contortus* infection in Merino sheep populations bred for parasite resistance. **Veterinary Research**, v. 50, n. 1, p. 1–13, 2019.

ZHAO, R. et al. Essential oil obtained from *Thlaspi arvense* L. leaves and seeds using microwave-assisted hydrodistillation and extraction in situ by vegetable oil and its antifungal activity against *Penicillium expansum*. **LWT**, v. 165, n. June, p. 113718, 2022.

ZOU, J. X. et al. Bisabolane, cadinane, and cyclonerane sesquiterpenes from an algicolous strain of *Trichoderma asperelloides*. **Bioorganic Chemistry**, v. 115, n. May, p. 105223, 2021.

REFERÊNCIAS (Capítulo 1)

1. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; *J. Nat. Prod.* **2016**, 79, 629. [Crossref]
2. Pan, S.-Y.; Zhou, S.-F.; Gao, S.-H.; Yu, Z.-L.; Zhang, S.-F.; Tang, M.-K.; Sun, J.-N.; Ma, D.-L.; Han, Y.-F.; Fong, W.-F.; Ko, K.-M.; *J. Evidence-Based Complementary Altern. Med.* **2013**, 2013, ID 627375. [Crossref]
3. Gurib-Fakim, A.; *Mol. Aspects Med.* **2006**, 27, 1. [Crossref]
4. Andenberg, A. A.; Baldwin, B. G.; Bayer, R. G.; Breitwieser, J.; Jeffrey, C.; Dillon, M. O. In *The Families and Genera of Vascular Plants, Flowering Plants Eudicots Asterales*, vol. VIII; Kubitski, K.; Cadereit, J. W.; Jeffrey, C., eds.; Springer-Verlag: Heidelberg, 2007.
5. Roque, N.; Bautista, H.; *Asteraceae: Caracterização e Morfologia Floral*; Edufba: Salvador, 2008.
6. Massing, L. T.; Suemitsu, C.; Sarrazin, S. L. F.; Tremea, A.; Maia, J. G. S.; Mourão, R. H. V.; *Eur. J. Med. Plants* **2021**, 32, 37. [Crossref]
7. Keil D. J. In *Flora of North America: Magnoliophyta, Asteridae, Asteraceae*, vol. 21; Flora North America Editorial Committee, ed.; Flora North America Association, Oxford University Press: Oxford, 2006, p. 222-230.
8. de Oliveira, M. T. R.; Berbert, P. A.; Matos, C. R. R.; Mathias, L.; Moreira, R. O.; *Quim. Nova* **2011**, 34, 1200. [Crossref]
9. Pereira, S.; Marques, A.; Sudo, R. T.; Kaplan, M. A.; Zapata-Sudo, G.; *Molecules* **2013**, 18, 3072. [Crossref]
10. Marques, A. M.; Lima, C. H. P.; Alviano, D. S.; Alviano, C. S.; Esteves, R. L.; Kaplan, M. A. C.; *Emirates J. Food Agric.* **2013**, 25, 798. [Crossref]
11. Long, N.; Tang, H.; Sun, F.; Dai, M.; *J. Sci. Food Agric.* **2019**, 99, 4423. [Crossref]
12. Cardoso, A. S.; Santos, E. G. G.; Lima, A. S.; Temeyer, K. B.; Pérez de León, A. A.; Costa, L. M.; Soares, A. M. S.; *Vet. Parasitol.* **2020**, 280, 109090. [Crossref]
13. Gobbo-neto, L.; Lopes, N. P.; *Quim. Nova* **2007**, 30, 374. [Crossref]
14. Silva, S. G.; Figueiredo, P. L. B.; Nascimento, L. D.; da Costa, W. A.; Maia, J. G. S.; Andrade, E. H. A.; *Chem. Cent. J.* **2018**, 113. [Crossref]
15. Kumar, R.; Klafke, G. M.; Miller, R. J.; *Ticks Tick-Borne Dis.* **2020**, 11, 101404. [Crossref]
16. Vilela, V. L. R.; Ferreira, T.; Bezerra, R. A.; Klafke, G. M.; Riet-Correa, F.; *Ticks Tick-Borne Dis.* **2020**, 11, 101413. [Crossref]
17. Castro Janer, E.; Klafke, G. M.; Capurro, M. L.; Schumaker, T. T. S.; *Vet. Parasitol.* **2015**, 210, 77. [Crossref]
18. Rodríguez-Vivas, R. I.; Miller, R. J.; Ojeda-Chi, M. M.; Rosado-Aguilar, J. A.; Trinidad-Martínez, I. C.; Pérez de León, A. A.; *Vet. Parasitol.* **2014**, 200, 179. [Crossref]

19. Klafke, G. M.; Sabatini, G. A.; de Albuquerque, T. A.; Martins, J. R.; Kemp, D. H.; Miller, R. J.; Schumaker, T. T. S.; *Vet. Parasitol.* **2006**, *142*, 386. [Crossref]
20. Borges, L. M. F.; Ferri, P. H.; Silva, W. J.; Silva, W. C.; Silva, J. G.; *Med. Vet. Entomol.* **2003**, *17*, 228. [Crossref]
21. Díaz, E. L.; Camberos, E. P.; Adolfo, G.; Herrera, C.; Espinosa, M. E.; Andrews, H. E.; Angélica, N.; Buelnas, P.; Ortega, A. G.; Velázquez, M. M.; *Exp. Parasitol.* **2019**, *201*, 26. [Crossref]
22. Politi, A. F. S.; Regina, R.; Alves, A.; Jacob, I.; Bruno, M.; Sampieri, R.; Izabel, M.; Mathias, C.; Figueiredo, A.; Carolina, A.; Chagas, D. S.; Furlan, M.; *Exp. Appl. Acarol.* **2019**, *77*, 601. [Crossref]
23. Lima, A. S.; Costa Jr., H. N. P.; Costa Jr., L. M.; Monteiro, O. S.; Maia, J. G. S.; Rocha, C. Q.; *Acta Trop.* **2021**, *218*, 105912. [Crossref]
24. Peixoto, M. G.; Costa-Júnior, L. M.; Blank, A. F.; Lima, A. S.; Menezes, T. S. A.; Santos, D. A.; Alves, P. B.; Cavalcanti, S. C. H.; Bacci, L.; Arrigoni-Blank, M. F.; *Vet. Parasitol.* **2015**, *210*, 118. [Crossref]
25. Maia, J. G. S.; Andrade, E. H. A.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 595. [Crossref]
26. Raposo, J. D. A.; Figueiredo, P. L. B.; Santana, R. L.; da Silva Jr., A. Q.; Suemitsu, C.; da Silva, R.; Mourão, R. H. V.; Maia, J. G. S.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2018**, *79*, 21. [Crossref]
27. Mondello, L.; *Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds: Mass Spectral Database*, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2011.
28. Adams, R. P.; *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, 4th ed.; Allured Publishing: Carol Stream, 2007.
29. National Institute of Standards and Technology (NIST); *Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH, v.2.0d)*; The NIST Mass Spectrometry Data Center: Gaithersburg, USA, 2005.
30. Dool, H. V. D.; Kratz, P. D.; *J. Chromatogr.* **1963**, *11*, 463. [Crossref]
31. Toledo, P. F. S.; Viteri Jumbo, L. O.; Rezende, S. M.; Haddi, K.; Silva, B. A.; Mello, T. S.; Della Lucia, T. M. C.; Aguiar, R. W. S.; Smagghe, G.; Oliveira, E. E.; *Sci. Total Environ.* **2020**, *718*, 137328. [Crossref]
32. Toledo, P. F. S.; Ferreira, T. P.; Bastos, I. M. A. S.; Rezende, S. M.; Viteri Jumbo, L. O.; Didonet, J.; Andrade, B. S.; Melo, T. S.; Smagghe, G.; Oliveira, E. E.; Aguiar, R. W. S.; *Environ. Pollut.* **2019**, *255*, 113153. [Crossref]
33. Britto, I. O.; Araújo, S. H. C.; Toledo, P. F. S.; Lima, G. D. A.; Salustiano, I. V.; Alves, J. R.; Mantilla-Afanador, J. G.; Kohlhoff, M.; Oliveira, E. E.; Leite, J. P. V.; *Pest Manage. Sci.* **2021**, *77*, 4638. [<https://doi.org/10.1002/ps.6504>]
34. GraphPad Software; *GraphPad Prism 8.2*; GraphPad Software, USA, 2019.
35. Craveiro, A. A.; Andrade, C. H. S.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Machado, M. I.; J.

Nat. Prod. **1986**, 49, 361.

36. Chen, W.; Viljoen, A. M.; *S. Afr. J. Bot.* **2010**, 76, 643. [Crossref]
37. Bradley, C. E.; Haagen-Smit, A. J.; *Chemurg. Dig.* **1949**, 8, 12.
38. Pino, J. A.; Rosado, A.; Fuentes, V.; *J. Essent. Oil Res.* **1996**, 8, 579. [Crossref]
39. Albuquerque, M. R. J. R.; Souza, E. B. D.; Mesquita, E. F.; Nunes, E. P.; Cunha, A. N.;
Silveira, E. R.; *J. Essent. Oil Res.* **2003**, 15, 372. [Crossref]
40. Duschatzky, C. B.; Possetto, M. L.; Talarico, L. B.; García, C. C.; Michis, F.; Almeida,
N. V.; de Lampasona, M. P.; Schuff, C.; Damonte, E. B.; *Antiviral Chem. Chemother.*
2005, 16, 247. [Crossref]
41. Pino, J. A.; Rosado, A.; Fuentes, V.; *J. Essent. Oil Res.* **1999**, 11, 31. [Crossref]
42. Dewick, P. M.; *Nat. Prod. Rep.* **2002**, 19, 181. [Crossref]
43. Aungtikun, J.; Soonwera, M.; Sittichok, S.; *Ind. Crops Prod.* **2021**, 164, 113386.
[Crossref]
44. Bossou, A. D.; Mangelinckx, S.; Yedomonhan, H.; Boko, P. M.; Akogbeto, M. C.; De
Kimpe, N.; Avlessi, F.; Sohounhloue, D. C. K.; *Parasites Vectors* **2013**, 6, 337. [Crossref]
45. Jang, M.; Kim, J.; Yoon, K. A.; Lee, S. H.; Park, C. G.; *PestManage. Sci.* **2017**, 73,
404. [Crossref]
46. Plata-rueda, A.; Da, G.; Rolim, S.; Wilcken, C. F.; Zanuncio, C.; Serr, E.; Carlos,
L.; *Insects* **2020**, 11, 1. [Crossref]
47. Tak, J.-H.; Isman, M. B.; *Pestic. Biochem. Physiol.* **2016**, 133, 20. [Crossref]
48. Stökl, J.; Strutz, A.; Dafni, A.; Svatos, A.; Doubsky, J.; Knaden, M.; Sachse, S.;
Hansson, B. S.; Stensmyr, M. C.; *Curr. Biol.* **2010**, 20, 1846. [Crossref]
49. Alsabte, A.; Hussain, N. H.; *Iraqi J. Soil Sci.* **2020**, 20, 248.
50. Zhang, T.; Wang, B.; Miao, B.-G.; Peng, Y.-Q.; *Chinese J. Plant Ecol.* **2017**, 41, 549.
[Crossref]
51. Wang, S.; Fu, W.-L.; Du, W.; Zhang, Q.; Li, Y.; Lyu, Y. S.; Wang, X.-F.; *Ecol. Evol.*
2018, 8, 3187. [Crossref]
52. Song, C.; Rohr, R. P.; Saavedra, S.; *J. Anim. Ecol.* **2017**, 86, 1417. [Crossref]
53. Fagodia, S. K.; Singh, H. P.; Batish, D. R.; Kohli, R. K.; *Ind. Crops Prod.* **2017**,
108, 708. [Crossref]

REFERÊNCIA (Capítulo 2)

- ABDEL-RAHMAN, F. H.; ALANIZ, N. M.; SALEH, M. A. Nematicidal activity of terpenoids. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 48, n. 1, p. 16–22, 2013.
- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th Edition. **Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream**, p. 804–806, 2007.
- ADENUBI, O. T. et al. In vitro bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: A critical review. **Veterinary Parasitology**, v. 254, n. May 2017, p. 160–171, 2018.
- ALBUQUERQUE, M. R. J. R. et al. Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 79, n. 2, p. 209–213, 2007.
- AZIZ, Z. A. A. et al. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100–1110, 2018.
- CAMARA, MARCOS B. P, LIMA, A. S. et al. Seasonal and Circadian Evaluation of the. v. 00, n. 00, p. 1–10, 2023.
- CHAGAS, A. C. S. et al. *Haemonchus contortus*: A multiple-resistant Brazilian isolate and the costs for its characterization and maintenance for research use. **Parasitology International**, v. 62, n. 1, p. 1–6, 2013.
- COLES GC, BAUER C, BORGSTEEDE FH, GEERTS S, K. T.; TAYLOR MA; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W . A . A . V . P .) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance . **Veterinary Parasitology**, v. 44, n. 1–2, p. 35–44, 1992.
- DE FÁTIMA AGRA, M.; DE FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.
- DE OLIVEIRA, M. T. R. et al. Efeito da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1200–1204, 2011.
- DE OLIVEIRA, P. A. et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: Frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 8, p. 797–801, 2017.

- DOS SANTOS, E. L. et al. Seasonal and Circadian Rhythm of a 1,8-Cineole Chemotype Essential Oil of *Calycolpus goetheanus* From Marajó Island, Brazilian Amazon. **Natural Product Communications**, v. 15, n. 6, 2020.
- FERREIRA, L. E. et al. *Thymus vulgaris* L. essential oil and its main component thymol : Anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 70–76, 2016.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. PLANTAS MEDICINAIS: FATORES DE INFLUÊNCIA NO CONTEÚDO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS Leonardo Gobbo-Neto e Norberto P. Lopes*. v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007a.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007b.
- HANSEN, D. R. et al. MOLECULAR PHYLOGENY OF PECTIS (TAGETEAE, ASTERACEAE), A C4 GENUS OF THE NEOTROPICS, AND ITS SISTER GENUS POROPHYLLUM. **Lundellia**, n. 19, p. 6–38, 2016.
- KATI KI, L. M. et al. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 243, n. December 2016, p. 47–51, 2017.
- KEIL, D. J. New Species of *Pectis* (Asteraceae) from the West Indies, Mexico, and South America. **Brittonia**, v. 36, n. 1, p. 74, 1984.
- LAING, R. et al. The genome and transcriptome of *Haemonchus contortus*, a key model parasite for drug and vaccine discovery. **Genome Biology**, v. 14, n. 8, 2013.
- LEMOS, M. F. et al. Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris*. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 543–548, 2017.
- LIMA, A. S. et al. Anthelmintic effect of essential rhizome oil from *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberaceae) introduced in Northeastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 218, p. 105912, 2021.
- LIMA, A. S. et al. Anthelmintic evaluation and essential oils composition of *Hyptis dilatata* Benth. and *Mesosphaerum suaveolens* Kuntze from the Brazilian Amazon. **Acta Tropica**, v. 228, n. November 2021, p. 1–5, 2022.
- MAIA, O. G. S.; ANDRADE, L. H. A. Database of the amazon aromatic plants and their essential oils. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 595–622, 2009.
- MARQUES, A. M. et al. Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemongrass species in Brazil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 10, p. 798–808, 2013.

- MASSING, L. T. et al. Oils Variability of *Pectis elongata* in the Amazon and an Overview of the Neotropical *Pectis* Species. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 32, n. 1, p. 37–45, 2021.
- MORAIS, L. A. S. DE. Influência Dos Fatores Abióticos Na Composição Química Dos Óleos Essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050–4063, 2009.
- NICIURA, S. C. M. et al. In vivo selection for *Haemonchus contortus* resistance to monepantel. **Journal of Helminthology**, v. 94, p. 10–14, 2020.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p. 1000–1007, 2016.
- PEREIRA, S. L. et al. Vasodilator activity of the essential oil from aerial parts of *Pectis brevipedunculata* and its main constituent citral in rat aorta. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3072–3085, 2013.
- ROLNIK, A.; OLAS, B. The plants of the asteraceae family as agents in the protection of human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 1–10, 2021.
- SILVA, C. R. et al. Combination of synthetic anthelmintics and monoterpenes: Assessment of efficacy, and ultrastructural and biophysical properties of *Haemonchus contortus* using atomic force microscopy. **Veterinary Parasitology**, v. 290, n. December 2020, 2021.
- SILVA, S. G. et al. Planting and seasonal and circadian evaluation of a thymol - type oil from *Lippia*. **Chemistry Central Journal**, p. 1–11, 2018.
- SOUSA, A. I. P. et al. Essential oils from *Ocimum basilicum* cultivars: Analysis of their composition and determination of the effect of the major compounds on *Haemonchus contortus* eggs. **Journal of Helminthology**, 2021.
- VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105–113, 2015

REFERÊNCIA (Capítulo 3)

Amparo, T.R., Seibert, J.B., Silveira, B.M., Costa, F.S.F., Almeida, T.C., Braga, S.F.P., da Silva, G.N., dos Santos, O.D.H., de Souza, G.H.B., 2021. Brazilian essential oils as source for the discovery of new anti-COVID-19 drug: a review guided by in silico study. *Phytochemistry Reviews* 20, 1013-1032.

AOCS-Cs7-25, 1993. Refractive index measurement. AOCS, Champaign.

Barreto, I.C., Costa, S.P.M., de Jesus Santos, A., Farias, A.P., Sarmento, V.H.V., Teodoro, A.V., de Souza Nunes, R., Guedes de Sena Filho, J., 2022. Incorporation of essential oil from *Vitex gardneriana* (Lamiaceae) in microemulsions systems based on mineral and cottonseed oils increased its bioactivity against a coconut pest mite. *Industrial Crops and Products* 183, 114963.

Carvalho, A.C.B., Lana, T.N., Perfeito, J.P.S., Silveira, D., 2018. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. *Journal of Ethnopharmacology* 212, 29-35.

de Sá, A.Á.M., Santos, E.W.P.d., dos S. Santana, M.H., Santos, A.d.J., de Araujo, G.R.S., Santana, D.G., de Lara P. de M. Arguelho, M., de O. e Silva, A.M., Correa, C.B., de S. Nunes, R., Sarmento, V.H.V., Lira, A.A.M., 2020. Evaluation of the incorporation of essential oils in microemulsions as a promising formulation in the inhibition of tyrosinase. *Industrial Crops and Products* 154, 112654.

de Souza, F.G., Náthia-Neves, G., de Araújo, F.F., Dias Audibert, F.L., Delafiori, J., Neri-Numa, I.A., Catharino, R.R., de Alencar, S.M., de Almeida Meireles, M.A., Pastore, G.M., 2021. Evaluation of antioxidant capacity, fatty acid profile, and bioactive compounds from buritirana (*Mauritiella armata* Mart.) oil: A little-explored native Brazilian fruit. *Food Research International* 142, 110260.

Dutra, R.C., Campos, M.M., Santos, A.R.S., Calixto, J.B., 2016. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research* 112, 4-29.

Fernández-Peña, L., Gutiérrez-Muro, S., Guzmán, E., Lucia, A., Ortega, F., G. Rubio, R., 2019. Oil-In-Water Microemulsions for Thymol Solubilization. 3, 64.

Kalaitzaki, A., Emo, M., Stébé, M.J., Xenakis, A., Papadimitriou, V., 2013. Biocompatible nanodispersions as delivery systems of food additives: A structural study. *Food Research International* 54, 1448-1454.

Kalaitzaki, A., Pouloupoulou, M., Xenakis, A., Papadimitriou, V., 2014. Surfactant-rich biocompatible microemulsions as effective carriers of methylxanthine drugs. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 442, 80-87.

Li, X., Wang, R., Huang, S., Wang, Y., Shi, H., 2018. Capillary rise method for effective surface tension of monolayer nanoparticle-covered liquid marbles. *Soft Matter* 14.

McClements, D.J., 2012. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter* 8, 1719-1729.

Mendonça, C.R.B., Silva, Y.P., Böckel, W.J., Simó-Alfonso, E.F., Ramis-Ramos, G., Piatnicki, C.M.S., Bica, C.I.D., 2009. Role of the co-surfactant nature in soybean w/o microemulsions. *Journal of Colloid and Interface Science* 337, 579-585.

Neri-Numa, I.A., Soriano Sancho, R.A., Pereira, A.P.A., Pastore, G.M., 2018. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. *Food Research International* 103, 345-360.

Pavela, R., Benelli, G., Pavoni, L., Bonacucina, G., Cespi, M., Cianfaglione, K., Bajalan, I., Morshedloo, M.R., Lupidi, G., Romano, D., Canale, A., Maggi, F., 2019. Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils—Towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides? *Industrial Crops and Products* 129, 631-640.

Ponte, F.A.F., Rodrigues, J.S., Malveira, J.Q., Ramis-Filho, J.A.S., Albuquerque, M.C.G., 2017. Physical-chemical evaluation of babassu oil (*Orbinya speciosa*) and coconut oil (*Cocos nucife*) with high acidity and fatty acids (C6 to C16). *Scientia Plena* 13, 1-8.

Rahdar, A., Hajinezhad, M.R., Sargazi, S., Zaboli, M., Barani, M., Baino, F., Bilal, M., Sanchooli, E., 2021. Biochemical, Ameliorative and Cytotoxic Effects of Newly Synthesized Curcumin Microemulsions: Evidence from In Vitro and In Vivo Studies. 11, 817.

Santos, D.S., Moura, L.D., Radicchi, M.A., Azevedo, R.B., Costa, M.C.P., Souza, P.E.N., Camara, A.L., da Silva, J.R., Muehlmann, L.A., Longo, J.P.F., 2021. Nanoemulsion Improves Babassu Palm Oil (*Orbignya phalerata*) Antioxidant Properties. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 64, 1-14.

Sargazi, S., Hajinezhad, M.R., Barani, M., Mukhtar, M., Rahdar, A., Baino, F., Karimi, P., Pandey, S., 2021. F127/Cisplatin Microemulsions: In Vitro, In Vivo and Computational Studies. 11, 3006.

Silva, M.J.F.d., Rodrigues, A.M., Vieira, I.R.S., Neves, G.d.A., Menezes, R.R., Gonçalves, E.d.G.d.R., Pires, M.C.C., 2020. Development and characterization of a babassu nut oil-based moisturizing cosmetic emulsion with a high sun protection factor. *RSC Advances* 10, 26268- 26276.

Stetefeld, J., McKenna, S.A., Patel, T.R., 2016. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophys Rev* 8, 409-427.

Yang, Y., McClements, D.J., 2013. Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. *Food Chemistry* 141, 473-481.

Ziani, K., Fang, Y., McClements, D.J., 2012. Fabrication and stability of colloidal delivery systems for flavor oils: Effect of composition and storage conditions. *Food Research International* 46, 209-216.