

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**Faculdade de Farmácia**  
**Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia**

**Potencial ação antiquimiotóxica e antifúngica do óleo essencial de *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum amoenum* nativas do Rio Grande do Sul**

**Ana Júlia Maciel**

**Porto Alegre, dezembro de 2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Faculdade de Farmácia**

**Trabalho de Conclusão de Curso de farmácia**

**Potencial ação antiquimiotóxica e antifúngica do óleo essencial de *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum amoenum* nativas do Rio Grande do Sul**

**Ana Júlia Maciel**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Miriam Anders Apel – Orientadora**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Letícia Jacobi Danielli – Corientadora**

**Porto Alegre, Dezembro de 2018**

**Dedico este trabalho à minha mãe e família, que sempre me apoiaram apesar das dificuldades. Aos meus amigos Janaína, Amanda e Matheus que acompanharam meu esforço durante esses longos dias. Às minhas, orientadora Miriam e corientadora Letícia, por me motivarem a crescer e aprimorar meus conhecimentos.**

**Este artigo foi elaborado segundo as normas do Periódico Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.**

**Potencial ação antiquimiotóxica e antifúngica do óleo essencial de *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum amoenum* nativas do Rio Grande do Sul**

**Título abreviado:** Ação antiquimiotóxica e antifúngica de óleos essenciais

Ana Júlia Maciel<sup>1</sup>, Caroline P. Lacerda<sup>1</sup>, Letícia J. Danielli<sup>1</sup>, Sérgio A. L. Bordignon<sup>2</sup>,  
Alexandre M. Fuentefria<sup>1</sup>, Miriam A. Apel<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais, Centro Universitário La Salle, Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil

\*Autor Correspondente: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 2752, 90610-000, Porto Alegre, Brasil (M.A. Apel).

E-mail: miriam.apel@gmail.com

**Potencial ação antiquimiotóxica e antifúngica do óleo essencial de *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum amoenum* nativas do Rio Grande do Sul**

**Resumo**

Substâncias com potencial antifúngico e que apresentem atividade anti-inflamatória e antioxidante associadas são investigadas em diversos estudos como facilitadores da ação de antifúngicos comerciais e, assim, como alternativas a complementação da terapia convencional. Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar a composição química e as atividades antiquimiotóxica, antioxidante e antifúngica do óleo essencial obtido das espécies *Cryptocarya aschersoniana*, *Cinnamomum amoenum* e *Schinus terebinthifolius*, além da combinação do óleo de *C. aschersoniana* e terbinafina frente a isolados de dermatófitos. Alloaromadendreno (28,9%), biciclogermacreno (27,8%) e germacreno B (14,9%) foram identificados como compostos majoritários para *C. aschersoniana*, *C. amoenum* e *S. terebinthifolius*, respectivamente. Em relação à atividade antiquimiotóxica, foi observada total inibição da migração leucocitária pela espécie *C. aschersoniana* na concentração de 10 µg/mL, enquanto que o óleo de *S. terebinthifolius* apresentou 80,1% de efeito na mesma concentração. A atividade sequestrante de radicais livres foi avaliada pelo método do radical DPPH. Os resultados apontam atividade antioxidante apenas para a espécie *S. terebinthifolius*, com cerca de 20% de efeito sequestrante de radical DPPH. Os óleos essenciais foram testados ainda frente a isolados fúngicos de espécies de dermatófitos, resultando em concentrações inibitórias mínimas variando de 125 µg/mL a acima de 500 µg/mL. Já para o estudo de associação, óleo de *C. aschersoniana* combinado com terbinafina resultou em interação de natureza aditiva frente a um isolado de *Trichophyton rubrum*. Neste caso, o óleo essencial pode atuar como complementar a terapia convencional para o tratamento tópico de infecções fúngicas superficiais, principalmente, por associar efeito anti-inflamatório, contribuindo na redução dos sintomas da lesão.

**Palavras-chave:** atividade antifúngica, *Cinnamomum amoenum*, *Cryptocarya aschersoniana*, óleo essencial, *Schinus terebinthifolius*, dermatófitos.

## INTRODUÇÃO

Plantas possuem capacidade de produzir metabólitos secundários, entre eles, os óleos essenciais, com o objetivo de defesa contra herbívoros e microrganismos. Alguns atuam, ainda, na proteção contra o estresse abiótico e radiações UVB sendo, portanto, de extrema importância no crescimento e sobrevivência da planta (Zaynab et al., 2018). Além disto, a produção destas substâncias pode ser influenciada por respostas aos ataques de herbívoros e sofrer interferência de fatores como altitude, iluminação e sazonalidade (Rali, Wossa, Leach, 2007).

Estudos têm demonstrado importantes efeitos antifúngicos de óleos essenciais frente tanto a fungos leveduriformes como *Candida* spp. (Samadi et al., 2018) quanto a dermatófitos (Danielli et al., 2018). Além desta, atividade antioxidante também já foi relatada para o óleo essencial de diversos gêneros botânicos (Chou et al., 2018). Da mesma forma, o efeito anti-inflamatório foi evidenciado utilizando métodos como cultura de células conhecidamente integrantes do processo inflamatório ou por indução de edema de pata em ratos (Xiang et al., 2017, Zuzarte et al., 2018)

Pesquisas têm demonstrado a relação estreita entre estresse oxidativo e inflamação. Antioxidantes naturais como óleos e extratos de plantas podem atuar no organismo protegendo-o de possíveis doenças geradas pelo aumento dos radicais livres neste. Óleos essenciais podem, assim, atuar de duas maneiras: nos radicais livres resultando em um efeito antioxidante e, por consequência, atuando como um agente anti-inflamatório inibindo a liberação de mediadores pró-inflamatórios (Chou et al., 2018). Metabólitos secundários produzidos por plantas são capazes de atuar, ainda, em uma terceira via, a antifúngica. Tais substâncias podem auxiliar na cicatrização de feridas e diminuir sintomas em pacientes acometidos por dermatofitoses (Hube et al., 2015).

Em contrapartida, a resistência dos microrganismos ao tratamento convencional com medicamentos antifúngicos tem sido relatada de forma alarmante (Vijendran et al., 2018). Somando-se a esse fato, a disponibilidade de arsenal terapêutico é limitada a algumas classes com poucos representantes (Biasi-Garbin et al., 2016). Além de que, antifúngicos comerciais apresentam efeitos adversos importantes como toxicidade renal e hepática (Carraro et al., 2017; Puia-Dumitrescu, Smith, 2017). Desta maneira, se faz necessária a pesquisa de novos compostos antifúngicos ou ainda substâncias capazes de interagir com os fármacos já comercializados resultando em uma ação sinérgica de forma a complementar a terapia convencional. A ideia de quimiosensibilizar patógenos utilizando compostos naturais tem se

mostrado promissora e, como resultado, aumenta a eficácia da terapia convencional além de ser uma opção aos casos de resistência associados a microrganismos (Danielli *et al.*, 2017). Nesse contexto, a pesquisa de novas substâncias com potencial antifúngico se faz necessária e aquelas de origem natural são uma opção aceita e solidificada no meio científico por suas propriedades e eficácia comprovadas (Vijendran *et al.*, 2018).

A família Lauraceae compreende cerca de 3000 espécies divididas em aproximadamente 50 gêneros. A espécie *Cryptocarya aschersoniana* é conhecida popularmente como canela-fogo ou canela-batalha cujos frutos são consumidos por várias espécies de animais e sua madeira apresenta valor comercial (Borrero *et al.*, 2016). Sua abrangência se dá desde os estados de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, na Floresta Ombrófila da Mata Atlântica e sub-bosques dos pinhais. O gênero é pantropical com aproximadamente 350 espécies compreendendo 10 delas na América do Sul (Muxfeldt *et al.*, 2012). Também pertencente a família Lauraceae, a espécie *Cinnamomum amoenum* (Ness & Mart.) Koesterm. é nativa do Rio Grande do Sul e comum na floresta com Araucária, no entanto é encontrada nos três estados do Sul do Brasil (Flora do Brasil, 2018). Há poucos relatos na literatura sobre a espécie abordada, sendo citada apenas em estudos de preservação e recuperação ambiental (Ferreira *et al.*, 2013) e estudos relacionados a dendrocronologia (Reis-Ávila, Oliveira, 2017). Já *Schinus terebinthifolius* Raddi, pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida como aroeira-do-Brasil ou aroeira-mansa e distribuída principalmente na Mata Atlântica. Seus frutos são conhecidos como pimenta-rosa e apresentam valor comercial na indústria cosmética (Uliana *et al.*, 2016) e também na alimentícia, como condimentos (Dannenbergh *et al.*, 2016). Popularmente, tem sido utilizada para o tratamento de feridas, reumatismo, distúrbios respiratórios e até na prevenção do câncer em virtude de seus efeitos antioxidantes (Uliana *et al.*, 2016; Estevão *et al.*, 2017).

Tendo em vista a importância do estudo acerca de atividades biológicas de óleos essenciais, este trabalho teve como objetivo a avaliação do perfil químico e atividades antioxidante, anti-inflamatória e antifúngica das espécies *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum amoenum*. Além disto, foi realizado também o estudo de associação do óleo de *C. aschersoniana* com antifúngicos comerciais. A composição química e as atividades biológicas das espécies *C. aschersoniana* e *C. amoenum* são descritas aqui pela primeira vez.

## MATERIAIS E MÉTODOS

## **Material vegetal**

As espécies *Cryptocarya aschersoniana*, *Cinnamomum amoenum* e *Schinus terebinthifolius* foram coletadas de populações nativas do Rio Grande do Sul entre 2014 e 2016 e identificadas pelo botânico Dr. Sérgio Bordignon. *Cryptocarya aschersoniana* foi coletada na cidade de Nova Petrópolis em Janeiro de 2014. Já *C. amoenum* teve suas folhas coletadas em Jaquirana em Fevereiro de 2014 e, *S. terebinthifolius* foi coletada na cidade de Porto Alegre em março de 2016. Uma exsicata de cada espécie foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN-UFRGS) sob os números: *C. aschersoniana* - ICN 192540, *C. amoenum*- ICN 192544 e *S. terebinthifolius* – ICN 180887. As espécies possuem também registro no SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético) sob o cadastro: AF1EDFC. Sendo este, único para as três espécies.

## **Obtenção dos óleos essenciais**

Os óleos voláteis foram obtidos a partir das folhas frescas, reduzidas com auxílio de um triturador mecânico e submetidas à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger durante 4 horas (Farmacopeia Brasileira, 2010). A determinação do rendimento foi realizada através da leitura do volume de óleo coletado. Com o objetivo de prevenir a deterioração dos componentes do óleo as amostras foram armazenadas ao abrigo da luz e sob refrigeração 4 - 5 °C até o momento da análise.

## **Análise química dos óleos essenciais**

As análises qualitativa e quantitativa foram realizadas em cromatógrafo a gás acoplado a um detector de massas (CG-MS), modelo Shimadzu QP5000, equipado com uma coluna capilar DB-5 para separação dos constituintes. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas a 200 °C e 250 °C, respectivamente, e a temperatura da coluna foi programada com rampa de aquecimento de 60 °C a 300 °C com variação de 3 °C/min, tendo hélio como gás de arraste. Para a análise cromatográfica os óleos foram diluídos a 2% em éter etílico (v/v). A identificação dos compostos ocorreu por comparação de seus índices de retenção, calculados por interpolação linear relativa para tempo de retenção de uma série de *n*-alcanos, e seus espectros de massa, com dados da literatura (Adams, 2009), assim como, por comparação com espectros de massa de espectroteca de aquisição, NIST 62 e 12 (National Institute of Standards and Technology, Kyoto, JP). Quantidades relativas de cada composto foram calculadas com base nas áreas dos picos de CG por normalização.

### **Determinação da atividade antiquimiotática *in vitro***

O ensaio de antiquimiotaxia foi realizado de acordo com o método da câmara de Boyden modificado, descrito por Suyenaga e colaboradores (2011). Previamente ao ensaio, os leucócitos foram tratados com as amostras de óleos essenciais dissolvidos em solução salina balanceada de Hanks (HBSS pH 7,4), em concentrações de 0,625 a 10 µg/mL, à 37 °C por 30 min. Para a diluição das amostras foi utilizado polissorbato 80 na concentração de 1%. A suspensão contendo os leucócitos tratados foi adicionada aos poços superiores da câmara, separados por um filtro de nitrocelulose (8,0 µm) do fator quimiotático (LPS – lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*) presente no compartimento inferior. A migração leucocitária foi avaliada pela distância, medida em micrômetros, entre o plano superior do filtro em relação ao plano inferior que contivesse duas células, em dez campos microscópicos. Como controle negativo aplicou-se a solução de neutrófilos sem adição de agente antiquimiotático bem como, solução de polissorbato 80 na concentração utilizada para diluição das amostras. Indometacina foi empregada como controle positivo.

### **Determinação da atividade antioxidante *in vitro***

A capacidade antioxidante dos óleos essenciais via sequestro de radical livre, foi determinada pela reação com 2,2- difenil-1-picrilidrazila (DPPH), em concentrações de 25 a 500 µg/mL. Basicamente, as amostras, em suas respectivas concentrações, foram adicionadas à solução metanólica de DPPH 0,004% e submetidas a leitura da absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm, em intervalos de 5 minutos durante o tempo total de 30 minutos. Rutina foi utilizada como controle positivo e todos os experimentos foram realizados em triplicata. Determinou-se a atividade sequestrante de radicais livres de DPPH (% ASRL) através da equação:  $\% \text{ ASRL} = (A_{\text{DPPH}} - A_a) / A_{\text{DPPH}} \times 100$ , onde  $A_{\text{DPPH}}$  refere-se a absorbância de DPPH e  $A_a$  a absorbância da amostra testada (Nascimento *et al.*, 2011).

### **Avaliação da atividade antifúngica**

A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi determinada frente a isolados depositados na Micoteca do Laboratório de Micologia Aplicada da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS. Para a realização dos experimentos, foram testados fungos leveduriformes - *Candida albicans* (DEB14, CA01), *C. krusei* (CK01,

CK02), *C. tropicalis* (CT56A, ATCC750), *C. parapsilosis* (RL01, RL20), *C. glabrata* (CG185, CG40039) - e fungos filamentosos - *Trichophyton rubrum* (TRU43, TRU51, TRU48 e TRU50), *T. mentagrophytes* (TME16, TME40, TME32 e TME46), *Microsporium canis* (MCA29, MCA01, MCA40, MCA33 e MCA36) e *M. gypseum* (MGY50, MGY42, MGGY58 e MGY52). Os fungos leveduriformes foram previamente crescidos em ágar sabouraud com cloranfenicol por 24 h a 35 °C enquanto que os fungos filamentosos foram incubados em ágar batata dextrose a 32 °C, por 5 dias.

Primeiramente, um *screening* antifúngico dos óleos essenciais foi realizado em concentração de 500 µg/mL frente a todos isolados fúngicos descritos anteriormente. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada apenas nos casos em que se verificou atividade antifúngica no *screening*. Para essa avaliação utilizou-se o método de microdiluição em caldo de acordo com o protocolo M38-A2 padronizado pelo Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008). Os experimentos foram conduzidos em meio de cultura RPMI e as amostras dos óleos essenciais testadas na faixa de concentração que variou entre 1,95 a 500 µg/mL. A CIM foi definida como a menor concentração da substância na qual o microrganismo testado não demonstrava crescimento visível. Os experimentos foram realizados em triplicata e terbinafina foi utilizada como controle positivo.

### **Ensaio de Checkerboard**

Para a determinação da interação do óleo essencial de *C. aschersoniana* com terbinafina foi utilizado o método de *checkerboard* com pequenas modificações (Johnson *et al.*, 2004) frente a seis isolados de dermatófitos. O arranjo do ensaio resultou em um total de 25 diferentes combinações entre o óleo essencial e os agentes antifúngicos em concentrações de 1/4MIC, 1/2MIC, MIC, MICX2 e MICX4. A interação foi definida quantitativamente a partir do índice de concentração inibitória fracionada (ICIF) obtido pela soma de ambas as concentrações inibitórias fracionadas (CIF), e foi interpretada conforme o valor de ICIF em: sinérgica ( $ICIF \leq 0,5$ ), aditiva ( $0,5 < ICIF < 1$ ), indiferente ( $1 \leq ICIF < 4$ ) ou antagonista ( $ICIF \geq 4$ ).

### **Análise estatística**

A análise estatística foi realizada por ANOVA, seguida pelo Teste de Tukey, com dados expressos como  $media \pm DP$  utilizando o software GraphPad Prism 5.0. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Composição química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais obtidos de folhas de *C. aschersoniana* e *S. terebinthifolius* apresentaram rendimento de 0,4%, enquanto que para *C. amoenum* obteve-se um rendimento de 0,1%. A análise química por CG-EM das diferentes espécies revelou a presença majoritária de sesquiterpenos hidrocarbonetos para o óleo das três amostras (Tabela 1). A ausência de monoterpenos hidrocarbonetos na amostra de *C. aschersoniana* também foi observada. No óleo essencial obtido de *S. terebinthifolius* foram identificados 36 compostos, sendo germacreno B, o majoritário com 14,9% de abundância relativa seguido de  $\delta$ -cadineno (7,6%) e  $\beta$ -elemeno (7,2%), todos sesquiterpenos hidrocarbonetos, representando 29,7% do total de compostos.  $\alpha$ -Muurolol (5,1%) foi o sesquiterpeno oxigenado predominante nesta amostra. Já em relação ao óleo de *C. amoenum*, o total de compostos identificados foi de 30, sendo o biciclogermacreno o principal componente com 27,8% do total, seguido de  $\beta$ -cariofileno (14,8%) e germacreno D (9,7%), totalizando 52,3% dos compostos identificados. Entre os sesquiterpenos oxigenados, óxido de cariofileno (5,1%) foi identificado em maior concentração. Para *C. aschersoniana*, 22 compostos foram identificados, sendo, o alloaromadendreno (28,9%) seu composto majoritário seguido de espatulenol (17,7%) e biciclogermacreno (12,4%) representando 60,0% do total. Apenas nesta amostra foi observada a presença de um diterpeno, kaureno, representando 0,4% do total de compostos. Visto que, *C. aschersoniana* não possui estudos na literatura sobre a composição química do óleo essencial, tais informações são apresentadas aqui pela primeira vez. No entanto, em relação a outras espécies do gênero, há uma semelhança entre os compostos majoritários observados neste estudo relacionado ao óleo da espécie *Cryptocarya mandioccana* relatados por Talascrea e colaboradores, (2006), onde espatulenol e germacreno D também foram identificados em maior concentração. Da mesma forma, *C. amoenum* também não apresenta relatos científicos em relação ao óleo essencial. Estudos acerca do gênero *Cinnamomum* não relatam a presença de compostos majoritários semelhantes aos aqui descritos, porém compostos em comum foram descritos por Sriramavaratharajan e colaboradores (2016), para o óleo essencial de *C. agasthyamalayanum*:  $\alpha$ -pineno (5,3%), biciclogermacreno (2,8%) e traços de sabineno e  $\alpha$ -copaeno. Traços de sabineno,  $\beta$ -elemeno e germacreno D também foram identificados por Pragadeesh e colaboradores (2013) para o óleo de *C. camphora*.

Estudos da espécie *S. terebinthifolius* apontam  $\delta$ -3-careno como majoritário entre 32 compostos identificados para o óleo essencial da planta coletada na cidade de Vitória no estado do Espírito Santo (Uliana *et al.*, 2016).  $\alpha$ -Pinoeno seguido de *trans*-o-cimeno foram identificados por Pawlowski e colaboradores, (2012) como principais componentes em amostra da mesma espécie coletada na cidade de Porto Alegre. *p*-Cimeno-7-ol foi o principal composto encontrado por Estevão e colaboradores (2017) em coleta realizada no estado de Pernambuco. Visto que os indivíduos foram coletados em locais diferentes, a influência da incidência solar, precipitação, umidade, clima, tipo de solo, horário e estação do ano da coleta, entre outros fatores, pode justificar a variação na composição química entre as espécies (Uliana *et al.*, 2016).

#### **Atividade antiquimiotóxica *in vitro***

O ensaio de quimiotaxia propõe-se a avaliar a capacidade de substâncias em inibir a migração de células envolvidas na inflamação. Os resultados obtidos no ensaio da câmara de Boyden estão representados na Figura 1. Exceto para o óleo de *C. amoenum* na concentração de 1  $\mu$ g/mL, todas as amostras de óleo, nas concentrações testadas, apresentaram significativa inibição da migração leucocitária em relação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstram que o óleo de *C. aschersoniana* inibiu 71,6% da migração dos leucócitos na concentração de 1  $\mu$ g/mL e 100% na concentração de 10  $\mu$ g/mL. Já *S. terebinthifolius* apresentou atividade inibitória de 52,4% e 80,1% em 1 e 10  $\mu$ g/mL, respectivamente. Ambos os óleos essenciais inibiram a migração de células polimorfonucleares em maiores percentuais em relação ao controle indometacina (inibição da migração celular de 68,9%) testados na mesma concentração de (10  $\mu$ g/mL). No entanto, o óleo de *C. amoenum* demonstrou apenas 46,0% de inibição na maior concentração testada demonstrando menor capacidade em atuar como agente antiquimiotáxico.

A propriedade que os leucócitos têm de migrar até o local da inflamação está envolvida na ativação de citocinas e fatores genéticos pró-inflamatórios e, também é considerada um dos maiores estágios envolvidos no processo de inflamação (Kummer *et al.*, 2013; Miguel, 2010). Visto que estas são as células envolvidas nos primeiros estágios inflamatórios, pode-se inferir que os óleos atuem na fase aguda da inflamação. Sendo assim, o óleo das espécies abordadas neste estudo pode contribuir na redução do quadro de sintomas causados pela inflamação no local da injúria.

A exemplo da análise química, também não há estudos de atividade anti-inflamatória envolvendo a espécie *C. aschersoniana*, tampouco, representantes do gênero *Cryptocarya*. Da mesma forma, *C. amoenum* não possui relatos em relação à atividade anti-inflamatória do óleo essencial. Contudo, este efeito já foi evidenciado para outras espécies do gênero *Cinnamomum*. O óleo essencial de galhos de *Cinnamomum cassia* foi capaz de reduzir a expressão da COX-2, evidenciando o efeito anti-inflamatório (Sun *et al.*, 2016). Já o óleo obtido dos frutos da espécie *Cinnamomum insularimontanum*, bem como citral, composto majoritário, reduziu a resposta edematosa em teste de edema de orelha em camundongos (Lin *et al.*, 2008). Folhas de *S. terebinthifolius* foram objeto de estudo de Estevão e colaboradores (2017). Estes, avaliaram que o óleo foi capaz de reduzir os marcadores de inflamação local e aumentar a reposição de colágeno em ferimentos provocados em ratos. Apesar de os estudos avaliarem possíveis atividades anti-inflamatórias, nenhum autor testou seus óleos utilizando o método aqui aplicado que considera a atuação direta do óleo sobre a migração de neutrófilos.

#### **Atividade antioxidante *in vitro***

A capacidade dos óleos essenciais em estabilizar o radical DPPH foi testada em concentrações que variaram de 25 µg/mL a 500 µg/mL. Rutina foi utilizada como controle positivo em concentrações na faixa de 50 µg/mL a 250 µg/mL. Os gráficos apresentados na Figura 2 demonstram a atividade sequestrante de radicais livres de DPPH (%) em relação ao tempo decorrido da reação em intervalos de 5 minutos. Quando substâncias têm habilidade de estabilizar o radical 1,1-difenil-2-picrihidrazila (DPPH) de coloração violeta, convertem-no a 2,2-difenil-1-picrihidrazila que apresenta coloração amarelada. Entretanto, esta reação não foi observada para os óleos de *C. aschersoniana* e *C. amoenum* que, portanto, não apresentaram atividade antioxidante nas concentrações testadas e pelo método utilizado. A ausência de compostos fenólicos no óleo essencial pode estar relacionada à falta de atividade observada, para estas amostras. Estes compostos são responsáveis pela reação com radicais hidroxila, através do mecanismo de transferência de átomos de hidrogênio (Amorati, Foti, Valgimigli, 2013). Já o óleo de *S. terebinthifolius* exibiu cerca de 20% de atividade sequestrante do radical DPPH em todas as concentrações testadas (Figura 2). Este fato pode ser explicado pelo mecanismo em que se dá a estabilização do radical DPPH. Quando este acontece por transferência de elétrons, ocorre rapidamente (fentossegundos) e estabiliza o radical, resultando em um gráfico constante que independe da concentração testada. Diferentemente dos óleos essenciais, o controle rutina demonstrou uma cinética de reação diferenciada, onde

quanto maior o tempo da reação, maior é a atividade observada. Tal fato é exemplificado por Tian e Schaich, (2013), que avaliam casos como este pelo mecanismo de transferência de hidrogênio para estabilização do radical.

Em relação ao gênero *Cryptocarya*, há apenas um estudo do extrato metanólico da espécie *C. alba* relatado por Simirgiotis M.J, (2013), sendo observada atividade pelo mesmo método aqui utilizado. Outros estudos de espécies do gênero *Cinnamomum* (Kuspradini *et al.*, 2016) e da espécie *S. terebinthifolius* (Uliana *et al.*, 2016) relatam atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH. A exemplo da composição química, fatores climáticos, condições do meio ambiente, fase de desenvolvimento da planta, entre outros, podem influenciar na composição química do óleo (Almeida *et al.*, 2016) e, conseqüentemente, na atividade ou ausência desta aqui observada.

### **Atividade antifúngica**

Os óleos essenciais obtidos de *C. aschersoniana*, *C. amoenum* e *S. terebinthifolius* foram testados frente a isolados de fungos filamentosos e leveduriformes. As amostras apresentaram efeito antifúngico seletivo para dermatófitos, não demonstrando atividade frente aos isolados de *Candida* testados. Desta forma, a concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada apenas para as espécies de *Trichophyton* e *Microsporum*. De uma forma geral a CIM variou de 125 µg/mL a valores maiores de 500 µg/mL (Tabela 2). Resultados mais relevantes foram observados para a espécie *C. aschersoniana* frente às espécies fúngicas testadas, apresentando CIM de 125 µg/mL. *C. amoenum* apresentou CIM variando de 125 µg/mL a 250 µg/mL frente a espécie *M. canis*. Para a espécie *S. terebinthifolius* as CIM variaram de 250 µg/mL a maiores que 500 µg/mL sendo *M. gypseum*, o isolado com melhores resultados para esta espécie. Os valores de CIM para o controle terbinafina variaram de 0,004 µg/mL, para a espécie *T. rubrum*, a 2 µg/mL frente a *M. gypseum*, demonstrando que esta última espécie pode ser menos sensível ao tratamento convencional com antifúngicos.

Em se tratando da espécie *C. aschersoniana* não há estudos acerca de propriedades antifúngicas. O extrato de *S. terebinthifolius* apresentou CIM maior que 1000 µg/mL frente a fungos filamentosos das espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* (Biasi-Garbin *et al.*, 2016). Banu e colaboradores, (2018) apresentam resultados relevantes das espécies *Cinnamomum tamala* e *Cinnamomum camphora* frente a espécies de *Candida* spp. Dessa forma, os resultados aqui observados para as espécies *C. aschersoniana* e *C. amoenum* novamente são mencionados pela primeira vez na literatura.

A hipótese mais aceita para o mecanismo de ação antifúngica dos óleos essenciais refere-se ao fato de que por possuírem caráter lipofílico, atravessam as membranas com maior facilidade, permeando ou rompendo-a, causando a perda de íons, degradação da bomba de prótons e, conseqüente morte celular (Bakkali *et al.*, 2008). Em contrapartida, esta ação é muitas vezes conferida a frequência de compostos como fenóis e aldeídos nos óleos essenciais, seguidos dos terpenos contendo álcoois (Bassolé; Juliani, 2009). Tais hipóteses podem justificar a pouca atividade antifúngica dos óleos aqui testados, caracterizada pelos altos valores de CIM. Apesar de os óleos possuírem caráter lipofílico, os componentes presentes podem não possuir compostos essenciais para a atividade.

Em relação ao ensaio de checkerboard, a combinação dos valores de CIM do óleo de *C. aschersoniana* e do antifúngico terbinafina geraram uma série de leituras de CIF que, resultaram em valores de ICIF variando de 0,75 a 3 (Tabela 3). Nenhuma combinação demonstrou ação sinérgica, tampouco antagonista. A maioria das combinações foram interpretadas como indiferentes, porém frente ao isolado de *T. rubrum* (TRU43) interação aditiva foi observada.

Neste caso, o óleo em associação com a terbinafina foi capaz de reduzir a CIM desta em quatro vezes. O mecanismo de ação deste fármaco baseia-se no bloqueio da síntese de ergosterol, um componente primordial na estrutura da parede fúngica. Estudos demonstram que óleos essenciais são capazes de alterar a permeabilidade da célula fúngica, facilitando a entrada do antifúngico na célula, aumentando inclusive, a quantidade de fármaco e, conseqüentemente, a morte mais rápida do fungo (Danielli *et al.*, 2017; Danielli *et al.*, 2018). Sendo assim, a interação caracterizada como aditiva observada para este isolado fúngico, pode ter sido resultado deste mecanismo de ação.

## CONCLUSÃO

O presente estudo ressalta a importância da pesquisa com óleos essenciais e suas atividades biológicas. Neste estudo apresentamos pela primeira vez a composição química e efeito biológico do óleo de *C. aschersoniana*, onde o composto allo-aromadendreno foi identificado como majoritário. Além disso, importante inibição da migração leucocitária, indicando possível efeito na fase aguda da inflamação. A exemplo desta, *S. terebinthifolius* apresentou resultados semelhantes quando ao efeito antiquimiotáxico. A avaliação da atividade antifúngica indicou efeito antidermatofítico para todos os óleos testados, inibindo o crescimento de espécies dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*. *C. aschersoniana* em

combinação com terbinafina apresentou interação de natureza aditiva frente a um isolado de *T. rubrum*, reduzindo sua CIM e consequentemente potencializando o efeito antifúngico.

### **CONFLITO DE INTERESSE**

Os autores declaram que não tem conflito de interesse.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem o suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e PIBIC.

## REFERÊNCIAS

- Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 2009: 4th ed. Allured, Illinois
- Almeida L.F.R, Portella, RO, Bufalo J, Marques, MOM, Facanali, R, Frei, R. Non-oxygenated sesquiterpenes in the essential oil of *Copaifera langsdorffii* Desf. increase during the day in the dry season. *PLoS One*. 2016 11, 1–12.
- Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. Antioxidant activity of essential oils. *J.Agric. Food Chem.* 2013. 61, 10835–10847.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46: 446-475.
- Banu SF, Rubini D, Shanmugavelan P, Murugan R, Gowrishankar S, Pandian SK, *et al.* Effects of patchouli and cinnamon essential oils on biofilm and hyphae formation by *Candida* species. *J. of Micologie Méd.* 2018; 28: 332-339.
- Bassolé IHN, Julianni H R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 2012 . 17, p. 3989-4006.
- Biasi-Garbin RP, Demitto FO, Amaral RCR, Ferreira MRA, Soares LAL, Svidzinski TIE *et al.* Antifungal potential of plant species from Brazilian caatinga against dermatophytes. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2016; 58: 18.
- Borrero PAP, Bohren AV, Keller HA, Grance LA, Dummer C.J. La arquitectura foliar de las especies de Lauraceae nativas de Misiones, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 2016; 51: 37-57.
- Carraro TCMM, Altmeyer C, Khalil NM, Mainardes RM. Assessment of in vitro antifungal efficacy and in vivo toxicity of Amphotericin B- loaded PLGA and PLGA-PEG blend nanoparticles. *J. Micol. Méd.* 2017; 27: 519-529.
- Chou ST, Lai CC, Lai CP, Chao WW. Chemical composition, antioxidant, anti-melatogenic and anti-inflammatory activities of *Glechoma hederacea* (Lamiaceae) essential oil. *Ind. Crops and Prod.* 2018; 122: 675-685.
- CLSI, 2008. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi: Approved Standard, M38-A2. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Wayne.
- Danielli LJ, Pippi B, Soares KD, Duarte JA, Maciel AJ, Machado MM. Chemosensitization of filamentous fungi to antifungal agents using *Nectandra* Rol. ex Rottb. species essential oils. *Ind. Crops and Prod.* 2017; 102: 7-15.
- Danielli LJ, Pippi B, Duarte JA, Maciel AJ, Lopes W, Machado MM. *et al.* Antifungal mechanism of action of *Schinus lentiscifolius* Marchand essential oil and its synergistic effect in vitro with terbinafine and ciclopirox against dermatophytes. *J. of Pharmacy and Pharmacology*. 2018; 70: 1216-1227.
- Dannenberg GS, Funck GD, Mattei FJ, Silva WP, Fiorentini AP. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. *In. Food Science and Emerging Tec.* 2016; 36: 120-127.
- Estevão LRM., Simões RS, Cassini-Vieira P, Canesso MCC, Barcelos LS, Rachid MA. *et al.* *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. *Acta Cir. Bras.* 2017; 32: 726-735.
- Farmacopeia Brasileira, 2010. Volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa, Brasília.
- Ferreira PI, Gomes JP, Batista F, Bernardi AP, Costa NCF, Bortoluzzi RLC *et al.* Espécies potenciais para recuperação de áreas de preservação permanente no Planalto catarinense. *Floresta e ambiente*. 2013; 20: 173-182.

Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 08 Nov. 2018.

Hube B, Hay R, Brasch J, Veraldi S, Schaller M, 2015. Dermatomycoses and inflammation: the adaptive balance between growth damage and survival. *J.Mycol. Med.* 25, e44–e58.

Johnson M, Macdougall C, Ostrosky-Zeichener L, Perfect J, Rex J. Combination antifungal therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48: 693–715.

Kummer R, Fachini-Queiroz FC, Estevão-Silva CF, Grespan R, Silva EL, Bersani-Amado CA, Cuman RKN. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Citrus latifolia* Tanaka essential oil and limonene in experimental mouse models. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2013., 1–8.

Kuspradini H, Putri AS, Sukaton E, Mitsunaga T. Bioactivity of essential oils from leaves of *Dryobalanops lanceolata*, *Cinnamomum burmannii*, *Cananga odorata*, and *Scorodocarpus borneensis*. *Agri. and A. Science Procedia.* 2016; 9: 411-418.

Lin CT, Chen CJ, Lin TY, Tung JC, Wang SY. Anti-inflammation activity of fruit essential oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata. *Bioresource Tec.* 2008; 99: 8783-8787.

Miguel MG, 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules* 15, 9252–9287.

Muxfeldt RE, Faria JMR, Tonetti OAO, Silva EAA. Utilização do teste de Raios-X na avaliação dos efeitos da dessecação e infestação em diásporos de canela-batalha – *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae). *Cerne Lavras.* 2012; 18: 657-666.

Nascimento JC, Lage LFO, Camargos CRD, Amaral JC, Costa LM, Sousa AN *et al.* Antioxidant determination activity by DPPH method and assay for total flavonoids in leaves extracts of *Bauhinia variegata* L. *Rev. Bras.Farm.* 2011; 92: 327–332.

Pawlowski Â, Kaltchuk-Santos E, Zini CA, Caramão EB, Soares GLG. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. *South A. J. of Botany.* 2012; 80: 96-103.

Pragadheesh VS, Saroj A, Yadav A, Chanotiya CS, Alam M, Samad A. Chemical characterization and antifungal activity of *Cinnamomum camphora* essential oil. *Ind. Crops and Prod.* 2013; 49: 628-633.

Puia-Dumitrescu M, Smith PB, Antifungal Drugs in Newborns and Children. *Pediatr Clin N Am.* 2017; 64: 1389- 1402.

Rali T, Wossa SW, Leach DN. Comparative Chemical Analysis of the Essential Oil Constituents in the Bark, Heartwood and Fruits of *Cryptocarya massoy* (Oken) Koesterm. (Lauraceae) from Papua New Guinea. *Molecules*, 2007; 12: 149-154.

Reis-Ávila G, Oliveira JM. Lauraceae; A promising family for the advance of neotropical dendrochronology. *Dendrochronologia.* 2017; 44: 103-116.

Samadi FM, Suhail S, Sonam M, Sharma M, Singh S, Gupta S, Antifungal efficacy of herbs. *J. Oral B. and Craniofacial Research.* 2018; 9: 28-32.

Simirgiotis MJ. Antioxidant Capacity and HPLC-DAD-MS Profiling of Chilean Peumo (*Cryptocarya alba*) Fruits and Comparison with German Peumo (*Crataegus monogyna*) from Southern Chile. *Molecules.* 2013; 18: 2061-2080.

Sriramavaratharajan V, Stephan J, Sudha V, Murugan R. Leaf essential oil of *Cinnamomum agasthyamalayanum* from the Western Ghats, India- A new source of camphor. *Ind. Crops and Prod.* 2016; 86: 259- 261.

- Sun L, Zong SB, Li JC, Lv YZ, Liu LN, Wang ZZ. *et al.* The essential oil from the twigs of *Cinnamomum cassia* Presl alleviates pain and inflammation in mice. *J. of Ethnopharmacology*. 2016; 194: 904-912.
- Suyenaga ES, Konrath EL, Dresch RR, Apel MA, Zuanazzi JA, Chaves CG. *et al.* Appraisal of the antichemotactic activity of flavonoids on polymorphonuclear neutrophils. *Planta Med*. 2011; 77: 698–704.
- Talascra M, Araújo CC, Marques MOM, Facanali R, Moraes PRL, Cavaleiro AJ. Essential oil from leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. *B. syst. and ecology*. 2006; 35: 222-232.
- Tian X, Schaich KM, Effects of molecular structure on kinetics and dynamics of the trolox equivalent antioxidant capacity assay with ABTS<sup>+</sup>. *J. A. and Food Chem*. 2013; 61: 5511-5519.
- Uliana MP, Fronza M, Silva AG, Vargas TS, Andrade TU, Scherer R, Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. *Ind. Crops and Prod*. 2016; 83: 235-240.
- Vijendran LCP, Verna BR, Nazra CN, Vasudevan CB, Debdeep W.C.M., Buby L.C.V., *et al.* A comparative study of the various patterns of oro-cutaneous fungi and their sensitivity to anti fungals between HIV patients and normal healthy individuals. *Med J Armed Forces India*. 2018; 955
- Xiang H, Zhang L, Yang Z, Chen F, Zheng X, Liu X. Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor activities of *Curcuma aromatica* Salisb. essential oils. *Ind. Crops & Prod*. 2017; 108: 6-16.
- Zaynab M, Fatima M, Abba, S, Sharif Y, Umair M, Zafar MH, *et al.* Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Micr. Pathogenesis*. 2018; 124: 198-202.
- Zuzarte M. Alves-Silva JM, Alves M, Cavaleiro C, Salgueiro L, Cruz MT. New insights on the anti-inflammatory potential and safety profile of *Thymus carnosus* and *Thymus camphoratus* essential oils and their main compounds. *J. of Ethnopharmacology*. 2018; 225: 10-17.

**Tabela 1:** Composição química (%) do óleo essencial de folhas das espécies *Cryptocarya aschersoniana*, *Schinus terebinthifolius* e *Cinnamomum amoenum* obtidas por hidrodestilação.

Composto	<i>C. amoenum</i>	<i>C. arshersoniana</i>	<i>S. terebinthifolius</i>
<i>Monoterpenos hidrocarbonetos</i>			
$\alpha$ -pineno	3,2	-	0,2
Sabineno	6,3	-	-
$\beta$ -pineno	-	-	0,4
<i>o</i> -cimeno	-	-	0,2
Limoneno	-	-	1,2
<i>Sesquiterpenos hidrocarbonetos</i>			
$\delta$ -elemeno	0,9	-	0,3
$\alpha$ -copaeno	1,2	1,0	5,8
$\beta$ -bourbureno	-	-	0,5
$\beta$ -cubebeno	-	0,1	0,1
$\beta$ -elemeno	0,6	-	7,2
$\beta$ -cariofileno	14,8	1,0	0,8
$\beta$ -gurjuneno	2,8	-	-
$\gamma$ -elemeno	-	0,3	0,9
Aromadendreno	-	0,2	0,1
$\alpha$ -cariofileno	2,2	-	-
$\alpha$ -humuleno	-	0,4	0,2
Allo-aromadendreno	1,4	28,9	-
<i>E</i> - $\beta$ -farneseno	-	-	3,2
$\gamma$ -gurjujuno	-	-	0,6
$\gamma$ -muuruleno	1,5	0,4	1,1
Germacreno D	9,7	9,0	1,4
$\gamma$ -himachaleno	-	-	1,1
$\beta$ -selineno	-	-	1,7
$\delta$ -selineno	0,4	-	-
Viridifloreno	0,7	-	-
$\alpha$ -selineno	-	-	2,4
Biciclogermacreno	27,8	12,4	-
$\alpha$ -muuruleno	0,6	-	3,8
Germacreno A	0,4	0,2	2,9
$\gamma$ -cadineno	0,9	0,4	-
$\delta$ -cadineno	3,9	1,1	7,6
Germacreno B	0,7	-	14,9
$\beta$ -colacoreno	-	-	0,2
Maaliol	-	1,4	-
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>			
( <i>E</i> )-nerolidol	Tr	-	0,7
Espatulenol	3,5	17,7	3,4
Óxido de cariofileno	5,1	-	0,5
Globulol	3,9	-	1,6
<i>Epi</i> -globulol	1,8	6,2	2,5
5- <i>epi</i> ,7- <i>epi</i> - $\alpha$ -eudesmol	0,8	-	-
Rosifoliol	-	1,7	-
Eudesma-4(14)-em-6a-ol	-	0,5	-
Eudesmol	0,6	-	-
$\beta$ -eudesmol	-	0,5	-
10- <i>epi</i> - $\gamma$ -eudesmol	0,5	-	-
1- <i>epi</i> -cubenol	0,1	0,6	4,9

Allo-epoxido aromadendreno	-	1,7	-
Iso-espatulenol	0,1	-	-
$\tau$ -cadinol	-	-	0,4
$\alpha$ -murolol	-	-	5,1
$\alpha$ -cadinol	-	-	4,8
<i>Cis</i> -10-calamenenol	-	-	0,7
<i>Trans</i> -10-calamenenol	-	-	0,7
<i>Diterpeno</i>			
Kaureno	-	0,4	-
<i>Compostos alifáticos</i>			
Nonadecanal	0,7	-	-
Monoterpenos hidrocarbonetos	9,5	-	2,0
Sesquiterpenos hidrocarbonetos	70,5	56,8	56,8
Sesquiterpenos oxigenados	16,3	28,9	25,3
Diterpenos	-	0,4	-
Compostos alifáticos	0,7	-	-

Compostos estão listados em ordem de eluição na coluna DB5. Tr, traços.

Tabela 2: Faixa de concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais de *Cinnamomum amoenum*, *Cryptocarya aschersoniana* e *Schinus terebinthifolius* e terbinafina frente espécies de dermatófitos.

Microrganismos	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	<i>Cinnamomum amoenum</i>	<i>Cryptocarya aschersoniana</i>	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Terbinafina
<i>T. rubrum</i>	250 - > 500	125 - > 500	250 - > 500	0,004 – 0,030
<i>T. mentagrophytes</i>	250	250 - > 500	500	0,008 – 0,125
<i>M. canis</i>	125 - 250	125 - > 500	> 500 - 500	0,03 – 1
<i>M. gypseum</i>	NT	125 - > 500	250	0,016 – 2

NT: Não testado

Tabela 3: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) da combinação do óleo essencial de *Cryptocarya aschersoniana* com terbinafina frente a dermatófitos.

<b>Dermatófitos</b>	<b>CIM Óleo</b>	<b>CIM Óleo em combinação</b>	<b>CIM Terbinafina</b>	<b>CIM Terbinafina em combinação</b>	<b>ICIFs</b>	<b>Interpretação</b>
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>						
TME 34	500	500	0,016	0,016	2,0	Indiferente
TME 40	1000	1000	0,008	0,016	3,0	Indiferente
TME 16	500	500	0,008	0,016	3,0	Indiferente
<i>Trichophyton rubrum</i>						
TRU 43	1000	500	0,004	0,001	0,75	Aditivo
TRU 51	125	125	0,016	0,008	1,5	Indiferente
<i>Microsporum gypseum</i>						
MGY 50	500	500	0,016	0,008	1,5	Indiferente

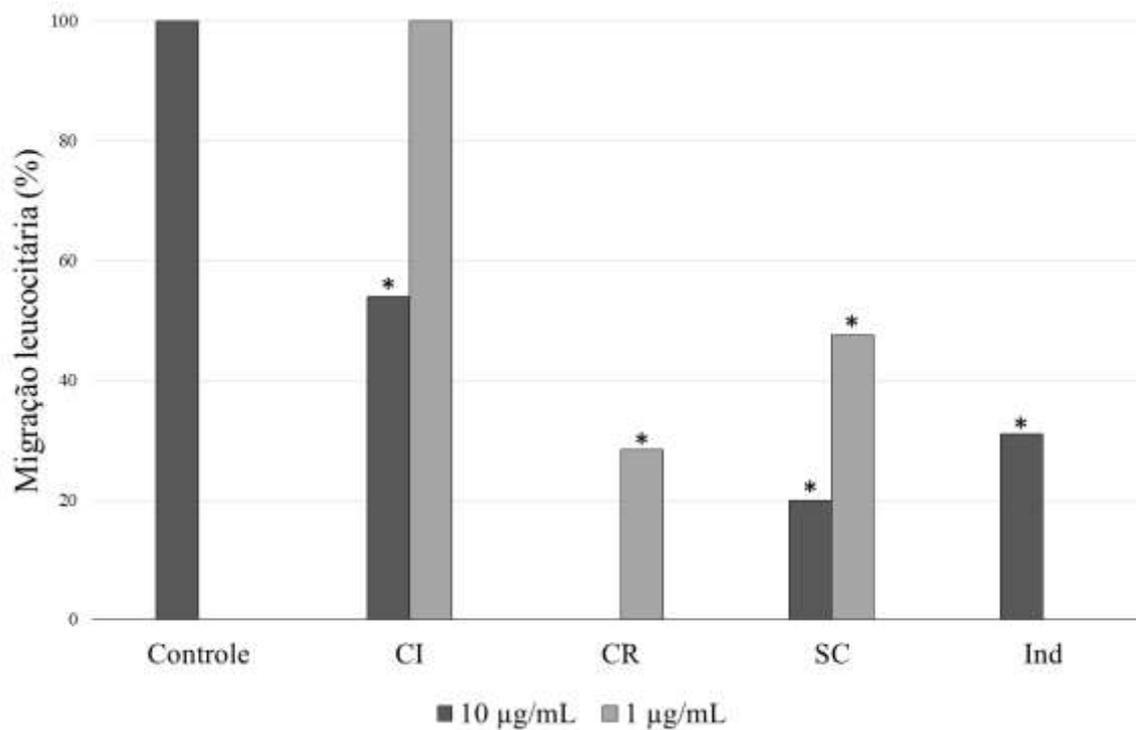


Figura 1: Efeito *in vitro* dos óleos essenciais de *Cinnamomum amoenum* (CI), *Cryptocarya arshersoniana* (CR) e *Schinus terebinthifolius* (SC) na migração leucocitária em relação ao controle negativo. Ind.= indometacina (controle positivo). \* $p < 0,05$  indica diferença significativa comparada ao controle negativo (ANOVA seguida do Teste de Tukey).

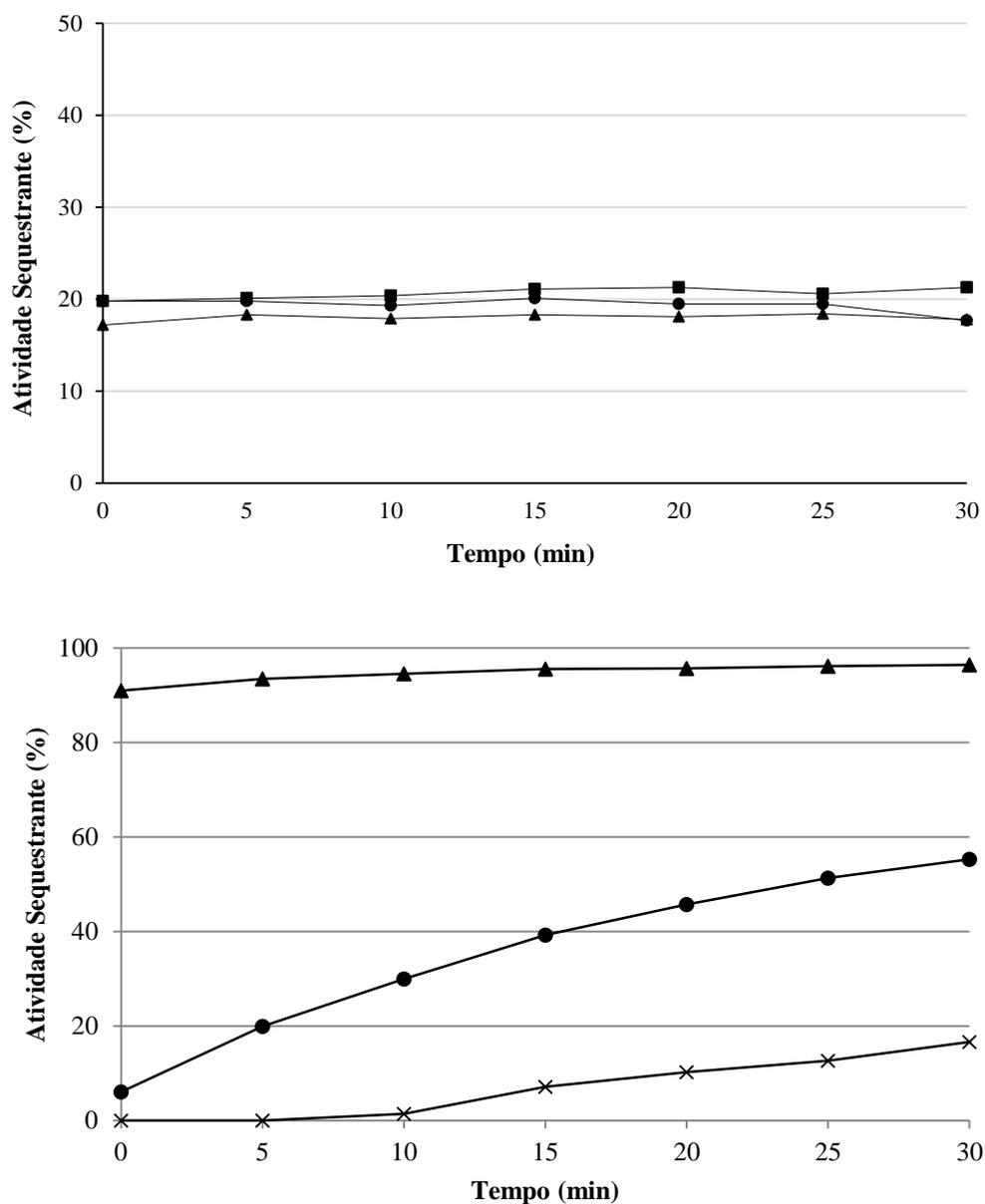


Figura 2: Cinética da atividade de sequestro do radical DPPH pelo óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* (superior) e pela rutina, controle positivo (inferior). Concentrações de 500 µg/mL (■), 250 µg/mL (▲), 100 µg/mL (●) e 50 µg/mL (X).