



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - *CÂMPUS* RIO VERDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA
Rodovia Sul Goiana, km 01, Zona Rural – Rio Verde - GO
CEP: 75.901-970. Fones: (64) 3620-5643. Fax: (64) 3620-5640

Bioatividades de óleos essenciais de *Schinus molle* e *Cinnamomum cassia* e suas combinações

Autor: Aternoskaires Simon Rodrigues da Silva
Orientadora: Dr.a Cassia Cristina Fernandes Alves

RIO VERDE – GO
Março – 2024



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - *CÂMPUS* RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA
Rodovia Sul Goiana, km 01, Zona Rural – Rio Verde - GO
CEP: 75.901-970. Fones: (64) 3620-5643. Fax: (64) 3620-5640

**Bioatividades de óleos essenciais de *Schinus molle* e *Cinnamomum cassia* e suas
combinações**

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação – *Stricto sensu* em Agroquímica.

Mestrando: Aternoskaires Simon Rodrigues da Silva

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cassia Cristina Fernandes Alves

Co-orientador: Dr. Mayker Lazaro Dantas Miranda

Co-orientador: Dr. Josemar Gonçalves de Oliveira

RIO VERDE – GO
Março – 2024

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

RAT864 Rodrigues da Silva, Aternoskaires Simon
b Bioatividades de óleos essenciais de *Schinus molle*
e *Cinnamomum cassia* e suas combinações /
Aternoskaires Simon Rodrigues da Silva; orientador
Cassia Cristina Fernandes Alves; co-orientador
Mayker Lazaro Dantas Miranda e Josemar Gonçalves de
Oliveira . -- Rio Verde, 2024.
68 p.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) -- Instituto
Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2024.

1. Schunus molle. 2. Cinnamomum cassia. 3.
Espatulenol. 4. Cancro citrico. 5. Leishmaniose e
Candidíase. I. Fernandes Alves, Cassia Cristina,
orient. II. , Mayker Lazaro Dantas Miranda e Josemar
Gonçalves de Oliveira, co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |
| <input type="checkbox"/> Produto técnico e educacional - Tipo: Dissertação | |

Nome completo do autor:

Aternoskares Simon Rodrigues da Silva

Matrícula:

2022102310340001

Título do trabalho:

Bioatividades de óleos essenciais de Schinus molle e Cinnamomum cassia e suas combinações

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Não se aplica

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 27 /04 /2024

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

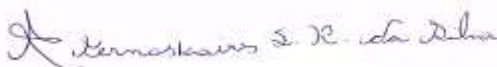
- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde - Goiás

Local

20 /04 /2024

Data



Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Bioatividades de óleos essenciais de *Schinus molle* e *Cinnamomum cassia* e suas combinações.

Autor: Aternoskaires Simon Rodrigues da Silva
Orientadora: Cassia Cristina Fernandes

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de Concentração Agroquímica

APROVADO em 19 de fevereiro de 2024.

Dr. Celso Martins Belisário
Avaliador interno
IF Goiano/RV

Dra. Heloisa Alves Figueiredo Sousa
Avaliadora externa
IFB/Campus Planaltina

Dr. Josemar Gonçalves de Oliveira
Filho
Avaliador externo
Embrapa Instrumentação

Dra. Cassia Cristina Fernandes
Presidente da banca
IF Goiano/RV

Documento assinado eletronicamente por:

- Heloisa Alves Figueiredo Sousa, Heloisa Alves Figueiredo Sousa - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal de Brasília Ifb (10791831000182), em 19/02/2024 17:31:57.
- Josemar Gonçalves de Oliveira Filho, Josemar Gonçalves de Oliveira Filho - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 19/02/2024 17:18:53.
- Celso Martins Belisario, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 19/02/2024 17:18:31.
- Cassia Cristina Fernandes Alves, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 19/02/2024 17:15:00.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 19/02/2024. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 572894

Código de Autenticação: f8aaf1bc64



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Rio Verde

Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970

(64) 3624-1000

EPÍGRAFE

QUEM MORRE?

Morre lentamente
Quem não viaja,
Quem não lê,
Quem não ouve música,
Quem não encontra graça em si mesmo

Morre lentamente
Quem destrói seu amor próprio,
Quem não se deixa ajudar.

Morre lentamente
Quem se transforma em escravo do hábito
Repetindo todos os dias os mesmos trajetos,
Quem não muda de marca,
Não se arrisca a vestir uma nova cor ou
Não conversa com quem não conhece.

Morre lentamente
Quem evita uma paixão e seu redemoinho de emoções,
Justamente as que resgatam o brilho dos
Olhos e os corações aos tropeços.

Morre lentamente
Quem não vira a mesa quando está infeliz
Com o seu trabalho, ou amor,
Quem não arrisca o certo pelo incerto
Para ir atrás de um sonho,
Quem não se permite, pelo menos uma vez na vida,
Fugir dos conselhos sensatos...

Viva hoje!
Arrisque hoje!
Faça hoje!
Não se deixe morrer lentamente!

NÃO SE ESQUEÇA DE SER FELIZ

Martha Medeiros

BIOGRAFIA DO AUTOR

Eu Aternoskaires Simon Rodrigues da Silva, um jovem de 26 anos, nasci e cresci em uma família humilde e desde os meus 7 anos de idade eu andava por toda a cidade de São Gabriel do Goiás com um carrinho de mão vendendo verduras, sendo um dos meios de sobrevivência da minha família. E ao chegar aos meus 13 anos eu recebi a ajuda de uma professora chamada Janete Bruxel e a ajuda de outra professora a Renata Prediger que me ajudaram a entrar no Instituto Federal de Brasília - *Campus* Planaltina. No começo foi muito difícil me adaptar ali, mas eu queria muito vencer na vida, então eu lutei e passaram – se os anos, e eu me formei no ensino médio e lá fiz o curso em Agroindústria, conhecendo a professora Heloísa Sousa que posteriormente foi à professora que me ajudou a ingressar no curso do mestrado em agroquímica no Instituto Federal Goiano. O Josemar Gonçalves me ajudou muito, me ensinou tanta coisa que vou levar isso para a vida.

Antes de entrar no curso de agroquímica eu conheci a Riva Andrade, a minha madrinha, ela me ensinou a falar de forma mais correta, me ajudou a evoluir espiritualmente, e eu só estou aqui hoje porque no momento mais difícil que eu passei, ela estendeu as mãos para mim, e me ajudou a continuar nessa jornada. E ao escrever essa biografia, eu posso dizer que eu fui o indivíduo que nasceu em uma família humilde igual muitos e que eu lutei muito para chegar até aqui, só eu sei as dificuldades que eu tive que enfrentar para estar aqui, as noites que eu passei sem me alimentar e graças a Deus eu estou aqui vencendo mais uma etapa na minha vida e digo que vale a pena lutar e nunca desistir dos nossos sonhos. Hoje eu sou formado e sou o primeiro mestre da minha família inteira, eu tenho orgulho do que eu estou me tornando e deixo aqui essa biografia para vocês e voz digo, “não desistam dos seus sonhos”, lute e não pare, todos nós somos capazes”. Se você encontrar pedras no seu caminho leve as contigo porque um dia você vai conseguir construir um belo castelo. E jamais espere reconhecimento dos outros, você não está aqui para agradar os outros, somente a ti mesmo.

DEDICATÓRIA

Este projeto de pesquisa foi desenvolvido para contribuir com o ensino acadêmico e para os demais colegas do mundo das ciências da investigação. Portando em si uma escrita simplificada e detalhada que proporcionará ao leitor e demais pesquisadores uma melhor compreensão dos assuntos que serão discorridos por essa dissertação.

Todas as pesquisas realizadas são bem detalhadas, uma vez que ao serem desenvolvidas alcançaram significância relativa no mundo da agricultura e na área da saúde, sendo que os testes realizados de forma inédita se mostraram promissores no controle dos agentes etiológicos que causam doenças infecciosas como a candidíase, a leishmaniose e o cancro cítrico.

AGRADECIMENTOS

Eu sou grato pela oportunidade de estar aqui neste presente século, grato por compreender a espiritualidade e a existência do universo e maior gratidão eu tenho por ter a força de um jovem sonhador, por ter garra e forças para lutar, me tornando um homem mais forte e mais sábio.

Sou grato por estar finalizando mais uma etapa tão importante da minha vida, pois aqui eu aprendi o real sentido de trabalho em equipe, do espírito de união, aprendi mais sobre ser solidário e descobri a riqueza que é ter a oportunidade de se viver o hoje, de levantar a cabeça e nunca desistir de nosso propósito.

Durante esses dois anos, foi possível aprender tanto com a professora Cassia Cristina Fernandes Alves, com ela, eu pude descobrir que o mundo da química é incrível, que tem inúmeros caminhos para serem percorridos e eu sou grato pois a professora Cássia me proporcionou tantos momentos bons, momentos de aprendizagem, momentos em que ela teve disposição para me ensinar, confiar em mim, lembro – me que quando eu chegava com uma ideia, mesmo que ninguém acreditasse em mim, ela me dava a oportunidade para testar e sempre dava bons resultados e por isso hoje está sendo possível concluir essa dissertação, e por todos esses momentos sou grato a professora pela dedicação e por todo apoio que a seque foi me dado durante a realização do meu mestrado.

Sou grato aos meus coorientadores Josemar Gonçalves de Oliveira Filho e Mayker Lazaro Dantas, vocês foram pilares fundamentais na minha vida, foi a melhor equipe de trabalho que eu poderia ter, muito obrigado pelo apoio, sem a colaboração e sem os bons conselhos de vocês seria impossível chegar até aqui, muito obrigado a vocês dois.

Agradeço aos avaliadores que desde o início do projeto se dedicaram nos parâmetros avaliativos em todas essas etapas e durante essa jornada vocês realizaram contribuições fundamentais que tornaram o meu projeto de pesquisa promissor, e através de tais contribuições vocês trouxeram significância ao meu trabalho.

Sou grato ao programa de Pós - Graduação em Agroquímica (PPGAq). Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde e a Embrapa Instrumentação de São Carlos - SP, que tem me proporcionado todos os aparatos legais para que eu pudesse desenvolver as minhas pesquisas com eficiência e êxito.

Agradeço as agências de fomento e pesquisa:

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Ao Polo Inovação da Empresa Brasileira de Pesquisa e Inovação Industrial - EMBRAPPII do IF Goiano pela concessão de bolsas e recursos que me serviram de estímulo para continuar na pesquisa científica e contribuiu com a minha permanência na cidade e no curso, proporcionando meios para que eu pudesse expandir as minhas pesquisas.

E agradeço em especial a Riva Andrade, que é a minha madrinha, ela contribuiu imensamente para o meu crescimento enquanto pessoa, e contribuiu muito mais para a minha evolução espiritual, tanto ela quanto a Suenny Gomes me apoiaram para eu estar aqui hoje, me auxiliando de diversas formas.

E por fim eu agradeço ao Abell Gouveia que tem sido o meu braço direito, tem me ajudado nas pesquisas, tem me apoiado nos momentos mais difíceis dessa jornada e tem estendido as mãos para mim, me ajudando a chegar até aqui.

E eu sou grato a Deus por tudo que o ele tem feito em minha vida, sou grato porque ele nunca me desamparou e eu estou de pé graças a ele.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espécime vegetal da planta *S. molle*.....**32**

Figura 2: Imagem (A) Folhas e ramos da *S. molle*, (B) Flores e frutos da *S. molle* e (C) Flores da *S. molle*.....**32**

INDICE DE TABELAS

Capítulo I

Tabela S1. Constituintes voláteis de óleos essenciais de *S. molle* frescos (OE-FL) e secos (OE-DL).....**49**

Tabela S2. Atividade anti-*Xanthomonas citri* de óleos essenciais de folhas frescas e secas de *S. molle* e do espatulenol sesquiterpênico. Os valores MIC são expressos em $\mu\text{g/mL}$**50**

Capítulo II

Tabela 1. Constituintes químicos do óleo essencial de folhas secas de *S. molle* (OE-SM).....**65**

Tabela 2. Constituintes químicos do óleo essencial da casca de *C. cassia* (OE-CC).....**66**

Tabela 3. Atividade leishmanicida de OE-SM, OE-CC, blend 1, blend 2 e blend 3 contra formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* após 24 horas de incubação.....**66**

Tabela 4. Valores de concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) contra espécies de *Candida*.....**67**

LISTA DE ACRÓNIOS

| Itens | Significados |
|---------|--|
| % | Porcentagem |
| Mm | Milímetro |
| IST | Infecções Sexualmente Transmissíveis |
| HIV | Vírus da Imunodeficiência Humana |
| CTA | Centro de Testagem e Aconselhamento |
| UBS | Unidade Básica de Saúde |
| μg | Micrograma |
| g | Gramas |
| ml | Mililitro |
| μL | Microlitro |
| μM | Micrômetro |
| °C | Graus Celsius |
| β | Beta |
| α | Alfa |
| γ | Gamma |
| p – Pê | Pê |
| δ | Delta |
| min | Minutos |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| CI50 | Concentração de inibição em 50% |
| CL50 | Concentração letal em 50% |
| Cm | Centímetros |
| a.C. | Antes de Cristo |
| O. E | Óleo essencial |
| O. Es | Óleos Essenciais |
| OE – FL | Óleo essencial de <i>Schinus molle</i> Frescas ou “in naturas” |
| OE – DL | Óleo essencial de <i>Schinus molle</i> Secas |
| OE-CC | Óleo essencial de <i>Cinnamomum cassia</i> |
| OE-SM | Óleo essencial de <i>Schinus molle</i> |

| | |
|-----------|---|
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| Mg/mL | Micrograma por Mililitro |
| (V/V) | Volume por Volume |
| D. P | Depois |
| RPM | Promastigotas Mantidas em Meio |
| + | Soma |
| < | Menor |
| > | Maior |
| LEA | Laboratório de Ensaios Antimicrobianos |
| UFC/mL | Concentração Célula Final |
| DBO | Demanda Bioquímica de Oxigênio |
| RT | Tempo de Retenção |
| IR | Índice de Retenção |
| IR lit | Índice de Retenção da literatura |
| RA% | Área relativa |
| GC/FID | Cromatografia Gasosa-detector de Ionização de Chama |
| GC/FID | Cromatografia Gasosa-espectrometria de Massa |
| F1, F2... | Figura 1, Figura 2 e assim por diante. |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 19 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 22 |
| 2.1. Leishmaniose..... | 22 |
| 2.2. Candidíase | 25 |
| 2.3. <i>Xanthomonas citri</i> – Bactéria causadora de doenças em <i>Citrus</i> | 27 |
| 2.4. Óleos Essenciais | 28 |
| 2.5. Misturas de óleos essenciais..... | 30 |
| 2.6. Gêneros dos <i>Citrus</i> | 30 |
| 2.7. <i>Schinus molle</i> | 31 |
| 2.8. Canela da China - <i>Cinnamomum cassia</i> | 33 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 34 |
| 4. Objetivo Geral..... | 39 |
| 4.1. Objetivos Específicos..... | 39 |
| CAPÍTULO I..... | 40 |
| 1. Introdução | 43 |
| 2. Resultados e discussão..... | 43 |
| 3. Seção experimental | 44 |
| 4. Conclusão | 44 |
| 5. Referências Bibliográficas | 45 |
| 3. Seção experimental | 46 |
| 3.1. Material vegetal | 46 |
| 3.2. Extração de óleos essenciais (OE-FL e OE-DL) | 46 |
| 3.3. Espatulenol..... | 47 |
| 3.4. Identificação química dos constituintes (OE-DL e OE-FL)..... | 47 |
| 3.5. Ensaio anti- <i>Xanthomonas citri</i> | 47 |
| 5. Referências Bibliográficas | 48 |
| 6. Anexos..... | 49 |
| Tabela S1. | 49 |
| CAPÍTULO II..... | 51 |
| 1. Introdução | 54 |
| 2. Materiais e Metodos | 55 |
| 2.1. Material vegetal | 55 |
| 2.2. Processamento Vegetal e Extração do Óleo Essencial | 55 |
| 2.3. Preparação dos Blends | 55 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4. Análises de composição de óleo por GC/FID e GC/MS | 56 |
| 2.5. Ensaio Antileishmania..... | 56 |
| 2.6. Ensaio Anticandidato | 57 |
| 3. Resultados e discussão..... | 57 |
| 3.1. Composição do óleo essencial | 57 |
| 3.2. Atividade Antileishmania..... | 58 |
| 3.3. Atividade anticandidal | 59 |
| 4. Conclusão | 60 |
| 5. Referências Bibliográficas | 61 |
| 6. Anexos..... | 65 |
| 5. Considerações Finais | 68 |

RESUMO

SILVA, ATERNOSKAIRES. S. R. **Bioatividades de óleos essenciais de *Schinus molle* e *Cinnamomum cassia* e suas combinações.** 2024. Defesa apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, como parte das exigências da Pós-Graduação – Mestrado em Agroquímica.

A presente dissertação foi dividida em dois capítulos: no primeiro, objetivou-se comparar, pela primeira vez, a composição química e as atividades anti-*Xanthomonas citri* de óleos essenciais de folhas frescas e secas de *Schinus molle* (OE-FF e OE-FS, respectivamente). Também foi avaliada a atividade do espatulenol, principal constituinte dos óleos, contra *X. citri*. As atividades foram realizadas pelo método de microdiluição em caldo em cultura de 96 poços. Três constituintes principais foram identificados nos OE-FF e OE-FS por GC-MS e GC-FID: espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno. Com valores de MIC variando de 31,25 a 100 $\mu\text{g/mL}$, eles foram ativos contra cepas de *X. citri* (resistentes, tolerantes e sensíveis ao cobre). Embora os resultados tenham mostrado o potencial in vitro de OE-FS, OE-FF e espatulenol contra *X. citri*, mais estudos in vivo são necessários para comprovar sua aplicabilidade ao biocontrole do cancro cítrico. O segundo capítulo investigou a composição química e as atividades antileishmania e anticandidal de óleos essenciais das folhas de *Schinus molle* (OE-SM) e das cascas de ramos de *Cinnamomum cassia* (OE-CC) e suas misturas contra as formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania amazonensis)* e as diferentes espécies de cepas de *Candida*, respectivamente. Para isso, os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação, e seus componentes foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama. Os constituintes majoritários de OE-SM foram espatulenol (20,8%), β -cariofileno (15,6%) e óxido de cariofileno (10,0%). Já o OE-CC revelou altas concentrações de cinamaldeído (60,1%), acetato de cinamila (20,9%) e ácido metoxicinâmico (10,5%). O OE-SM ($\text{IC}_{50} = 21,45 \mu\text{g/mL}$) e o OE-CC ($\text{IC}_{50} = 23,27 \mu\text{g/mL}$) foram ativos contra *L. amazonensis*. As três misturas preparadas exibiram altíssima atividade leishmanicida, com valores de IC_{50} entre 3,12 e 7,04 $\mu\text{g/mL}$. Esses óleos essenciais OE-SM, OE-CC e suas misturas demonstraram ser fortes agentes antifúngicos contra novas cepas de *Candida*, com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variando entre 31,25 e 250 $\mu\text{g/mL}$. Em suma, concluímos que OE-SM, OE-CC e suas misturas são ativos e podem ser considerados fortes candidatos para participarem da formulação de medicamentos com ação antileishmanicida e antifúngica.

Palavras-chave: Leishmaniose, Candidíase, Cancro cítrico, *Schinus molle*, *Cinnamomum cassia* e Espatulenol.

ABSTRACT

SILVA, ATERNOSKAIRES. S. R. **Bioactivities of essential oils from *Schinus molle* and *Cinnamomum cassia* and their combinations.** 2024. Defense presented to the Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, as part of the requirements of the Postgraduate Degree – Master’s in Agrochemistry.

This dissertation was divided into two chapters: in the first, the objective was to compare, for the first time, the chemical composition and anti-*Xanthomonas citri* activities of essential oils from fresh and dried leaves of *Schinus molle* (OE-FF and OE-FS, respectively). The activity of spathulenol, the main constituent of the oils, against *X. citri* was also evaluated. The activities were carried out using the broth microdilution method in a 96-well culture. Three main constituents were identified in OE-FF and OE-FS by GC-MS and GC-FID: spathulenol, β -caryophyllene and caryophyllene oxide. With MIC values ranging from 31.25 to 100 $\mu\text{g/mL}$, they were active against *X. citri* strains (resistant, tolerant and sensitive to copper). Although the results showed the in vitro potential of OE-FS, OE-FF and spathulenol against *X. citri*, more in vivo studies are needed to prove their applicability to the biocontrol of citrus canker. The second chapter investigated the chemical composition and antileishmanial and anticandidal activities of essential oils from *Schinus molle* leaves (OE-SM) and *Cinnamomum cassia* branch bark (OE-CC) and their mixtures against promastigote forms of *Leishmania* (*Leishmania amazonensis*) and the different species of *Candida* strains, respectively. For this, the essential oils were extracted by hydrodistillation, and their components were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry and gas chromatography with flame ionization detection. The major constituents of OE-SM were spathulenol (20.8%), β -caryophyllene (15.6%) and caryophyllene oxide (10.0%). The OE-CC revealed high concentrations of cinnamaldehyde (60.1%), cinnamyl acetate (20.9%) and methoxycinnamic acid (10.5%). OE-SM (IC₅₀ = 21.45 $\mu\text{g/mL}$) and OE-CC (IC₅₀ = 23.27 $\mu\text{g/mL}$) were active against *L. amazonensis*. The three prepared mixtures exhibited very high leishmanicidal activity, with IC₅₀ values between 3.12 and 7.04 $\mu\text{g/mL}$. These essential oils OE-SM, OE-CC and their mixtures have been shown to be strong antifungal agents against new strains of *Candida*, with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values ranging between 31.25 and 250 $\mu\text{g/mL}$. In short, we conclude that OE-SM, OE-CC and their mixtures are active and can be considered strong candidates to participate in the formulation of drugs with antileishmanial and antifungal action.

Keywords: Leishmaniasis, Candidiasis, Citrus canker, *Schinus molle*, *Cinnamomum cassia* and Spathulenol.

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença que está presente entre a população há bastante tempo, na verdade desde os tempos dos povos incas, onde foi possível identificar estudos arqueológicos que retratam por meio de figuras desenhadas em vasos de cerâmicas a aparição de pessoas mutiladas, com lesões na pele e mucosas, evidenciando naquela época a presença da leishmaniose, que por falta de conhecimento foi confundida com a sífilis (FRANCO, 2023).

No Brasil os registros fidedignos de leishmaniose se deram só a partir de 1827, na qual foi descrito por uma obra denominada de *Pastoral Religioso-Político Geographico*, que retrata a viagem de um padre pela região amazônica e que em seu percurso descreveu a presença de indivíduos com ulcerações nos braços e pernas e lesões na boca e nariz, sendo estes sintomas manifestos após a picada de mosquitos (FRANCO, 2023).

A leishmaniose é conhecida por apresentar um conjunto de doenças infecciosas, que são causadas por protozoários que pertencem ao gênero *Leishmania* e a família dos Trypanosomatidae (FIOCRUZ, 2024).

Essa enfermidade é transmitida por um vetor, aonde um mosquito fêmea da ordem Díptera, do gênero *Lutzomyi* se alimenta de sangue e durante a sua alimentação este mosquito se infecta por via de indivíduos contaminados, permitindo ao parasita realizar a replicação por fissão binária, seguido de metaciclogênese, originando as promastigotas que ficarão armazenadas na probóscide do vetor, até que o mesmo possa realizar um novo repasto e infectar um novo hospedeiro enquanto se alimenta de sangue (SSP, 2024; FIOCRUZ, 2024; MARGEM, 2023; BITTENCOURT, 2023).

E após a infecção do hospedeiro parasitado pelo protozoário do gênero *Leishmania*, lhe irá originar um conjunto de enfermidades que se dividem em leishmaniose visceral, que ataca os órgãos internos como o fígado, a medula óssea, o baço e os gânglios linfáticos e a leishmaniose tegumentar, que ataca a pele e as mucosas, sendo as mucosas da boca e do nariz (FUIOCRUZ, 2023).

Já a candidíase também é uma doença infecciosa causada por leveduras, sendo representadas pelo gênero *Candida*, que possui aproximadamente duzentas espécies diferentes, que vivem em equilíbrio em pequenas porções no organismo humano, como na vagina, na orofaringe, na cavidade bucal, na urina e nas fezes, podendo acometer homens e mulheres (DIVE, 2024; MINISTÉRIO DA SAUDE, 2024).

A candidíase pode ocorrer de quatro (4) formas diferentes, sendo elas: a pseudomembranosa, que apresenta placas esbranquiçadas que podem ser removidas por

raspagens; a crônica hiperplásica, que também apresenta traços esbranquiçados, toda via, estes não se destacam mediante ao processo de raspagem; a candidíase eritematosa se caracteriza por apresentar eritema local ou difuso e a queilite angular, apresentando ulcerações em formas de lesões nas comissuras labiais (DE ARAÚJO, 2023).

Quando acometidos por esta enfermidade, as mulheres podem apresentar escorrimentos esbranquiçados, em forma de grumos, semelhantes ao colostro, ou até mesmo com a nata do leite bovino, apresentando dor intensa ao urinar e coceira excessiva no canal vaginal e na vagina, sendo que após a relação sexual o indivíduo apresenta intensas dores na região íntima também. Já no homem a candidíase se manifesta com a aparição de pequenas manchas vermelhas no pênis, seguido pelo surgimento de lesões em forma de pontos e posteriormente a presença de coceiras intensas com a aparição de leves edemas (DIVE, 2024; DE ARAÚJO, 2023).

E diante dessas doenças apresentadas, podemos observar que na atualidade mesmo com tantos recursos empregados pela saúde, é possível observar que há um déficit de recursos farmacológicos eficazes para o tratamento de leishmaniose. E quando abordamos o tratamento de candidíase, podemos observar que o uso desenfreado desses fármacos, ocasionam reações mutagênicas nos organismos, fazendo com que os mesmos adquiram resistência aos antibióticos, levando ao paciente ao uso de elevadas doses, propiciando ao paciente altos níveis de toxicidade, comprometendo a saúde, sobretudo ao sistema imunológico do paciente (FUIOCRUZ, 2023; DE ARAÚJO, 2023).

Então a fim de diminuir os níveis de toxicidades causadas pelo intenso uso de medicamentos em pacientes com candidíase e a fim de buscar produtos farmacológicos capazes de controlar a propagação da leishmaniose, surge o interesse pela busca de novos produtos naturais, como a utilização de óleos essenciais, sendo uma alternativa promissora e capaz de atuar no controle dos organismos do gênero *Leishmania* e do gênero *Candida* (LEITE et al., 2023; MATOS, 2023).

Já a *Xanthomonas citri* é uma bactéria gram-negativa, aeróbica, possui o formato de um bastonete (baciliforme) e movimentada – se através de um flagelo polar. As bactérias produzem polissacarídeos extracelulares, as quais ajudam em sua reprodução e na sua dispersão, o que conseqüentemente proporciona a sobrevivência dessa bactéria, e a propagação do cancro cítrico, causando impactos severos como à desfolha de plantas, depreciação da qualidade dos frutos pela presença de lesões, e redução na produção pela queda prematura dos frutos de forma precoce (MIGUEL et al., 2022).

O cancro cítrico é uma doença altamente significativa para os produtores de citros em todo o mundo, pois é uma enfermidade comumente encontrada em regiões subtropicais e tropicais, estimando que o Brasil, possui inúmeros pomares de citros que podem ter até 50 % de suas áreas comprometidas por esta enfermidade, tornando essa praga uma injúria que gera grandes danos econômicos para a citricultura (ALI et al., 2023).

Este microrganismo invade os tecidos vegetais da planta hospedeira, por vias de aberturas naturais ou por ferimentos, através dos ventos, chuvas ou até mesmo por implementos agrícolas contaminados, possibilitando a sua multiplicação nos denominados espaços intercelulares, no qual resulta na produção de polissacarídeos extracelulares. E uma vez que esses espaços intracelulares diminuem, ocorre o acúmulo de goma xantona, material higroscópico que causa aspecto encharcado no tecido infectado, dando origem a vários sintomas como: manchas marrons, salientes, ásperas e lesões necróticas que são visíveis cerca de duas semanas após a infecção no início do estágio de desenvolvimento (CANDIDO, 2023; ALI et al., 2023; ALEXANDRINO et al., 2023).

De acordo com a agência de defesa e inspeção agropecuária de Alagoas, ainda não existe métodos curativos para combater o cancro cítrico em pomares de *Citrus*, e o que deve se fazer é o arranque da planta infectada, para que a mesma através dos ventos e das chuvas não contamine as demais ao seu redor. E após a retirada da planta doente pode ser que surjam rebrotos no local da árvore erradicada, toda via, os mesmos devem ser eliminados, pois podem apresentar potencial fator de contaminação, uma vez que os mesmos eram partes da planta erradicada (ADEAL, 2024).

Já para os métodos preventivos é importante salientar os cuidados com os materiais que serão utilizados nos pomares durante todo o manejo, sendo as enxadas, tesouras de podas, máquinas e demais implementos agrícolas livres de contaminantes advindos das demais plantas infectadas. Aconselha – se sempre pulverizar os pomares com bactericidas. E vale lembrar que o cancro cítrico não provoca a morte da planta enferma, mas, causa grandes danos, causando abortos prematuros de seus frutos podendo atingir a 80 % em casos mais intensos (ADEAL, 2024; CANDIDO, 2023).

Havendo poucos métodos efetivos e preventivos que combatam o cancro cítrico na citricultura, novos experimentos vêm surgindo como novas formas de combater essa doença, que incluem o uso de nanopartículas de cobre, zinco e prata e produtos naturais, como óleos essenciais (Ali et al., 2023).

Então a fim de obter metodologias que atuam no controle de diversas pragas e doenças que atacam as frutíferas, os pesquisadores buscam por alternativas no âmbito de

produtos naturais capazes de expressar princípio ativo contra patógenos, como por exemplo, o uso de óleos essenciais que se mostraram promissores no controle de pinima em pomares. Esse processo faz – se necessário porque na atualidade o país é um dos maiores produtores de frutas no mundo, sendo que só no Brasil foi registrada a produção de 41,3 milhões de toneladas de frutas em 2020 (ANUÁRIO, 2022), onde as principais frutas comercializadas nos dias atuais são as laranjas, seguido por bananas, melancias e limões (CARVALHO et al., 2019). O Brasil também se destaca por ser um dos maiores produtores de laranja, sendo que maior parte da produção cítrica é destinado às grandes indústrias para a fabricação de sucos, que posteriormente serão exportados para outros países (USDA; FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE, 2018). E representando uma das espécies pertencentes ao gênero *Citrus*, a produção de laranja ganha destaque, uma vez que na região sudeste a mesma é responsável por produzir 70% da cultivar (NETO, 2021). No entanto, mesmo sendo um ramo forte no agronegócio, a citricultura sofre demasiadamente com as perdas e danos econômicos gerados por doenças patogênicas infecciosas como o cancro cítrico (PEREIRA, 2019).

E baseado na busca por novas metodologias que sejam capazes de controlar pragas e doenças, destacamos nessa dissertação o uso dos óleos essenciais, que serão extraídos das folhas da aroeira salsa (*Schinus molle*) e da casca do ramo da canela da china (*Cinnamomum cassia*), com o intuito de avaliar a potencialidade desses óleos no controle de *Xanthomonas citri*, bem como suas propriedades antileishmaniais e anticandidais por meio de misturas sinérgicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença infecciosa, causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que ao entrarem em contato com o ser humano desencadeia um conjunto de síndromes clínicas, originando enfermidades que atacam a pele e as mucosas sendo conhecidas como leishmaniose tegumentar e a leishmaniose visceral que atacam os órgãos internos (DA SILVA et al., 2023; JÚNIOR et al., 2023; FIOCRUZ, 2024).

A transmissão da *Leishmania* ocorre quando há o repasto dos flebotomídeos em mamíferos como cães e outros animais infectados e é através das picadas das fêmeas que estas por sua vez tragam amastigotas do parasita para si e em outrora já infectadas, o parasita inicia uma série de maquinarias, onde replicar – se – ão por fissão binária, seguido de metaciclogênese, dando origem as promastigotas metacíclicas que permanecerão

armazenadas na probóscide do vetor até que ocorra a transmissão para um novo hospedeiro enquanto alimenta – se de sangue (FIOCRUZ, 2024; MARGEM, 2023; BITTENCOURT, 2023).

Após a transmissão e inoculação das promastigotas metacíclicas no organismo, a mesma sofre o processo de fagocitação que acontece por macrófagos, assim, diferenciando em amastigotas que por sua vez multiplicaram – se até a célula se romper. E por apresentar riscos ao organismo as amastigotas sofrem uma série de fagocitoses por macrófagos que facilita a infestação por todo o organismo do hospedeiro pelas vias hematogena, comprometendo órgãos e tecidos como o fígado, a medula óssea e os linfonodos (BITTENCOURT, 2023).

Após a infestação do parasita, como consequências, surgem lesões na pele, normalmente ulcerações no caso de leishmaniose tegumentar, sendo que em casos mais agudos destacamos a leishmaniose mucosa que afeta as mucosas da boca e nariz. No entanto a leishmaniose visceral é responsável por atacar vísceras e órgãos internos, afetando principalmente o fígado, a medula óssea, o baço e os gânglios linfáticos. Dentre os sintomas causados pela leishmaniose podemos destacar febre, o aumento do fígado e do baço, o surgimento de hemorragias, imunodeficiência e a perda de peso. Sendo que atualmente a leishmaniose é uma doença preocupante porque quando se tem doenças relacionadas por bactérias como (HIV), o quadro clínico é bem mais grave podendo levar o paciente a morte, principalmente se acometido em crianças (FIOCRUZ, 2024).

Para obter-se um diagnóstico preciso desta enfermidade, ao longo dos anos foram desenvolvidas algumas metodologias que por intermédio de muitos são denominadas como metodologias invasivas e metodologias menos invasivas, permitindo apresentar – vos as metodologias consideradas invasivas que se dão por coletas e cultivos dos tecidos infectados por *Leishmania* nas mucosas do nariz, nas mucosas da boca, na pele ou na medula óssea. Esse processo de coleta se dá pela obtenção do material desejado através da aspensão do material, por biópsia ou até mesmo por raspagens das lesões infectadas pelo parasita. E destacamos a metodologia considerada menos invasiva, que é representada pelo exame direto, onde se permite observar a resposta celular do sistema imunológico, assim como avaliar a presença de anticorpos anti-leishmania, através dos exames de sangue e do teste cutâneo de Montenegro que foi estabelecido como principal exame de leishmaniose no Brasil, por possuir baixo custo, ser de fácil manipulação e execução e por apresentar elevada sensibilidade em sua detecção (GOMES, 2019; SANTOS 2023; FIOCRUZ, 2024).

Segundo a Fiocruz (2024), para qualquer tipo de leishmaniose, os profissionais da saúde aderem ao tratamento de primeira linha, com o uso de antimoniato de meglumina (princípio Glucantime), toda via outros medicamentos também são empregados no tratamento como anfotericina B, miltefosine, pentamidina e paromomicina. No entanto, mesmo com tantos recursos voltados para este tipo de doença, ainda é possível observar que há um grande déficit de recursos farmacológicos para o tratamento da leishmaniose, induzindo aos pesquisadores investigar metodologias capazes de realizar o controle dessa doença, e que em sua composição possuam o mesmo princípio ativo dos demais medicamentos convencionais utilizados pelos profissionais, e ainda ressalta – se que sejam livres de toxicidades e sejam eficientes no tratamento, abrindo portas para os estudos e pesquisas voltados para o uso de plantas medicinais como potencial fonte de inibição de diversas pragas e doenças que afetam a saúde. Tendo como resultados proeminentes estudos voltados para os óleos essenciais, uma fonte alternativa e promissora no controle de diversas anomalias, como a leishmaniose, sendo derivados de produtos naturais, promovendo eficácia no controle de inúmeras doenças prejudiciais ao ser humano, promovendo menos efeitos colaterais, maior acessibilidade e maior custo-benefício (ARAÚJO, 2023; FIOCRUZ, 2024).

De acordo com Leite (2023) na literatura é possível observarmos que diversas plantas vêm adquirindo espaço como fármacos capazes de realizarem controles eficientes contra patógenos causadores de doenças como a leishmaniose. Na literatura podemos encontrar a *Chenopodium ambrosioides* L. que possui atividade anti – leishmanicida direta, ou seja, devido à presença de seus principais constituintes, o óleo essencial dessa planta expressa elevado potencial capaz de inibir a ascensão da infecção causada pela infestação do patógeno. Já o OE da *Copaifera reticulada ducke* atua diretamente nas formas promastigotas e principalmente nas formas amastigotas do patógeno (LEITE et al., 2023).

Outro estudo encontrado na literatura foi o de Dória (2023), que utilizou o nerol obtido a partir da extração das folhas de *Lippia alba* (Mill.), sendo um composto majoritário que apresentou elevada atividade contra as formas promastigotas de *L. amazonensi*. E na mesma linhagem os OEs de *Pelargonium graveolens* através de seus compostos majoritários apresentaram ótima atividade anti-leishmanicida, alcançando 90% de inibição dos patógenos no organismo hospedeiro, mostrando serem eficazes mais do que a anfotericina B, quando comparados a *L. major* e a *L. infantum* (DÓRIA, 2023).

Outros estudos apontam que por não haver vacinas dentro da linha de combate contra a leishmaniose em seres humanos, o mais sensato a se fazer é aderir a metodologias de

prevenção contra a *Leishmania*, uma vez que sabemos sobre seu ciclo de vida e seu modo de transmissão, podemos realizar manejos ambientais como o corte de árvores, manter tanto as áreas próximas quanto às áreas distantes das residências limpas, manterem os reservatórios de água fechados, usar repelentes, participar das coletas seletivas regularmente e, sobretudo ministrar cursos de combate a endemias para a população (FIOCRUZ, 2024).

2.2. Candidíase

A candidíase é uma infecção fúngica acometida por fungos oportunistas, as quais se manifestam quando ocorrem problemas que comprometem a boa funcionalidade do nosso sistema imunológico (DE DEUS et al., 2024; DA COSTA et al., 2024).

O gênero *Candida* é formado por leveduras, morfológicamente descrito como eucariontes, unicelulares e heterotróficos, possuem reprodução assexuada por meio de brotamentos, utilizam o glicogênio como fonte e reserva energética, e sua estrutura corpórea é composta por uma parede celular formada de quitina, glicana e monoproteína e formada por uma membrana composta de ergosterol, esteroides componentes esses responsáveis por manter as funções primordiais da célula. Os microrganismos pertencentes a este gênero vivem na microbiota intestinal, no trato genital e bucal, na orofaringe e na pele dos seres humanos, permanecendo nesses locais sem causar danos infecciosos no hospedeiro. No entanto, em casos que comprometam o sistema imunológico como, por exemplo, uma cirurgia, tal processo ao afetar o sistema favorece a aparição de diversas infecções denominadas de candidíase, que se estende desde candidíase cutânea, mucosas até a candidíase sistêmica da corrente sanguínea. A candidíase se torna um fator de risco, quando o ser humano é diabético, imunossuprimidos, sujeito pertencente ao extremo de idades, transplantados, dentre outros (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2023; FRANÇA, 2023; PERES e CLÍMACO, 2023).

Para que ocorra a transmissão da *Candida*, o microrganismo precisa romper a imunidade inata adquirida, além de superar barreiras como a pele, o pH extremos e a produção de muco. A formação do biofilme, a bomba de efluxo, igmotropismo, expressão de adesinas e a secreção de enzimas hidrolíticas são fatores de virulência promovidos pelo gênero *Candida*. A transmissão da candidíase está atrelada a má higienização, ao tabagismo, as deficiências nutricionais e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), sendo que a candidíase oral está previamente ligada ao vírus (HIV). No entanto, a

doença não é considerada uma IST (Infecção Sexualmente Transmissível), porém a mesma pode ser transmitida por relações sexuais (DE ARAÚJO, 2023; DIVE – SC, 2023).

A candidíase pode se expressar de diferentes formas no ser humano, sendo classificado como, candidíase pseudomembranosa, candidíase crônica hiperplásica, a candidíase eritematosa e a queilite angular: a pseudomembranosa, esta é representada por placas esbranquiçadas que podem ser removidas por raspagens; a crônica hiperplásica, que também apresenta um espectro esbranquiçado e não se destacam mediante ao processo de raspagem; a candidíase eritematosa, que é classificada por apresentar eritema local ou difuso e por fim temos queilite angular, que é caracterizada por apresentar lesões ulceradas nas comissuras labiais (DE ARAÚJO, 2023).

Nas mulheres, os sintomas da candidíase se dão pelo aparecimento de corrimentos esbranquiçados, em forma de grumos, semelhantemente ao colostro bovino ou até mesmo como a nata de leite da vaca, conferindo a portadora desta enfermidade intensa coceira no canal vaginal e na vagina, assim como dor local ao urinar, onde a mesma dor precede durante e após o ato sexual. Já nos homens a aparição da candidíase se dá por pequenas manchas vermelhas no pênis, seguido pelo surgimento de lesões em forma de pontos, seguido de coceira e aparecimento de leves edemas (HAMIDEN et al., 2023, DIVE – SC, 2023).

O diagnóstico da candidíase é realizado através de procedimentos simples, como exames diretos, via amostras biológicas estéreis como: sangue, urina, líquido peritoneal, liquor e líquido articular. Outra metodologia utilizada para a detecção de candidíase é a raspagem utilizando a zaragatoa nas placas brancas, sendo que após a coleta, a amostra será isolada e identificada em seu meio de cultivo. E quando se quer diagnosticar a candidíase crônica hiperplásica, recomenda – se que seja realizada a biópsia, onde será retirada uma amostra do tecido para que não haja o risco de evolução maligna. Portanto podemos observar que para realizar o diagnóstico preciso podemos realizar os exames clínicos ginecológicos, quando se tratar de candidíase em mulheres, podemos realizar exames laboratoriais e pelo exame de Papanicolau. (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2023; MATOS, 2023; DIVE – SC, 2023).

A fim de reparar as lesões causadas pela doença é de fundamental importância a identificação de fatores, como por exemplo, a má higienização, orientando o paciente como realizar uma higienização de forma correta. No entanto, quando não há fatores determinantes da sintomatologia, recomenda – se uma avaliação sistêmica por meio de hemograma completo, glicemia em jejum, e exames para a detecção de HIV, geralmente

realizados em CTAs (Centro de Testagem e Aconselhamento), assim como nas UBS (Unidade Básica de Saúde) e pontos de coletas. Vale destacar que após a realização dos exames, e após o diagnóstico os pacientes receberão o tratamento contra a candidíase que são constituídos por três vias, sendo uma, a utilização dos antifúngicos poliênicos como a nistatina e anfotericina B, as quinonas e os antissépticos à base de iodoquinol, vale destacar que a nistatina 100.000 UI/mL é a medicação mais utilizada no tratamento dessa doença, que geralmente é prescrita pelos profissionais da saúde orientando – os para o uso de quatro vezes por dia. E além dessas medicações já citadas, destacamos os medicamentos da via dos azóis, tendo como representante dessa linha o cetoconazol e o clotrimazol. E por fim a via dos triazóis tendo como exemplo o fluconazol. Toda via, com o passar do tempo, o uso desenfreado desses fármacos, possibilitou aos microrganismos através de várias mutações a resistência contra esses medicamentos, despertando a preocupação sobre a toxicidade desses medicamentos ingeridos em pacientes, surgindo assim à busca por novos medicamentos promissores de vias naturais capazes de atuar no controle da candidíase, surgindo pesquisas voltadas para atividades anti-candidal utilizando os óleos essenciais (DE ARAÚJO, 2023; FRANÇA, 2023; MATOS, 2023).

Deste modo, os compostos fitoterápicos vêm sendo utilizados no âmbito medicinal para o tratamento de diversas doenças fúngicas como a candidíase, onde De Carvalho (2024), aponta em seus estudos que inúmeras plantas possuem diversos compostos químicos capazes de inibir as ações fúngicas de tais patógenos, comprovando que a utilização do OE de *Coriandrum sativum* é eficiente e apresenta eficácia significativa no tratamento de pacientes infectados. Os óleos essenciais são considerados agentes promissores no controle de diversas doenças fúngicas (DE CARVALHO et al., 2024).

De tal maneira outros estudos na literatura são encontrados como o de Pimenta (2024) que utilizou o OE de orégano (*Origanum vulgare*) para inibir as cepas de *Candida Albicans*. Da mesma forma Barbosa (2023), utiliza os OEs de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus*, para avaliar a atividade antifúngica contra os fungos do gênero *Candida*, a qual se mostraram eficientes no controle das cepas, no entanto o autor relata que demais estudos devem ser realizados para que este medicamento fitoterápico seja propiciável no tratamento dessa enfermidade (BARBOSA, 2023).

2.3. *Xanthomonas citri* – Bactéria causadora de doenças em *Citrus*

Ao abordarmos a citricultura brasileira e até mesmo a nível mundial, destacamos a classe dos fitopatógenos, microrganismos causadores de doenças infecciosas, que infestam

os pomares de *Citrus*. E um dos agentes causadores dessas doenças é a *Xanthomonas citri*, que é uma bactéria responsável por causar a doença do cancro cítrico, uma enfermidade grave, que afeta toda a categoria cítrica em todo o mundo. A disseminação desta se dá pelo uso de mudas contaminadas, por dispersões em vias aéreas que carregam as bactérias através dos ventos, pela contaminação de implementos agrícolas, e, sobretudo por gotículas de água que transportam as bactérias através das chuvas e através de lesões geradas pela ação bacteriológica (ALI et al., 2023; ALEXANDRINO et al., 2023).

Este microrganismo invade os tecidos vegetais da planta hospedeira, por vias de aberturas naturais ou por ferimentos, possibilitando a sua multiplicação nos denominados espaços intercelulares, no qual resulta na produção de polissacarídeos extracelulares. Uma vez que esses espaços intracelulares diminuem, ocorre o acúmulo de goma xantona, material higroscópico que causa aspecto encharcado no tecido infectado, dando origem a vários sintomas como: manchas marrons, salientes, ásperas e lesões necróticas que são visíveis cerca de duas semanas após a infecção (CANDIDO, 2023; ALI et al., 2023).

Quando ocorre a infestação do cancro cítrico na planta, não há controle que elimine a enfermidade, ou seja, não há cura para a planta, no entanto, existem alguns mecanismos de controle, como o uso de produtos químicos a base de cobre, ou até mesmo uma medida de controle e prevenção que é a eliminação da planta doente (CANDIDO, 2023; ALI et al., 2023).

Embora a *Xanthomonas citri* não seja letal, a doença causada por ela afeta o mercado de produção, pois as lesões causadas por este patógeno estimulam a produção descontrolada de etileno o que causa amadurecimento precoce, ou até mesmo a queda prematura dos frutos, reduzindo a qualidade dos mesmos. Tendo em vista características referentes aos frutos, o mesmo perde a sua qualidade, sendo rejeitado pelo consumidor, afetando assim, o mercado econômico. E em decorrência dos grandes prejuízos do setor, novas tecnologias vêm sendo investigadas e abordadas para prevenir e combater a doença do cancro cítrico incluindo o uso de nanopartículas de cobre, zinco e prata e produtos naturais, como os óleos essenciais (ALEXANDRINO et al., 2023; ALI et al., 2023).

2.4. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são compostos secundários naturais, presentes em diversas espécies de plantas vegetais, podendo ser extraídos a partir das folhas, flores, caules, brotos, sementes, galhos, ramos, cascas e frutos. Os OEs que estão presentes nas plantas

atuam como mecanismo de defesa contra animais, pragas indesejáveis e até mesmo contra outras plantas alelopatas, além de promover a interação entre indivíduos polinizadores através de seus compostos aromáticos tornando – os uma fonte promissora no ramo de atividades biológicas (DE ALMEIDA et al., 2020; MARTINS, 2023; ARAÚJO, 2023; VIEIRA, 2023; FIOCRUZ, 2024).

Os OEs são conhecidos por apresentarem natureza volátil e por serem extremamente aromáticos (SILVA et al., 2023). São pertencentes à classe dos terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos) e por outros compostos como os aldeídos, as cetonas, os álcoois, as lactonas, os óxidos e as aminas (SHANKAR et al., 2021). Destacam – se ainda que devido as suas propriedades medicinais, a mais de seis (6) mil anos atrás os OEs já eram conhecidos pelos povos egípcios e posteriormente tiveram a sua produção expandida ao descobrirem sobre suas eficientes finalidades, tais como aromatizantes, fins medicinais e microbianos. Sendo que com a popularidade que os OEs foram adquirindo, os mesmos passaram a ser extraídos e comercializados pelos povos arábicos que foram capazes de desenvolver diversas técnicas e metodologias para realizar a extração desses óleos, dentre eles a metodologia do arraste a vapor (BRESSIAN, 2021; DE ALMEIDA et al., 2020).

Podemos observar que cada óleo essencial pode conter em sua composição química até 300 componentes, o que confere a ele uma gama de riqueza podendo ser utilizado e aplicado em diversas áreas como a saúde, alimentos, fármacos e cosméticos (DA SILVA et al., 2024), como apontado na literatura, podemos encontrar estudos como o de Vicenço et al., (2020) que utiliza o óleo essencial de *S. molle* no controle de *Anticarsia gemmatalis*, lagarta que causa até 100% de desfolha na cultura da soja. Verifica – se também que Matos (2021) utilizou o óleo essencial de *Schinus molle* contra o *Sitophiluz zeamais*, conhecido como gorgulho-do-milho, uma praga que atua contra a cultura do milho. E da mesma forma, na literatura podemos encontrar estudos que utilizam o óleo essencial de *C. cássia* (canela da china), para o controle de fungos e protozoários na área da saúde pública, sendo que Morais (2022) utiliza o óleo essencial de canela como método preventivo e de limpeza contra o microrganismo *Candida albicans*, protozoário que acomete a doença da candidíase oral em pacientes infectados. E por fim observamos que Rezende (2023), utilizou ÓEs de orégano e canela para inibir 28 cepas de *Salmonella Heidelberg*.

Estes estudos remetem ao controle fitossanitário realizado através dos óleos essenciais que são possíveis graças aos diferentes mecanismos de ação dos óleos, que devido a sua complexa maquinaria de ação que o mesmo produz (LIMA, 2023), permite que a sua natureza hidrofóbica, passe pela membrana celular, tornando – a mais permeável,

assim levando à morte celular por conta da perda de íons e constituintes celulares, resultando no vazamento do citoplasma, na ruptura da parede celular e ocasionando uma degradação geral e perda de conteúdo celular, levando o organismo a morte (CIPRIANO et al., 2022).

Logo, observa-se que a busca por novos fungicidas naturais como óleos essenciais tem aumentado, e que os mesmos têm se mostrado promissores e eficazes no controle de fungos, bactérias e protozoários, atuando desde o ramo da agricultura sustentável até a medicina humana.

2.5. Misturas de óleos essenciais

Os óleos essenciais e suas respectivas aplicações tem despertado forte interesse por parte de muitos pesquisadores por se apresentarem como um produto promissor, totalmente natural, podendo substituir fungicidas sintéticos, sendo que os OEs podem ser empregados em diversas áreas como biologia, farmacologia, medicina, alimentos, agricultura, cosméticos, inseticida, fungicida, conservação de alimentos, dentre outros. Uma vez que a aplicação destes produtos está devidamente ligada aos seus compostos bioativos, na concentração ou até mesmo ligado ao sinergismo que os mesmos apresentam (MENDES et al., 2023).

E com a busca incessante por produtos naturais que combatam ou controlem pragas e doenças, assim como produtos que atuem nos âmbitos de cosméticos, alimentos, fármacos, entre outros, cada vez mais surgem novas tecnologias e muitas outras inovações, como a mistura de um, ou mais OEs, transformando – os em mix de óleos, proporcionando a tais o surgimento de três resultados diferentes, descrevendo em: resultado sinérgico, resultado aditivo e o resultado antagônico. Sendo que o resultado sinérgico ocorre quando, por exemplo, se tem uma amostra de OEs X e outra amostra de OEs Y e a atividade biológica da mistura é maior do que a soma dos componentes separados individualmente. Quando se tem o resultado aditivo, podemos afirmar que este ocorre quando há a soma das atividades dos compostos individuais. E por fim o resultado antagônico ocorre quando a mistura dos componentes apresenta efeitos combinados menores que quando aplicados separadamente (explicação voltada para controle de pragas e doenças), (ANASTACIO, 2023; OLIVEIRA et al., 2023).

2.6. Gêneros dos *Citrus*

O gênero cítrico pertence à família Rutaceae, se encontra entre uma das culturas mais antigas do mundo, tendo registros de seu cultivo por volta de 2.100 anos a.C. (antes de

Cristo). É um gênero que teve grande aceitabilidade por todo o mundo por apresentar cultivares que nos proporcionam inúmeros benefícios (BRAH et al., 2023).

Possivelmente originou – se no sudeste asiático, sendo que a família Rutaceae compreende de 155 gêneros com mais de 1.600 espécies, abrangendo o gênero *Citrus* que é composto por 17 espécies, das quais podemos citar como exemplos, as laranjas (*Citrus sinensis*), os limões (*Citrus lemon*), as tangerinas (*Citrus reticulata*) e as limas (*Citrus aurantifolia*) (BRAH et al., 2023).

Morfologicamente as plantas representadas pelo gênero *Citrus* apresentam árvores de pequeno e médio porte que alcançam a altura de 4 a 6 metros, com uma copa densa e arredondada. As flores e folhas deste gênero são aromáticas, sobretudo as flores que se destacam – se por seu intenso aroma e pelo seu tamanho (flores pequenas e brancas), sendo atrativo para abelhas e insetos polinizadores. Os frutos são ricos em vitamina A, vitaminas C, complexo B, assim como, cálcio, potássio, sódio, fósforo, sais minerais e ferro, compostos estes de extrema importância para o organismo humano (DA SILVA et al., 2020).

O Brasil é líder mundial na exportação de suco de laranja, e é responsável por exportar cerca de 98% da sua produção interna, sendo um valor expresso em 85% quando comparado com exportações em nível mundial, ou seja, a cada 4 copos de suco consumidos no mundo 3 destes copos serão sucos provenientes de terras brasileiras. No entanto pelo fato do *Citrus* ser uma monocultura perene, o mesmo está sujeito ao ataque de pragas e doenças indesejáveis que podem acarretar vastas consequências como, por exemplo, um retrocesso na cadeia produtiva, relacionado à quantidade e a qualidade dos frutos, representando um alto grau de dano econômico, sendo que podemos citar a bactéria *Xanthomonas citri* como um dos patógenos que mais afetam as culturas pertencentes ao gênero *Citrus*. (COSMO e GALERIANI, 2020).

2.7. *Schinus molle*

Comumente chamada de aroeira-salsa, a *Schinus molle* é uma planta que apresenta um ciclo de vida longo e alcança de 4 a 8 metros de altura. É uma espécie nativa da América do Sul, pertencente à família Anacardiaceae. Pode ser encontrada especialmente desde o Rio Grande do Sul até os estados pernambucanos nas mais variáveis formações vegetativas (IBF, 2024).



Figura 1. Espécime vegetal da planta *S. molle*.

Fonte: Aternoskaires Simon 2024.

A espécie arbórea apresenta como características botânicas ramos pendentes com folhas pequenas e lineares. Seu tronco tem o diâmetro de 25 a 30 cm, coberto por uma casca grossa e escamosa. Sua folhagem não possui estípulas, possui de 9 a 25 folíolos lineares e lanceolados, subcoriáceos, glabros, com 3 a 8 cm de comprimento e com margens serradas, apresentam flores pequenas com a coloração branca, com inflorescência no caimento de seus ramos. Os seus frutos alcançam um diâmetro de 7 mm possuindo sementes de pigmentação verdejante que com o passar do tempo transformam-se em rosadas ou avermelhadas com cachos superabundantes durante todo o ano (IBF, 2024). É uma categoria de árvore que apresenta 37 variedades, onde destas 11 delas podem ser encontradas no Brasil (DANTAS et al., 2019).

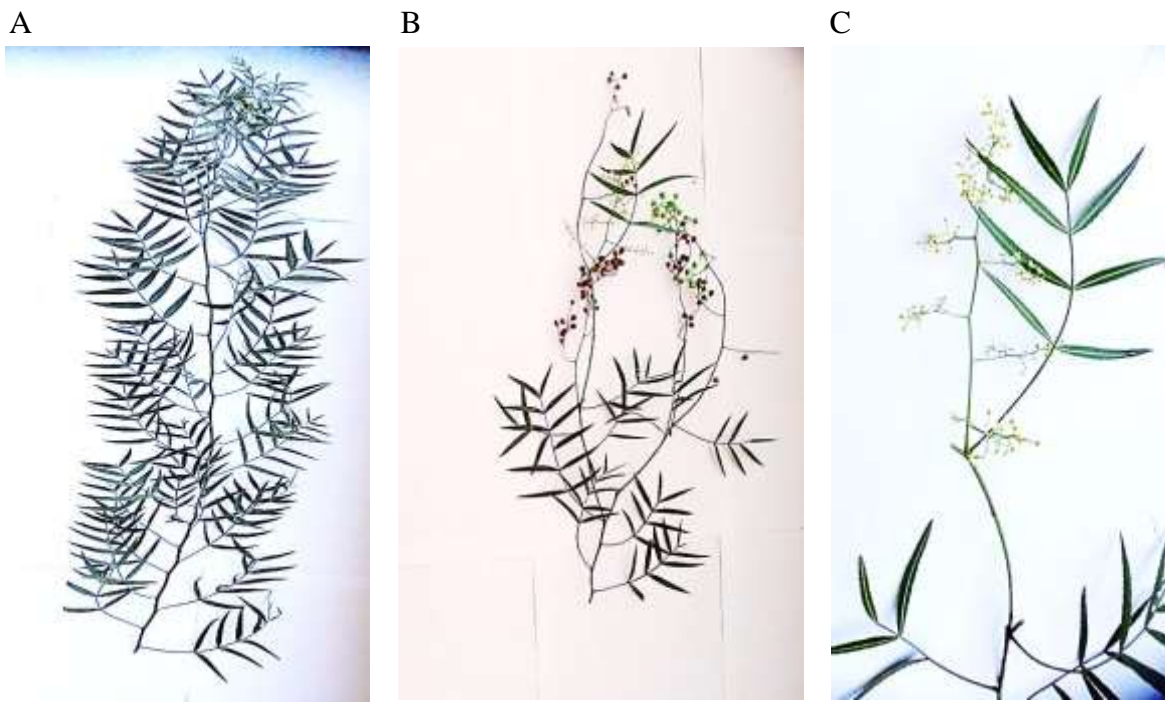


Figura 2: Imagem (A) Folhas e ramos da *S. molle*, (B) Flores e frutos da *S. molle* e (C) Flores da *S. molle*.

Fonte: Aternoskaires Simon 2024.

A *Schinus molle* é uma planta ornamental e é objeto de estudos por vários pesquisadores por apresentar diversos atributos medicinais como: ações antirreumáticas, emenagogas, anti-inflamatórias, ações antifúngicas, dentre outras. Pontua-se também a extração de seus óleos essenciais, nos quais apresentam metabólitos que atuam como fungicidas, cicatrizantes, no controle de taquicardia, azia, gastrite, bronquite e reumatismo (LEMES, 2021).

Esta espécie produz diversos metabólitos secundários como terpenos, flavonoides e ácidos fenólicos, além de que em seus óleos essenciais, os mesmos são ricos em espatulenol, biciclogermacreno e β -cariofileno, sendo que a composição química desse óleo essencial, mesmo sendo da mesma espécie, pode apresentar variações nos aspectos qualitativos, quantitativos e químicos, devido aos fatores bióticos e abióticos, como por exemplo, a composição química do solo, a região onde se encontra o espécime, clima, entre outros (SILVEIRA et al., 2019).

Portanto, tendo em vista o forte interesse pela produção de produtos naturais que substituam os agroquímicos, os OEs por meio de sua diversidade de componentes químicos e pelo vasto campo de atuação, os mesmos vem apresentando uma forte tendência promissora nas indústrias como fungicidas, bactericidas entre outros (GARZOLI et al., 2019).

2.8. Canela da China - *Cinnamomum cassia*

Conhecida de maneira comum como, canela-aromática ou canela da china, é uma árvore que cresce até 15 metros de altura. É uma espécie pertencente à família Laurácea, originária da Índia, China e outros países. Foi introduzida no Brasil através dos povos jesuítas e pelo país apresentar condições favoráveis ao seu desenvolvimento à canela nos dias atuais se tornou uma importante fonte para as áreas alimentícias e medicinais, sendo que diversos estudos são utilizados para a obtenção de produtos naturais como os óleos essenciais da casca da canela capazes de realizar o controle eficaz de fungos e bactérias (GOMES, 2023).

A *Cinnamomum cassia* apresenta folhas distribuídas ao longo do caule variando de 10 a 15 cm em sua estrutura, apresenta formato pontiagudo, as folhas juntamente com seu cepo detêm intensa abundância em compostos aromáticos. Seus frutos possuem um (1) cm de longura, atingindo uma cor violácea em seu amadurecimento (PICTURE THIS, 2024).

Essa planta possui propriedades medicinais, atuando como estimulante, antiespasmódica, digestiva e adstringente, além de ser um produto que na maioria das

vezes é empregado na confecção ou preparo de outros alimentos. E por possuir um aroma intenso e propriedades antifúngicas, é possível realizar a extração de seu óleo essencial, sendo que de acordo Gomes (2023) os OEs de *C. Cassia* é composto por ácidos graxos, hidrocarbonetos alifáticos, ésteres dentre outros.

O mecanismo de ação dos OEs da canela tem poder antifúngico e antibacteriano demonstrando eficácia contra vários patógenos, fomentando estudos na agricultura (ARAÚJO et al., 2023). Sawazaki (2023) aponta que no campo rural os organismos apresentam resistência microbiana aos fungicidas sintéticos e que os produtores estão buscando e investindo em novas metodologias e meios alternativos para obter formas de controlar pragas e doenças que afetam diversas áreas da produção de alimentos, assim como diversos patógenos que representam perigo para a saúde do ser humano.

Sendo assim, podemos apontar vários estudos na literatura envolvendo a planta *Cinnamomum cassia*, como o de Bai (2024), que utilizou o óleo essencial de *C. cassia* como fonte potencial de atividade acaricida contra o *Haemaphysalis longicornis*, apresentando forte potencial no controle do mesmo. Já Zubair et al., (2024), utilizou extrato etanólico como potencial antibacteriano contra as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*, sendo que este mesmo estudo destacou que os extratos se mostraram eficientes contra as cepas dos microorganismos citados. Apontando que esta planta possui elevado potencial no ramo da microbiologia nas áreas de alimentos, de medicamentos e no ramo da agricultura.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEAL. Agência de Defesa e Inspeção Agropecuária de Alagoas. **Cancro cítrico**. 2024. Disponível em: < <https://defesaagropecuaria.al.gov.br/sanidade-vegetal/cancro-citrico#:~:text=N%C3%A3o%20h%C3%A1%20medidas%20de%20controle,das%20dema is%20suspeitas%20de%20contamina%C3%A7%C3%A3o.>>. Acessado em 09/01/2024.
- ALEXANDRINO, André Vessoni et al. Depleção de xilose isomerase aumenta a virulência de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* em *Citrus aurantifolia*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 14, pág. 11491, 2023.
- ALI, Subhan et al. **Citrus Canker: A Persistent Threat to the Worldwide Citrus Industry—An Analysis**. *Agronomy*, v. 13, n. 4, p. 1112, 2023.
- ANASTÁCIO, Maria Esperança. **Otimização de combinações de óleos essenciais para aplicação na indústria alimentar: efeitos nas propriedades antioxidantes e antimicrobianas**. 2023. Tese de Doutorado.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI 2022 / Benno Bernardo Kist... [et al.]. – Santa Cruz do Sul : **Editora Gazeta Santa Cruz**, 2022. 96 p. : il.
- ARAÚJO, Cássio Fernandes de et al. **Investigação das propriedades físico-químicas das emulsões de óleo essencial da casca da canela (*Cinnamomum cassia*)**. 2023.

ARAÚJO, João Guilherme Nantes et al. BIOPROSPECÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata* Sch. Bip.: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA TOXICIDADE E ATIVIDADE LEISHMANICIDA: CHEMICAL CHARACTERIZATION, TOXICITY AND LEISHMANICIDAL ACTIVITY. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 11, n. 3, p. 2810-2819, 2023.

BAI, Lingqian et al. Atividade acaricida e alvos enzimáticos dos óleos essenciais de *Cinnamomum cassia* e *Cinnamomum camphora* e seus principais componentes contra *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). **Culturas e Produtos Industriais**, v. 209, p. 117967, 2024.

BARBOSA, Janaina Priscila. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* contra bactérias orais e fungos do gênero *Candida***. 2023. Tese de Doutorado. [sn].

BITTENCOURT, Joyce Daniela Francisco. **Inquérito soropidemiológico para leishmaniose visceral canina em municípios na Grande Vitória, Espírito Santo-Brasil**. 2023. Tese de Doutorado. brasil. Disponível em <<https://repositorio.uvv.br/bitstream/123456789/991/1/DISSERTA%20c3%87%20c3%83O%20FINAL%20DE%20JOYCE%20DANIELA%20FRANCISCO%20BITTENCOURT.pdf>> Acessado em 12/01/2024.

BRAH, Augustine S. et al. Toxicidade e aplicações terapêuticas de óleos essenciais cítricos (CEOs): uma revisão. **International Journal of Food Properties**, v. 26, n. 1, pág. 301-326, 2023.

BRESSIAN, Ana Paula. **Evolução da informação científica na produção de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert], usos e extração de óleo essencial nos últimos cinquenta anos**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

CANDIDO, Camila Escobar. **Construção de vetor plasmidial para deleção gênica da ORF XAC3162 de *Xanthomonas citri* subsp. *citri***. 2023.

CARVALHO, Sérgio Alves de et al. Avanços na propagação dos Citros no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, 2019.

CIPRIANO, Lavinia. **Potencial antifúngico de nanoemulsões de óleo essencial de Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*)** (Trabalho de conclusão de curso). Departamento de Ciências Biológicas e Saúde da Universidade Federal de São Carlos. 2022.

COSMO, Bruno Marcos Nunes; GALERIANI, Tatiani Mayara. **Pragas dos citros: cochonilhas, pulgões, minador dos citros, cigarrinhas, bicho furão e mosca branca dos citros**. 2020.

DA COSTA, Kárita Rodrigues Sampaio; DE MOURA, Vitória Dias; DE ARRUDA, Elaine Lima. A ATUAÇÃO DA ENFERMAGEM NA PREVENÇÃO E NO TRATAMENTO DA CANDIDÍASE EM GESTANTES (ENFERMAGEM). **Repositório Institucional**, v. 2, n. 2, 2024.

DA COSTA, Thaily Keter Reis Martins. Os efeitos antitumorais e toxicológicos do óleo essencial das folhas de *Xylopiya Frutescens* Aubl.(Annonaceae): uma revisão de literatura. **STUDIES IN SOCIAL SCIENCES REVIEW**, v. 5, n. 1, p. 02-21, 2024.

DA SILVA, Ana Paula et al. Intervenções agroecológicas em áreas de Citrus e Spondias do IFPE-Campus Barreiros. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020.

DA SILVA, Marília Pereira et al. Conhecimento da população sobre leishmaniose: revisão integrativa. **Peer Review**, v. 5, n. 19, p. 383-397, 2023..

DA SILVA, Thainara Pereira et al. INFLUÊNCIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA MELHORIA DO SONO: UMA REVISÃO CIENTÍFICA. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 2, p. 1031-1049, 2024.

DANTAS Fernanda de Medeiros. 2019. 37. **Trabalho de Conclusão de Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina, CUITÉ.** 2019.

DE ALMEIDA, Jhenyfer Caroliny; DE ALMEIDA, Priscilla Prates; GHERARDI, Sandra Regina Marcolino. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Nutr. Time**, v. 17, n. 01, p. 8623-8633, 2020.

DE ARAÚJO, Fernanda Sthéfanie Medeiros et al. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE PSIDIUM GUINEENSE (MYRTACEAE) CONTRA CEPAS DE CANDIDA GLABRATA E CANDIDA PARAPSILOSIS. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v. 13, n. 1, 2023.

DE CARVALHO, Driany Tamami Yamashita et al. Óleos essenciais antifúngicos na prática odontológica. **Seven Editora**, 2024.

DE DEUS, Eva Aparecida Lucas et al. DIAGNÓSTICO E TRATAMENTOS DA CANDIDOSE ORAL E PRATICAS INTEGRATIVAS COMO COADJUVANTES: uma revisão de literatura. **E-RACE-REVISTA DA REUNIÃO ANUAL DE CIÊNCIA E EXTENSÃO**, v. 13, n. 13, 2024.

DELPRETE, Jaqueline Alves. **Identificação de espécies causadoras de leishmaniose tegumentar por meio de técnicas moleculares, tendo como alvos o gene hsp70 e a região ITS1.** 2023. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DIVE – SC. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. **Candidíase.** 2024. Disponível em: <<https://dive.sc.gov.br/index.php/candidiase#:~:text=A%20Candid%3%ADase%20%C3%A9%20uma%20infec%C3%A7%C3%A3o,%2C%20vaginal%2C%20perianal%20e%20per%C3%ADneo.>>. Acessado em: 12/01/2024.

DÓRIA, Alberto Fontes. Avaliação do nerol sobre promastigotas e macrófagos infectados com amastigotas de Leishmania amazonensis. 2023.

FIOCRUZ. Fundação Wosvaldo Cruz. **Leishmaniose.** 2024. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/doenca/leishmaniose>>. Acessado em 10/01/2024.

FRANÇA, José Samuel de Farias. **Ação antiaderente de diferentes terapias complementares frente a leveduras do gênero Candida.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

FRANCO, Antonia Maria Ramos et al. Formação do conhecimento científico em Leishmaniose Tegumentar no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia Volume 1: **A Iniciação Acadêmica em estudos Parasitológicos, Bioquímicos e Moleculares.** 2023.

GARZOLI, Stefania et al. Chemical investigation of a biologically active Schinus molle L. leaf extract. **Journal of analytical methods in chemistry**, v. 2019, 2019.

GOMES, Larissa Kerollaine Maia. **Fibras de PBAT com óleo de canela produzidas por fiação por sopro em solução (SBS): caracterização e estudo antimicrobiano.** 2023. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GOMES, Quintino. **Teste de montenegro no diagnóstico da leishmaniose mucocutânea.** 2019.

HAMIDEN, Jonatas Batista et al. A EFICÁCIA DO CRANBERRY E SUAS PROPRIEDADES NO TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL: Um estudo de revisão bibliográfica. **Revista Saúde Dos Vales**, v. 3, n. 1, 2023.

IBF - Instituto Brasileiro de Floresta. **Aroeira Salsa: saiba tudo sobre essa espécie**. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/lista-de-especies-nativas/aroeira-salsa?utm_source=google-ads&utm_medium=cpc&utm_campaign=nativas-desmembrado&keyword=aroeira%20salsa&creative=609155955333&gad=1&gclid=CjwKCAjwzo2mBhAUEiwAf7wjktWtHLeRrmtIMYsuVNLGRNZW9H6FKbBTw4pEuGjtFERQ_woioGmrBoCGpIQAvD_BwE>. Acessado em 18/01/2024

JÚNIOR, Affonso Viviani; DE OLIVEIRA, Silvia Silva; SPINOLA, Roberta Maria Fernandes. Leishmaniose tegumentar. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 20, p. 1-9, 2023.

LEITE, Alanna Mylla Costa et al. O uso de plantas medicinais associadas ao tratamento de leishmaniose em pacientes atendidos na regional de saúde do município de Pinheiro-MA. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 5, p. e18612541681-e18612541681, 2023.

LEMES, Maíra do Carmo. **Eficácia da (*Schinus molle L.*) Aroeira Salsa no tratamento da depressão (Revisão bibliográfica)**. 2021.

MARTINS, Larissa Rodrigues Jales. **Estudo químico do óleo essencial da parte aérea de *Egletes viscosa (L.) Less.*** 2023.

MATOS, Beatriz Bandeira. **Atividade anti-Candida de óleos essenciais e águas minerais naturais para o desenvolvimento de um spray para o tratamento da candidose oral**. 2023. Tese de Doutorado

MATTOS, Ana et al. O uso de óleos essenciais para o controle de pragas do milho. **Estrabão**, v. 2, p. 139-147, 2021.

MENDES, Luiza Alves et al. Complexos de inclusão de óleos essenciais de *Psidium* para aplicação larvicida, herbicida e citogenotóxica. **Seven Editora**, 2023.

MIGUEL, Flávio Tiopi; FERNANDO, Henriqueta Nankali Bimba; MIGUEL, Garcia Nfuidimau. Incidência do cancro cítrico no município do Tomboco, província do Zaire, Angola. **Citrus Research & Technology**, v. 42, p. 1-5, 2022.

MINISTÉRIO DA SAUDE. **Candidiase Sistêmica**. 2024. Disponível em:< <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/candidiase-sistemica>>. Acessado em 15/01/2024.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. das G.; BATISTA L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDI, A. C. da S. Essential oils from leaves of various species: antioxidant and antibacterial properties on growth in pathogenic species. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213–220, 2016.

MORAIS, Daniela Alexandra Barroso. **Prótese dentária e candidíase oral**. 2022. Tese de Doutorado.

NETO, Gerônimo Guerreiro; FIGUEIRA, Sérgio Rangel Fernandes. Maior dificuldade fitossanitária à produção da laranja no principal cinturão citrícola brasileiro-safras de 2017 a 2019. **Citrus Research & Technology**, v. 42, p. 1-10, 2021.

OLIVEIRA, Roger Ventura et al. Óleo essencial de *Piper aduncum L.*: toxicidade e sinergismo como estratégias de controle de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae): uma revisão de literatura. **Scientia Naturalis**, v. 5, n. 2, 2023.

PEREIRA, Camila Malvessi. **Caracterização de mreB de *Xanthomonas citri subsp. citri* codificando uma actina bacteriana**. 2019.

PEREZ, Cecília Balan Camelo; CLÍMACO, Eduardo Carneiro. *Candida auris*: um novo patógeno globalmente emergente. **Revista Interdisciplinar de Saúde e Educação**, v. 4, n. 2, p. 171-202, 2023.

PICTURE THIS. Identificador De Plantas Com Inteligência Artificial. ***Cinnamomum cassia***. 2024. Disponível em:[https://www.picturethisai.com/pt/wiki/Cinnamomum_cassia.html#:~:text=Canela%2D arom%C3%A1tica%20\(Cinnamomum%20cassia\)%20%2D%20PictureThis&text=A%20%C3%A1rvore%20cresce%20at%C3%A9%2033,t%C3%AAm%20uma%20cor%20decidida mente%20avermelhada..](https://www.picturethisai.com/pt/wiki/Cinnamomum_cassia.html#:~:text=Canela%2D arom%C3%A1tica%20(Cinnamomum%20cassia)%20%2D%20PictureThis&text=A%20%C3%A1rvore%20cresce%20at%C3%A9%2033,t%C3%AAm%20uma%20cor%20decidida mente%20avermelhada..) Acessado em 26/01/2024.

PIMENTA, Priscila Abreu et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e potencial conservante do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). **Scientia Plena**, v. 20, n. 2, 2024.

REZENDE, Lucas Felipe de et al. **Carreadores lipídicos nanoestruturados de óleos essenciais de orégano e canela na inibição de *Salmonella Heidelberg***. 2023.

SANTOS, Rhayanny Kethylly Pereira. **Análise dos métodos moleculares para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana: Uma revisão narrativa da literatura.** 2023.

SAWAZAKI, Yolimi Mieko. **Avaliação da estabilidade e atividade antimicrobiana de nanoemulsões contendo o óleo essencial de *Cinnamomum cassia*.** 2023.

SHANKAR, S., Prasad, S., Owaiz, M., Yadav, S., Manhas, S., & Yaqoob, M. (2021). **Óleos essenciais, componentes e suas aplicações: uma revisão.** *Plant Archives*, **21(1)**, 2027–2033. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.331>.

SILVA, Thais Leticia Moreira da et al. **Avaliação sazonal da extração e microencapsulação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.).** 2023.

SILVEIRA, Rosiane Conceição dos Santos Siqueira et al. **Caracterização química do óleo essencial de *Schinus molle* L. e sua propriedade antihemostática.** 2019.

SSP. Secretária de Saúde do Paraná. **Leishmaniose Visceral – CID10: B55.0.** 2024. Disponível em: <https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Leishmanioses#:~:text=Os%20insetos%20pertencentes%20%C3%A0%20ordem,principais%20vetores%20da%20Leishmaniose%20Tegumentar>. Acessado em 15/01/2024.

VICENÇO, Camila Bonatto et al. **Bioactivity of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolia* Raddi. Essential oils on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818).** *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 63, p. e20200111, 2020.

VIEIRA, Mariana Lesquives Leite et al. **O uso da aromaterapia com óleos essenciais na redução de sintomas secundários causados pelo tratamento antineoplásico: uma revisão de revisões.** 2023. Tese de Doutorado.

ZUBAIR, Faiza; RIAZ, Naila; MUNIR, Atiya. **Eficácia antibacteriana de *Cinnamomum Cassia* & *Moringaoleifera*.** In: **Conferência Internacional sobre Pesquisa Biológica e Ciências Aplicadas**. 2024. pág. 87.

4. Objetivo Geral

Avaliar o potencial dos óleos essenciais de *Schinus molle* e *Cinnamomum cassia* no controle de *Xanthomonas citri*, bem como suas propriedades antileishmaniais e anticandidais por meio de misturas sinérgicas.

4.1. Objetivos Específicos

- ❖ Extrair e determinar a composição química do óleo essencial das folhas secas em estufa e “in natura” de *S. molle* e de *C. cassia*;
- ❖ Obter óleo essencial da casca de *C. cassia* para produzir mix com os OEs das folhas secas em estufa de *S. molle* em blends de 25% de OE-SM x 75% de OE-CC, 50% de OE-SM x 50% de OE-CC e 75% OE-SM x 25% de OE-CC;
- ❖ Avaliar a ação das atividades antileishmaniais e anticandidais com o mix dos OEs das folhas secas em estufa de *S. molle* com os OEs da casca de *C. cassia*.
- ❖ Avaliar a atividade antibacteriana in vitro do óleo essencial das folhas secas em estufa de *S. molle* em comparação com o principal constituinte majoritário espatulenol no controle de *X. citri*.

CAPÍTULO I

Composição química e atividades anti-*Xanthomonas citri* de óleos das folhas frescas e secas de *Schinus molle* L. e de seu principal constituinte espatulenol

Isac R. R. da Silva, Cassia C. Fernandes, Daniela S. Gonçalves, Carlos H. G. Martins, e Mayker L. D. Miranda

(Normas de acordo com a revista Natural Product Research)

Resumo

O cancro cítrico, causado por *Xanthomonas citri*, é uma doença grave que afeta plantas cítricas em todo o mundo. Este trabalho teve como objetivo comparar, pela primeira vez, a composição química e atividades anti-*Xanthomonas citri* de óleos essenciais de folhas frescas e secas de *Schinus molle* (OE-FL e OE-DL, respectivamente). A atividade de *X. citri* do espatulenol, principal constituinte dos óleos, também foi avaliada. As atividades foram rastreadas pelo método de microdiluição em caldo em cultura de 96 poços. Três constituintes principais foram identificados em OE-FL e OE-DL por GC-MS e CG-FID: espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno. OE-DL, OE-FL e espatulenol, cujos valores de MIC variaram de 31,25 a 100 $\mu\text{g/mL}$, foram ativos contra cepas de *X. citri* (resistentes, tolerantes e sensíveis ao cobre). Até embora os resultados tenham mostrado que o potencial *in vitro* de OE-FL, OE-DL e espatulenol contra *X. citri*, mais estudos *in vivo* são necessários para comprovar sua aplicabilidade aobiocontrole do cancro cítrico.

Palavras-chave: cancro cítrico; bactérias endofíticas; árvores cítricas; pimenta-do-reino; espatulenol.

Abstract

Citrus canker, which is caused by *Xanthomonas citri*, is a severe disease that affects citrus plants worldwide. This paper aimed to compare, for the first time, the chemical composition and anti-*Xanthomonas citri* activities of essential oils from *Schinus molle* fresh and dry leaves (EO-FL and EO-DL, respectively). Anti-*X. citri* activity of spathulenol, the major constituent of oils, was also evaluated. Activities were screened by the broth microdilution method on 96-well culture plates. Three major constituents were identified in EO-FL and EO-DL by GC-MS and GC-FID: spathulenol, β -caryophyllene and caryophyllene oxide. EO-DL, EO-FL and spathulenol, whose MIC values ranged from 31.25 to 100 $\mu\text{g/mL}$, were active against *X. citri* strains (resistant, tolerant and sensitive to copper). Even though results showed that *in vitro* potential of EO-FL, EO-DL and spathulenol against *X. citri*, further *in vivo* studies are needed to prove their applicability to the biocontrol of citrus canker.

Keywords: citrus canker; endophytic bacteria; citrus trees; pepper tree; spathulenol

1. Introdução

O cancro cítrico, causado pela bactéria *Xanthomonas citri*, é uma das doenças mais importantes da citricultura mundial, pois diminui a produtividade das árvores afetadas por desfolhamento e por queda prematura de frutos (Ali et al., 2023). A doença também afeta o comércio e o transporte de frutas “in natura” devido ao risco de patógenos. Os sintomas típicos do cancro cítrico são manchas marrons, salientes, ásperas e lesões necróticas que são visíveis cerca de duas semanas após a infecção no início dos estágios de desenvolvimento (Ali et al., 2023). As frutas cítricas que são facilmente atacadas pela bactéria fitopatogênica são: laranjas, limões, limas ácidas, tangerinas e toranjas (Ali et al., 2023). E em decorrência dos grandes prejuízos do setor, novas tecnologias vêm sendo investigadas para prevenir e combater a doença. Novas formas de combater o cancro cítrico incluem o uso de nanopartículas de cobre, zinco e prata e produtos naturais, como óleos essenciais (Ali et al., 2023). No campo dos óleos essenciais, a espécie *Schinus molle* (Anacardiaceae) se destaca por ser rica em óleos essenciais bioativos (Vicenço et al., 2020). A *S. molle* é popularmente conhecida como aroeira, aroeira salsa, periquita, anacauíta e molho no Brasil (Machado et al., 2019). Tem sido utilizada na medicina popular por sua ação antibacteriana, antiviral, antisséptico, antifúngico, antioxidante, anti-inflamatório, anti atividades tumoral, antiespasmódica e analgésica. No entanto, existem poucos estudos de propriedades farmacológicas e toxicológicas dos óleos essenciais de *S. molle* (Martins et al., 2014). Portanto, este estudo teve como objetivo (I) avaliar e comparar a composição química dos óleos essenciais das folhas frescas e secas de *S. molle*; e (II) avaliar um dos seus principais constituintes – espatulenol – contra *X. citri* (resistente, tolerante e sensível ao cobre).

2. Resultados e discussão

Os constituintes voláteis de óleos essenciais de *S. molle* frescos (OE-FL) e secos (OE-DL) foram identificados e quantificados por cromatografia gasosa – detecção de ionização de chama (CG-FID) e cromatografia gasosa – espectrometria de massa (GC-MS). Em primeiro lugar, houve grande quantidade dos constituintes – espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno – foram identificados em OE-FL e OE-DL (Tabela S1), mas suas concentrações eram diferentes. Relativo aos valores de abundância de OE-FL foram 16,0% (espatulenol), 13,3% (β -cariofileno) e 9,8% (óxido de cariofileno) enquanto os de OE-DL foram 20,8% (espatulenol), 15,6% (β -cariofileno) e 10,0% (óxido de cariofileno). Outras descobertas da composição química dos óleos essenciais das folhas de

S. molle são as diferentes concentrações encontradas por este estudo. Na Costa Rica, um estudo constatou que os óleos apresentavam altas concentrações de α -pineno e tinha alto potencial citotóxico (Díaz et al., 2008). Na Arábia, um estudo relatou que γ -Cadineno, guaiol e α -felandreno foram seus principais constituintes (Abdel-Hameed e Bazaid, 2017). No estado do Rio de Janeiro, Brasil, os maiores constituintes do OE-DL foram cubenol, óxido de cariofileno e espatulenol (Cavalcanti et al., 2015). Na Turquia, as folhas secas de *S. molle* exibiram altos teores de α -felandreno, limoneno e β -felandreno (Alnawari et al., 2018). Vale ressaltar que a secagem de folhas de *S. molle* levou a um aumento nos teores dos três constituintes principais (Tabela S1). Além disso, alguns fatores, como duração e condições de secagem, desempenham papéis importantes nos conteúdos e rendimentos dos componentes voláteis encontrados em óleos essenciais (Singh, 2020). Em relação à atividade anti-*Xanthomonas citri*, dois estudos mostraram que as amostras cujos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) abaixo ou iguais a 100 $\mu\text{g/mL}$ podem ser considerados agentes antimicrobianos promissores (Ríos e Recio, 2005; Gibbons, 2008). Como resultado, OE-DL, OE-FL espatulenol, os valores de MIC variaram entre 31,25 e 100 $\mu\text{g/mL}$, foram considerados ativos e promissores contra *X. citri* avaliados em três condições, ou seja, resistente, tolerante e sensível ao cobre (Tabela S2). Um fato interessante é que o OE-DL foi muito mais ativo do que o OE-FL e o espatulenol. Alta atividade de EO-DL pode ser devido principalmente ao aumento nas concentrações de espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno após a secagem do material vegetal. Deve-se destacar também que o puro espatulenol exibiu baixa atividade (MIC = 100 $\mu\text{g/mL}$) em comparação com OE-DL (MIC = 31,25 $\mu\text{g/mL}$). Este fato reforça a existência de potencial sinérgico entre todos os constituintes químicos. Em suma, a literatura fornece informações para justificar que a boa atividade de OE-DL e OE-FL pode estar relacionado ao espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno, uma vez que sua atividade antibacteriana é bem conhecida (Fu et al., 2022; Dahham et al., 2015; Gannadi e outros, 2012).

3. Seção experimental

O material suplementar relacionado a este artigo está disponível online, juntamente com as Tabelas S1 e S2.

4. Conclusão

Este estudo possibilitou mostrar o efeito da secagem na composição química de óleos essenciais das folhas de *S. molle*. A secagem não só levou a um aumento

considerável nos valores de abundância de espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno, mas também foi favorável ao aumento da atividade anti-*Xanthomonas citri*, já que o OE-DL foi mais ativo do que OE-FL. Este estudo também mostrou, pela primeira vez, que o espatulenol puro apresenta atividade contra *X. citri*. O promissor potencial antibacteriano *in vitro* de OE-DL e OE-FL deve ser destacado, pois pode contribuir para o biocontrole de *X. citri* e prevenir que as frutas fiquem doentes e para evitar perdas econômicas. No entanto, mais estudos *in vivo* são necessários para determinar efetivamente as atividades dos óleos essenciais em estudo.

Declaração de divulgação

Nenhum potencial conflito de interesse é relatado pelos autores.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, FAPEG, CNPq e IFGOIANO - *Campus* Rio Verde pelo seu apoio financeiro.

5. Referências Bibliográficas

- ABDEL-HAMEED, El-Sayed S.; BAZAID, Salih A. Chemical composition of essential oil from leaves of *Schinus molle* L. growing in Taif, KSA. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 1, p. 45-58, 2017.
- ALI, Subhan et al. Citrus Canker: A Persistent Threat to the Worldwide Citrus Industry—An Analysis. *Agronomy*, v. 13, n. 4, p. 1112, 2023.
- ALNAWARI, Hisham et al. Chemical characterization of *Schinus molle* L. essential oils from North Cyprus. **Natural Volatiles and Essential Oils**, v. 5, n. 3, p. 7-12, 2018.
- DAHHAM, Saad S. et al. The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 11808-11829, 2015.
- DIAZ, Cecília et al. Composição química do óleo essencial de *Schinus molle* e sua atividade citotóxica em linhagens de células tumorais. **Pesquisa de produtos naturais**, v. 22, n. 17, pág. 1521-1534, 2008.
- DO ROSÁRIO MARTINS, Maria et al. Propriedades antioxidantes, antimicrobianas e toxicológicas dos óleos essenciais de *Schinus molle* L.. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, pág. 485-492, 2014.
- DOS SANTOS CAVALCANTI, Adriano et al. Composição de voláteis e cinética de extração de folhas e frutos de *Schinus terebinthifolius* e *Schinus molle*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 356-362, 2015.

- FU, Jikai; GAO, Yang; XING, Xiang. Preliminary Study on Phytochemical Constituents and Biological Activities of Essential Oil from *Myriactis nepalensis* Less. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4631, 2022.
- GHANNADI, Alireza et al. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. **Iranian journal of microbiology**, v. 4, n. 4, p. 171, 2012.
- GIBBONS, Simon. Phytochemicals for bacterial resistance-strengths, weaknesses and opportunities. **Planta medica**, v. 74, n. 06, p. 594-602, 2008.
- MACHADO, Camila D. et al. *Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 1-10, 2019.
- RIOS, José-Luis; RECIO, Maria Carmem. Plantas medicinais e atividade antimicrobiana. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, pág. 80-84, 2005.
- SINGH, Sunita; CHAURASIA, Pankaj Kumar; BHARATI, Shashi Lata. Papéis funcionais dos óleos essenciais como alternativa eficaz aos conservantes sintéticos de alimentos: uma revisão. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, n. 8, pág. e16804, 2022.
- VICENÇO, Camila Bonatto et al. Bioactivity of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolia* Raddi. Essential oils on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, p. e20200111, 2020.

MATERIAL SUPLEMENTAR

3. Secção experimental

3.1. Material vegetal

As folhas de *Schinus molle* foram coletadas no Instituto Federal Goiano - *Campus* Rio Verde, município de Goiás (GO), Brasil. As exsiccatas foram identificadas no IF Goiano sendo um exemplar de *S. molle* (*Schinus molle* L. - 1950) foi depositado no Herbário do IF Goiano no Laboratório de Ecologia e Sistemática Vegetal. As demais folhas em seguida, foram encaminhadas ao Laboratório de Química de Produtos Naturais do IF Goiano - *Campus* Rio Verde, localizado em Rio Verde, GO. As folhas (500 g) foram pesadas e desidratadas em estufa de circulação de ar a 45 °C por 72 horas, podendo variar o tempo de acordo com a potência da secadora, preservando 500 g “in natura”.

3.2. Extração de óleos essenciais (OE-FL e OE-DL)

Os óleos essenciais (OEs) foram extraídos de *S.molle* frescos (OE-FL) e secos (OE-DL) por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3 hrs. Para isso, as folhas frescas foram divididas em três amostras de 100 g e foram adicionados 500 mL de água destilada a

cada amostra. O mesmo procedimento foi aplicado às folhas secas. Após a coleta manual de OEs, os restos de água foram removidos com sulfato de sódio anidro, que foi seguido de filtração. OE-DL e OE-FL foram armazenados em frascos âmbar e mantidos em geladeira a 4°C até a análise.

3.3. Espatuleno

O espatuleno (>98% de pureza) foi adquirido da BioCrick® Science Solution.

Especialista em março de 2021.

3.4. Identificação química dos constituintes (OE-DL e OE-FL)

O OE-DL e OE-FL foram dissolvidos em éter etílico e analisados por cromatografia-detecção de ionização de chama (CG-FID) e cromatografia gasosa – massa espectrometria (GC-MS) com o uso de Shimadzu QP5000 Plus e GCMS2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). A temperatura da coluna em CG-FID foi programada para subir de 60 a 240°C a 3°C/min e foi mantido a 240°C por 5 min; o gás de arraste foi H₂ na taxa de fluxo de 1,0 mL/min. O equipamento foi configurado para operar no modo de injeção; o volume de injeção foi de 0,1 µL (taxa de divisão de 1:10), enquanto as temperaturas do injetor e do detector foram de 240 e 280°C, respectivamente.

Relativo às concentrações dos componentes, foram obtidas normalizando as áreas dos picos (%). Relativo às áreas consistiram na média de análises triplicadas de CG-FID. condições GC-MS sendo que a identificação já foi relatada anteriormente (Souza et al., 2021). A identificação de voláteis dos componentes dos óleos essenciais (Tabela S1) foi baseado em seus índices de retenção em um Rtx-5MS (30 m X 0,25 mm; 0,250 µm) nas mesmas condições de operações usadas para CG em relação a uma série homóloga de n-alcanos (C₈-C₂₀). As estruturas eram compatíveis com Wiley 7, NIST 08 e FFNSC 1.2 e sua fragmentação nos padrões foram comparados com dados da literatura (Adams, 2007).

3.5. Ensaio anti-*Xanthomonas citri*

A bactéria *Xanthomonas citri subsp. citri* (*X. citri* isolado 12, sensível a cobre; *X. citri* isolado 1733, tolerante ao cobre e *X. citri* isolado 1647, resistente a cobre) foi cultivada em Nutrient Agar (NA) ou Nutrient Broth (NB) e incubada a 28°C por 72 horas. Todas as cepas foram fornecidas pelo Fundo de Proteção Citrus (FUNDECITRUS) em Araraquara, SP, Brasil, pelo pesquisador Franklin Behlau, Ph. D.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi a menor concentração de óleos que foi capaz de inibir o crescimento da bactéria. Foi determinado usar o caldo e o método de

microdiluição em placas de cultura de 96 poços. A metodologia recomendada por Iantas e outros (2021) foi seguido com algumas modificações. As amostras foram primeiro dissolvidas em 5% DMSO e depois diluídas em NB para atingir concentrações que variaram de 0,98 a 2.000 µg/mL. Os inóculos foram ajustados para produzir a concentração celular final de 5×10^5 UFC/mL. A estreptomicina foi usada como controle positivo em concentrações variando de 0,0115 a 5,9 µg/mL. As placas foram incubadas em Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) a 28°C por 72 h. Após incubação, 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,02%, foi utilizada como revelador, foi colocado em cada poço. As placas foram incubadas novamente a 28°C por 12 h. Os poços que se tornaram rosa exibiram crescimento bacteriano, enquanto aqueles que permaneceram azuis mostraram que houve inibição. Três experimentos independentes foram realizados em triplicata.

5. Referências Bibliográficas

ADAMS, Robert P. Identificação de componentes de óleos essenciais por cromatografia gasosa/espectrometria de massa. 5 edição on-line. **Gruver, TX EUA: Texensis Publishing**, 2017.

IANTAS, Jucélia et al. Endophytes of brazilian medicinal plants with activity against phytopathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 714750, 2021.

SOUZA, Amanda de O. et al. Hexane extract from *Spiranthera odoratissima* A. St.-hil. leaves: chemical composition and its bioactive potential against *Candida* pathogenic species, *Leishmania amazonensis* and *Xylella fastidiosa*. **Natural Product Research**, v. 36, n. 11, p. 2907-2912, 2022.

6. Anexos

Tabela S1. Constituintes voláteis de óleos essenciais de *S. molle* frescos (OE-FL) e secos (OE-DL).

| COMPOSTO | AR% (OE-DL) | AR% (OE- FL) | RI _{exp} | RI _{lit} |
|---------------------------|----------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| α - tujeno | 2.3 | 2.5 | 930 | 928 |
| β - Pineno | 2.2 | 3.0 | 973 | 972 |
| Linalol | 1.5 | 2.0 | 1096 | 1098 |
| Nopinona | 2.0 | 2.0 | 1140 | 1137 |
| <i>trans</i> -Pinocarveol | 5.0 | 5.1 | 1142 | 1140 |
| <i>trans</i> -Verbenol | 4.0 | 4.2 | 1145 | 1144 |
| Pinocarvona | 2.8 | 3.0 | 1161 | 1160 |
| <i>p</i> -cimen-8-ol | 3.5 | 3.9 | 1179 | 1179 |
| Mirtenal | 4.8 | 5.0 | 1192 | 1193 |
| verbenona | 3.0 | 4.1 | 1205 | 1197 |
| β - cariofileno | 15.6 | 13.3 | 1419 | 1419 |
| γ - Cadineno | 2.3 | 2.2 | 1523 | 1524 |
| Espatuleno | 20.8 | 16.0 | 1578 | 1576 |
| óxido de cariofileno | 10.0 | 9.8 | 1583 | 1581 |
| Globulol | 0.9 | 0.8 | 1590 | 1583 |
| Viridiflorol | 1.5 | 4.5 | 1592 | 1592 |
| 1, 10-di-epi- cubenol | 3.1 | 3.0 | 1613 | 1613 |
| Cubenol | 7.0 | 6.5 | 1643 | 1642 |

| | | | | |
|--------------------|-----|-----|------|------|
| α - Cadinol | 4.2 | 5.1 | 1654 | 1653 |
| Khusinol | 1.0 | 1.2 | 1674 | 1674 |

Total 97.5 97.2

RT = Tempo de retenção; **RIexp** = Índice de retenção relativo a n-alcanos (C₈-C₂₀) na coluna Rtx-5MS; **RIlit** = índice de retenção de Kovats (valores encontrados na literatura - Adams 2007). **%RA** = Abundância relativa. Números em negrito significam que os constituintes voláteis foram considerados constituintes principais dos óleos essenciais.

Tabela S2. Atividade anti-*Xanthomonas citri* de óleos essenciais de folhas frescas e secas de *S. molle* e do espatulenol sesquiterpênico. Os valores MIC são expressos em µg/mL.

| Bacteria | OE-DL | OE-FL | Espatulenol | Estreptomicina * |
|--|-------|-------|-------------|---------------------|
| <i>X. citri</i> 1647 (resistente para cobre) | 31.25 | 62.5 | 100 | 0.0461 |
| <i>X. citri</i> 1733 (tolerante para cobre) | 31.25 | 62.5 | 100 | 0.3688 |
| <i>X. citri</i> 12 (sensível para o cobre) | 31.25 | 62.5 | 100 | 0.0922 |

*Controle positivo

CAPÍTULO II

Composição química e atividades antileishmania e anticandidal de óleos essenciais da casca de *Cinnamomum cassia*, folhas secas de *Schinus molle* e suas misturas

SILVA, ATERNOSKAIRES S. R, Cassia C. Fernandes e Mayker L. D. Miranda
(Normas de acordo com a revista Journal of Essential Oil Bearing Plants)

Resumo

No presente estudo, descrevemos a composição química, atividades antileishmania e anticandidal de óleos essenciais destilados de folhas secas de *Schinus molle* (OE-SM), casca de ramos de *Cinnamomum cassia* (OE-CC) e suas misturas contra as formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e as diferentes espécies de cepas de *Candida*, respectivamente. Para isso, destilamos os óleos por hidrodestilação, identificamos seus componentes por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama. Os constituintes majoritários de OE-SM foram espatulenol (20,8%), β -cariofileno (15,6%) e óxido de cariofileno (10,0%). OE-CC revelou altas concentrações de cinamaldeído (60,1%), acetato de cinamila (20,9%) e ácido metoxicinâmico (10,5%). OE-SM (IC₅₀ = 21,45 μ g/mL) e OE-CC (IC₅₀ = 23,27 μ g/mL) foram ativos contra *L. amazonensis*. As três misturas preparadas exibiram altíssima atividade leishmanicida com valores de IC₅₀ entre 3,12 e 7,04 μ g/mL. OE-SM, OE-CC e os blends também demonstraram serem fortes agentes antifúngicos contra novas cepas de *Candida*. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) ficaram entre 31,25-250 μ g/mL. Em suma, concluímos que OE-SM, OE-CC e suas misturas são ativas e podem ser considerados fortes candidatos para participarem da formulação de medicamentos com ação antileishmanicida e antifúngica.

Palavras-chave: ativos naturais; aroeira; especiarias; *Leishmania (Leishmania) amazonensis*; candidíase.

Abstract

In this present study, we describe the chemical composition, antileishmanial and anticandidal activities of essential oils distilled from *Schinus molle* dried leaves (EO-SM), *Cinnamomum cassia* bark of branches (EO-CC) and its blends against the forms promastigotes of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* and the different species of *Candida* strains, respectively. For this, we distilled the oil by hydrodistillation, identified its components by gas chromatography coupled to mass spectrometry and gas chromatography with flame ionization detection. Os constituintes majoritários de EO-SM foram spathulenol (20.8%), β -caryophyllene (15.6%) e caryophyllene oxide (10.0%). EO-CC revelou altas concentrações de cinnamaldehyde (60.1%), cinnamyl acetate (20.9%) e methoxycinnamic acid (10.5%). EO-SM ($IC_{50} = 21.45 \mu\text{g/mL}$) e EO-CC ($IC_{50} = 23.27 \mu\text{g/mL}$) foram ativos contra *L. amazonensis*. Os três blends preparados exibiram altíssima atividade leishmanicida com valores de IC_{50} entre 3.12 e 7.04 $\mu\text{g/mL}$. EO-SM, EO-CC e os blends também mostraram ser fortes agentes antifúngicos contra nove cepas de *Candida*. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) estiveram entre 31.25-250 $\mu\text{g/mL}$. In short, we conclude that EO-SM, EO-CC and its blends are active and podem ser considerados fortes candidatos para participarem da formulação de medicamentos com ação antileishmanicida e antifúngica.

Keywords: ativos naturais; aroeira; especiarias; *Leishmania (Leishmania) amazonensis*; candidíase.

1. Introdução

A canela é uma das especiarias mais conhecidas do mundo e sua utilização é datada de 2.500 anos a.C. pelos chineses. O gênero *Cinnamomum* possui origem da Indonésia e significa “madeira doce”¹. Desde a antiguidade era considerada uma mercadoria preciosa, os egípcios, por exemplo, a empregavam no embalsamento, junto com outros condimentos. A casca do caule seca de plantas desse gênero é considerada como produto principal e as quatro espécies de maior importância no comércio internacional são: canela do Ceilão (*Cinnamomum verum* Presl, sin. *C. zeylanicum* Bl.); canela de Saigon (*C. loureirii* Nees); cássia ou canela da China (*C. cassia* Presl.) e canela ou cássia da Indonésia ou de Padang (*C. burmannii* (C.G. e Th.Nees) Bl.)¹.

O gênero *Cinnamomum* pertence à família Lauraceae e compreende cerca de 250 espécies². Esse grande número de espécies oferece abundantes matérias – primas, uma vez que as especiarias e plantas dessa família possuem importantes atividades biológicas². É uma árvore perene que atinge de 8 a 9 metros de altura. A canela é obtida do tronco da árvore, seus galhos secos são separados de suas cascas que possuem uma cor marrom avermelhada e intenso perfume². Espécie rica em óleos essenciais (OEs) e a parte mais utilizada para extração dos óleos é a parte interna do tronco, a casca seca, proveniente do caule principal e de ramificações deste. Os constituintes químicos mais importantes do OEs da casca da canela são o *E*-cinamaldeído, ácido cinâmico e *E*-eugenol².

Apesar dos três constituintes anteriores serem conhecidos pelas atividades biológicas que possuem, o óleo essencial de canela é amplamente comercializado e possui várias propriedades farmacológicas, como anti-inflamatória, antitermítica, nematocida, larvicida, inseticida, antimicótica e anticancerígena. Especificamente, a *C. cassia* também é tradicionalmente usada como pó dental e para tratar dores de dente, problemas dentários, microbiota oral e mau hálito.

Outra espécie alvo desse estudo é a *Schinus molle* L., pertencente à família Anacardiaceae e popularmente conhecida como *aroeira branca* ou *aroeira brava*⁴. Estudos farmacológicos realizados com extratos dessa planta têm revelado sua importância terapêutica devido a seus efeitos antitumoral, antifúngico, anti-inflamatório e analgésico. O óleo essencial de aroeira apresenta composição química complexa, sendo constituído principalmente por hidrocarbonetos monoterpenos e sesquiterpenos. Estudos fitoquímicos com *S. molle* já levaram ao isolamento de algumas classes de compostos entre eles, taninos, alcaloides, terpenos, além de resinas e óleos essenciais⁴.

Com base nas fortes atividades biológicas descritas na literatura para os OEs de *C. cassia* e *S. molle*, esse estudo propõe pela primeira vez o preparo de blends entre esses dois óleos. Os blends de óleos essenciais visam potencializar diversas atividades biológicas, e um estudo encontrado na literatura reforça que combinações de compostos são mais desejáveis porque o espectro biológico de algumas misturas binárias é aumentado. Nesse sentido, os objetivos específicos desse estudo foram: avaliar as atividades leishmanicida e antifúngica *in vitro* dos OEs das folhas secas de *S. molle*, da casca do caule da *C. cassia* e de seus blends em três diferentes concentrações (v/v) (1); e por fim determinar as composições químicas dos OEs por GC/MS e CG/FID (2).

2. Materiais e Metodos

2.1. Material vegetal

As folhas de *Schinus molle* foram coletadas em Rio Verde, cidade do estado de Goiás (GO), Brasil. Onde foram identificadas pelo biólogo Aternoskaires Simon Rodrigues da Silva e um exemplar voucher de *S. molle* (HJ5028SM) foi depositado no Herbário Jataiense Professor Germano Guarim Neto. Em seguida, foram levados ao Laboratório de Química de Produtos Naturais do IF Goiano – Campus Rio Verde, localizado em Rio Verde, GO. As folhas (500 g) foram então pesadas e desidratadas em estufa com circulação de ar a 40 °C por 24 horas.

2.2. Processamento Vegetal e Extração do Óleo Essencial

Amostras de folhas secas de *S. molle* foram submetidas à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3 horas. Para a realização da análise foram adicionadas amostras de 500 g e 3.000 mL de água destilada. Após a coleta manual das amostras de óleo essencial, os vestígios de água remanescente nos óleos foram removidos com sulfato de sódio anidro, seguido de filtração. O óleo isolado foi armazenado sob refrigeração até a análise e teste. O óleo essencial da casca de *C. cassia* foi adquirido da doTERRA® em maio de 2023.

2.3. Preparação dos Blends

A preparação dos blends foi feita da seguinte maneira (v/v): blend 1 (75% de OE-SM + 25% de OE-CC); blend 2 (50% de OE-SM + 50% de OE-CC) e blend 3 (25% de OE-SM + 75% de OE-CC).

2.4. Análises de composição de óleo por GC/FID e GC/MS

Os óleos essenciais foram dissolvidos em éter etílico e analisados por cromatografia gasosa-detector de ionização de chama (CG / FID) e cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC / MS) usando os sistemas Shimadzu QP5000 Plus e GCMS2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). A temperatura da coluna no CG/FID foi programada para subir de 60 a 240°C a 3°C/min e foi mantida a 240°C durante 5 min; o gás de arraste foi H₂ a uma vazão de 1,0 mL/min. O equipamento foi configurado para operar no modo injeção; o volume de injeção da solução de óleo foi de 0,1 µL (proporção de divisão de 1:10) e as temperaturas do injetor e do detector foram de 240 e 280°C, respectivamente. As porcentagens de compostos foram calculadas pelo método de normalização de área, considerando fatores de resposta. A autenticação dos compostos presentes no óleo essencial também foi determinada pelas amostras padrão adquiridas da Sigma Aldrich (Alemanha). As áreas relativas consistiram na média de análises CG/FID em triplicado. As condições de GC/MS e a identificação dos óleos essenciais foram relatadas anteriormente⁶. A identificação dos componentes voláteis (Tabela 1) foi baseada em seus índices de retenção em uma coluna capilar Rtx-5MS (30 m X 0,25 mm; 0,250 µm) sob as mesmas condições operacionais usadas para CG em relação a uma série homóloga de n-alcenos (C₈-C₂₀). As estruturas foram comparadas por computador com Wiley 7, NIST 08 e FFNSC 1.2, e seus padrões de fragmentação foram comparados com dados da literatura⁷. A concentração dos compostos identificados foi calculada diretamente a partir das áreas dos picos e expressa em percentagem.

2.5. Ensaio Antileishmania

O OE-SM, OE-CC e os blends 1, 2 e 3 foram avaliados frente às formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), com base na metodologia descrita por Oliveira et al., (2023)⁸. Para tanto, as formas promastigotas mantidas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de FBS e 1% de antibiótico (Penicilina 10.000 UI/mL e Estreptomicina 10.000 mg/mL) (Cultilab) foram transferidas para uma placa de 96 poços (1 x 10⁶) contendo Meio RPMI 1640 (Gibco) suplementado e incubado com diferentes concentrações do extrato (6,25 a 200 µg/mL) ou compostos isolados (1,56 a 50 µM) previamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO). As culturas foram incubadas em estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) a 24 °C durante 24 h e a atividade leishmanicida foi determinada pela contagem do número total de promastigotas vivas em câmara de Neubauer, considerando a motilidade flagelar ao microscópio óptico. Como

controle negativo, as formas promastigotas foram mantidas em meio RPMI 1640 contendo 0,1% de DMSO e como controle positivo, as formas promastigotas foram incubadas com Anfotericina B na concentração de 0,0027 a 1,56 µM.

2.6. Ensaio Anticandidato

As cepas de referência das espécies de *Candida*, nomeadamente *C. albicans* ATCC 90028, *C. glabrata* ATCC 2001, *C. krusei* ATCC 6258, *C. metapsilosis* ATCC 96143, *C. orthopsilosis* ATCC 96141, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. parapsilosis* ATCC 90018, *C. parapsilosis* ATCC 90018, *C. rugosa* ATCC 10571 e *C. tropicalis* ATCC 13903 foram utilizadas para avaliar a atividade anti-Candidal dos óleos. As cepas foram mantidas a -80°C em água destilada estéril e 50% de glicerol e subcultivadas em ágar Sabouraud dextrose (SDA, Difco, Detroit, MI) e meio CHROMagar *Candida* (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD) a 37°C por 24 horas para garantir pureza e viabilidade. Os ensaios de suscetibilidade antifúngica in vitro foram realizados pelo método de microdiluição em caldo de acordo com o protocolo M27-S4 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012)⁹. Foram utilizadas placas de microtitulação estéreis de 96 poços (Corning Inc., NY, EUA). O tamanho final do inóculo foi de $2,5 \times 10^3$ células/mL. Foram utilizadas anfotericina B (AMB) e OE-SM, OE-CC e blendas variando de 0,03 a 16 µg/mL e 3,90 a 2.000 µg/mL, respectivamente. AMB e óleos essenciais foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO, 2%) e diluídos em meio RPMI 1640 (Sigma) com 0,2% de glicose. As cepas de *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. krusei* ATCC 6258 e AMB foram incluídas como controles de qualidade (CLSI, 2012)⁹. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo indicador fluorométrico resazurina a 0,01% (p/v)¹⁰. A CIM foi definida como a menor concentração de antifúngicos/óleos essenciais que manteve a tonalidade azul. Os poços nos quais ocorreu o crescimento de microrganismos ficaram rosados.

3. Resultados e discussão

3.1. Composição do óleo essencial

Pela hidrodestilação das folhas secas de *S. molle*, o óleo essencial bruto de cor amarelada clara rendeu 1,5%, semelhante ao já relatado na literatura para o óleo desta espécie¹¹. O óleo essencial das folhas secas de *S. molle* foi obtido e analisado por CG/FID e GC/MS para determinar sua composição. Vinte compostos foram identificados (Tabela 1). Os principais constituintes foram espatulenol (20,8%), β-cariofileno (15,6%) e óxido de

cariofileno (10,0%). Espatuleno, β -cariofileno e óxido de cariofileno totalizaram 46,4% da composição química do óleo essencial das folhas secas de *S. molle*.

A composição química aqui obtida não foi muito semelhante às composições descritas na literatura¹¹. Por exemplo, é relatado que, independentemente da estação do ano, os principais constituintes do óleo essencial das folhas de *S. molle* são o biciclogermacreno e o sabineno¹¹. Em outro estudo, houve elevada concentração dos constituintes α -pineno, β -pineno e mirceno superior a 55% da composição do óleo¹², diferente do presente estudo em que o constituinte com maior concentração foi o espatuleno (20,8%). Outro óleo obtido das folhas de *S. molle* coletadas no município de Caxias do Sul, Brasil, também revelou composição química muito diferente da mesma espécie encontrada em outros estados brasileiros¹³. Nesse último estudo, a concentração de α -pineno foi maior que 60%¹³. Outro manuscrito também relata diferenças quanto aos constituintes voláteis de OE-SM como, por exemplo, a presença de α -felandreno (25,9%) que agora é o constituinte majoritário¹⁴. Segundo a literatura, as diferenças na composição química dos óleos essenciais em uma mesma espécie botânica provavelmente se devem à interferência do ciclo vegetativo e de fatores ambientais¹⁵. O OE-CC foi obtido comercialmente, 15 mL foram comprados diretamente da empresa fornecedora doTERRA®. Após análises químicas comprovou-se que o OE-CC está de acordo com o prometido pela empresa em seu site oficial. Os constituintes majoritários identificados em OE-CC (comercial) foram: cinamaldeído (60,1%), acetato de cinamila (20,9%) e ácido metoxicinâmico (10,5%) - Tabela 2. Em busca na literatura para encontrar uma composição química semelhante para OE-CC, encontramos a descrita por Chahbi et al., (2020)¹⁶.

3.2. Atividade Antileishmania

A atividade antileishmania do OE-SM, OE-CC e três blends foram testados para verificar sua atividade in vitro contra as formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (Tabela 3).

Os valores de IC₅₀ da atividade leishmanicida devem ser interpretados da seguinte forma: IC₅₀ < 10 μ g/mL são considerados altamente ativos; IC₅₀ > 10 < 50 μ g/mL estão ativos; IC₅₀ > 50 < 100 μ g/mL são moderadamente ativos; e IC₅₀ > 100 μ g/mL são inativos¹⁷.

Seguindo estas categorias, pode-se afirmar que OE-SM (IC₅₀ = 21,45 μ g/mL) e OE-CC (IC₅₀ = 23,27 μ g/mL) são óleos ativos contra *L. amazonensis*. Todos os três blends são

altamente ativos: blend 1 ($IC_{50} = 7,04 \mu\text{g/mL}$), blend 2 ($IC_{50} = 3,12 \mu\text{g/mL}$) e blend 3 ($IC_{50} = 4,17 \mu\text{g/mL}$). Esses resultados são importantes quando comparados ao controle positivo utilizado, a anfotericina B ($IC_{50} < 3,12 \mu\text{g/mL}$).

Alguns trabalhos já descritos na literatura reforçam o potencial leishmanicida de *S. molle*. O primeiro estudo mostrou que os extratos aquosos e diclorometânico apresentaram $IC_{50} = 50 \mu\text{g/mL}$ contra promastigotas e amastigotas intracelulares de *L. amazonensis*¹⁸. Foi relatado que seu óleo essencial possui propriedades antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antiespasmódicas, antipiréticas, antitumorais e cicatrizantes¹⁹. Apesar de várias atividades biológicas já terem sido descritas anteriormente para OE-SM, é notável que as atividades relatadas nesse estudo são inéditas na literatura. A boa atividade leishmanicida do OE-SM ($IC_{50} = 21,45 \mu\text{g/mL}$) pode ser devida à presença de seus constituintes majoritários espatulenol²⁰, óxido de cariofileno²⁰ e β -cariofileno²¹, uma vez que estes sesquiterpenos já se mostraram ativos contra *L. amazonensis*.

O OE-CC ($IC_{50} = 23,27 \mu\text{g/mL}$) também mostrou ser ativo contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*. Extratos e óleos essenciais de *C. cassia* mostraram anteriormente serem ativos contra diferentes espécies de *Leishmania*. Pode – se citar o estudo recente que descreve a excelente atividade do extrato diclorometânico da casca de *C. cassia* contra *L. donovani* ($IC_{50} = 33,60 \mu\text{g/mL}$)²². O OE-CC extraído das espécies do Vietnã demonstrou ser altamente ativo contra *L. mexicana* ($IC_{50} = 8,49 \mu\text{g/mL}$)²³. Esses dois achados na literatura possuem valores de IC_{50} maiores que os encontrados no presente estudo. Além disso, a alta atividade leishmanicida de OE-CC contra *L. amazonensis* pode ser justificada pela alta concentração do constituinte cinamaldeído (60,1%, Tabela 1) e a literatura atual reforça essa proposição²⁴.

Um mecanismo de ação provável sugere que os constituintes dos óleos essenciais por possuírem caráter lipofílico e consigam atravessar a membrana plasmática da célula do parasita, interferindo em sua composição intracelular. Essa permeabilidade da membrana pelo óleo essencial provoca dessa forma a morte da célula²⁵.

3.3. Atividade anticandidal

O OE-SM, OE-CC e os três blends demonstraram boa atividade antifúngica quando avaliados contra nove cepas de *Candida* pelo ensaio de Concentração Inibitória Mínima (MIC). O OE-SM foi altamente ativo contra todas as cepas testadas com valores de MIC entre 31,25 e 125 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 4). O OE-CC também revelou atividade anticandidata

satisfatória e seus valores de MIC estavam entre 62,5 e 250 µg/mL (Tabela 4). As blendas 1 (7,04 µg/mL), 2 (3,12 µg/mL) e 3 (4,17 µg/mL) revelaram ser ainda mais ativas.

Em geral, quando os valores de CIM são iguais ou inferiores a 500 µg/mL os produtos naturais são considerados potentes inibidores da atividade microbiana²⁶. Assim, o OE-SM, e o OE-CC e seus blends podem ser considerados um produto natural promissor para ensaios clínicos para comprovação e estabelecimento de protocolos para seu uso futuro no tratamento da doença candidíase. Um estudo de produtos naturais contra fungos de espécies de *Candida* com $CIM \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ é considerado relevante²⁷. Por outro lado, amostras cuja $CIM \leq 250 \mu\text{g/mL}$ representam atividade antifúngica de grande interesse, pois podem tornar-se alvos na terapia contra diferentes espécies de *Candida spp*²⁷.

Essa pronunciada atividade antifúngica de OE-SM, OE-CC e dos três blends pode estar diretamente relacionada à concentração de seus constituintes majoritários. Sugere-se, por exemplo, que o espatulenol por possuir atividade antifúngica conhecida seja um grande responsável pela atividade anticandidal observada para OE-SM²⁸⁻²⁹. Presente em OE-CC cita-se o cinamaldeído que possui sua ação antifúngica altamente explorada contra diferentes alvos fúngicos, incluindo as cepas de *Candida*³⁰. Por fim, os blends altamente ativos reforçam a proposta de que propriedades sinérgicas³¹ tendem a potencializar beneficemente a ação biológica de produtos naturais tornando – os ainda mais atrativos no campo farmacológico.

4. Conclusão

O presente estudo trouxe como novidade os promissores resultados tanto em valores de IC_{50} para atividade contra *L. amazonensis* quanto em valores de MIC para atividade antifúngica contra várias cepas de *Candida*. Reforça-se que o preparo dos blends e suas atividades antileishmanial e anticandidal estão sendo descritos pela primeira vez. Resumidamente, outros ensaios *in vivo* são necessários para confirmar os potenciais leishmanicida e antifúngico de OE-SM, OE-CC e de seus três blends bem como os mecanismos de ação desses produtos naturais.

5. Referências Bibliográficas

1. **Zhang, C., Fan, L., Fan, S., Wang, J., Luo, T., Tang, Y., Chen, Z., Yu, L. (2019).** *Cinnamomum cassia* Presl: uma revisão de seus usos tradicionais, fitoquímica, farmacologia e toxicologia. *Moléculas* 24: 3473.
2. **Zaidi, SF, Aziz, M., Muhammad, JS, Kadowaki, M. (2015).** Diversas propriedades farmacológicas de *Cinnamomum cassia*: uma revisão. *Pacote. J. Farmacêutica. Ciência.* 28: 1433-1438.
3. **Rao, PV, Gan, SH (2014).** Canela: uma planta medicinal multifacetada. *Evidio. Complemento Baseado. Alterar. Med.* 2014: ID 642942.
4. **Prado, A. C., Garces, H. G., Bagagli, E., Rall, V. L. M., Furlanetto, A., Fernandes Junior, A., Furtado, F. B. (2018).** Óleo essencial de *Schinus molle* como fonte potencial de compostos bioativos: propriedades antifúngicas e antibacterianas. *J. Appl. Microbiol.* 126: 516-522.
5. **Kolani, L., Sanda, K., Agboka, K., Mawussi, G., Koba, K., Djouaka, R. (2016).** Investigação da atividade inseticida da mistura de óleo essencial de *Cymbopogon schoenanthus* e óleo de nim sobre *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Essente. Urso de Petróleo. Pl.* 19: 1478-1486.
6. **Andrade, P. M., Melo, D. C., Alcoba, A. E. T., Ferreira Júnior, W. G., Pagotti, M. C., Magalhães, L. G., Santos, T. C. L., Crotti, A. E. M., Alves, C. C. F., Miranda, M. L. D. (2018).** Composição química e avaliação das atividades antileishmaníaca e citotóxica do óleo essencial de folhas de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. (Lauraceae Juss.). *Um. Acad. Sutiãs. Ciência.* 90: 2671-2678.
7. **Adams, RP (2007).** Identificação de componentes de óleos essenciais por cromatografia gasosa/espectrometria de massa, 4ª ed.; Allured Publishing Corporation: Carol Dstream, IL.
8. **Oliveira, A. C. S. D., Fernandes, C. C., Santos, L. S., Candido, A. C. B. B., Magalhães, L. G., Miranda, M. L. D. (2023).** Composição química, atividades larvicida e antileishmaníaca in vitro do óleo essencial da casca do fruto de *Citrus reticulata* Blanco. *Braz. J. Biol.* 83: e247539.
9. **Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI).** Método de referência para teste de suscetibilidade antifúngica de leveduras por diluição em caldo; quarto suplemento informativo. Documento M27-S4. 2012, Wayne, PA.
10. **Rodrigues, G. B. C., Fernandes, C. C., Marcionilio, S. M. O., Castro, V. P., Alvarez, C. M., Pires, R. H., Santiago, M. B., Martins, C. H. G., Pedroso, R. S., Miranda, M. L. D. (2022).** Atividades antifúngicas dos óleos essenciais de *Protium*

- ovatum* Engl. contra espécies de *Malassezia furfur* e *Candida*. *Orbital: Elétron. J. Química*. 14: 176-181.
11. **Pereira, D. B., Epifanio, N. M. M., Souza, M. A. A., Chaves, D. S. A. (2019).** Efeito da sazonalidade no rendimento e na composição química do óleo essencial de quatro acessos de *Schinus molle* L. *Rev. Virtual Quim.* 11: 1551-1561.
 12. **Gomes, V., Agostini, G., Agostini, F., Atti dos Santos, A. C., Rossato, M. (2013).** Variação na composição de óleos essenciais em populações brasileiras de *Schinus molle* L. (Anacardiaceae). *Bioquímica. Sist. Eco.* 48: 222-227.
 13. **Vicenço, C. B., Silvestre, W. P., Silva, V. T., Menegol, I. V., Hahn, R. C., Lima, T. S., Agostini, F., Pauletti, G. F. (2020).** Bioatividade de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolia* Raddi. Óleos essenciais em *Anticarsia gemmatalis* (Hubner 1818). *Braz. Arco. Biol. Tecnologia.* 63: e20200111.
 14. **Martins, M. R., Arantes, S., Candeias, F., Tinoco, M. T., Cruz-Morais, J. (2014).** Propriedades antioxidantes, antimicrobianas e toxicológicas dos óleos essenciais de *Schinus molle* L.. *J. Etnofarmacol.* 151: 485-492.
 15. **Durazzini, A. M. S., Machado, C. H. M., Fernandes, C. C., Miranda, M. L. D. (2019).** Composição química e efeito dos tempos de hidrodestilação no rendimento do óleo essencial das folhas de *Eugenia pyriformis*. *Orbital: Elétron. J. Química.* 5: 334-338.
 16. **Chang, CT, Chang, WL, Hsu, JC, Shih, Y., Chou, ST (2013).** Composição química e atividade inibitória da tirosinase do óleo essencial de *Cinnamomum cassia*. *Robô. Viga.* 54:10.
 17. **Santos, L. S., Fernandes, C. C., Santos, L. S., Candido, A. C. B. B., Magalhães, L. G., Andrade, G., Pires, R. H., Miranda, M. L. D. (2022).** Compostos fenólicos e atividades biológicas do extrato etanólico da fruta verde *Capsicum chinense* (pimenta var. Bode). *Mediterrânico. J. Química.* 12:31-37.
 18. **Delgado-Altamirano, R., Monzote, L., Piñón-Tápanes, A., Vibrans, H., Rivero-Cruz, J. F., Ibarra-Alvarado, C., Rojas-Molina, A. (2017).** Atividade antileishmania in vitro de plantas medicinais mexicanas. *Helyon* 3: e00394.
 19. **Santos, ACA, Rossato, M., Agostini, F., Serafini, LA, Santos, PL, Molon, R., Dellcassa, E., Moyna, P. (2009).** Composição química dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi do Sul do Brasil. *J. Essente. Urso de Petróleo. Pl.* 12: 16-25.
 20. **Morais, S. M., Cossolosso, D. S., Silva, A. A. S., Moraes Filho, M. O., Teixeira, M. J., Campello, C. C., Bonilla, O. H., Paula Júnior, V. F., Vila-Nova, N. S. (2019).** Óleos

- essenciais de espécies de Croton: composição química, avaliação antileishmania in vitro e in silico, atividade antioxidante e citotoxicidade. J. Braz. Química. Soc. 30: 2404-2412.
21. **Soares, D. C., Portella, N. A., Ramos, M. F. S., Siani, A. C., Saraiva, E. M. (2013).** Trans- β -cariofileno: composto antileishmaníaco eficaz encontrado no óleo comercial de copaíba (*Copaifera spp.*). Evídio. Complemento Baseado. Alterar. Med. 2013: 761323.
22. **Afrin, F., Chouhan, G., Islamuddin, M., Want, M. Y., Ozbak, H. A., Hemeg, H. A. (2019).** *Cinnamomum cassia* exibe atividade antileishmania contra a infecção por *Leishmania donovani* in vitro e in vivo. PLoS Negl. Tropa. Dis. 13: e0007227.
23. **Le, TB, Beaufay, C., Nghiem, DT, Mingeot-Leclercq, MP, Quetin-Leclercq, J. (2017).** Atividade anti-leishmania in vitro de óleos essenciais extraídos de plantas vietnamitas. Moléculas 22: 1071.
24. **Brustolin, A. A., Ramos-Milaré, A. C. F. H., Mello, T. F. P., Aristides, S. M. A., Lonardon, M. V. C., Silveira, T. G. V. (2022).** Atividade in vitro do cinamaldeído sobre *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Exp. Parasitol. 236-237: 108244.
25. **Cabral, R. S. C., Fernandes, C. C., Dias, A. L. B., Batista, H. R. F., Magalhães, L. G., Pagotti, M. C., Miranda, M. L. D. (2021).** Óleos essenciais de folhas frescas jovens e adultas de *Protium heptaphyllum* (Burseraceae): composição química, efeitos leishmanicidas e citotóxicos in vitro. J. Essente. Petróleo Res. 33: 276-282.
26. **Barbosa, D. H. X., Gondim, C. R., Silva-Henriques, M. Q., Soares, C. S., Alves, D. N., Santos, S. G., Castro, R. D. (2023).** O óleo essencial de *Coriandrum sativum L.* obtido de cultura orgânica apresenta atividade antifúngica contra *Candida planctônica* e multibiofilme. Braz. J. Biol. 83: e264875.
27. **Souza, A. O., Pereira, P. S., Fernandes, C. C., Andrade, G., Pires, R. H., Candido, A. C. B. B., Magalhães, L. G., Vieira, T. M., Crotti, A. E. M., Martins, C. H. G., Miranda, M. L. D. (2022).** Extrato de hexano de *Spiranthera odoratissima A. St.-Hil.* Folhas: composição química e seu potencial bioativo contra espécies patogênicas de *Candida*, *Leishmania amazonensis* e *Xylella fastidiosa*. Nat. Prod. Res. 36: 2907-2912.
28. **Huong, LT, Chau, DTM, An, NTG, Dai, DN, Ogunwande, IA (2022).** Óleos essenciais de Lauraceae: atividade antimicrobiana e constituintes do óleo essencial de folhas de *Phoebe macrocarpa C. Y. Wu* do Vietnã. J. Essente. Urso de Petróleo. Pl. 25: 297-304.
29. **Taha, AS, Ibrahim, IHM, Abo-Elgat, WAA, Abdel-Megeed, A., Salem, MZM, El-Kareem, MSMA (2023).** GC-MS, cálculo de mecânica quântica e atividade antifúngica do

óleo essencial de goma vermelha de rio quando aplicado a quatro têxteis naturais. *Ciência. Rep.* 13: 18214.

30. **Shreaz, S., Wani, WA, Behbehani, JM, Raja, V., Irshad, Md., Karched, M., Ali, I., Siddiqi, WA, Hun, LT (2016).** Cinnamaldeído e seus derivados, uma nova classe de agentes antifúngicos. *Fitoterapia* 112: 116-131.

31. **Bhattacharya, R., Rolta, R., Dev, K., Sourirajan, A. (2021).** Potencial sinérgico de óleos essenciais com antibióticos no combate a patógenos fúngicos: situação atual e perspectivas futuras. 2021: 1-12.

6. Anexos

Tabela 1. Constituintes químicos do óleo essencial de folhas secas de *S. molle* (OE-SM).

| Compostos | RA% (OE-SM) | RI _{exp} | RI _{lit} |
|-------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|
| α -Tujeno | 2.3 | 930 | 928 |
| β -Pino | 2.2 | 973 | 972 |
| Linalol | 1.5 | 1096 | 1098 |
| Nopinona | 2.0 | 1140 | 1137 |
| <i>trans</i> -Pinocarveol | 5.0 | 1142 | 1140 |
| <i>trans</i> -Verbenol | 4.0 | 1145 | 1144 |
| Pinocarvona | 2.8 | 1161 | 1160 |
| <i>p</i> -Cimen-8-ol | 3.5 | 1179 | 1179 |
| Mirtenal | 4.8 | 1192 | 1193 |
| Verbenona | 3.0 | 1205 | 1197 |
| β -cariofileno | 15.6 | 1419 | 1419 |
| γ -Cadineno | 2.3 | 1523 | 1524 |
| Espatuleno | 20.8 | 1578 | 1576 |
| Óxido de cariofileno | 10.0 | 1583 | 1581 |
| Globulol | 0.9 | 1590 | 1583 |
| Viridiflorol | 1.5 | 1592 | 1592 |
| 1, 10-di- <i>epi</i> -cubenol | 3.1 | 1613 | 1613 |
| Cubenol | 7.0 | 1643 | 1642 |
| α -Cadinol | 4.2 | 1654 | 1653 |
| Khusinol | 1.0 | 1674 | 1674 |
| Total | 97.5 | | |

RI_{exp}: Índice de retenção determinado em relação aos n-alcenos (C₈-C₂₀) na coluna Rtx-5MS; RI_{lit}: Índice de retenção da literatura⁷; RA%: área relativa (área do pico relativa à área total do pico no cromatograma GC/FID).

Tablela 2. Constituintes químicos do óleo essencial da casca de *C. cassia* (OE-CC).

| Compostos | RA% (OE-SM) | RI _{exp} | RI _{lit} |
|-----------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|
| Benzaldeído | 8.5 | 980 | 982 |
| Cinamaldeído | 60.1 | 1189 | 1189 |
| <i>ácido cis-2-metoxicinâmico</i> | 10.5 | 1546 | 1546 |
| Acetato de cinamila | 20.9 | 1588 | 1589 |
| Total | 100 | | |

RI_{exp}: Índice de retenção determinado em relação aos n-alcenos (C₈-C₂₀) na coluna Rtx-5MS; RI_{lit}: Índice de retenção da literatura⁷; RA%: área relativa (área do pico relativa à área total do pico no cromatograma GC/FID).

Tablela 3. Atividade leishmanicida de OE-SM, OE-CC, blend 1, blend 2 e blend 3 contra formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* após 24 horas de incubação.

Controle Positivo: Anfotericina B (IC₅₀ < 3.12 µg/mL).

OE-SM: óleo essencial das folhas secas de *S. molle*; **OE-CC:** óleo essencial da casca de *C. cassia*

| % de inibição da motilidade flagelar ± D.P. (24 Horas) | | | | | | | |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--------------------------|
| Amostras | 100 | 50 | 25 | 12,5 | 6,25 | 3,12 | IC ₅₀ (µg/mL) |
| OE-SM | 100.00±0 | 91.92±4.51 | 55.56±4.17 | 24.49±6.51 | 3.54±5.51 | 0±0 | 21.45 |
| OE-CC | 100.00±0 | 100.00±0 | 93.44±4.62 | 0±0 | 0±0 | 0±0 | 23.27 |
| Blend 1 (75% OE-SM + 25% OE-CC) | 100.00±0 | 83.84±1.33 | 80.23±1.14 | 56.46±2.47 | 49.87±1.24 | 32.70±2.47 | 7.04 |
| Blend 2 (50% OE-SM +50% OE-CC) | 100.00±0 | 90.68±1.33 | 80.04±2.09 | 74.90±0.19 | 57.98±1.71 | 55.51±2.19 | 3.12 |
| Blend 3 (25% OE-SM + 75% OE-CC) | 99.49±0.11 | 99.68±0.11 | 74.40±0.11 | 66.29±0.48 | 58.75±2.47 | 47.53±0.76 | 4.17 |

Tablela 4. Valores de concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) contra espécies de *Candida*

| Amostras | Espécies de <i>Candida</i> (MIC = $\mu\text{g/mL}$) | | | | | | <i>C. rugosa</i> ATCC 10571 | <i>C. metapsilosis</i> ATCC 96143 | <i>C. parapsilosis</i> ATCC 90018 |
|------------------|--|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---|---|
| | <i>C. albicans</i> ATCC 90028 | <i>C. glabrata</i> ATCC 2001 | <i>C. krusei</i> ATCC 6258 | <i>C. orthopsilosis</i> ATCC 96141 | <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 | <i>C. tropicalis</i> ATCC 13903 | | | |
| OE-SM | 62.5 | 62.5 | 31.25 | 31.25 | 62.5 | 125 | 62.5 | 125 | 62.5 |
| OE-CC | 125 | 62.5 | 125 | 125 | 125 | 250 | 250 | 250 | 125 |
| Blend 1 | 62.5 | 62.5 | 100 | 31.25 | 100 | 100 | 31.25 | 100 | 100 |
| Blend 2 | 100 | 125 | 125 | 125 | 62.5 | 31.25 | 125 | 125 | 62.5 |
| Blend 3 | 100 | 62.5 | 62.5 | 250 | 250 | 200 | 200 | 125 | 250 |
| Anfotericina B * | 1.00 | 0.25 | 0.25 | 0.50 | 1.00 | 0.35 | 0.25 | 0.25 | 1.00 |

***Controle positivo;** OE-SM: óleo essencial das folhas secas de *S. molle*; OE-CC: óleo essencial da casca de *C. cassia*; Blend 1 (75% OE-SM + 25% OE-CC); Blend 2 (50% OE-SM +50% OE-CC); Blend 3 (25% OE-SM + 75% OE-CC).

5. Considerações Finais

Os óleos essenciais das folhas frescas e secas de *Schinus molle* foram comparados, identificados e testados, demonstrando elevada atividade contra as cepas da bactéria *Xanthomonas citri*, agente causador da doença do cancro cítrico. E dentre os estudos realizados, foram identificados três constituintes principais, o espatulenol, o β -cariofileno e o óxido de cariofileno. O OE das folhas secas de *S. molle* foi muito mais ativo do que o OE das folhas frescas e o espatulenol. Sendo que essa alta atividade do OE das folhas secas pode ser devido principalmente ao aumento nas concentrações de espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno após a secagem do material vegetal. Este fato reforça a existência de potencial sinérgico entre todos esses constituintes químicos.

Posteriormente foi realizado misturas dos OEs de *S. molle* e de *Cinnamomum cassia*, onde testaram – se os blends contra várias cepas de *Candida* e *Leishmania*, a qual obtiveram – se resultados promissores tanto em valores de IC₅₀ para atividade contra *L. amazonensis* quanto em valores de MIC para atividade antifúngica contra as cepas de *Candida*.

Ressalta – se, portanto, que os óleos essenciais de *S. molle* e de *C. cassia* são promissores no controle do cancro cítrico, da candidíase e da leishmaniose e quando se trata de misturas entre esses dois óleos, os mesmos apresentam elevado sinergismo, tendo potencial eficiente no controle dos patógenos causadores das doenças destacadas acima. Alcançando relevância renomada em sua área de estudo.

Entretanto, outros estudos in vivo serão necessários para conferir a potencialidade desses produtos e serão necessárias novas pesquisas para conhecer os seus mecanismos de ação, justificando que estes estudos são promissores e estão sendo descritos pela primeira vez na literatura.