

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

TATIANE CRISTINA SILVA MAIOLINI

**ANÁLISE METABOLÔMICA E BIOLÓGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
ESPÉCIES DA FAMÍLIA MYRTACEAE COM AÇÃO ANTI-*T.cruzi***

**Alfenas/MG
2022**

TATIANE CRISTINA SILVA MAIOLINI

**ANÁLISE METABOLÔMICA E BIOLÓGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
ESPÉCIES DA FAMÍLIA MYRTACEAE COM AÇÃO ANTI-*T.cruzi***

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutora em Química
pelo Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal de Alfenas.
Área de concentração: Química Orgânica

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marisi Gomes Soares

**Alfenas/MG
2022**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Silva Maiolini, Tatiane Cristina.

Análise metabolômica e biológica de óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae com ação anti-T.cruzi / Tatiane Cristina Silva Maiolini. - Alfenas, MG, 2022.

111 f. : il. -

Orientador(a): Marisi Gomes Soares.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Myrtaceae. 2. Metabolômica. 3. Óleos Essenciais. 4. Trypanossoma cruzi. I. Soares, Marisi Gomes, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

TATIANE CRISTINA SILVA MAIOLINI

"ANÁLISE METABOLÔMICA E BIOLÓGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA MYRTACEAE COM AÇÃO ANTI-*T.cruzi*"

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 23 de setembro de 2022

Profa. Dra. Marisi Gomes Soares
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Profa. Dra. Alessandra Regina Pepe Ambrozini
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Dr. João Olano Neto
Instituição: Embrapa Pecuária Sudeste

Profa. Dra. Regina Maria Geris dos Santos
Instituição: Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Dra. Suzanne Christine Therese Soares de Groote
Instituição: De Groote Desenvolvimento de Energia LTDA



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Regina Pepe Ambrozini, Professor do Magistério Superior**, em 23/09/2022, às 13:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marisi Gomes Soares, Professor do Magistério Superior**, em 23/09/2022, às 13:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Suzanne Christine Therese Soares De Groote, Usuário Externo**, em 26/09/2022, às 14:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Olano Neto, Usuário Externo**, em 26/09/2022, às 16:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **REGINA MARIA GERIS DOS SANTOS, Usuário Externo**, em 30/09/2022, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0815497** e o código CRC **8D817ACE**.

Dedico esse trabalho a minha família, em especial aos meus filhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela sabedoria e força para que eu pudesse desenvolver este trabalho.

Aos meus pais e irmã pela ajuda e confiança depositada a mim. Ao meu esposo também pela ajuda e principalmente paciência e ausência por inúmeras vezes. Ao meu filho, que mesmo sem ter consciência, me deu forças para continuar e concluir essa trajetória.

Aos colegas e amigos do laboratório, em especial, Welton e Lais, que se tornaram mais que amigos.

E, por fim, as professoras do laboratório, e em especial minha orientadora, Marisi, que foi fundamental nesses últimos anos, tanto com conselhos profissionais quanto pessoais.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

Além disso, também houve apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIFAL-MG, por isso deixo meu agradecimento por todo apoio financeiro.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

A Doença de Chagas (DC), causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, é uma Doença Tropical Negligenciada (DTN) que acomete aproximadamente sete milhões de pessoas em todo o mundo com um arsenal terapêutico restrito, sendo o medicamento benzonidazol, o único utilizado para este tratamento no Brasil. A família Myrtaceae é uma das mais importantes da flora brasileira, uma vez que apresenta espécies comestíveis e, principalmente, por apresentar relatos de diversas atividades biológicas. No presente estudo, os óleos essenciais de 18 espécies desta família foram submetidas à técnica de destilação por arraste à vapor para que os mesmos fossem extraídos. Além disso, foram desreplicados 177 compostos diferentes com concentrações compreendendo a 90,4 - 98,1% da composição total. As amostras dos óleos foram submetidas ao método estatístico multivariado não supervisionado PCA, onde foi possível verificar a similaridade e dissimilaridade das diferentes espécies em estudo. Além do mais, foi realizado o ensaio de atividade anti-*T. cruzi in vitro*. Destes, oito óleos essenciais foram considerados promissores ($IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ e $SI > 10$) contra o protozoário: *Calypttranthes brasilienses*, *Calypttranthes widgreniana*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia acutata*, *Eugenia florida*, *Eugenia widgrenii*, *Plinia cauliflora*, e *Psidium guajava*. A análise pelo método estatístico multivariado supervisionado PLS-DA, permitiu identificar compostos (pelo tempo de retenção e índice de Kovats) e apontou (*E*)-cariofileno, α -humuleno, limoneno, óxido de cariofileno e α -copaeno desempenhando um papel importante na ação anti-*T. cruzi*. Por fim, foi realizado o estudo sazonal de seis espécies do estudo inicial, ao qual foram desreplicados 184 compostos diferentes com concentrações compreendendo entre 90.1 – 98.15% da composição total dos OEs. Além disso, também foi realizado ensaio para atividade anti-*T. cruzi* ao qual verificou que em diferentes estações do ano, uma espécie pode ser considerada promissora para tal atividade biológica ou não. Concomitante à sazonalidade, pode-se inferir que a temperatura e índice pluviométrico são fatores importantes e que influenciam na composição química e concentração dos OEs. Assim temos que, deste estudo três espécies produziram OEs promissores ($CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ e $SI > 10$) contra o protozoário

em diferentes estações do ano: *E. uniflora*, nas estações primavera, verão e outono; *P. cauliflora*, nas estações outono e inverno e *P. guajava*, nas estações primavera e inverno. Os resultados obtidos demonstraram o potencial dos óleos essenciais de espécies de Myrtaceae como fontes valiosas de compostos bioativos contra o *T. cruzi*.

Palavras-chave: Myrtaceae; Metabolômica; Óleos Essenciais; *Trypanossoma cruzi*.

ABSTRACT

The Chagas Disease (CD), caused by the flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*, is a neglected tropical disease (NTD) that affects approximately seven million people worldwide with a restricted therapeutic arsenal and the drug benznidazole is the only one used for this treatment in Brazil. The Myrtaceae family is one of the most important of the Brazilian flora, since it presents edible species and, mainly, because it is reported to have several biological activities. In the present study, the essential oils from 18 species of the Myrtaceae family were subjected to the steam distillation technique for extraction. In addition, 177 different compounds were dereplicated with concentrations comprising 90.4 - 98.1% of the total composition. The oil samples were subjected to the unsupervised multivariate statistical method PCA, where the similarity and dissimilarity of the different species under study could be verified. In addition, an *in vitro* anti-*T. cruzi* activity assay was performed. Of these, eight essential oils were considered promising ($IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ and $SI > 10$) against the protozoan: *Calyptanthes brasilienses*, *Calyptanthes widgreniana*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia acutata*, *Eugenia florida*, *Eugenia widgrenii*, *Plinia cauliflora*, and *Psidium guajava*. Analysis by the supervised multivariate statistical method PLS-DA, allowed identifying compounds (by retention time and Kovats index) and pointed out (*E*)-cariofileno, α -humuleno, limoneno, óxido de cariofileno, and α -copaeno playing an important role in anti-*T. cruzi* action. Finally, the seasonal study of six species from the initial study was performed, in this experiment, 184 different compounds were dereplicated with concentrations ranging from 90.1 - 98.15% of the total composition of the EOs. In addition, an assay for anti-*T. cruzi* activity was also performed, which verified that in different seasons of the year, a species can be considered promising for such biological activity or not. Concomitant to seasonality, it can be inferred that temperature and rainfall are important factors that influence the chemical composition and concentration of the EOs. In this study, three species had promising EOs ($CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ and $SI > 10$) against protozoa in different seasons of the year: *E. uniflora*, in spring, summer and fall; *P. cauliflora*, in fall and winter; and *P.*

guajava, in spring and winter. The results obtained demonstrated the potential of essential oils from Myrtaceae species as valuable sources of bioactive compounds against *T. cruzi*.

Keywords: Myrtaceae; Metabolomics; Essencial Oils; *Trypanosoma cruzi*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo do ciclo de vida do parasita <i>T. cruzi</i> da doença de Chagas.	25
Figura 2 - Gráfico que demonstra a correlação de 95% do modelo proposto.	52
Figura 3 - Gráficos em 2D <i>Score Plot</i> de PCA obtidos com todas as amostras dos OEs.....	53
Figura 4 - Gráficos em 3D <i>Score Plot</i> de PCA obtidos com todas as amostras dos OEs.....	54
Figura 5 - Gráficos em 2D <i>Score Plot</i> de PLS-DA obtidos com todas as amostras dos OEs	62
Figura 6 - Gráficos em 3D <i>Score Plot</i> de PLS-DA obtidos com todas as amostras dos OEs.	62
Figura 7 - Variáveis importantes para projeção (VIPs), compostos mais importantes para atividade anti- <i>T.cruzi</i> . Em vermelho VIPs > 1,0. 63	
Figura 8 - Correlação dos compostos, de modo positivo e negativo, mais importantes para atividade anti- <i>T.cruzi</i> . Em vermelho VIPs > 1,0. 64	
Figura 9 - Correlação dos compostos, através do <i>Loading Plot</i>	68
Figura 10 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênicos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpênicos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie <i>Callistemon viminalis</i>	72
Figura 11 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênicos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpênicos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie <i>Eucalyptus citriodora</i>	74
Figura 12 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênicos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpênicos oxigenados (SO) e compostos não classificados	

(NC) de acordo com a estação do ano da espécie <i>Eugenia uniflora</i>	76
Figura 13 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie <i>Myrciaria coronata</i>	77
Figura 14 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie <i>Plinia cauliflora</i>	79
Figura 15 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie <i>Psidium guajava</i>	81
Figura 16 - Correlação dos principais biomarcadores do estudo anterior e suas concentrações no estudo sazonal da espécie <i>Eugenia uniflora</i>	94
Figura 17 - Correlação dos principais biomarcadores do estudo anterior e suas concentrações no estudo sazonal da espécie <i>Plinia cauliflora</i>	95
Figura 18 - Correlação dos principais biomarcadores do estudo anterior e suas concentrações no estudo sazonal da espécie <i>Psidium guajava</i>	95
Figura 19 - Diagramas de Venn com a sobreposição do número de compostos semelhantes no estudo sazonal da espécie <i>Eugenia uniflora</i>	96
Figura 20 - Diagramas de Venn com a sobreposição do número de compostos semelhantes no estudo sazonal da espécie <i>Plinia cauliflora</i>	97
Figura 21 - Diagramas de Venn com a sobreposição do número de compostos semelhantes no estudo sazonal da espécie <i>Psidium guajava</i>	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos casos de Doença de Chagas aguda, 2008 a 2017.	23
Tabela 2 - Distribuição dos casos de Doença de Chagas Aguda, registrados em 2020.....	24
Tabela 3 - Listagem de amostras, códigos, dados de coleta e registro das 18 espécies de Myrtaceae coletadas em Minas Gerais (Brasil).	40
Tabela 4 - Composição dos óleos essenciais de 18 espécies de Myrtaceae coletadas no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats.	42
Tabela 5 - Compostos exclusivos das espécies dos OEs da família Myrtaceae.	49
Tabela 6 - Parâmetros utilizados para determinar o melhor modelo para realização do PCA.....	51
Tabela 7 - Atividade anti- <i>T.cruzi</i> e citotoxicidade dos óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae e controle positivo de Benzonidazol.	56
Tabela 8 - Parâmetros utilizados para determinar o melhor modelo para realização do PLS-DA.	61
Tabela 9 - Tempo de retenção, índice de Kovats, VIPs, coeficiente de correlação e os possíveis compostos mais importantes que influenciam na atividade anti- <i>T.cruzi</i>	65
Tabela 10 - Listagem de amostras, estação do ano, códigos, data da coleta e dados meteorológicos das seis espécies de Myrtaceae coletadas em Minas Gerais.	70
Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats.	83

Tabela 12 - Compostos exclusivos das espécies dos OEs da família Myrtaceae do estudo de sazonalidade de cada estação do ano.....	90
Tabela 13 - Atividade anti- <i>T.cruzi</i> e citotoxicidade de óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae e controle positivo de Benzonidazol.	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2D	Duas dimensões
3D	Três dimensões
ANOVA	Análise de variância
CC ₅₀	Concentração citotóxica de 50% para as células humanas saudáveis testadas
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CI ₅₀	Concentração com eficiência de inibição de 50% dos parasitas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
CL-EM	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
Da	Dalton
DNDi	<i>Drugs for Neglected Diseases Initiative</i>
DTN	Doenças tropicais negligenciadas
EI-MS	<i>Electron Ionization Mass Spectrometer</i>
EM	Espectrometria de massas
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
HM	Hidrocarbonetos Monoterpênicos
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HS	Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos

IK	Índice de Kovats
IS	Índice de seletividade
LAFEPE	Laboratório Federal de Pernambuco
MO	Monoterpenos Oxigenados
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
OEs	Óleos essenciais
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPLS	<i>Orthogonal Partial Least Square</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PLS	<i>Partial Least Squares</i>
Q ²	Parâmetro de correlação
R ²	Parâmetro de correlação
RMN	Ressonância magnética nuclear
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISGEN	Sistema Nacional de Acesso de Gestão de Patrimônio Genético
SO	Sesquiterpenos Oxigenados
T _R	Tempos de retenção
UV-vis	Ultravioleta
VIP	Variáveis importantes para projeção

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	DOENÇA DE CHAGAS	22
2.2	PRODUTOS NATURAIS	28
2.3	METABOLÔMICA	30
2.4	FAMÍLIA MYRTACEAE	34
3	OBJETIVOS	21
3.1	OBJETIVO GERAL	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4	METODOLOGIA	36
4.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	36
4.2	EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	36
4.3	ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR CG-EM	37
4.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI- <i>trypanossoma cruzi</i> E CITOTOXICIDADE	37
4.4.1	Cultura de parasitas e células de mamíferos	37
4.4.1.1	<i>Trypanosoma cruzi</i>	38
4.4.1.2	Células LLC-MK2, NCTC e macrófagos peritoneais de BALB/c	38
4.4.2	Determinação <i>in vitro</i> das concentrações inibitórias a 50% de morte dos parasitas	38
4.4.3	Determinação da citotoxicidade	39
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1.	OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	40
5.2.	ATIVIDADE ANTI- <i>T.cruzi</i> E CITOTOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	54

5.3.	OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PARA ESTUDO DA SAZONALIDADE	69
5.3.1	<i>Callistemon viminalis</i>	71
5.3.2	<i>Eucalyptus citriodora</i>	72
5.3.3	<i>Eugenia uniflora</i>	74
5.3.4	<i>Myrciaria coronata</i>	76
5.3.5	<i>Plinia cauliflora</i>	77
5.3.6	<i>Psidium guajava</i>	79
5.4	ATIVIDADE ANTI- <i>T.cruzi</i> E CITOTOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PARA ESTUDO DA SAZONALIDADE	91
6	CONCLUSÕES	99
	REFERÊNCIAS	102

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, causada pelo protozoário, *Trypanosoma cruzi*, afeta cerca de 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente na América Latina, e estima-se que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a doença (DNDia, 2019; WHO, 2022). Apesar de já ser conhecido o genoma do parasita responsável pela Doença de Chagas, o diagnóstico é difícil, uma vez que, na fase aguda é realizado por meio das provas parasitológicas diretas. Além disso, o parasita está em muitos tecidos e provavelmente em fase latente (CROFT, 2017; DNDia, 2019).

Dentre as opções de medicamentos usados atualmente, se limita ao Nifurtimox e Benzonidazol. Entretanto, o Nifurtimox foi retirado em 1980 do mercado brasileiro, restando apenas o Benzonidazol para o tratamento como tripanocida. Além disso, esse, apresenta alta toxicidade, e há relatos de pacientes, que nas condições clínicas apresentam efeitos colaterais como náuseas, vômitos e intolerância hepática (ESTEVAM, 2017). Além do mais, são eficazes apenas durante a fase aguda e o início da fase crônica, não tendo efeito significativo nos estágios finais da doença de Chagas (DNDia, 2019; MORENO, 2018; PITA, 2011). Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de novos medicamentos no tratamento da Doença de Chagas, o que torna valiosa a busca por novos compostos com tal potencial biológico, principalmente na área de produtos naturais.

Sendo assim, as plantas que carregam os chamados princípios ativos, preparados pela química da natureza em milhões de anos, apresentam, dentre os compostos presentes em plantas, os metabólitos secundários que merecem destaque por apresentarem uma grande diversidade de estruturas e serem vitais para as plantas, apresentando diversas funções como defesa contra herbívoros e patógenos, regulação do metabolismo e perpetuação das espécies vegetais (ANKAD, 2016; DUVAL, 2016; WOLFENDER, 2015). Estes compostos se tornam importantes para os avanços científicos no estudo dos vegetais, uma vez que, os extratos secos, compostos isolados e os óleos essenciais de plantas são, cada vez mais, uma alternativa ao desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de várias doenças, como antibacteriana, anti-inflamatória,

antifúngica, antioxidante e antiprotozoária (AZEREDO, 2013; ESTEVAM, 2017; SILVA, 2010; SILVA, 2013).

Com o surgimento das técnicas de separação mais eficientes, merecem destaque a cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Além disso, a hifenação dessas técnicas analíticas, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (CLAE-EM) permitiu a obtenção de informação mais precisa acerca da composição química das amostras complexas como dos extratos e óleos essenciais das plantas, por exemplo.

Com o uso de técnicas analíticas e análise estatística multivariada, utilizada com o auxílio de *software*, os estudos dos metabólitos (metabolômica), seja de plantas ou outros organismos vivos, pode-se extrair informações relevantes dos dados fornecidos pelas amostras de forma mais rápida, sensível e menos trabalhosa, como a descoberta de compostos bioativos ou biomarcadores, por exemplo.

Dentre as famílias de plantas que apresentam potencial farmacológico, a Myrtaceae é considerada uma das famílias mais importantes da flora brasileira, uma vez que apresenta grande quantidade de espécies comestíveis, para fabricação de suco, doces e até mesmo geléias (CASCAES, 2015; CRUZ, 2004; FARIAS, 2020; FRAUCHES, 2016; STADNIK, 2016). Além disso, pode ser destacada pelas diversas atividades biológicas relatadas na literatura, como atividade analgésica, antibacteriana, anti-inflamatória, antimicrobianas, atividade antioxidante, dentre outras (CASTRO, 2015; FRAUCHES, 2016; RADULOVIC, 2015; RAMADASS, 2015).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A proposta deste trabalho constitui da realização do estudo metabolômico e avaliação biológica dos óleos essenciais de diferentes espécies vegetais da família Myrtaceae, através de ensaios *in vitro*, com *T.cruzi*. E correlacionar os dados obtidos na busca de compostos ativos com atividade anti- *T.cruzi*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Aquisição do material vegetal das diferentes espécies da família Myrtaceae, na Mata Atlântica da cidade de Alfenas-MG e região;
- b) Obtenção dos óleos essenciais das diferentes espécies da família Myrtaceae;
- c) Realização de ensaios *in vitro* para avaliação da atividade tripanocida dos óleos essenciais;
- d) Desreplicação dos constituintes dos óleos essenciais das diferentes espécies da família Myrtaceae analisadas por CG-EM;
- e) Análise de correlação *in silico* por técnicas metabolômicas para determinação dos principais compostos dos OEs responsáveis pela ação tripanocida entre as 18 espécies diferentes;
- f) Estudo da variação sazonal com seis diferentes espécies.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DOENÇA DE CHAGAS

Doenças tropicais negligenciadas (DTN) englobam cerca de 17 doenças, as quais são encontradas principalmente em países subdesenvolvidos, como na região da África Subsaariana, América Central, América do Sul, Sudeste Asiático e o subcontinente indiano. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece a urgência de desenvolver novas ferramentas e tecnologias para combater essas doenças que são consideradas os maiores problemas de saúde do mundo (ALCANTARA, 2021; FERNANDES, 2021). Dentre essas DTN, a Doença de Chagas (DC) destaca-se, pois estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas com o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, o causador da doença. Além disso, segundo a iniciativa de medicamentos para doenças negligenciadas (DNDi – *Drugs for Neglected Diseases Initiative*) calcula-se que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a doença (DNDia, 2019).

Essa doença já esteve restrita ao continente sul americano. Entretanto, nas últimas décadas o padrão epidemiológico dessa doença mudou, devido à mobilidade populacional, urbanização e emigração, passando a ser predominantemente urbana. Como consequência, um número crescente de casos foi detectado no Canadá, Estados Unidos e, em muitos países da Europa (WHO, 2022). Com esse novo quadro de casos de doenças em regiões não endêmicas, surgiu um problema de saúde global. Sendo assim, mais estudos são necessários para tratar não somente a doença de Chagas como também as demais doenças negligenciadas (CROFT, 2017). Além do mais, menos de 10% das pessoas com doença de Chagas nas Américas são diagnosticadas, e somente cerca de 1% das que têm a doença recebe tratamento antiparasitário (DNDia, 2019).

No Brasil, a prevalência da doença de Chagas varia de 1,9 a 4,6 milhões de pessoas infectadas com *T. cruzi*. Segundo o SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação), com dados obtidos entre os anos de 2008 a 2017, a região norte é a mais afetada pelo *Trypanosoma cruzi*. Apesar da queda no número de casos notificados de 2016 para 2017, houve um aumento de mais de

300% desses casos de 2008 a 2017, como se observa na tabela 1 abaixo com dados de julho/2019.

Tabela 1 - Distribuição dos casos de Doença de Chagas aguda, 2008 a 2017.

UF de residencia	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Norte										
Acre	0	1	5	0	0	1	2	6	16	1
Amapá	17	8	6	11	11	10	14	6	6	26
Amazonas	0	3	24	12	6	5	5	24	3	8
Pará	74	202	68	126	168	141	164	220	333	297
Rondônia	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
Roraima	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0
Tocantins	6	0	0	16	0	0	5	1	3	0
Nordeste										
Bahia	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Ceará	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maranhão	5	5	0	10	0	1	1	9	2	1
Pernambuco	0	0	9	5	0	0	0	0	0	0
Piauí	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Rio Grande do Norte	0	0	0	0	0	0	0	0	9	2
Sergipe	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Centro-Oeste										
Goiás	0	0	15	8	0	1	2	0	0	0
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Mato Grosso do Sul	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Sudeste										
Espirito Santo	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Rio de Janeiro	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
São Paulo	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3
Sul										
Rio Grande do Sul	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0
Brasil	104	220	130	190	189	163	196	268	372	340

Fonte: SINAN, 2019

No ano de 2020, segundo boletim emitido em abril de 2021 pelo Ministério da Saúde, foram registrados casos de DC em 9 estados brasileiros, cerca de 95% concentrados na região norte do país, sendo pouco mais de 75% da contaminação por via oral e quase 7% por contaminação vetorial, como se observa na tabela 2. (SARTO, 2021; BRASIL, 2021). Apesar da queda observada em relação aos anos anteriores, ainda há grande número de casos da doença no país.

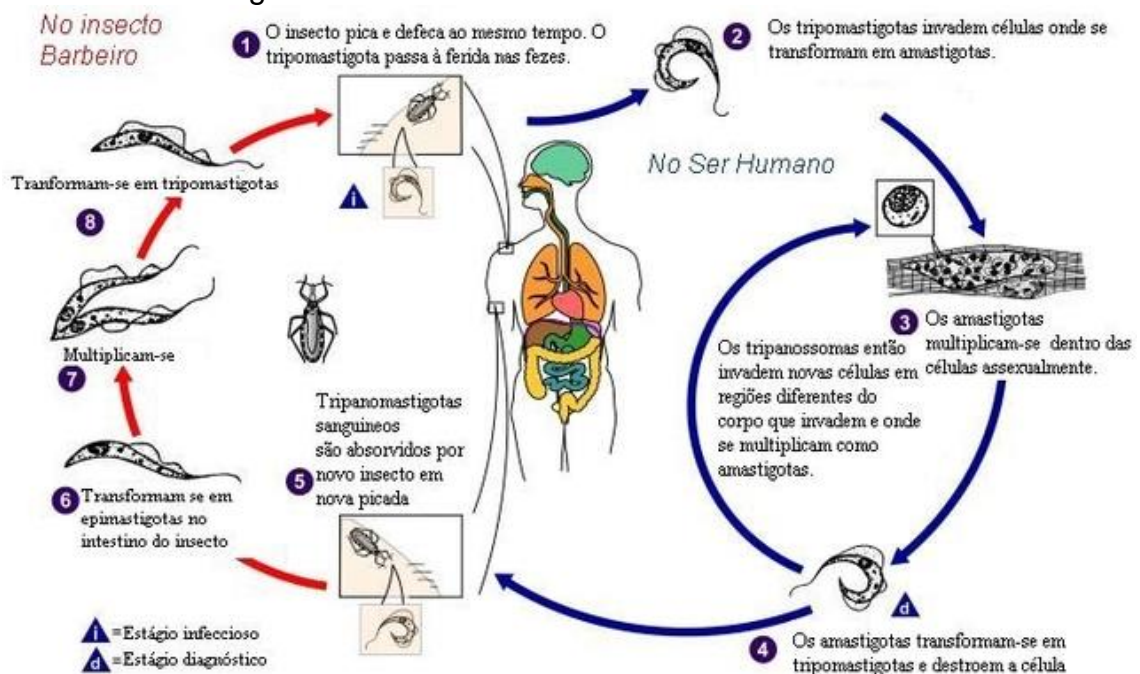
Tabela 2 - Distribuição dos casos de Doença de Chagas Aguda, registrados em 2020.

Região/ Unidade Federada de Infecção	No	%	Taxa de incidência / 100 mil habitantes
NORTE			
Acre	1	0.68	0.05
Amapá	2	1.37	0.12
Amazonas	5	3.42	0.12
Pará	129	88.36	0
Rondônia	1	0.68	1.49
Roraima	0	0.00	0.24
Tocantins	0	0.00	0
	138	94.52	0.74
NORDESTE			
Bahia	3	2.05	0.02
Ceará	0	0.00	0
Maranhão	0	0.00	0
Pernambuco	0	0.00	0
Piauí	0	0.00	0
Rio Grande do Norte	0	0.00	0
Sergipe	0	0.00	0
	3	2.05	0.01
SUDESTE			
Minas Gerais	1	0.68	0
Espirito Santo	0	0.00	0
Rio de Janeiro	3	2.05	0.02
São Paulo	0	0.00	0
	4	2.74	0
SUL			
Paraná	1	0.68	0.01
Santa Catarina	0	0.00	0
Rio Grande do Sul	0	0.00	0
	1	0.68	0
CENTRO-OESTE			
Distrito Federal	0	0.00	0
Goiás	0	0.00	0
Mato Grosso	0	0.00	0
Mato Grosso do Sul	0	0.00	0
	0	0.00	0
BRASIL	146	100	0.07

Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde (2020)

A doença de Chagas, descrita em 1909 por Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, é também conhecida como tripanossomíase americana, causada por um hemoflagelado (protozoário flagelado que parasita o sangue) chamado de *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) (BRITO, 2019). Sua transmissão ocorre por um triatomíneo, sendo que os vetores mais encontrados no Brasil são conhecidos como *Rhodnius prolixus* e *Triatoma infestans*, pertencentes a ordem dos Hemiptera e da família Reduviidae, e popularmente são chamados de barbeiro ou chupão, para um hospedeiro mamífero (LIMA, 2018).

Figura 1 - Esquema representativo do ciclo de vida do parasita *T. cruzi* da doença de Chagas.



Fonte: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html> (modificado), acesso agosto, 2022.

No ciclo biológico do *T. cruzi*, representado pela figura 1, há dois hospedeiros: um invertebrado (triatomíneo) e um mamífero (seres humanos, por exemplo, considerados hospedeiros acidentais) (TORRES-SILVA, 2018). Nos seres humanos, a infecção vetorial clássica geralmente ocorre à noite quando os triatomíneos após o repasto sanguíneo, depositam suas fezes contendo as formas epimastigotas e tripomastigotas metacíclicas do protozoário próximo ao orifício usado para a sucção e a pessoa instintivamente, ao coçar, arrasta as fezes ou a urina, nos olhos, na boca ou em qualquer ruptura da pele (PITA, 2011; TORRES-SILVA, 2018; WHO, 2022).

No sangue periférico dos hospedeiros mamíferos, as formas tripomastigotas, depois de um tempo, diferenciam-se na forma amastigota. Essa é a responsável pela proliferação intracelular do parasita e, após alguns ciclos de replicação (de forma assexuada), as formas amastigotas se diferencia novamente nas formas tripomastigotas, que são liberadas, podendo atingir a corrente sanguínea após a ruptura celular. Devido à sua motilidade, as formas tripomastigotas são capazes de infectar outras células ou tecidos, fechando o ciclo quando um triatomíneo não infectado fizer seu repasto sanguíneo (PITA, 2011).

Os mamíferos também podem ser infectados pelo parasita *T. cruzi* por meio de transfusão de sangue, congênita, transplante de órgãos usando órgãos de doadores infectados, acidentes de laboratório e ingestão de alimentos contaminados, como por exemplo o açaí, com fezes de triatomíneos, sendo esta a principal causa de infecção atualmente (TORRES-SILVA, 2018; WHO, 2022).

Após a infecção por *T. cruzi*, ocorre a fase aguda, que acontece durante 2 meses após a infecção e é caracterizada por alta parasitemia, ou seja, grande número de parasitas que circulam no sangue. Além disso, os sintomas são ausentes ou inespecíficos como: febre, dor de cabeça, palidez, dor muscular, dificuldade em respirar, inchaço e dor abdominal (TORRES-SILVA, 2018; WHO, 2022). Normalmente, décadas após a fase aguda, os pacientes entram na fase crônica da doença, tendo, essa fase, como característica um amplo espectro de sintomas e baixa parasitemia (VALBUSA, 2019; WHO, 2022). Nessa fase, cerca de 30% dos pacientes sofrem de cardiomiopatias (caracterizada por cardiomiopatia dilatada, insuficiência cardíaca congestiva e defeitos do sistema de condução), até 10% tem alterações digestivas (na maioria das vezes, aumento do esôfago ou cólon) e um pequeno número de pessoas podem apresentar sintomas neurológicos (TORRES-SILVA, 2018; VALBUSA, 2019; WHO, 2022).

Apesar de já ser conhecido o genoma do parasita responsável pela doença de Chagas, o diagnóstico é difícil, uma vez que, na fase aguda é realizado por meio das provas parasitológicas diretas, ou seja, busca-se visualizar diretamente no microscópio o parasita no sangue da pessoa com suspeita de infecção, entretanto, normalmente, não há sintomas nessa fase. Além disso, o parasita está em muitos tecidos e provavelmente em fase latente (CROFT, 2017; DNDia, 2019).

Desta forma, as opções de medicamentos usados atualmente se limitam a dois medicamentos: Nifurtimox (lançado em 1967, pela Bayer®) e Benzonidazol (lançado em 1972, pela Roche®, e hoje produzido pelo Laboratório Federal de Pernambuco – LAFEPE) (CROFT, 2017; DNDi, 2019; PITA, 2011). Entretanto, os mesmos apresentam efeitos adversos relacionados à alta toxicidade, inúmeros efeitos colaterais, genotoxicidade. A impossibilidade de uso em pacientes com quadro psiquiátrico, neurológico, renal ou doenças hepáticas. Vale ressaltar que, o Nifurtimox foi retirado em 1980 do mercado brasileiro, restando apenas o Benzonidazol para o tratamento como tripanocida. Além disso, sua eficácia é parcial, uma vez que para ter sucesso no tratamento o Benzonidazol precisa ser administrado logo após a infecção, incluindo os casos de transmissão congênita, porém, os sintomas iniciais ou agudos da doença de Chagas, muitas vezes, são confundidos com outras patologias, o que dificulta o tratamento. Além do mais, esses medicamentos são ineficazes na fase crônica da doença (ARIAS, 2021; DNDi, 2019; GALVÃO, 2021; MORENO, 2018; WHO, 2022).

Considerando-se o arsenal terapêutico restrito e a toxicidade relatada dos medicamentos atuais no tratamento da doença de Chagas, faz-se necessária a busca por alternativas terapêuticas mais seguras e eficazes, incluindo o uso de plantas medicinais como fonte de novos compostos o que sugere o desenvolvimento de atividades nas diversas áreas da química, como área de produtos naturais, a qual podemos ressaltar a fitoquímica.

Além disso, de acordo com a literatura, as atividades anti-*T. cruzi* reportadas de compostos de óleos essenciais (OEs) englobam uma vasta quantidade, sendo que alguns merecem destaque, como por exemplo, óxido de cariofileno, citral, (*E*)-cariofileno, eugenol, limoneno, mirceno, nerolidol, α -cadinol, α -copaeno, α -pineno, α -selineno, (*E*)-cariofileno, β -selineno e ρ -cimeno. Esses compostos foram reportados como compostos principais devido à sua grande porcentagem em algumas espécies, mas também em pequenas concentrações em outras (CARNEIRO, 2017; COSTA, 2012; ESTEVAM, 2017; ESTEVAM, 2018; FERNANDES, 2021; MORENO, 2018; PEREIRA, 2021; SALES, 2016; SILVA, 2013). Vale a pena destacar ainda a importância do efeito sinérgico provocado pelos compostos encontrados em quantidades inferiores.

3.2 PRODUTOS NATURAIS

As plantas produzem os chamados princípios ativos, preparados pela química da natureza em milhões de anos. Segundo a Ciência, os segredos da cura de muitas enfermidades estão guardados nas matas, principalmente da América Latina. No Brasil, centenas de plantas medicinais há séculos são pesquisadas e utilizadas na manutenção da boa saúde (ANKAD, 2016).

Compostos presentes em plantas, de um modo geral podem ser agrupados em duas grandes classes: os metabólitos primários e os metabólitos secundários. As plantas sintetizam os metabólitos primários que são essenciais para o funcionamento das células tendo por função: nutrição, crescimento e desenvolvimento das mesmas pela produção de lipídios, carboidratos e proteínas, ou seja, substâncias que são essenciais para sua sobrevivência, metabolismo básico.

E também sintetizam, através da biossíntese, uma grande diversidade de metabólitos secundários que não estão presentes de forma ubíqua entre elas, sendo em geral características de um grupo restrito, como uma família ou um gênero, ou até mesmo exclusivos a uma espécie. Os metabólitos secundários, apesar de receberem esse nome, as substâncias oriundas dessas vias são vitais para as plantas, apresentando funções como: defesa contra herbívoros e patógenos, proteção contra raios UV e poluição, atração de polinizadores e dispersores de sementes, regulação do metabolismo e perpetuação das espécies vegetais. (DUVAL, 2016; WOLFENDER, 2015).

A utilização das plantas medicinais tem sido muito significativa nos últimos anos, merecendo incentivo da OMS. No entanto, o uso popular, e mesmo o tradicional, não são suficientes para validar cientificamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros (CUNHA, 2009). Assim, o uso das plantas para fins medicinais tem despertado um grande interesse pelo conhecimento da sua composição química. Nas últimas décadas, observa-se um amplo avanço científico no estudo dos vegetais, uma vez que, os extratos, compostos isolados e os óleos essenciais de plantas são cada vez mais uma alternativa ao desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de várias doenças (SILVA, 2010).

Os OEs são misturas complexas de metabólitos secundários que estão se tornando a cada dia mais atraentes, pois há um grande arsenal de compostos

bioativos aos quais, apresentam uma vasta quantidade de atividades biológicas, como antibacteriana, anticâncer, anti-inflamatória, antimutagênica, antifúngica, antioxidante e antiprotozoária (AZEREDO, 2013; ESTEVAM, 2017). De acordo com a literatura, a atividade farmacológica de um OE é relacionada a seus principais componentes, entretanto, não se deve descartar o efeito sinérgico provocado pelos compostos encontrados em quantidades inferiores. (DIAZ, 2018; ESTEVAM 2017). Existem evidências de que os OEs têm baixa densidade e rápida difusão nas membranas celulares causado, provavelmente, pela sua solubilidade lipídica, devido à presença de terpenos, que são os principais responsáveis pelo caráter hidrofóbico dos OEs, permitindo sua difusão através da membrana celular do parasito e, como consequência, levando a sua morte. (CARNEIRO, 2017; ESTEVAM, 2017; SALES, 2016; SANTOS, 2019)

Os OEs além de serem uma mistura complexa de metabólitos secundários, diversos fatores influenciam seu rendimento e sua composição química. Esses podendo ser por interferências internas e/ou externas, ou seja, interface química entre plantas (processo bioquímicos e/ou fisiológicos) e ambiente (sazonal e/ou diárias, por exemplo). Desta forma, podemos destacar alguns fatores que remontam à variabilidade química: o desenvolvimento da planta/idade, ao qual há relatos em que tecidos mais novos geralmente tem maior taxas biosintética de metabolitos; ritmo circadiano, onde há interferência na composição química ou concentração dos compostos dependendo do período do dia ou noite ao qual ocorre a coleta; radiação ultravioleta (UV), fator que está relacionada à maior ou menor incidência luminosa; sobre a altitude, há poucos estudos utilizando este fator e está diretamente relacionado às radiações UV, ou seja, quanto maior a altitude mais susceptíveis os compostos estão as radiações. Assim como os demais fatores citados anteriormente, a temperatura é um dos maiores influenciadores e não há estudos deste, uma vez que este é uma consequência dos fatores altitude e sazonalidade. Assim como o índice pluviométrico, tem que ser levado em consideração sua distribuição mensal, anual ou sazonal e a capacidade de absorção de água do solo pela planta. E por fim, a sazonalidade, é um dos fatores mais importantes para variabilidade química, um vez que depende da estação do ano ao qual o material foi coletado (COSTA, 2009; DE CAMARGO, 2018; RAPOSO, 2018).

Neste sentido, a definição do período em que o material vegetal é coletado é de grande relevância, uma vez que a produção dos metabólitos secundários pela planta depende de fatores ambientais que variam de acordo com a sazonalidade, como, por exemplo, temperatura, precipitação pluviométrica e incidência solar. Sendo assim, vale destacar que os fatores que alteram a composição e/ou concentração dos metabólitos secundários não atuam isoladamente, mas concomitantemente.

3.3 METABOLÔMICA

Dentro do campo das ciências ômicas, que inclui a genômica (estudo da alteração dos genes), a transcriptômica (estudo das alterações dos transcritos), a proteômica (estudo das alterações das proteínas), um dos novos campos é a metabolômica a qual é responsável pelo estudo da descrição dos metabólitos, ou seja, é definida como a análise qualitativa e quantitativa abrangente de todos os metabólitos (o metaboloma) presente em um organismo. Esses metabólitos, como já dito anteriormente, são os metabólitos primários (essenciais para a sobrevivência dos organismos) e metabólitos secundários. Nesse grupo incluem-se: terpenos, alcalóides, policetídeos, hormônios e polifenóis (BELINATO, 2019; BOUFRIDI, 2016; CANUTO, 2018; YULIANA, 2011a;).

A metabolômica emergiu como uma tecnologia valiosa para o perfil e a comparação abrangente de metabólitos em sistemas biológicos, tendo como principal objetivo reunir a maior quantidade possível de informações metabólicas de um organismo ou sistema biológico. Na análise metabolômica (termo introduzido em 2001, por Oliver Fiehn, como sendo a análise abrangente e quantitativa do metaboloma de um sistema biológico) o principal interesse está nas moléculas, produzidas por organismos vivos por meio da interação com enzimas biossintéticas, que apresentam baixa massa molar (<1000 Da) (BELINATO, 2019; BOUFRIDI, 2016; CANUTO, 2018; DE VOS, 2007).

Além disso, a metabolômica tem desempenhado um papel essencial na pesquisa ao ser empregada em diferentes áreas, como ecologia química, clínica, nutrição, e principalmente a área de produtos naturais, que envolve animais, parasitas, microorganismos e plantas, sendo estas, as que merecem destaque, pois são especialmente ricas em metabólitos quimicamente diversos e com variedade de

concentrações, influenciadas a partir de fatores genéticos e também externos, sendo uma fonte importante de inspiração para o desenvolvimento de novos medicamentos em potencial, ou seja, são as grandes responsáveis pelo desenvolvimento/descoberta de novas drogas. Além do mais, a metabolômica pode servir como uma ferramenta eficaz para investigar os mecanismos de toxicidade e atividade de produtos naturais, uma vez que o perfil metabólico tem o papel de identificar a toxicidade no início do processo de descoberta de medicamentos, o que pode economizar tempo e dinheiro para empresas farmacêuticas (DE VOS, 2007; ZHAO, 2018).

Entretanto, existem desafios consideráveis em experimentos metabolômicos, pois devido à complexidade química e a heterogeneidade dos metabólitos, há grandes dificuldade tecnológica na aquisição do perfil simultâneo de todos os metabólitos, uma vez que, atualmente, nenhum método analítico é capaz de extrair e detectar todos os metabólitos. Assim, há necessidade de protocolos específicos para o preparo de amostras, uma vez que, principalmente os extratos vegetais, que são formados por misturas complexas, é necessário um método específico de extração capaz de extrair a maior variedade possível de metabólitos. Além disso, é necessário uma técnica de análise adequada para detectar a ampla variedade dos metabólitos extraídos, assim como a estratégia mais eficiente de processamento e interpretação dos dados analíticos, uma vez que ainda ocorre a construção de bibliotecas de metabólitos consolidadas. Assim, faz-se necessário o uso de diferentes ferramentas analíticas a fim de se identificar e classificar metabólitos de várias classes (BELINATO, 2019; DE VOS, 2007; YULIANA, 2011a; YULIANA, 2011b).

A espectrometria de massas (EM) é a técnica de análise mais usada na metabolômica, uma vez que proporciona análises rápidas, com alta sensibilidade e seletividade. Entretanto, como se trata de amostras complexas há necessidade da hifenação de técnicas, como a cromatografia para a separação dos compostos antes de serem analisados. Sendo assim, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) é uma técnica de análise muito utilizada em estudos metabolômicos, uma vez que apresenta alta robustez e repetibilidade. Além disso, centenas de compostos podem ser analisados simultaneamente. Apresenta uma grande vantagem para a aplicação em estudos metabolômicos que é a disponibilidade de bibliotecas espectrais, o que confere alta credibilidade na identificação dos metabólitos, pois combina a informação de tempo de retenção e o

padrão de fragmentação obtido, em decorrência da ionização por ionização de elétrons. A desvantagem da técnica está na necessidade de apresentar compostos estáveis a altas temperaturas, uma vez que a análise ocorre para compostos voláteis (BELINATO, 2019; CANUTO, 2018).

Outra técnica muito utilizada é a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CL-EM) que se tornou uma importante ferramenta analítica para a metabolômica, uma vez que analisa compostos polares e não polares pouco voláteis e é considerada uma técnica abrangente no que se refere à classe de compostos a serem analisadas, devido à grande variedade de fontes de ionização. É uma técnica analítica que apresenta alta robustez, sensibilidade e seletividade, além de ser de fácil operação. Portanto, os compostos detectáveis por CL-EM incluem os principais grupos de metabólitos secundários, visto que há um maior número de compostos com as polaridades destacadas acima, sendo os mais importantes economicamente. Além disso, essa técnica permite tanto análises qualitativas quanto análises quantitativas, fornecendo informações estruturais a partir de dados EM/EM (BELINATO, 2019; CANUTO, 2018; DE VOS, 2007).

Já a ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica robusta e abrangente, apesar de precisar de pouca quantidade de amostra e não destruir a mesma após análise, as abordagens metabolômicas baseadas nesta técnica ainda são restritas, pois apresentam baixa sensibilidade e seletividade, apresentando regiões espectrais com sobreposição de sinais e são necessários equipamentos de alta resolução (CANUTO, 2018; DE VOS, 2007).

Os estudos em metabolômica podem ser divididos em duas estratégias, os chamados *target* (metabolômica alvo) ou direcionada, que se trata de análise quantitativa de um grupo de metabólitos, seja esse grupo associado a uma via metabólica específica ou relacionado à uma determinada classe química, assim, o mesmo visa o monitoramento desses para estabelecer uma relação entre a diferença entre as amostras com alguma propriedade dos metabólitos selecionados. Ou seja, é uma abordagem que visa a análise de compostos específicos. Já a estratégia chamada de *untarget* (metabolômica global) ou não-direcionada, se trata de uma análise qualitativa do maior número de metabólitos possível, pertencentes a diferentes classes químicas, contidas em um determinado sistema biológico alvo. Nesta abordagem, a composição química das amostras em estudo é totalmente

desconhecida e a análise de todos os componentes detectáveis permite a identificação dos compostos que as diferenciem, ou seja, é uma ferramenta de triagem para discriminar amostras de diferentes estados biológicos (os chamados biomarcadores) (BELINATO, 2019; CANUTO, 2018; YI, 2016).

As etapas de aquisição dos dados gerados a partir das análises metabolômicas são abundantes, complexas e representam uma importante etapa destes estudos e, por isso, ferramentas adequadas ao tratamento de dados devem ser empregadas a fim de evitar erros de interpretação dos resultados e manter a integridade das variações biológicas investigadas. Assim, os arquivos gerados tanto de CG-EM, CL-EM quanto de RMN precisam passar por um refinamento, etapa esta conhecida como processamento, para eliminação de ruídos - filtragem (separar o sinal proveniente de um composto na amostra biológica de um sinal chamado de ruído ao qual é proveniente de interferência química ou instrumental, facilitando a etapa de detecção de picos), deconvolução (identificar e quantificar os sinais de diferentes compostos nas amostras que apresentam o mesmo tempo de retenção, identificando os sinais verdadeiros e evitar falsos positivos). Além de reduzir a complexidade dos dados tornando a análise posterior viável e alinhamento de picos (visa corrigir os diferentes tempos de retenção de um mesmo metabólito em corridas diferentes - entre diferentes amostras), bem como a normalização dos dados (visa corrigir a variação sistemática e escalar dos dados para que diferentes amostras em um estudo possam ser comparadas entre si, ou seja, deixando todos os íons em uma mesma escala). Existem diversos *softwares* livres e comerciais destinados ao processamento de dados, como OpenMS, MetAlign, MZmine, entre outros, que permitem o tratamento destes dados (BELINATO, 2019; CANUTO, 2018; YI, 2016).

A análise de dados ou análise estatística é indispensável para a “mineração” de dados e a interpretação visual, ou seja, é usada para extrair informações relevantes dos dados fornecidos, como a descoberta de compostos bioativos, por exemplo. Os métodos de análises podem ser do tipo univariada ou multivariada. Nas análises univariadas, as variáveis de estudo (metabólitos) são avaliadas separadamente, sendo as mais utilizadas o teste t de *Student* ou análise de variância (ANOVA). Já os métodos multivariados podem ser subdivididos em análise não-supervisionada, ao qual demonstram uma correlação entre diferentes amostras de acordo com a sua composição química verificando tendências e formando conglomerados de dados ou

clusters de acordo com as similaridades das amostras. As análises não-supervisionadas mais utilizadas em metabolômica são análise de componentes principais (PCA - *Principal Component Analysis*) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA - *Hierarchical Cluster Analysis*). Já os métodos supervisionados, como PLS (*partial least squares*) ou OPLS (*orthogonal projections to latent structure*), utilizam estruturas de dados conhecidas para verificar padrões e regras afim de classificar amostras, prever informações sobre novos dados e determinar biomarcadores, como, por exemplo, constatar o grau de "similaridade biológica" entre as amostras para a determinação de compostos bioativos (BELINATO, 2019; BOUFRIDI, 2016; CANUTO, 2018; YI, 2016).

Após a análise de dados, a etapa que se segue para o estudo da metabolômica é a desreplicação (anotação de picos), um processo desafiador e demorado, que consiste da identificação dos compostos de interesse. Essa identificação pode ocorrer pela comparação das fragmentações sofridas, pelos diferentes métodos cromatográficos e/ou espectrométricos, das amostras de interesse que forneceram uma impressão digital da estrutura molecular que podem ser comparadas com as bibliotecas de espectros construídas no próprio laboratório de análise, ou pelo uso de bibliotecas comerciais, como a NIST (do inglês, *National Institute of Standards and Technology*). Os casos em que não é possível identificar as estruturas moleculares, chamados de *hits*, pode ser indício de um composto com estrutura inédita (BELINATO, 2019; BOUFRIDI, 2016; CANUTO, 2018; YI, 2016).

3.4 FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae faz parte do grupo principal das Angiospermas, contendo cerca de 5800 espécies, e 120-130 gêneros, aproximadamente, em todo mundo, mas principalmente em regiões tropicais e subtropicais, como América do Sul, Austrália e Ásia Tropical (FARIAS, 2020; FRANCO 2021; FRAUCHES, 2016; SANTOS, 2019). Os principais gêneros dessas famílias são *Eugenia* (600 espécies), *Eucalyptus* (300 espécies), *Myrcia* (300 espécies), *Syzygium* (200 espécies), *Malaleuca* (100 espécies) e *Psidium* (100 espécies). No Brasil, é considerada uma das famílias mais importantes da flora brasileira, e envolve cerca de 23-27 gêneros e em torno de 1.000 espécies distribuídas por todo território (CASCAES, 2015; FARIAS, 2020; STADNIK, 2016). As

espécies desta família são economicamente importantes, e apresentam grande potencial agroindustrial, devido à alta prevalência de espécies comestíveis e também são utilizadas na medicina tradicional. Frutos comestíveis, como, *Psidium guajava* (goiaba), *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba), *Eugenia uniflora* (pitanga), são utilizadas para fabricação de suco, doces e até mesmo geléias. Espécies de *Eucalyptus spp*, são cultivadas para, quando atingir o estado de maturidade, serem colhidas para produção de papel e/ou carvão vegetal (CASCAES, 2015; FARIAS, 2020; FRAUCHES, 2016; STADNIK, 2016).

Além de seu uso como alimento e na indústria, muitos OEs de plantas pertencentes às espécies de Myrtaceae apresentam bioatividades diversas, como atividade analgésica, antibacteriana, anticancerígena, anticonvulsivante, antidiabética, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante, antimalárica, antimicrobiana, anti-parasitária, antisséptica, antiviral, propriedade citotóxica, expectorante, inseticida, atividade anti-Leishmania e *T.cruzi*. (DURAZZINI, 2019; EL-NASHAR, 2021; FALEIRO, 2017; FARIAS 2021; FRANCO, 2021; FRAUCHES, 2016; KHAZRAEI, 2021; SALMAZZO, 2019; SANTOS, 2019; SURBHI, 2021)

4 METODOLOGIA

4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Este trabalho consistiu no estudo dos óleos essenciais das folhas frescas de dezoito diferentes espécies da família Myrtaceae, e destas, realizou-se o estudo da sazonalidade em seis espécies. As espécies foram coletadas, com o acompanhamento de um biólogo, João Pedro Costa Elias, na Mata Atlântica e/ou na região do perímetro urbano dos municípios de Alfenas-MG, Elói Mendes-MG e Paraguaçu-MG entre junho e agosto de 2017 para o primeiro estudo e, para o estudo da sazonalidade a coleta foi realizada entre junho de 2017 e abril de 2018. Para a coleta, visando não prejudicar a existência das espécies, foi levado em consideração as suas condições/ disponibilidades no ambiente.

Foram incluídas no estudo diferentes espécies com relatos na literatura de diversas atividades biológicas, incluindo atividades antioxidante, atividade antiparasitária, na medicina popular, espécies comestíveis (frutas), além de espécies sem estudo químico e/ou biológico prévio. Todas as espécies foram identificadas pelo professor Marcelo Polo e tiveram suas exsicatas depositadas no herbário UALF da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG.

Do mesmo modo, todas as espécies foram cadastradas no Sistema Nacional de Acesso de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), de acordo com as normas vigentes, podendo ser identificadas no sistema sob registro número A20C5C9.

4.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Folhas frescas foram reduzidas a pequenos pedaços e submetidas individualmente a técnica de destilação por arraste à vapor (hidrodestilação), em aparelho tipo Clevenger, por aproximadamente 4 horas, onde foram extraídos os óleos essenciais e armazenados em freezer a - 15 °C. As folhas que, após a coleta não foi possível fazer as extrações imediatamente, eram mantidas intactas e refrigeradas a 5°C a 8°C por até 3 dias até que os óleos essenciais fossem extraídos. Posteriormente esses óleos essenciais foram analisados em um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-

17A conectado a um espectrômetro de massas MS-QP-5050A, do laboratório de toxicologia da UNIFAL-MG e parte dos mesmos foram encaminhados ao laboratório Novos Fármacos – Doenças Negligenciadas do Instituto Adolfo Lutz para realização do teste de atividade anti-*Trypanossoma cruzi* e citotoxicidade.

4.3 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS POR CG-EM

As análises dos óleos essenciais das diferentes espécies foram realizadas por CG-EM, um cromatógrafo a gás Shimadzu (GC-17A) conectado a um espectrômetro de massas (MS-QP-5050A), com injetor automático split (Shimadzu AOC-20i), série homologa de n-alcanos (C10 – C27), coluna capilar RtX-5 (5% fenil, 95% polidimetilsiloxano 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm; Restek, Bellefonte, PA, USA) e o tratamento dos dados foi realizado através do software CG-EM Solution. Para essas análises foram realizadas injeções de 1,0 µL de óleo essencial diluído (1:100µL (v/v) – óleo essencial/hexano grau HPLC - Sigma-Aldrich (USA), com temperatura de 225°C, em um modo Split, split ratio, 50:1; a temperatura da interface foi de 250°C, sendo hélio o gás de arraste utilizado com uma velocidade de 46,1 cm/s linear e pressão de 99,3 KPa; a temperatura do detector foi de 240°C, operando com o seguinte programa de temperatura do forno: 60°C mantida durante 2 minutos, elevando-se a 3°C/min até 240°C, mantida durante 5 min, sendo a temperatura da fonte igual a 200°C. As análises em EI-MS foram conduzidas sob uma voltagem de 70 eV e a temperatura da fonte ionizadora foi de 200°C. Os índices de retenção de todos os compostos foram determinados pelo índice de Kovats. As identificações dos compostos dos óleos essenciais das diferentes espécies foram realizadas individualmente comparando-se os índices de Kovats e espectros de massas juntamente com os padrões de fragmentação, daqueles compostos já descritos na literatura (ADAMS, 2017) e da biblioteca espectral (NIST08.LIB).

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*trypanossoma cruzi* E CITOTOXICIDADE

4.4.1 Cultura de parasitas e células de mamíferos

4.4.1.1 *Trypanosoma cruzi*

As formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) foram cultivadas em células (LLC-MK2-ATCC CCL-7) em meio RPMI-1640, suplementado com 2% de soro fetal bovino, à temperatura de 37°C em estufa com 5% CO₂. As formas intracelulares de *T. cruzi* foram obtidas através da adição de suas formas tripomastigotas a macrófagos em uma proporção de 5:1 (parasitas/macrófagos), incubadas por 4 horas (GRECCO, 2017).

4.4.1.2 Células LLC-MK2, NCTC e macrófagos peritoneais de BALB/c

Macrófagos peritoneais foram coletados das cavidades peritoneais de fêmeas de camundongos BALB/c, através de lavagem com meio RPMI-1640, sem indicador de pH (vermelho de fenol), suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células LLC-MK2 e NCTC (clone 929, ATCC) foram mantidas em meio RPMI-1640 sem vermelho de fenol, suplementado com 10% de soro fetal bovino a 37°C em estufa umidificada com 5% de CO₂ (GRECCO, 2017).

4.4.2 Determinação *in vitro* das concentrações inibitórias a 50% de morte dos parasitas

O potencial antiparasitário das amostras frente a tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* foi determinado inicialmente através da porcentagem de morte dos parasitas à uma concentração de 200 µg/mL. As amostras foram dissolvidas em DMSO e diluídas em meio de cultura, até atingir a concentração pré-estabelecida, foram incubados com 1x10⁶ parasitas/poço em placas de 96 poços por 24 horas, em estufa de CO₂ (5%) à 37°C para os ensaios antitripanosoma. A viabilidade de ambos os parasitas foi determinada através de suas atividades mitocondriais, utilizando o ensaio colorimétrico com MTT - brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio) a 570 nm, após 48 horas. As amostras que apresentaram 100% de morte do parasita à concentração de 200 µg/mL tiveram os valores de CI₅₀ definidos seguindo o mesmo protocolo, porém, testadas diluindo-se a amostra de forma seriada (200 – 0.1 µg/mL).

4.4.3 Determinação da citotoxicidade

A toxicidade das amostras foi determinada frente a células saudáveis NCTC - clone 929, aplicadas a 6×10^4 células por poço com as substâncias em meio M-199, diluídas serialmente e mantidas em estufa com 5% CO₂ a 37°C. A viabilidade celular foi determinada através do ensaio colorimétrico do MTT após 48 horas de incubação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Foram obtidos óleos essenciais (OEs) de folhas de 18 espécies da família Myrtaceae por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger. Na tabela 3, estão listados o nome das espécies, nome popular, seus códigos, data de coleta, localização, coordenadas geográficas e número das exsiccatas.

Tabela 3 - Listagem de amostras, códigos, dados de coleta e registro das 18 espécies de Myrtaceae coletadas em Minas Gerais (Brasil).

Espécies	Nome Popular	Código	Data da coleta ^a	Localização ^b	Coordenadas	Nº Exsicata
<i>Callistemon viminalis</i>	Espanja de garrafa	CV	24 de Julho	Alfenas	21°25'27.5" S, 45°56'51.2" W	968
<i>Calyptanthus brasilienses</i>	-	CB	02 de Agosto	Alfenas (Frag "F")	21°25'28.7" S, 46°05'44.8" W	2245
<i>Calyptanthus widgeniana</i>	-	CW	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'17.0" S, 45°53'10.8" W	3210
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	Gabiroba	CX	31 de Julho	Paraguaçu	21°32'11.1" S, 45°43'30.7" W	2168
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto	EC	31 de Julho	Paraguaçu	21°33'53.1" S, 45°43'26.5" W	875
<i>Eugenia acutata</i>	Cambijuva	EA	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'15.2" S, 45°53'11.3" W	3104
<i>Eugenia florida</i>	Pitanga preta	EF	20 de Agosto	Alfenas, Porto	21°25'36.2" S, 46°07'30.2" W	3110
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitanga	EU	24 de Julho	Alfenas	21°25'20.6" S, 45°57'04.3" W	1645
<i>Eugenia widgrenii</i>	-	EW	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'09.7" S, 45°53'13.5" W	2234
<i>Marlierea laevigata</i>	-	ML	02 de Agosto	Alfenas (Porto)	21°25'36.2" S, 46°07'30.2" W	2124
<i>Marlierea racemosa</i>	-	MR	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'15.2" S, 45°53'11.3" W	3268
<i>Myrcia fenziiana</i>	-	MF	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'17.0" S, 45°53'10.8" W	3223
<i>Myrcia hebeptala</i>	"Aperta-guéla"	HM	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'17.0" S, 45°53'10.8" W	3225
<i>Myrcia venulosa</i>	Araçazinho	MV	26 de Julho	Alfenas (Matão)	21°30'15.2" S, 45°53'11.3" W	3224
<i>Myrciaria coronata</i>	Jabuticaba coroada	MC	28 de Julho	Elói Mendes	21°35'59.0" S, 45°33'55.7" W	1678
<i>Plinia cauliflora</i>	Jabuticaba	PC	24 de Julho	Alfenas	21°25'58.8" S, 45°57'42.0" W	1798
<i>Psidium guajava</i>	Goiaba	PG	24 de Julho	Alfenas	21°25'30.6" S, 45°56'53.3" W	1025
<i>Siphoneugena densiflora</i>	-	SD	14 de Julho	Alfenas (Porto)	21°25'22.0" S, 46°07'42.7" W	3219

Fonte: Da autora

Legenda: ^aTodas as expedições de coletas foram realizadas em 2017.

^bAs amostras foram coletadas nos municípios de Alfenas, Paraguaçu ou Elói Mendes, todos localizados no Estado de Minas Gerais, Brasil. Localizações específicas do campo são dadas entre parênteses.

As folhas frescas hidrodestiladas das diferentes espécies proporcionaram óleos essenciais viscosos, com diferentes aromas e cores, sendo amarelo (mais encontrado), branco e verde. Os óleos essenciais foram analisados em triplicata por CG-EM (coluna capilar RTX-5).

A desrepliação dos compostos dos óleos essenciais foi realizada individualmente comparando-se os índices de Kovats e espectros de massas juntamente com os padrões de fragmentação, daqueles compostos já descritos na

literatura (ADAMS, 2017) e/ou pela biblioteca espectral de massas. Nesse caso usou-se o NIST08, software próprio do equipamento.

As análises de CG-EM permitiram a obtenção de 177 compostos diferentes com concentrações relativas compreendendo a 90,4 - 98,1% da composição total dos OEs estudados, demonstrando que o método utilizado para desreplicação é eficaz. Destes, a menor quantidade de compostos identificados por desreplicação foi 22, representando 98.1% e a maior foi 67, representando 94.9% da quantidade total dos EOs. Além disso, os sesquiterpenos foi o grupo mais representativo, estando presentes, em maior quantidade, em cerca de 94% das espécies. Aproximadamente 78% deles mostraram ser compostos por hidrocarbonetos sesquiterpênicos como compostos majoritários, que variaram de 40,9 a 76,9% da composição total. Os sesquiterpenos oxigenados foram os principais compostos, compreendendo aproximadamente 56% das espécies e variando de 10,3 a 42,2% da composição total. Nem todas as espécies apresentaram concentrações de monoterpenos, sendo que 83% das espécies apresentaram hidrocarbonetos monoterpenos com concentrações variando de 0.9 – 59.3% e apenas 56% apresentaram monoterpenos oxigenados, com suas concentrações variando de 0.5 – 95.4%, como se observa na tabela 4 a seguir.

Por se tratar de estudo de uma família, ao qual há 11 gêneros diferentes, verificamos que esses OEs exibiram uma ampla diversidade química. Analisando visualmente os compostos dos OEs (Tabela 4), observamos que 0.10% dos compostos são similares a quase todas as espécies (apresentando-se em mais de 70%) e são esses: (*E*)-2-Hexenal, α -pineno, β -pineno, α -copaeno, α -gurjuneno, (*E*)-cariofileno, α -guaiano, aromadendreno, α -humuleno, *allo*-aromadendreno, γ -muuroleno, β -seleneno, α -muuroleno, δ -cadineno, espatulenol, viridiflorol, epiglobulol, α -muurolol. Vale ressaltar que esses compostos são encontrados em diferentes concentrações para cada uma das espécies. Entretanto, de todos os compostos desreplicados, 58 são exclusivos de algumas destas espécies em estudo, como se observa na Tabela 5. Destes, cerca de 83% estão com concentração abaixo de 1%, 12% com concentração variando de 1 - 6% e 5% com concentrações elevadas, como (*2E,6E*)-metil farnesoato, citronela e citronelol com concentrações de 17.6%, 49.1% e 39.6%, respectivamente, sendo o primeiro característico da *C. brasilienses* e os demais da *E.citriodora*.

Tabela 4 - Composição dos óleos essenciais de 18 espécies de Myrtaceae coletadas no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

Compostos ^(a)	RT ^(b)	LI ^(c)	RI ^(d)	CV	CB	CW	CX	EE	EA	EF	EU	EW	ML	MR	MF	HM	MV	MC	PC	PG	SD	CI.	
31	linalol	11.32	1096	1082	0.5	-	-	-	0.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.1	-	OM	
32	n-nonanal	11.51	1100	1104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	NC	
33	exo-fenchol	12.28	1121	1138	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
34	trans-pinocarveol	12.99	1139	1131	0.3	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
35	neo-isopulegol	13.37	1148	1196	-	-	-	-	4.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
36	isopulegol	13.43	1149	1196	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	
37	citronela	13.58	1153	1125	-	-	-	-	49.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
38	iso-isopulegol	13.86	1159	1196	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
39	isoborneol	13.87	1160	1138	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
40	borneol	14.29	1165	1138	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO	
41	terpinen-4-ol	14.66	1177	1137	1.1	0.8	0.2	0.6	-	-	-	-	0.8	-	0.5	-	-	-	-	-	0.2	OM	
42	α-terpineol	15.21	1188	1143	4.2	-	-	1.9	-	-	-	-	0.9	-	1.4	-	-	-	1.5	1.7	-	HM	
43	trans-p-menta-1(7),8-dien-2-ol	15.24	1189	1201	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
44	citronelol	16.80	1225	1179	-	-	-	-	39.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
45	cis-p-menta-1(7),8-dien-2-ol	17.00	1230	1201	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
46	neral	17.32	1238	1174	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
47	geraniol	17.95	1252	1228	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
48	geranial	18.62	1267	1174	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
49	metil nerolato	19.34	1282	1252	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	
50	8-hidroxi-neo-mentol	21.44	1330	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	OM	
51	δ-elemeno	21.77	1338	1377	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.2	0.7	0.3	2.2	1.1	-	0.8	HS	
52	α-acetato de terpinila	22.26	1349	1333	-	-	-	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	NC	
53	α-cubebeno	22.33	1351	1344	-	0.2	1.2	-	-	-	-	0.2	-	0.1	1.7	0.2	0.6	0.2	-	-	0.5	HS	
54	α-longipineno	22.41	1352	1403	-	-	-	-	-	-	-	-	1.2	-	-	0.5	-	-	-	-	-	HS	
55	α-ylangeno	23.43	1375	1221	-	1.4	0.1	0.3	-	0.3	-	0.1	0.2	-	tr	0.4	-	0.2	0.2	-	0.6	HS	
56	α-copaeno	23.49	1376	1221	-	2.8	4.9	3.3	-	7.5	6.0	2.0	4.5	0.9	4.4	0.8	2.8	1.5	2.6	2.8	2.5	0.9	HS
57	isoleno	23.48	1376	1419	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	0.1	0.3	-	-	4.2	HS	
58	acetato de geranila	23.70	1381	1352	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	
59	α-bourboneno	22.80	1383	1344	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	HS	
60	β-bourboneno	24.05	1388	1339	-	0.3	0.9	-	-	0.7	tr	0.1	-	-	0.3	0.2	-	0.5	0.7	-	-	HS	

Tabela 4 - Composição dos óleos essenciais de 18 espécies de Myrtaceae coletadas no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

Compostos ^(a)	RT ^(b)	LI ^(c)	RI ^(d)	CV	CB	CW	CX	EE	EA	EF	EU	EW	ML	MR	MF	HM	MV	MC	PC	PG	SD	CI.	
61	β-cubebeno	24.04	1388	1339	-	0.1	0.4	-	-	1.0	0.2	0.1	-	-	0.3	0.2	1.0	0.1	0.2	0.2	-	0.3	HS
62	β-elemeno	24.15	1390	1398	-	1.3	4.5	-	-	2.6	1.4	0.7	-	0.2	0.4	-	0.5	0.6	1.8	0.3	-	-	HS
63	sativeno	24.21	1391	1339	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
64	(Z)-cariofileno	24.95	1408	1494	-	-	-	-	0.5	-	-	2.1	-	0.8	-	-	2.7	2.0	-	-	6.9	1.5	HS
65	α-gurjuneno	25.00	1409	1419	-	1.7	0.3	0.6	-	0.2	tr	0.2	0.2	-	0.1	0.1	0.3	0.6	-	0.2	0.3	-	HS
66	(E)-cariofileno	26.36	1419	1494	-	5.3	19.1	14.7	0.8	16.1	10.9	2.3	9.0	2.5	11.9	8.2	5.2	3.4	5.4	4.2	4.5	2.8	HS
67	β-copaeno	25.90	1432	-	-	-	0.2	-	-	-	0.1	-	-	tr	0.1	0.1	0.2	0.4	0.4	0.2	-	0.1	HS
68	β-gurjuneno	25.95	1433	1403	-	-	-	-	-	0.9	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.8	-	-	HS
69	γ-elemeno	26.08	1436	1465	-	0.2	0.2	-	-	-	-	11.9	-	-	-	0.2	3.4	-	-	-	-	-	HS
70	α-guaieno	26.20	1439	1490	-	0.4	4.2	0.7	-	6.5	-	0.3	3.9	-	0.2	0.1	0.1	0.2	4.5	4.1	4.5	-	HS
71	aromadendreno	26.27	1441	1386	-	1.3	-	-	-	0.8	1.7	3.0	0.3	0.7	0.8	1.6	2.0	4.4	1.9	3.4	0.8	1.5	HS
72	2-fenil etil butanoato	26.28	1441	1458	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
73	6,9-guaiadieno	26.39	1444	-	-	-	0.1	-	-	0.5	-	-	-	-	0.2	-	-	-	0.4	0.3	0.1	2.2	HS
74	cedrano	26.62	1449	1393	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	HS
75	cis-muurolo-3,5-dieno	26.64	1450	-	-	tr	0.1	-	-	-	-	-	-	tr	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
76	α-himachaleno	26.68	1451	1494	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.1	-	-	-	0.5	-	-	-	HS
77	espirolepequineno	26.69	1451	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	HS
78	trans-muurolo-3,5-dieno	26.78	1453	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	0.1	-	0.2	-	-	-	HS
79	α-humuleno	26.82	1454	1579	-	1.5	6.4	7.0	0.1	4.7	2.5	1.9	1.1	0.2	1.2	0.7	1.2	0.8	1.0	0.8	2.4	0.4	HS
80	β-santaleno	27.05	1459	1425	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
81	sesquisabineno	27.06	1459	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
82	allo-aromadendreno	27.07	1460	1386	0.1	1.0	0.7	-	-	1.6	1.0	1.7	0.9	0.4	3.0	1.3	0.9	2.1	1.3	2.5	0.2	3.2	HS
83	cis-cadina-1(6),4-dieno	27.18	1463	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	-	-	-	-	HS
84	9-epi-(E)-cariofileno	27.33	1466	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	HS
85	cis-muurolo-4(14),5-dieno	27.35	1466	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	HS
86	dauca-5,8-dieno	27.60	1472	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	1.0	HS
87	4,5-di-epi-aristolocheno	27.63	1473	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	HS
88	trans-cadina-1(6),4-dieno	27.77	1476	1440	-	0.1	0.6	-	-	0.1	0.1	-	-	0.2	0.6	0.3	0.1	0.1	0.3	-	-	0.1	HS
89	γ-gurjuneno	27.80	1477	1461	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	0.1	-	-	-	1.4	HS
90	γ-muurolo	27.91	1479	1435	-	1.1	1.6	1.6	-	2.0	1.2	1.5	0.5	0.4	1.6	2.0	2.2	1.6	2.1	2.1	0.4	6.2	HS

Tabela 4 - Composição dos óleos essenciais de 18 espécies de Myrtaceae coletadas no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

	Compostos^(a)	RT^(b)	LI^(c)	RI^(d)	CV	CB	CW	CX	EE	EA	EF	EU	EW	ML	MR	MF	HM	MV	MC	PC	PG	SD	CI
121	<i>trans</i> -cadin-1,4-dieno	30.18	1534	1440	-	0.1	1.4	-	-	-	-	-	0.2	-	0.7	0.1	0.4	-	0.1	-	-	0.4	HS
122	α -cadineno	30.33	1538	1440	-	-	0.6	-	-	0.4	0.3	-	0.1	tr	0.5	0.7	1.2	0.7	0.8	1.9	-	1.1	HS
123	furopelargona A	30.39	1540	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	SO
124	α -panasinseno	29.30	1540	1416	-	-	0.2	-	-	0.5	0.5	-	0.1	26.7	0.1	-	-	0.1	-	-	0.4	0.2	HS
125	α -calacoreno	30.62	1545	1547	-	-	-	-	-	0.7	0.2	0.1	1.1	-	-	-	0.2	-	-	-	0.3	0.5	HS
126	selina-3,7(11)-dieno	30.66	1546	1507	-	5.8	0.7	1.8	-	-	-	-	-	0.1	0.1	-	-	0.2	0.2	0.2	-	0.1	HS
127	β -vetiveneno	31.02	1555	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	HS
128	germacreno B	31.24	1561	1603	-	3.9	3.4	0.3	-	0.1	-	5.2	-	0.1	1.1	2.6	0.4	7.2	2.1	0.6	-	-	HS
129	(<i>E</i>)-nerolidol	31.32	1563	1564	-	-	-	0.6	-	0.4	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	SO
130	β -calacoreno	31.43	1565	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	HS
131	maaliol	31.53	1567	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.7	0.3	0.2	-	-	-	-	SO
132	palustrol	31.56	1568	1530	-	4.6	-	-	-	-	-	-	1.3	-	tr	-	-	0.5	-	-	-	-	SO
133	álcool cariofilenílico	31.70	1572	1677	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-	SO
134	espatulenol	31.96	1578	1536	0.3	1.7	1.3	-	-	1.2	0.9	3.7	-	0.1	0.4	1.6	1.7	3.4	2.9	4.0	-	5.1	SO
135	óxido de cariofileno	32.16	1583	1507	-	-	1.7	1.7	0.1	5.4	3.1	-	4.6	-	-	-	-	-	5.4	7.7	5.2	0.4	SO
136	gleenol	32.33	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO
137	β -copaen-4 α -ol	32.49	1590	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	SO
138	globulol	32.50	1590	1530	-	1.4	-	0.8	-	0.3	-	-	-	0.1	0.7	7.8	2.4	6.7	0.3	0.2	0.1	0.9	SO
139	viridiflorol	32.58	1592	1530	0.2	0.6	0.3	0.5	-	0.2	0.1	-	0.3	0.1	0.1	1.8	0.4	1.4	-	0.3	-	0.6	SO
140	cubeban-11-ol	32.70	1595	-	0.2	1.2	0.2	-	-	-	-	0.7	0.4	-	tr	2.3	0.2	1.1	0.3	0.7	-	-	SO
141	<i>epi</i> -globulol	31.55	1600	1530	0.4	2.0	1.2	-	-	0.3	0.4	1.9	-	-	0.6	3.8	2.5	3.0	1.4	0.6	0.2	0.6	SO
142	guaiol	32.92	1600	1614	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	SO
143	rosifoliol	32.89	1600	1598	0.1	-	0.1	-	-	-	-	0.8	-	-	-	2.7	1.0	2.3	0.4	0.9	-	-	SO
144	ledol	32.99	1602	1530	-	0.8	0.3	-	-	0.1	0.1	0.3	6.0	-	-	-	-	0.8	0.4	1.2	tr	-	SO
145	β -atlantol	33.20	1608	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	SO
146	epóxido de humuleno II	33.21	1608	-	-	-	0.2	0.2	-	0.6	0.1	0.2	0.4	-	-	-	-	-	0.6	1.5	0.4	-	SO
147	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	33.60	1618	-	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	SO
148	2,7Z-bisaboladien-4-ol	33.60	1619	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	SO
149	junenol	33.61	1619	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	1.6	1.2	0.4	-	-	-	-	SO
150	1- <i>epi</i> -cubenol	33.95	1628	-	-	0.7	0.8	1.3	-	-	-	-	-	-	-	1.2	0.7	0.6	-	-	-	-	SO

Tabela 4 - Composição dos óleos essenciais de 18 espécies de Myrtaceae coletadas no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Conclusão)

	CV	CB	CW	CX	EE	EA	EF	EU	EW	ML	MR	MF	HM	MV	MC	PC	PG	CV
Hidrocarbonetos Monoterpênicos (HM)	21.1	6.2	8.1	27.7	0.9	1.2	26.5	0.0	37.4	59.3	45.0	0.0	0.0	10.2	5.9	11.8	6.0	5.9
Monoterpenos Oxigenados (MO)	72.6	0.8	1.3	14.8	95.4	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	4.1	9.7	10.8	0.0
Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos (HS)	0.3	51.2	76.9	40.9	1.3	73.8	51.4	62.7	36.5	38.2	47.9	50.8	71.2	56.0	59.9	47.7	41.5	67.2
Sesquiterpenos Oxigenados (SO)	1.3	17.6	10.3	12.0	0.1	17.5	5.9	28.2	17.6	0.4	2.6	42.2	20.2	27.0	19.9	22.0	33.6	18.1
Não classificado (NC)	2.0	19.1	0.3	1.6	0.4	1.8	12.7	1.0	2.6	0.2	1.2	0.2	2.6	1.1	0.6	0.0	1.0	0.5
Total (%)	97.3	94.9	96.8	97.0	98.1	94.3	96.5	91.9	95.3	98.1	97.1	93.2	94.1	94.4	90.4	91.2	93.0	91.7
Compostos identificados desrepliação	37	67	61	51	22	59	53	47	51	51	58	51	53	59	47	47	53	63

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: ^a Os compostos são listados em ordem de seu LI;

^b RT = tempo de retenção (min);

^c RI = índice de retenção relativo à série homóloga de n-alcenos (C10 –C27) usando coluna RTX-5;

^d LI = Índice de retenção de literatura;

Hidrocarbonetos monoterpênicos (HM);

Monoterpenos oxigenados (MO);

Hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS);

Sesquiterpenos oxigenados (SO).

Traço (<0,1%)

Compostos não detectados são marcados como (-).

Tabela 5 - Compostos exclusivos das espécies dos OEs da família Myrtaceae.

Espécies	Compostos exclusivos
<i>C. viminalis</i>	2,4-dimetil-3-pentanona; acetato de isopentil; isobutil isobutirato; <i>p</i> -menta-1(7),8-dieno isoborneol; borneol; <i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol <i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol; 2-fenil etil butanoato agglomerono
<i>C. brasilienses</i>	acifileno; bulnesol; (2 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)-farnesoato de metila (2 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)-acetato de farnesila
<i>C. widigeniana</i>	-
<i>C. xanthocarpa</i>	acetato de geranila; β -santaleno; (<i>E</i>)-metil isoeugenol
<i>E. citriodora</i>	neo-isopulegol; isopulegol; citronela; iso-isopulegol citronelol; neral; geraniol; geranial; 8-hidroxi-neo-mentol
<i>E. acutata</i>	<i>trans</i> - β -guaieno
<i>E. florida</i>	(Z)-4-hexenol; sesquisabineno; <i>cis</i> - β -guaieno
<i>E. uniflora</i>	sativeno; selina-1,3,7(11)-trien-8-ona selina-1,3,7(11)-trien-8-ona epóxido
<i>E. widgrenii</i>	(Z)-3-hexenal; <i>trans</i> -pinocarveol; 2.3-diidro-farnesol
<i>M. laevigata</i>	Δ^2 -carena; Δ^3 -carena
<i>M. racemosa</i>	-
<i>M. fenzliana</i>	amorfa-4,7(11)-dieno
<i>M. hebeptala</i>	cedrano; <i>cis</i> -muurola-4(14),5-dieno
<i>M. venulosa</i>	<i>trans</i> -pinocarveol
<i>M. coronata</i>	espirolepequineno; α -alasqueno
<i>P. cauliflora</i>	β -vetiveneno; <i>epi</i> - α -cadinol
<i>P. guajava</i>	benzaldeído; álcool cariofilenílico β -copaen-4 α -ol; 2,7 (Z)-bisaboladien-4-ol
<i>S. densiflora</i>	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno; <i>trans</i> -cicloisolongifol-5-ol furopelargona A; β -atlantol; eremoligenol; α -eudesmol

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ao observar a Tabela 4, concluímos que é muito difícil realizar qualquer tipo de análise qualitativa da composição dos óleos devido à grande diversidade química, seja pelo grande número de compostos ou por suas concentrações. Sendo assim, faz-se necessário o estudo metabolômico usando análises multivariadas.

Desta forma, foi realizada, inicialmente, uma análise multivariada não-supervisionada (PCA), a qual demonstra a semelhança entre os compostos das espécies estudadas através de cálculos matemáticos das variações dos conjuntos de dados.

Para que se realize o PCA de forma que seja confiável deve-se verificar os parâmetros para que o melhor modelo matemático seja utilizado. Para isso precisa-se levar em consideração os valores R^2 , e esse deve ser maior que 0,5 ou 50%, o que indica uma boa correlação entre amostras de alta complexidade, como é o caso dos OEs (DUARTE, 2016). Nesse caso usou-se o software MassLynx[®].

Para o estudo metabolômico, através do software MassLynx[®], a escolha do modelo matemático é feito manualmente para encontrar o melhor R^2 . Utilizou-se os parâmetros *change transform*, ao qual apresenta três formas distintas (none, automatic, automatic (condicional) e o modelo de normalização, *change scaling*, apresenta cinco formas diferentes (none, center, unit variance, pareto e 5% of mean). Para este estudo foram utilizados dois componentes principais, uma vez que verificou-se que com essa quantidade foi suficiente para encontrar valores de R^2 superiores ao ideal, como se observa na Tabela 6 abaixo:

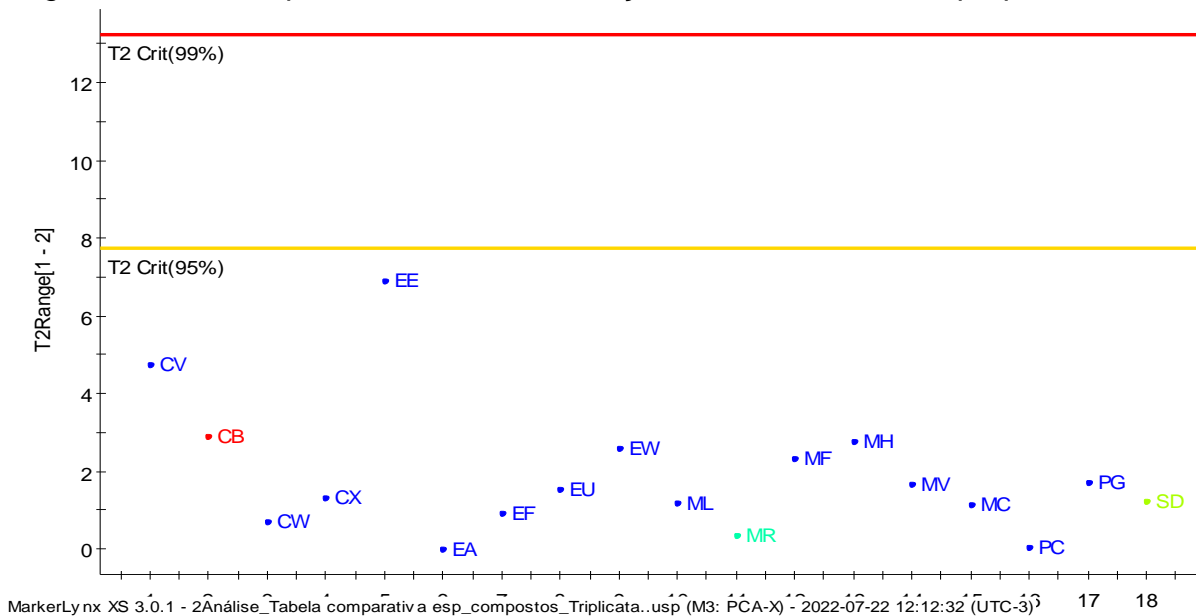
Tabela 6 - Parâmetros utilizados para determinar o melhor modelo para realização do PCA.

Change Transform	Change Scaling	Nº de Componentes	R²
None	None	2	67%
None	Center	2	65%
None	Unit Variance	2	30%
None	Pareto	2	39%
None	5% of Mean	2	30%
Automatic	None	2	80%
Automatic	Center	2	66%
Automatic	Unit Variance	2	34%
Automatic	Pareto	2	41%
Automatic	5% of Mean	2	34%
Automatic (Conditional)	None	2	78%
Automatic (Conditional)	Center	2	39%
Automatic (Conditional)	Unit Variance	2	35%
Automatic (Conditional)	Pareto	2	37%
Automatic (Conditional)	5% of Mean	2	35%

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Verifica-se que há cinco modelos aos quais os valores de R² estão acima de 50%, e dentre eles, o maior apresenta valor de R² igual a 80%, entretanto esse não foi selecionado pois apresentou *outlier*. Já com o valor de R² igual a 78%, todas as espécies se encontraram dentro da correlação de 95% do modelo proposto, como se observa na Figura 2 abaixo.

Figura 2 - Gráfico que demonstra a correlação de 95% do modelo proposto.

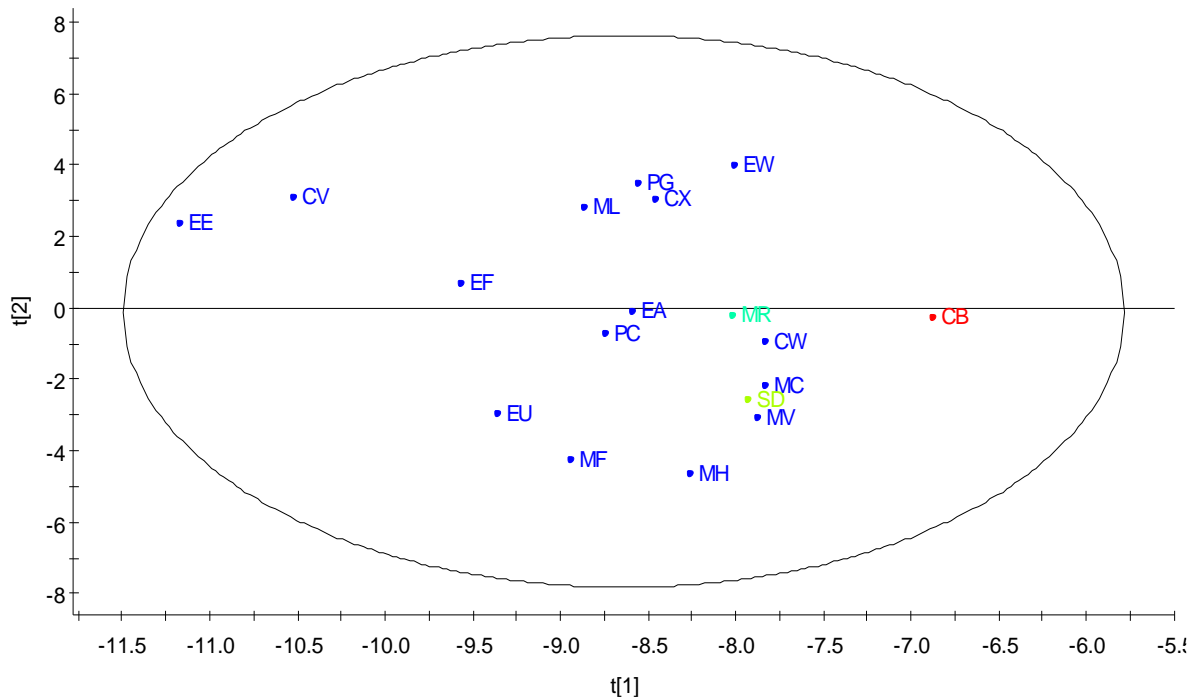


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: CV: *Callistemon viminalis*; CB: *Calypttranthes brasilienses*; CW: *Calypttranthes widigeniana*; CX: *Campomanesia xanthocarpa*; EE: *Eucalyptus citriodora*; EA: *Eugenia acutata*; EF: *Eugenia florida*; EU: *Eugenia uniflora*; EW: *Eugenia widgrenii*; ML: *Marlierea laevigata*; MR: *Marlierea racemosa*; MF: *Myrcia fenzliana*; MH: *Myrcia hebeptala*; MV: *Myrcia venulosa*; MC: *Myrciaria coronata*; PC: *Plinia cauliflora*; PG: *Psidium guajava*; SD: *Siphoneugena densiflora*.

Ao realizar as análises por PCA não se observou nenhuma informação relevante. Ao se observar a figura 3, onde, com o gráfico *Score Plot* de duas dimensões (2D), não se verifica proximidade entre as espécies que possuem o mesmo gênero. Assim, apenas por esse modo de visualização, equivocadamente, poderíamos descrever que as espécies de mesmo gênero não apresentam semelhanças entre si.

Figura 3 - Gráficos em 2D *Score Plot* de PCA obtidos com todas as amostras dos OEs.



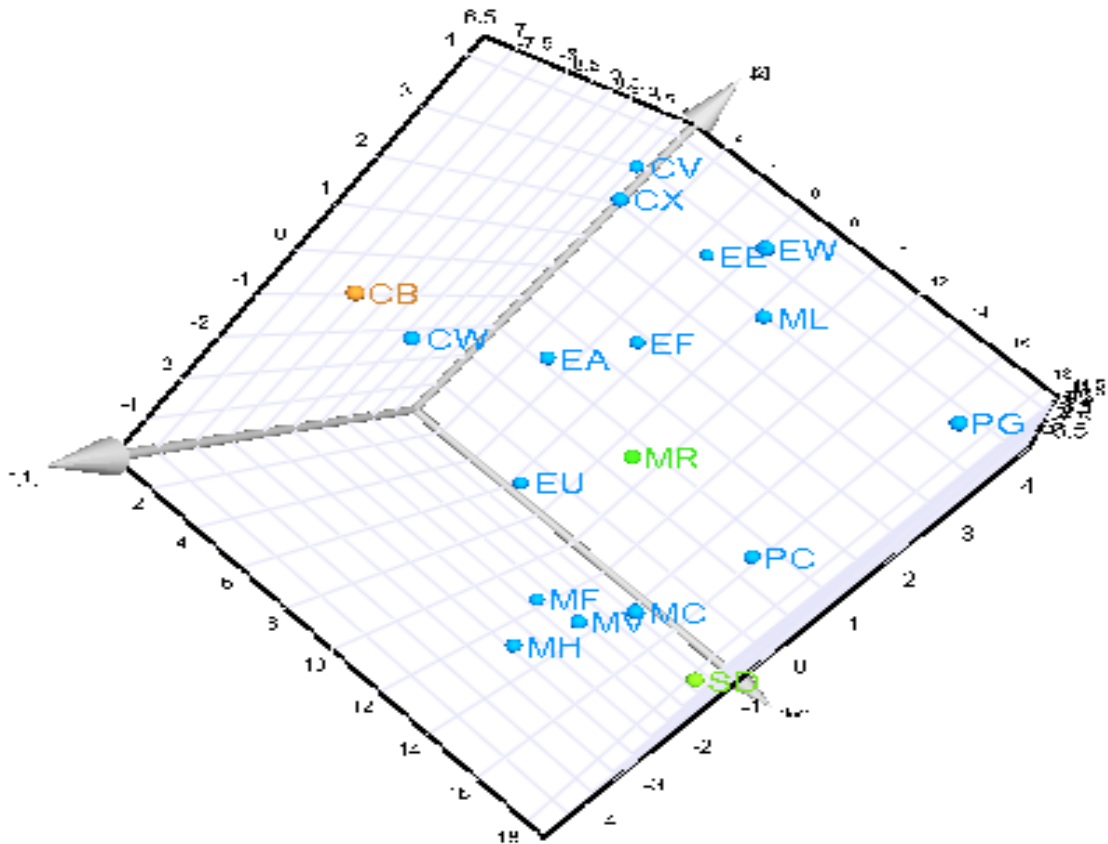
MarkerLynx XS 3.0.1 - 2Análise_Tabela comparativa esp_compostos_Triplicata..usp (M3: PCA-X) - 2022-07-22 11:36:10 (UTC-3)

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: CV: *Callistemon viminalis*; CB: *Calypttranthes brasilienses*; CW: *Calypttranthes widgeniana*; CX: *Campomanesia xanthocarpa*; EE: *Eucalyptus citriodora*; EA: *Eugenia acutata*; EF: *Eugenia florida*; EU: *Eugenia uniflora*; EW: *Eugenia widgrenii*; ML: *Marlierea laevigata*; MR: *Marlierea racemosa*; MF: *Myrcia fenzliana*; MH: *Myrcia hebeptala*; MV: *Myrcia venulosa*; MC: *Myrciaria coronata*; PC: *Plinia cauliflora*; PG: *Psidium guajava*; SD: *Siphoneugena densiflora*.

Entretanto analisando a Figura 4, o gráfico *Score Plot* de três dimensões (3D), observa-se que as espécies do gênero *Calyptranthes* se encontram muito próximas, assim como o gênero *Myrcia* e duas espécies do gênero *Eugenia* (*E. acutata* e *E. florida*), indicando que essas espécies podem apresentar similaridade na composição química. Também é possível pressupor que espécies do mesmo gênero não apresentam similaridade entre si, como as demais espécies do gênero *Eugenia* (*E. uniflora* e *E. widgrenii*) e as espécies do gênero *Marlierea* que estão distantes entre si.

Figura 4 - Gráficos em 3D Score Plot de PCA obtidos com todas as amostras dos OEs.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: CV: *Callistemon viminalis*; CB: *Calypttranthes brasilienses*; CW: *Calypttranthes widigeniana*; CX: *Campomanesia xanthocarpa*; EE: *Eucalyptus citriodora*; EA: *Eugenia acutata*; EF: *Eugenia florida*; EU: *Eugenia uniflora*; EW: *Eugenia widgrenii*; ML: *Marlierea laevigata*; MR: *Marlierea racemosa*; MF: *Myrcia fenzliana*; MH: *Myrcia hebeptala*; MV: *Myrcia venulosa*; MC: *Myrciaria coronata*; PC: *Plinia cauliflora*; PG: *Psidium guajava*; SD: *Siphoneugena densiflora*.

Desses OEs estudados há 4 espécies frutíferas comuns (*Eugenia uniflora*, *Myrciaria coronata*, *Plinia cauliflora*, *Psidium guajava*), e também não se observa semelhança entre as mesma. Apenas as duas espécies de jabuticaba (*Myrciaria coronata* e *Plinia cauliflora*) apresentam relativamente próximas, o que presume-se presença de alguns compostos em comum.

5.2. ATIVIDADE ANTI-*T.cruzi* E CITOTOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

O ensaio anti-*T.cruzi* foi realizado com as 18 amostras de óleos essenciais das diferentes espécies, como listadas na Tabela 7. Como controle positivo, utilizou-se o benzonidazol, uma vez que atualmente é o único medicamento utilizado para tratamento da doença de Chagas no Brasil. Os valores obtidos de CI_{50} representam a média e o desvio padrão das amostras duplicadas, e foram determinados para a forma tripomastigota de *T.cruzi* e o valor de CC_{50} foi determinado pelas células NCTC.

Dos dezoito diferentes OEs estudados, onze deles apresentaram valores de CI_{50} inferiores a 10 $\mu\text{g/mL}$ contra formas tripomastigotas do *T. cruzi* e podem ser considerados ativos (CARNEIRO, 2017; ESTEVAM, 2017; FERNANDES, 2021; SANTOS, 2019;): *E. florida* ($CI_{50} = 0,3 \mu\text{g/mL}$), *E. acutata* ($CI_{50} = 1,4 \mu\text{g/mL}$), *C. brasilienses* ($CI_{50} = 1,6 \mu\text{g/mL}$), *P. cauliflora* ($CI_{50} = 2,7 \mu\text{g/mL}$), *C. xanthocarpa* ($CI_{50} = 3,4 \mu\text{g/mL}$), *P. guajava* ($CI_{50} = 4,0 \mu\text{g/mL}$), *M. fenzliana* ($CI_{50} = 4,7 \mu\text{g/mL}$), *E. widgrenii* ($CI_{50} = 7,4 \mu\text{g/mL}$), *M. hebeptala* ($CI_{50} = 7,5 \mu\text{g/mL}$), *C. widgreniana* ($CI_{50} = 8,7 \mu\text{g/mL}$) e *S. densioflora* ($CI_{50} = 8,8 \mu\text{g/mL}$).

Entretanto, a seleção das espécies, para o estudo metabolômico, se deu através do índice de seletividade (IS), onde foram consideradas promissoras aquelas cujo valor se mostrou superior a 10, como preconiza the Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi). A relação do IS é calculado pela razão entre CC_{50}/CI_{50} , que expressa a relação entre a atividade citotóxica das células humanas e a atividade tripanocida do parasita. Assim, como o IS tem sido considerado um importante parâmetro para estudos de descoberta de drogas para a seleção de candidatos promissores, os óleos essenciais selecionados podem ser considerados como fontes promissoras de compostos tripanomicidas, sendo que, quanto maior esse valor, mais ativa é considerada a espécie e maior o potencial antichagásico (GUTIERREZ, 2019; SOUZA, 2017; SOUZA, 2021a). Desta forma, observa-se na Tabela 7, que há 8 espécies com IS maiores que 10: *E. florida* (IS = 108,7), *C. brasilienses* (IS = 20,1), *E. acutata* (IS = 20,0), *C. xanthocarpa* (IS = 16,7), *P. guajava* (IS = 13,2), *P. cauliflora* (IS = 11,4), *C. widgreniana* (IS = 10,7) e *E. widgrenii* (IS = 10,1).

Pode-se observar que todas as espécies selecionadas se mostraram muito promissoras para a atividade anti-*T.cruzi*, comparadas ao valor de CI_{50} do padrão benzonidazol, merecendo destaque a *E. florida*, cujo valor de CI_{50} é 170 vezes mais ativo que o padrão, além disso, apresentou o maior valor de IS (108,7). As demais

espécies promissoras, o valor de CI_{50} variou de 5 a 31 vezes mais ativas que o padrão, e a variação de IS foi entre 10,7 a 20.

Tabela 7 - Atividade anti-*T.cruzi* e citotoxicidade dos óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae e controle positivo de Benzonidazol.

Espécies	Código	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	CC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	IS
<i>C. viminalis</i>	CV	71.9 \pm 1.9	> 200	> 2.8
<i>C. brasilienses</i>	CB	1.6 \pm 2.0	32.4 \pm 11.9	20.1
<i>C. widgeniana</i>	CW	8.7 \pm 1.6	92.9 \pm 22.0	10.7
<i>C. xanthocarpa</i>	CX	3.4 \pm 1.4	56.5 \pm 0.4	16.7
<i>E. citriodora</i>	EC	65.2 \pm 4.0	> 200	> 3.1
<i>E. acutata</i>	EA	1.4 \pm 0.1	27.4 \pm 2.3	20.0
<i>E. florida</i>	EF	0.3 \pm 0.1	27.2 \pm 0.4	108.7
<i>E. uniflora</i>	EU	21.0 \pm 3.9	59.9 \pm 1.1	2.9
<i>E. widgrenii</i>	EW	7.4 \pm 3.6	74.2 \pm 24.0	10.1
<i>M. leavigata</i>	ML	41.7 \pm 6.1	> 200	> 4.8
<i>M. racemosa</i>	MR	17.1 \pm 0.9	84.3 \pm 42.4	4.9
<i>M. fenziiana</i>	MF	4.7 \pm 3.2	39.9 \pm 20.8	8.4
<i>M. hebeptala</i>	HM	7.5 \pm 2.1	67.7 \pm 63.8	9.0
<i>M. venulosa</i>	MV	54.5 \pm 73.4	36.9 \pm 11.1	0.7
<i>M. coronata</i>	MC	10.3 \pm 4.0	69.5 \pm 14.1	6.7
<i>P. cauliflora</i>	PC	2.7 \pm 0.5	31.1 \pm 0.2	11.4
<i>P. guajara</i>	PG	4.0 \pm 2.8	52.6 \pm 6.2	13.2
<i>S. densiflora</i>	SD	8.8 \pm 12.1	23.5 \pm 5.0	2.7
Benzonidazol		42.5 \pm 1.7	> 200	> 4.7

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: IC_{50} – 50% de concentração inibitória, CC_{50} – 50% de concentração citotóxica, IS – índice de seletividade, calculado pela razão CC_{50} contra células NCTC/ IC_{50} contra parasitas (formas tripomastigotas).

Em geral, os principais compostos encontrados nas espécies consideradas biologicamente promissoras foram: (2*E*,6*E*)-farnesoato de metila (17,6%), selin-3,7(11)-diene (5,8%), δ -cadineno (5,6%), (*E*)-cariofileno (5,3%) e palustrol (4,6%) em *C. brasilienses*; (*E*)-cariofileno (19,1%), α -humuleno (6,4%), δ -cadineno (5,8%), α -copaeno (4,9%), β -elemeno (4,5%) em *C. widgeniana*; (*E*)-cariofileno (14,7%), 1,8-cineol (14,2%), α -pineno (13%), α -humuleno (7,0%) e mirceno (4,8%) em *C. xanthocarpa*; (*E*)-cariofileno (16,1%), β -selineno (8,4%), α -copaeno (7,5%), α -guaiano (6,5%) e δ -cadineno (6,2%) em *E. acutata*; α -pineno (22,1%), (*E,E*)-geranyl linalol (11,4%), (*E*)-cariofileno (10,9%), α -copaeno (6,0%) e borneol (5,0%) em *E. florida*; α -pineno (18,7%), (*E*)-cariofileno (9,0%), ledol (6,0%), β -pineno (5,8%) e β -selineno

(5,6%) em *E. widgrenii*; 1,8-cineol (9,2%), óxido de cariofileno (7,7%); β -selineno (6,6%), α -pineno (6,2%) e (*E*)-cariofileno (4,2%) em *P. cauliflora*; 1,8-cineol (10,5%), β -selineno (8,9%), eudesm-7(11)-en-4-ol (8,5%), (*Z*)-cariofileno (6,9%) e cariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol (6,7%) em *P. guajava*.

Levando em conta o perfil químico dessas espécies frente ao *T. cruzi*, vale destacar os principais compostos encontrados simultaneamente por duas ou mais destas espécies. É o caso do (*E*)-cariofileno, que esteve presente em sete espécies, com concentrações relativas variando de 4,2% em *P. cauliflora* a 19,1% em *C. widgreniana*; β -selineno, encontrado em quatro das oito espécies, com concentrações relativas variando de 5,6% em *E. widgrenii* e 8,9% em *P. cauliflora*; δ -cadineno, encontrado também em quatro espécies, com concentrações relativas variando de 5,6% em *C. brasilienses* a 6,2% em *E. acutata*; α -pineno, comum a três espécies, com concentrações variando de 6,2% em *P. cauliflora* e 22,1% em *E. florida*, e por fim, α -copaeno, encontrado simultaneamente em três espécies com concentrações variando de 4,9% em *C. widgreniana* e 7,5% em *E. acutata*.

Em geral, os perfis químicos obtidos dos óleos essenciais das espécies estudadas corroboram com relatos anteriores sobre voláteis de Myrtaceae. É o caso da espécie ativa mais promissora *E. florida* que apresentou α -pineno (22,1%), (*E,E*)-geranil linalol (11,4%), (*E*)-cariofileno (10,9%), α -copaeno (6,0%), e borneol (5,0%) como os principais compostos anotados. Destaca-se também a presença de óxido de cariofileno (3,1%), α -humuleno (2,5%) e limoneno (1,9%). Estudos anteriores sobre a composição química de OEs de *E. florida* coletados nos estados do Rio Grande do Sul e Pará (APEL, 2004; FERREIRA, 2021) também mostraram sesquiterpenos prevalecendo como compostos principais; entretanto, os autores relataram selin-3-11-dien-6- α -ol (12,9%) e biciclogermacreno (10,9%) como os derivados sesquiterpênicos mais intensos. É interessante observar que entre os compostos identificados em OEs de *E. florida*, uma atividade tripanocida significativa pode ser atribuída à presença de α -pineno e (*E*)-cariofileno, uma vez que ambos os compostos estimularam a produção dos anticorpos anti-*T. cruzi* em estudos anteriores e são relatados na literatura como compostos que estão sempre presentes nas espécies muito ativas. (COSTA, 2013; ESTEVAM, 2017; ESTEVAM, 2018; MARTINS, 2015; PEREIRA, 2021; SOUZA, 2017). Além disso, espécies ativas com quantidades baixas de α -humuleno também são destacadas. (COSTA, 2013; DIAZ, 2018; MARTINS, 2015; SOUZA, 2017). Há

também relatos de melhora da atividade anti-*T.cruzi* como o efeito sinérgico da combinação entre o limoneno e óxido de cariofileno (MORENO, 2018; QUINTERO, 2021). Assim sendo, pode-se concluir que, neste caso, os compostos majoritários, somados aos compostos minoritários demonstrados nesta espécie, contribuíram significativamente para uma elevada atividade, uma vez que o efeito sinérgico desses compostos presentes podem ter contribuído para a elevada da atividade tripanocida. Portanto, para a espécie *E. florida* não há relatos na literatura, até o momento, sobre atividade *T.cruzi*, apenas relatos sobre atividade antifúngica para essa espécie (FERREIRA, 2021). Porém para o gênero *Eugenia*, a literatura relata mais atividades biológicas como: tripanocida e antibacteriana, mais especificamente das bactérias que causam cáries (SANTOS, 2019), antioxidante e anti-Leishmania (SAMPAIO, 2019), atividade antibacteriana contra várias bactérias gram-positivas (SOUZA, 2021b).

Para *C. brasilienses*, a segunda espécie mais promissora contra *T. cruzi*, não há relatos anteriores descrevendo a composição química de seu óleo essencial, apenas dois estudos sobre o seu gênero sendo seus constituintes divergentes entre si e deste estudo, entretanto são relatados atividades antimicrobiana, antitumoral e antibacteriana (BANSAL, 2006; COSTA, 2020).

Para *E. acutata* o único relato publicado sobre a composição química do OE aponta o (*E*)-*cariofileno* (26,9%) como o composto principal, porém, com concentrações diferente. Além disso, a composição total dos compostos é semelhante, sendo maioria os sesquiterpenos, com concentração de 96,8% e 98,3% dos compostos identificados, deste trabalho e do artigo relatado, respectivamente (NAKAMURA, 2010).

Estudos anteriores sobre os OEs de *C. xantocarpa* também relataram a ocorrência do (*E*)-*cariofileno* como o composto principal, além do ledol. Nesses artigos, são relatadas atividades promissoras para tratamento de leishmaniose e atividade antioxidante (FERREIRA, 2020; MARIN, 2008). Há também relato de estudo dos extratos dos frutos desta espécie que apresenta atividade tripanocida promissora, além de atividade antitumoral e antioxidante (SALMAZZO, 2019).

Para *P. guajava*, sendo das 8 espécies consideradas promissoras, apenas esta contém um artigo relacionando OE e atividade *T.cruzi*, entretanto relata o estudo das flores (FERNANDES, 2021). No artigo em questão, quase todos os compostos

majoritários, α -cadinol (37.8%), (*E*)-*cariofileno* (12.2%), nerolidol (9.1%), α -selineno (8.8%), β -selineno (7.4%) e óxido de cariofileno (7.2%), são encontrados na espécie deste estudo, entretanto com concentrações diferentes, isso pode ser justificado pelos diferentes locais de coleta (GO e MG) e estações do ano (outono e inverno), respectivamente, o que leva a alterações nas concentrações dos compostos devido às alterações fisiológicas do metabolismo vegetal (DE SOUZA, 2017; HANIF, 2018; MARQUES, 2019; RAPOSO, 2018). Além disso, a maioria dos compostos químicos encontrados nos estudos trata da classe dos sesquiterpenos (DE SOUZA, 2017; HANIF, 2018). Assim, como neste estudo, para FERNANDES, 2021, *P. guajava* apresentou atividade anti-*T.cruzi* com SI de 17.2, sendo neste estudo um valor de 13.2. Outros dois artigos sobre o estudo dos OEs desta espécie, apresentaram compostos químicos semelhantes, com concentrações distintas e obteve, em um deles, potencial microbiano e antioxidante (DE SOUZA, 2017; HANIF, 2018).

Para a espécie *P. cauliflora*, conhecida como jabuticaba, é relatado na literatura apenas um artigo de OEs de quatro espécies do gênero *Plinia*, entre eles *P. cauliflora*, onde observou-se que, assim como os demais, houve divergência dos seus principais compostos químicos, sendo neste trabalho os principais compostos classificados como hidrocarbonetos sesquiterpênicos (47,7%) e do artigo citado sesquiterpenos oxigenados (77,2%), isso se justifica pelo local onde as plantas foram coletadas, no sul do Brasil, sendo algumas coletadas em estações do ano diferentes deste trabalho (APEL, 2006). Há também estudo de atividade anti-*T.cruzi* do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. cauliflora* em que se mostrou muito promissora (GALVÃO, 2021). Além desta atividade, também é relatado na literatura atividade analgésica, anti-inflamatória, hipoglicemiante e hipolipemiante. (BRITO, 2020).

Finalmente, para as espécies *E. widgrenii* e *C. widgreniana*, não há nenhum relato na literatura, sendo esse estudo inédito.

Com relação às espécies que se mostraram inativas em *T.cruzi*, há poucos relatos na literatura sobre as atividades dos seus OEs. *C. viminalis* possui propriedades antibacteriana, antifúngica, inseticida e antioxidante, antimicrobiana e antioxidante. (MARTINS, 2021; QUIJANO-CELIS, 2010; SIDDIQUE, 2017); *E. citriodora* apresentou atividade anti-helmíntica e bioherbicida (ARAÚJO, 2018; ARAÚJO, 2019; BENCHAA, 2018); *E. uniflora* apresenta atividades antibacteriana, antifúngica e inseticida (DOS SANTOS, 2018; PEREIRA, 2017; STENGER, 2021). *M.*

racemosa é a única espécie desse gênero cujo seus OEs apresentou atividade anti-acetilcolinesterase (SOUZA, 2009). *M. fenzliana*, *M. hebeptala* e *M. venulosa* não apresentaram nenhum relato sobre atividade dos seus OEs, entretanto o gênero *Myrcia* possui algumas propriedades: formicida, antileishmania; anti-inflamatória, antinociceptiva, antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antibacteriana, antimicrobiana e anti-inflamatória. (ALVES, 2016; CASCAES, 2015; GOMES, 2020; MELO, 2021; SILVA, 2013; SILVA, 2018); *M. coronata* também não apresentou nenhuma atividade nos seus OEs, mas seu gênero possui atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e antiviral (APEL, 2010; COSTA, 2020; GONÇALVES, 2021). Já a espécie *S. densiflora* não apresentou nenhuma atividade, nem tão pouco do seu gênero.

Deste modo, é plausível relacionar a atividade anti-*T.cruzi* determinada entre as espécies da família Myrtaceae estudadas, de acordo com a Tabela 7, com a composição química entre elas de modo a encontrar os principais compostos presentes através de análises estatísticas supervisionadas, como PLS-DA ou OPLS-DA. Faz-se inicialmente a análise estatística supervisionada PLS-DA, devido ao princípio da parcimônia, o qual sugere que um conjunto de dados deve conter toda a informação suficiente para a explicação de um modelo, sem qualquer excesso supérfluo e caso necessário, utiliza-se o método OPLS-DA. Entretanto, vale ressaltar que esse deve ser utilizado apenas se o modelo anterior não for suficiente para ter um modelo satisfatório (HAWKINS, 2004). Este procedimento é um método de redução de dimensões, assim como para análises de PCA, o que permite a fácil visualização de dados em forma de gráficos. Entretanto, para a análise por PLS-DA as variáveis independentes (X), composição química são relacionadas (supervisionadas) com as variáveis dependentes Y, que contém as informações da atividade biológica, isto é, a atividade anti-*T.cruzi*. Para a análise de PLS-DA, assim como foi realizado para o PCA, verificou-se os parâmetros para que o melhor modelo matemático fosse utilizado, e para isso levou-se em consideração coeficiente de determinação R^2 (indica o quão ajustado estão os dados em relação a análises estatística multivariada) e Q^2 (usado como critério de robustez e a habilidade preditiva do método), sendo que esses valores não devem possuir diferença superior a 30%. Caso ocorra, confere um grande ajuste ao modelo, o que o torna inviável para a análise (YULIANA, 2011a). Para isso, foi utilizado o software MassLynx® e MarkerLynx®.

Os parâmetros estudados foram os mesmos do PCA, *change transform* e modelo de normalização (*change scaling*), entretanto, neste caso utilizou-se até quatro componentes principais para averiguar os melhores valores de R^2 e o valores de Q^2 , como se observa na tabela 8 a seguir:

Tabela 8 - Parâmetros utilizados para determinar o melhor modelo para realização do PLS-DA.

Change Transform	Change Scaling	Nº de Comp.	R ²	Q ²	Nº de Comp.	R ²	Q ²	Nº de Comp.	R ²	Q ²
None	None	2	70%	0%	3	75%	0%	4	77%	0%
None	Center	2	70%	3%	3	77%	7%	4	87%	0%
None	Unit Variance	2	93%	65%	3	98%	62%	4	99%	68%
None	Pareto	2	83%	46%	3	93%	50%	4	96%	45%
None	5%of Mean	2	93%	65%	3	98%	62%	4	99%	68%
Automatic	None	2	62%	39%	3	68%	35%	4	87%	32%
Automatic	Center	2	65%	43%	3	78%	47%	4	91%	59%
Automatic	Unit Variance	2	91%	64%	3	97%	60%	4	98%	58%
Automatic	Pareto	2	88%	50%	3	94%	46%	4	98%	41%
Automatic	5%of Mean	2	91%	64%	3	97%	60%	4	98%	58%
Automatic (Conditional)	None	2	75%	25%	3	88%	38%	4	95%	36%
Automatic (Conditional)	Center	2	87%	57%	3	95%	56%	4	98%	51%
Automatic (Conditional)	Unit Variance	2	91%	65%	3	97%	62%	4	98%	58%
Automatic (Conditional)	Pareto	2	89%	61%	3	96%	59%	4	98%	55%
Automatic (Conditional)	5%of Mean	2	91%	65%	3	97%	62%	4	98%	58%

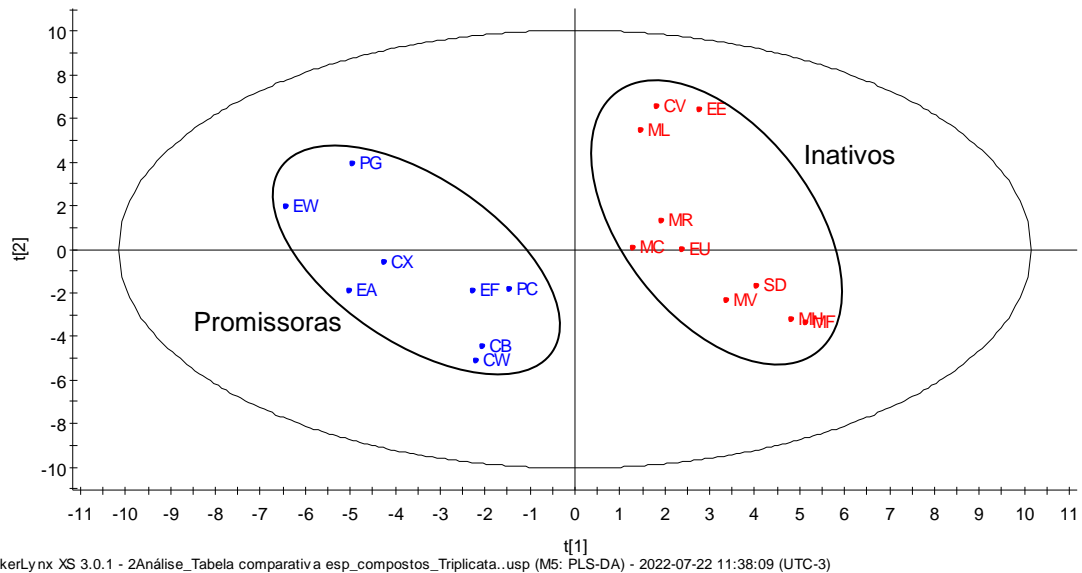
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Verificou-se que a análise estatística supervisionada PLS-DA apresentou resultado satisfatório, sendo assim, desnecessário o uso de OPLS-DA, devido ao princípio da parcimônia, como já citado anteriormente. O melhor modelo encontrado utilizou apenas dois componentes principais e os valores de R^2 e Q^2 foram 91% e 65%, respectivamente, demonstrando valores adequados para o modelo estatístico multivariado proposto.

Portanto, a fim de estabelecer uma relação entre os perfis químicos e a atividade anti-*T. cruzi*, a matriz de dados normalizada (18 amostras x 177 variáveis) foi submetida à análise multivariada de dados. Para isso, as amostras foram divididas em dois grupos principais. O primeiro grupo correspondeu a oito espécies consideradas promissoras - ativas ($CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 10$), e o segundo grupo correspondeu às 10 espécies consideradas inativas. Sendo assim, observa-se o gráfico *Score Plot* de PLS-DA em 2D e 3D obtidos das análises estatísticas descritas. Nesses gráficos, é possível observar a separação (*clusters*) clara das espécies

consideradas promissoras (ativas) e inativas para a atividade anti-*T. cruzi*, pelo modelo matemático.

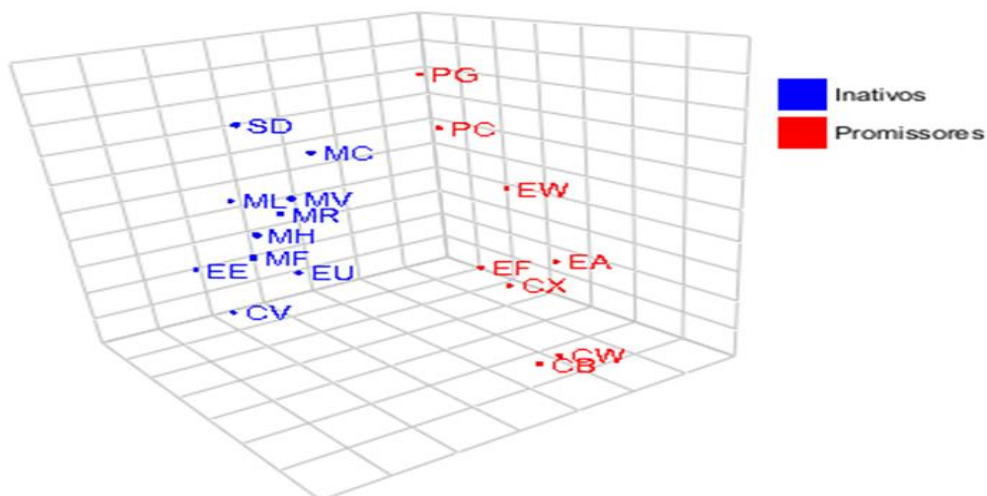
Figura 5 - Gráficos em 2D *Score Plot* de PLS-DA obtidos com todas as amostras dos OEs



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: CV: *Callistemon viminalis*; CB: *Calypttranthes brasilienses*; CW: *Calypttranthes widigeniana*; CX: *Campomanesia xanthocarpa*; EE: *Eucalyptus citriodora*; EA: *Eugenia acutata*; EF: *Eugenia florida*; EU: *Eugenia uniflora*; EW: *Eugenia widgrenii*; ML: *Marlierea laevigata*; MR: *Marlierea racemosa*; MF: *Myrcia fenziiana*; MH: *Myrcia hebeptala*; MV: *Myrcia venulosa*; MC: *Myrciaria coronata*; PC: *Plinia cauliflora*; PG: *Psidium guajava*; SD: *Siphoneugena densiflora*.

Figura 6 - Gráficos em 3D *Score Plot* de PLS-DA obtidos com todas as amostras dos OEs.



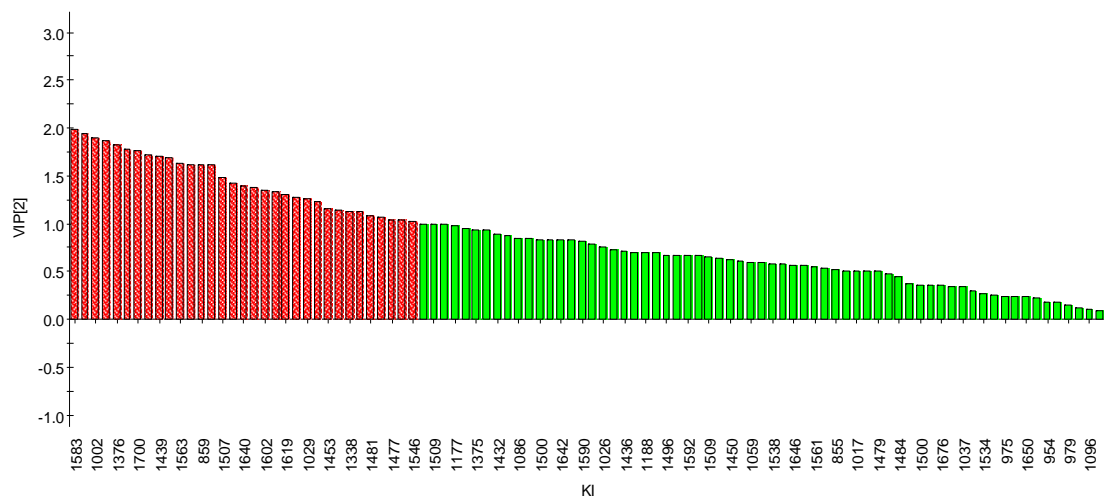
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: CV: *Callistemon viminalis*; CB: *Calypttranthes brasilienses*; CW: *Calypttranthes widigeniana*; CX: *Campomanesia xanthocarpa*; EE:

Eucalyptus citriodora; EA: *Eugenia acutata*; EF: *Eugenia florida*; EU: *Eugenia uniflora*; EW: *Eugenia widgrenii*; ML: *Marlierea laevigata*; MR: *Marlierea racemosa*; MF: *Myrcia fenziiana*; MH: *Myrcia hebeptala*; MV: *Myrcia venulosa*; MC: *Myrciaria coronata*; PC: *Plinia cauliflora*; PG: *Psidium guajava*; SD: *Siphoneugena densiflora*.

Com o modelo validado, a análise discriminante permitiu apontar as variáveis mais importantes para projeção (VIPs), que são valores que demonstraram a importância das variáveis independentes (substâncias químicas) no modelo correlacionadas com as variáveis dependentes (atividade anti-*T. cruzi*). Nesse sentido, os compostos que apresentaram VIPs superior a 1,0 corresponderam àqueles que exercem maior influência do composto na atividade biológica. Trinta e três compostos com VIPs maiores que 1,0 foram selecionados, indicando que esses estão intimamente relacionados com a distinção das amostras quanto à atividade anti-*T. cruzi*, de modo que, quanto maior o valor dos VIPs, maior a influência da substância em relação às diferenças entre os grupos promissores e inativos, conforme mostrado na Figura 7.

Figura 7 - Variáveis importantes para projeção (VIPs), compostos mais importantes para atividade anti-*T. cruzi*. Em vermelho VIPs > 1,0.

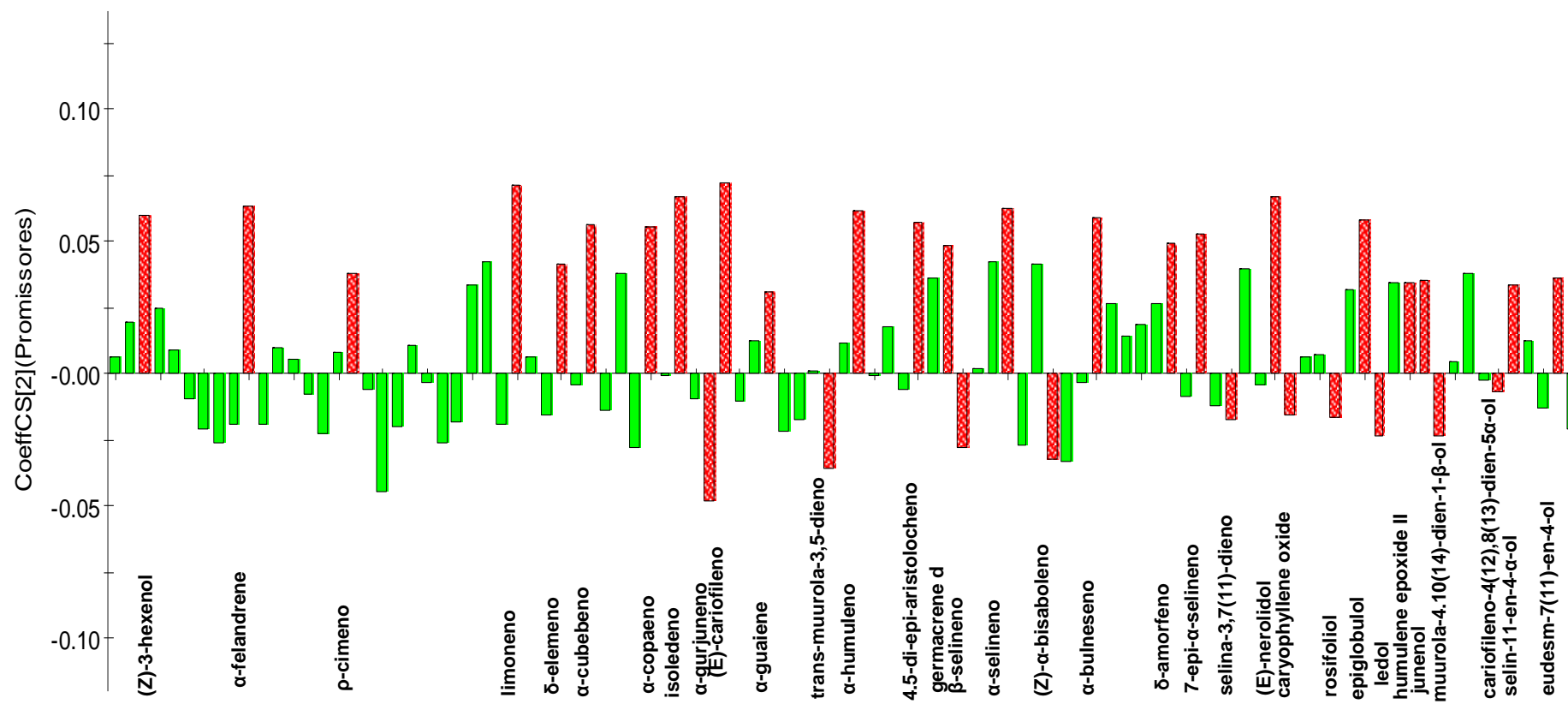


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Após encontrar o valor dos VIPs, foi possível, através do PLS-DA, encontrar a correlação das substâncias químicas e atividade anti-*T. cruzi* das espécies em estudo. Sendo assim, a intensidade dos coeficientes determina o grau de influência das variáveis, assim como o sinal demonstra se a mesma é positiva ou negativa. Desta

forma, neste estudo vinte e três compostos estão influenciando positivamente a atividade biológica e dez compostos influenciando negativamente, conforme demonstra o gráfico de correlação na Figura 8.

Figura 8 - Correlação dos compostos, de modo positivo e negativo, mais importantes para atividade anti-*T.cruzi*. Em vermelho VIPs > 1,0.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Assim, de acordo com as Figuras 7 e 8, foi construída a Tabela 9 com os valores das VIPs (colocado em ordem decrescente), dos coeficientes de correlação dos compostos, sendo que esses demonstram quais os compostos se correlacionam de modo positivo e negativo para a atividade biológica, além dos índices de Kovats e tempo de retenção de cada um dos compostos em estudo. Desta forma, foi possível definir os compostos que podem ser os principais responsáveis pela atividade anti-*T.cruzi* dos OEs das diferentes espécies da família Myrtaceae.

Tabela 9 - Tempo de retenção, índice de Kovats, VIPs, coeficiente de correlação e os possíveis compostos mais importantes que influenciam na atividade anti-*T.cruzi*.

T_R	IK	VIPs	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	COMPOSTOS
23.49	1376	1.93504	0.0657267	α -copaeno
26.82	1454	1.92631	0.0716429	α -humuleno
34.06	1631	1.81232	0.0544361	muurola-4.10(14)-dien-1- β -ol
36.74	1700	1.79172	0.0487122	eudesm-7(11)-en-4-ol
33.21	1608	1.75222	0.0556167	epóxido humuleno II
7.85	1002	1.74703	0.058761	α -felandreno
32.16	1583	1.73365	0.0566692	óxido de cariofileno
26.36	1419	1.70883	0.0609236	(<i>E</i>)-cariofileno
28.37	1490	1.6998	0.0524634	β -selineno
25	1409	1.68122	0.06435	α -gurjuneno
26.2	1439	1.62189	0.0483162	α -guaieno
4.06	859	1.62004	0.045054	(<i>Z</i>)-3-hexenol
31.32	1563	1.55738	0.0468872	(<i>E</i>)-nerolidol
29.67	1522	1.54247	0.0557367	7- <i>epi</i> - α -selineno
29.09	1507	1.49925	0.0584977	(<i>Z</i>)- α -bisaboleno
29.29	1512	1.44579	-0.04226	δ -amorpheno
34.4	1640	1.40643	0.0428048	cariofileno-4(12),8(13)-dien-5- α -ol
32.99	1602	1.39512	0.0491869	ledol
23.48	1376	1.29733	-0.0359253	isoleveno
35.14	1659	1.26935	0.0301568	selin-11-en-4- α -ol
8.69	1029	1.2638	0.0334825	limoneno
28.74	1498	1.24326	0.0283809	α -selineno
33.61	1619	1.18311	-0.0274568	junenol
32.89	1600	1.16078	-0.0253812	rosifoliol
21.77	1338	1.15885	-0.0299797	δ -elemeno
8.53	1024	1.1525	0.0250469	<i>p</i> -cimeno
27.99	1481	1.13627	-0.0151837	germacreno d
26.78	1453	1.13243	-0.0437813	<i>trans</i> -muurola-3,5-dieno
30.66	1546	1.10119	0.0446351	selina-3,7(11)-dieno
27.63	1473	1.08179	0.0280328	4,5-di- <i>epi</i> -aristolocheno
22.33	1351	1.07322	-0.0214495	α -cubebeno
27.8	1477	1.03816	-0.0234553	γ -gurjuneno
31.55	1600	1.02756	-0.0115485	epiglobulol

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O composto que apresentou maior valor de VIP para atividade anti-*T. cruzi* foi o α -copaeno (VIP = 1,94), identificado em várias espécies consideradas biologicamente ativas contra *T. cruzi* em estudos anteriores. Por exemplo, em *Annona pickelii* e *Limonium oleifolium*, α -copaeno foi o composto principal (6,9% e 5,02%, respectivamente), enquanto em *Phania matricarioide* e *Eugenia brejoensis* foi o menor (3,2% e 1,36%, respectivamente) (COSTA, 2013; GUTIERREZ, 2019; MENNAI, 2021; SOUZA, 2017); α -humuleno (VIP = 1,93), foi o segundo composto discriminante nas espécies ativas promissoras, o que corrobora com estudos anteriores em que o α -humuleno foi um composto majoritário em *A. pickelii* (4,0%) e *Vernonia brasiliiana* (5,36%). No entanto, foi encontrado em pequenas quantidades nas espécies *C. linearis* (1,49%) e *E. brejoensis* (1,6%), o que sugere a presença de um efeito sinérgico com outros compostos químicos. Vale destacar que é um dos compostos primordiais para que a espécie seja considerada ativa. (COSTA, 2013; DIAZ, 2018; MARTINS, 2015; SOUZA, 2017)

Murola-4, 10(14)-dien-1- β -ol (VIP = 1,81) e eudesm-7(11)-en-4-ol (VIP = 1,79), por outro lado, apresentaram o terceiro e quarto maiores valores de VIP. A presença desses dois compostos em óleos essenciais, entretanto, têm sido raramente relatada na literatura. Além disso, nenhum relato sobre sua atividade tripanocida foi descrito anteriormente.

O epóxido de humuleno II (VIP = 1,75) merece destaque, embora sua presença em óleos essenciais seja incomum. Curiosamente, este composto foi encontrado em pequenas quantidades (0,46%) no óleo essencial de *Hyptis pectinata*, que apresentou atividade moderada para *T. cruzi* em estudo anterior. (SOUZA, 2017).

Finalmente, α -felandreno (VIP = 1,75), óxido de cariofileno (VIP = 1,74), (*E*)-cariofileno (VIP = 1,71) e limoneno (VIP = 1,26) também merecem destaque, embora alguns estejam presentes em menor quantidade nas amostras. Sabe-se que melhorias na atividade tripanocida podem ser alcançadas com a associação entre diferentes compostos. A associação entre óxido de cariofileno e/ou citral, limoneno e Benzonidazol melhorou a atividade tripanocida, sugerindo uma possível interação sinérgica. O efeito sinérgico entre óxido de cariofileno e limoneno na atividade tripanocida também foi descrito por Moreno e colaboradores (2018).

O (*E*)-cariofileno foi um dos compostos majoritários nas espécies consideradas ativas/promissoras neste estudo, corroborando com estudos anteriores de atividades

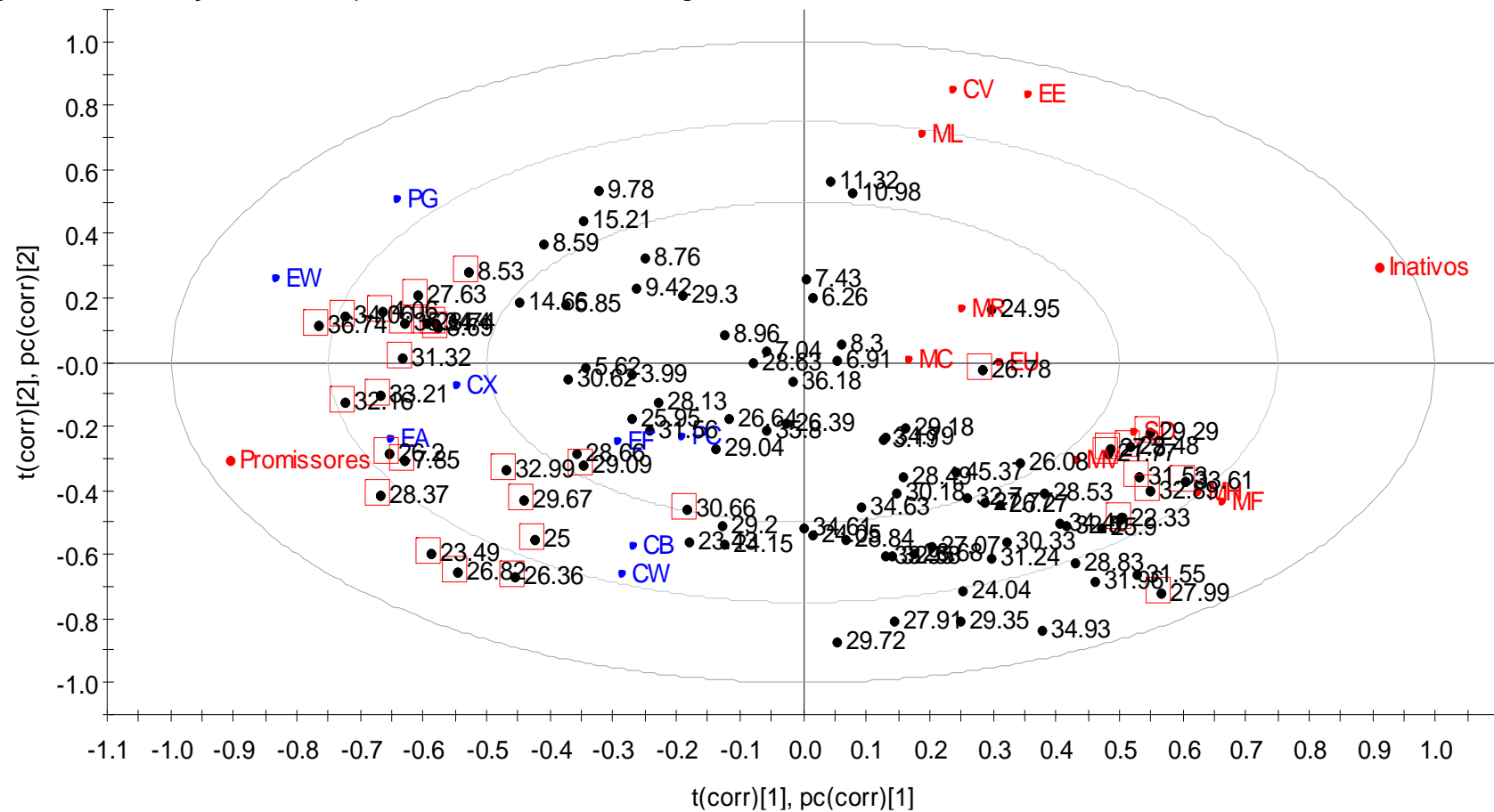
envolvendo OEs ricos em (*E*)-cariofileno, como *Cordia verbenaceae* (18,77%), *Eugenia brejoensis* (9,77%), *Hyptis pectinata* (30,91%), *Annona pickellii* (27,8%), *Protium ovatum* (14%) e *Vernonia brasiliiana* (10,4%) (COSTA, 2013; ESTEVAM, 2017; MARTINS, 2015; PEREIRA, 2021; SOUZA, 2017).

Embora o (*E*)-cariofileno seja apontado como um dos compostos mais importantes responsáveis pela atividade biológica observada, sua presença não garante uma boa atividade antiparasitária. Este fato foi observado no grupo não ativo para atividade anti-*T. cruzi* de *M. racemosa* e *M. fenziiana*, por exemplo, nos quais os teores deste composto foram de 11,9% e 8,2%, respectivamente. Apenas para comparação, os teores de (*E*)-cariofileno nos OEs de *P. cauliflora* e *P. guajava*, que foram classificados como promissores de acordo com nossos ensaios, foram de 4,2% e 4,5%, respectivamente.

Portanto, é importante considerar que os OEs consistem em uma ampla mistura de compostos voláteis, que podem contribuir ou não para a atividade biológica. Esse fato foi refletido pela análise estatística multivariada que indicou mais de trinta potenciais compostos com atividade anti-*T. cruzi* apresentando valores maiores ou menores de VIPs e coeficiente de correlação. É importante destacar que as análises discriminantes por PLS-DA dependem da capacidade do modelo de correlacionar as variáveis químicas e um conjunto de dados utilizado como base para predição, neste caso a atividade biológica (ativa versus não ativa). Mesmo modelos validados podem não considerar possíveis efeitos antagônicos ou sinérgicos químicos no alvo biológico.

Por fim, os resultados obtidos pela análise discriminante também podem ser observados no gráfico *Loading Plot*, o qual demonstra as substâncias que influenciam positiva e negativamente a atividade anti-*T. cruzi* em *clusters* distintos. Neste, podemos notar que as substâncias com maior influência positiva estão do mesmo lado que as espécies consideradas ativas, como se analisa na figura 9. O gráfico demonstra a influência negativa do germacreno D (VIP = 1,14) na atividades anti-*T. cruzi* observada nas amostras. Curiosamente, o germacreno D é um composto majoritário nos óleos essenciais de *Eugenia gracillima* (16,1%), que não demonstrou atividade para *T. cruzi* em um estudo anterior (SAMPAIO, 2019).

Figura 9 - Correlação dos compostos, através do *Loading Plot*.



MarkerLynx XS 3.0.1 - 2Análise_Tabela comparativa esp_compostos_Triplicata..usp (M5: PLS-DA) - 2022-07-22 11:58:25 (UTC-3)

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: CV: *Callistemon viminalis*; CB: *Calyptanthes brasilienses*; CW: *Calyptanthes widigeniana*; CX: *Campomanesia xanthocarpa*; EE: *Eucalyptus citriodora*; EA: *Eugenia acutata*; EF: *Eugenia florida*; EU: *Eugenia uniflora*; EW: *Eugenia widgrenii*; ML: *Marlierea laevigata*; MR: *Marlierea racemosa*; MF: *Myrcia fenziiana*; MH: *Myrcia hebeptala*; MV: *Myrcia venulosa*; MC: *Myrciaria coronata*; PC: *Plinia cauliflora*; PG: *Psidium guajava*; SD: *Siphoneugena densiflora*.

É interessante ressaltar que os óleos contendo as maiores concentrações de (*E*)-cariofileno foram os considerados potencialmente ativos nos ensaios tripanomicidas. Por outro lado, óleos contendo principalmente germacreno D, encontrados em mais de 60% das espécies, foram considerados não ativos para *T. cruzi*.

Desta forma, é possível apontar que a metabolômica utilizando-se de recursos estatísticos multivariados, como a análise por PLS-DA, permite buscar e selecionar compostos de interesse para certas propriedades biológicas, como por exemplo, a antichagásica. Além disso, a abordagem metabolômica evita, possíveis desperdícios de tempo e solventes isolando compostos já conhecidos, uma vez que através dessa técnica pode-se focar no isolamento e determinação de compostos inéditos.

5.3. OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PARA ESTUDO DA SAZONALIDADE

Foram selecionadas seis espécies da família Myrtaceae, do estudo primário, para realizar o estudo da sazonalidade. Estas foram escolhidas devido à grande quantidade de folhas, sendo que a coleta por estação não implicou em possíveis danos causados à planta. Além disso, as mesmas eram de fácil acesso para a realização da coleta e quatro destas espécies são frutíferas. Por fim, há pouca ou nenhuma informação acerca destas espécies quanto ao estudo de seus óleos essenciais, tampouco sobre a composição dos mesmos em diferentes estações do ano. O modo de extração dos OEs foi o mesmo realizado anteriormente, por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger.

Na Tabela 10 estão listados o nome das espécies, as estações do ano, seus códigos, data de coleta, temperatura média, índice pluviométrico e evapotranspiração em conformidade com os dados obtidos pelo boletim agrometeorológico mensal do Instituto Federal de Minas, Campus Muzambinho.

Podemos observar na Tabela 10 que não houve grandes variações de temperatura no período de coleta das amostras nas diferentes estações do ano. Entretanto, os índices pluviométricos foram altos na primavera e verão, principalmente neste último, conhecido como período chuvoso. Já o índice de evapotranspiração possuiu semelhança nos valores entre as estações primavera e verão, outono e inverno, de tal ano. Com esses dados podemos destacar a relação entre dias em que

a temperatura estava mais elevada com alta precipitação de chuvas, sendo este fato justificado devido à maior evaporação das águas do solo e perda da água por transpiração das plantas. Esses fatores (solo e plantas) podem ser relevantes uma vez que esse processo é simultâneo e igualmente mensurado. Com as variações destes índices é possível observar diferentes concentrações dos compostos em seus OEs, além da presença ou ausência dos mesmos.

Tabela 10 - Listagem de amostras, estação do ano, códigos, data da coleta e dados meteorológicos das seis espécies de Myrtaceae coletadas em Minas Gerais.

Espécies	Estação do ano	Código	Data da coleta	Temperatura (°C) ^a	Índice Pluviométrico (mm) ^a	Evapotranspiração (mm) ^a
<i>C. viminalis</i>	Primavera	CC_P	Nov/2017	20.7	119	78.6
	Verão	CC_V	Fev/2018	21.4	288.8	77
	Outono	CC_O	Mai/2018	17.4	23.4	46.3
	Inverno	CC_I	Jul/2017	17.7	15.4	47.5
<i>E. citriodora</i>	Primavera	EC_P	Nov/2017	20.7	119	78.6
	Verão	EC_V	Fev/2018	21.4	288.8	77
	Outono	EC_O	Mai/2018	17.4	23.4	46.3
	Inverno	EC_I	Jul/2017	17.7	15.4	47.5
<i>E. Uniflora</i>	Primavera	EU_P	Nov/2017	20.7	119	78.6
	Verão	EU_V	Fev/2018	21.4	288.8	77
	Outono	EU_O	Mai/2018	17.4	23.4	46.3
	Inverno	EU_I	Jul/2017	17.7	15.4	47.5
<i>M. coronata</i>	Primavera	MC_P	Nov/2017	20.7	119	78.6
	Verão	MC_V	Fev/2018	21.4	288.8	77
	Outono	MC_O	Mai/2018	17.4	23.4	46.3
	Inverno	MC_I	Jul/2017	17.7	15.4	47.5
<i>P. cauliflora</i>	Primavera	PC_P	Nov/2017	20.7	119	78.6
	Verão	PC_V	Fev/2018	21.4	288.8	77
	Outono	PC_O	Mai/2018	17.4	23.4	46.3
	Inverno	PC_I	Jul/2017	17.7	15.4	47.5
<i>P. guajara</i>	Primavera	PG_P	Nov/2017	20.7	119	78.6
	Verão	PG_V	Fev/2018	21.4	288.8	77
	Outono	PG_O	Mai/2018	17.4	23.4	46.3
	Inverno	PG_I	Jul/2017	17.7	15.4	47.5

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: ^aDados adquiridos pelo boletim agrometeorológico mensal do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho

As análises de CG-EM permitiram inferir a presença de 184 compostos diferentes com concentrações compreendendo a 90,1 - 98,15% da composição total dos OEs estudados, demonstrando que o método utilizado para desreplicação é eficaz. Destes, a menor quantidade de compostos identificados por desreplicação foi

22, representando 98.1% do óleo em questão e a maior foi 58, representando 90.1% da quantidade total do OE em questão.

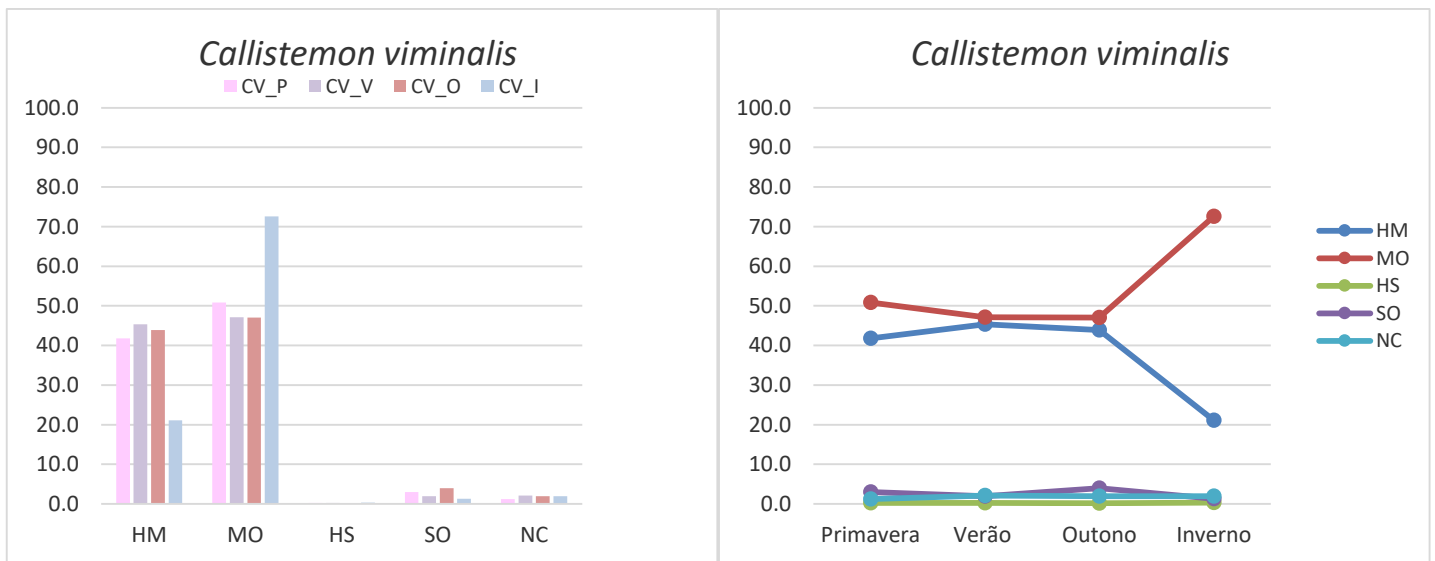
Com o estudo da sazonalidade observa-se os compostos majoritários, neste estudo, sesquiterpenos ou monoterpenos, são característicos da espécie, independente da estação do ano a qual ocorreu a coleta, com exceção apenas de uma das espécies (*E. Uniflora*).

5.3.1 *Callistemon viminalis*

As análises de CG_EM para o estudo de sazonalidade da espécie *C. viminalis* permitiram inferir a presença de 28 – 38 compostos por desreplicação variando as concentrações de 96.8 a 97.3% entre as diferentes estações do ano. Os monoterpenos estão presentes em maior porcentagem, com concentrações altas (90.9 – 93.7%), sendo, a maior parte dos compostos, em todas as estações, classificados como MO, com suas concentrações variando de 47.1 – 72.6%. É possível observar que, com as pequenas concentrações de sesquiterpenos não há grande variação com a mudança das estações (1.6 – 4.2%). Os três compostos majoritários, em todas as estações do ano, desta espécie são os mesmos havendo mudança apenas nas suas concentrações, sendo: 1,8-cineol (CV_P: 46.35%; CV_V: 40.68%; CV_O: 40.93%; CV_I: 69.57%), α -pineno (CV_P: 33.83%; CV_V: 28.33%; CV_O: 29.13%; CV_I: 13.80%) e α -terpineol (CV_P: 4.20%; CV_V: 6.43%; CV_O: 6.13%; CV_I: 4.21%). Na literatura esses três compostos foram encontrados, na maioria, como majoritários variando apenas suas concentrações. Em um estudo realizado em Bogotá, Colômbia, a coleta da espécie ocorreu no inverno e obteve oitenta e nove compostos identificados, com os compostos 1,8-cineol (39.4%), α -pineno (8.9%) e α -terpineol (6.1%) como majoritários (QUIJANO-CELIS, 2010). Outro estudo realizado no Paquistão, na primavera, obteve trinta e três compostos identificados, sendo 1,8-cineol (24.9%), α -pineno (31.4%) e α -terpineol (11.2%), os majoritários (SIDDIQUE, 2017). Por fim, um estudo realizado no Brasil, Lavras-MG, obteve doze compostos, sendo os compostos majoritários 1,8-cineol (67.7%), α -pineno (15%) e α -terpineol (7.72%) (MARTINS, 2021). Estes dados corroboram os resultados obtidos neste trabalho, que destaca estes três compostos (1,8-cineol, α -pineno e α -terpineol) como majoritários nestas espécies.

Observa-se na Figura 10 uma mudança nas concentrações de HM e MO, entre as estações outono e inverno, com uma queda na concentração de HM e o aumento nas concentrações de MO. Isso pode ser justificado pelas concentrações dos compostos majoritários: 1,8-cineol, um MO, onde se percebe uma elevação de quase 70% na sua concentração, enquanto a concentração de α -pineno cai em mais de 110%, entre as estações de outono e inverno. Ambas as estações obtiveram uma média das temperaturas semelhante (17.4°C e 17.7 °C). Quanto à média dos índices pluviométricos, houve diferença (23.4mm e 15.4mm). Logo, podemos inferir que o composto 1,8-cineol foi produzido por esta espécie quando houve maior escassez de chuva, enquanto o composto α -pineno teve sua produção reduzida na mesma condição climática.

Figura 10 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênicos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpênicos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie *Callistemon viminalis*.



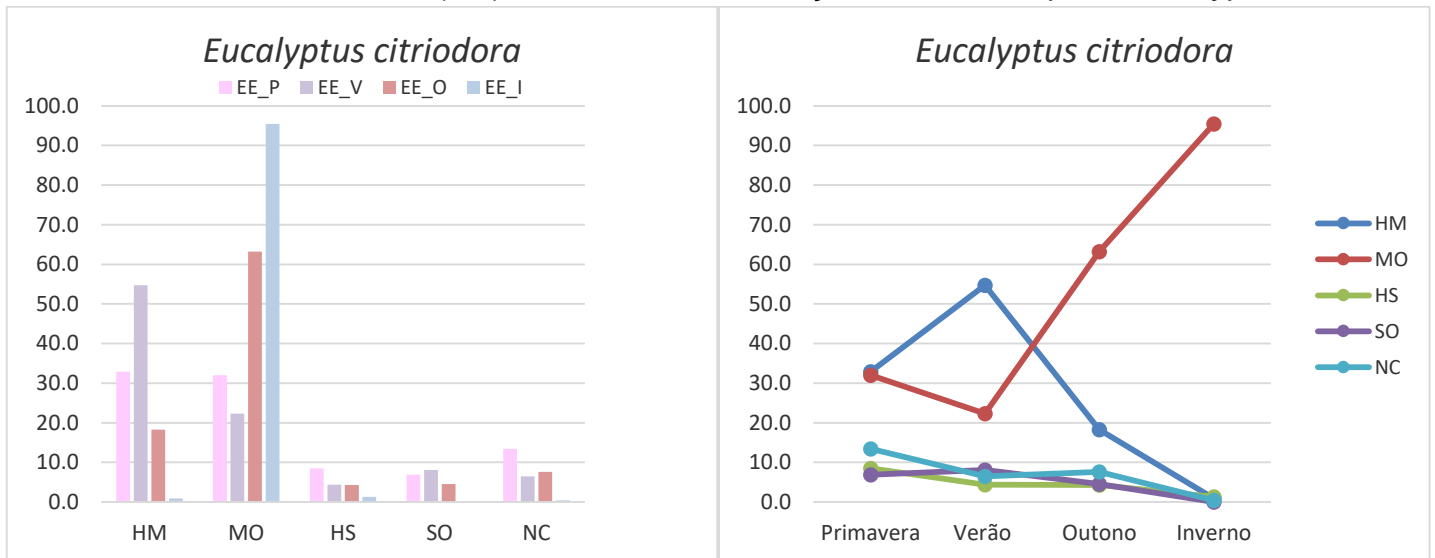
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

5.3.2 *Eucalyptus citriodora*

As análises de CG_EM para o estudo de sazonalidade da espécie *E. citriodora* determinaram a presença de 22 – 52 compostos por desreplicação variando as concentrações de 93.7 – 98.2% entre as diferentes estações do ano. Os monoterpênicos estão presentes em maior porcentagem, sendo a maior parte dos

compostos das estações primavera e verão classificados como HM, com concentrações 32.9 e 54.7%, respectivamente. A diferença entre HM e MO na primavera é muito baixa, sendo apenas 0.9%. O composto majoritário desta estação, um MO, foi o 1,8-cineol com concentração de 29.08%, representando mais de 90% da porcentagem de todos os MO nesta estação. No verão há uma queda na porcentagem dos MO, onde o 1,8-cineol (19.24%), representa 86% da porcentagem total os MO nesta estação, passando a ser o terceiro composto majoritário. Os primeiros compostos majoritários são classificados como HM, sendo limoneno (20.36%) e α -pineno (19.51%), por isso observa-se um aumento na porcentagem dos HM entre a primavera e verão. A maior porcentagem dos compostos das estações outono e inverno estão classificados como MO, com suas concentrações variando de 63.2 e 95.4%, respectivamente. Nas estações outono e inverno, os compostos majoritários são todos classificados como MO, principalmente a citronela (EC_O: 22.48%; EC_I: 49.06%) com um aumento de quase 220% e citronelol (EC_O: 22.04%; EC_I: 39.63%) com um aumento de quase 180% na sua porcentagem entre as estações citadas. Além disso, ambos os compostos foram produzidos exclusivamente nas chamadas estações de seca, de forma que esses compostos, são produzidos em maior quantidade quando há baixa quantidade de chuvas, uma vez que a média da temperatura nestas estações apresentaram valores muito próximos. Vale relatar que o composto 1,8-cineol, não é produzido apenas no inverno, sendo no outono o terceiro majoritário. Além disso, entre as estações de verão e inverno houve um grande aumento nas concentrações dos MO, em contrapartida, no mesmo período, houve uma queda brusca nas concentrações dos HM chegando a valores abaixo de 1%, como se observa na Figura 11. Também é possível notar que as pequenas concentrações de sesquiterpenos sofreram uma queda entre a primavera e o inverno (15.4% - 1.4%). Na literatura, estudos realizados em São Paulo, Brasil e na Argélia, os compostos majoritários encontrados foram: citronela com concentração de 64.7 e 63.94% e citronelol com concentração de 10.9 e 5.24%, respectivamente. Outro composto comum a esse estudo foi o neo-isopulegol, encontrado também nos estudos realizados em São Paulo e Ceará, onde ambos os estudos obtiveram a mesma concentração de 8.23% (ARAÚJO, 2018; ARAÚJO, 2019; BENCHAA, 2018).

Figura 11 – Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie *Eucalyptus citriodora*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

5.3.3 *Eugenia uniflora*

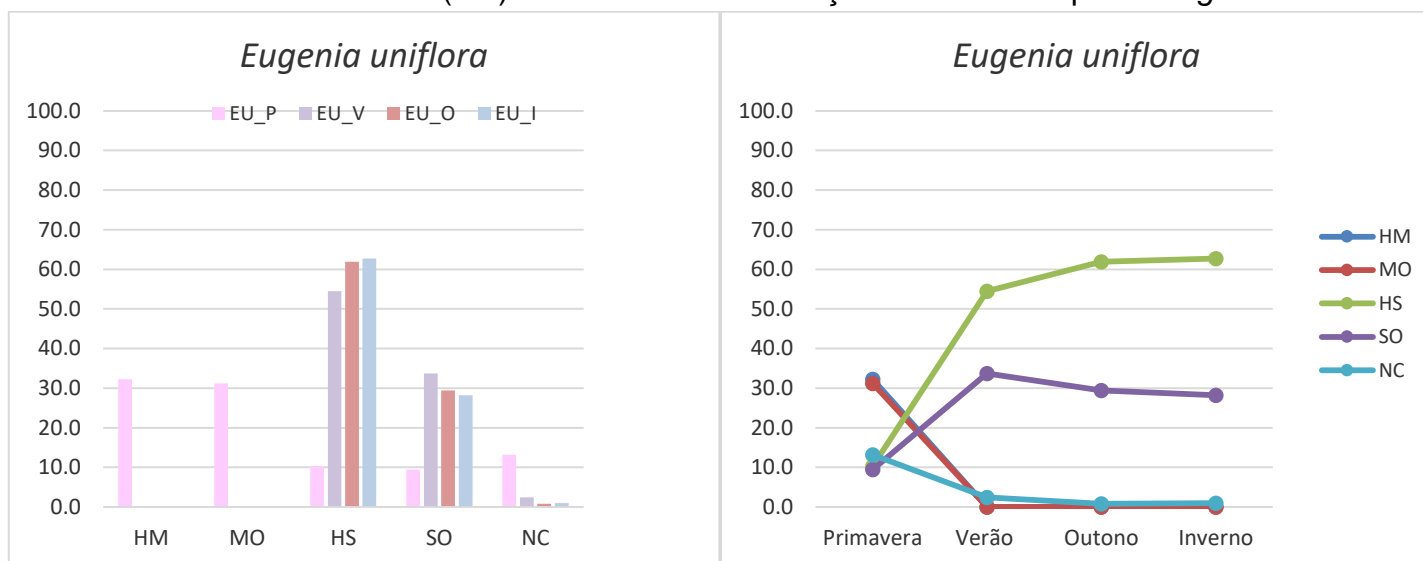
As análises de CG-EM para o estudo de sazonalidade da espécie *E. uniflora* permitiram inferir a presença de 47 – 55 compostos por desreplicação variando as concentrações de 90.6 – 96.4% entre as diferentes estações do ano. Os sesquiterpenos estão presentes em maior quantidade na maioria das estações nesta espécie, sendo que a maioria dos compostos são classificados como HS com suas concentrações variando de 54.5 - 62.7%. Os compostos de maior concentração das estações verão, outono e inverno foram os mesmos, sendo germacreno d (EU_V: 11.42%; EU_O: 7.15%; EU_I: 6.71%), γ -elemeno (EU_V: 17.53%; EU_O: 11.28%; EU_I: 6.27%), germacreno b (EU_V: 6.56%; EU_O: 5.43%; EU_I: 5.18%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ono (EU_V: 18.77%; EU_O: 11.93%; EU_I: 6.01%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ono (EU_V: 5.39%; EU_O: 5.47%; EU_I: 5.77%), os primeiros são classificados como HS e os dois últimos como SO. Entretanto, diferentemente das demais estações, na primavera as concentrações de monoterpênos estão em maior concentração, com pequena diferença de concentração entre HM e MO, 32.3 – 31.2%, respectivamente. Os compostos majoritários desta estação são 1,8-cineol (27.95%) e α -pineno (21.18%), ambos monoterpênos, sendo MO e HM, respectivamente. Na literatura há relato de diferentes compostos majoritários em relação a esse estudo,

sendo poucos os compostos considerados comuns, e esses com concentrações distintas. Um estudo realizado no município de Anápolis-GO, obteve como composto majoritário, na estação úmida, o epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona ($29.0 \pm 7.0\%$) (COSTA, 2009). Outros dois estudos realizados no município do Crato-CE, obtiveram como um dos compostos majoritários o γ -elemeno (3.97%) e germacreno b (2.19% e 7.95%), selina-1,3,7(11)-trien-8-ono (36.37%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ono (27.32%) (DOS SANTOS, 2018; PEREIRA, 2017).

É possível observar nos gráficos da Figura 12 que somente na primavera há presença de monoterpenos, não havendo a presença destes compostos nos OE desta espécie nas demais estações. Os principais compostos observados foram 1,8-cineol e α -pineno, com concentrações de 27.95% e 21,18%, respectivamente, sendo o primeiro classificado como MO e o segundo como HM. Portanto, podemos observar que as concentrações de HS aumentaram entre a primavera e o inverno.

Há na literatura um estudo sobre sazonalidade da espécie *E. uniflora*, sendo algumas espécies coletadas na região metropolitana de São Paulo-SP e outras no município de Mogi das Cruzes - SP, onde foram encontrados um total de 1 a 10 compostos por estação. Ao comparar compostos e suas concentrações em ambos os trabalhos, verifica-se que os mesmos não apresentam muita similaridade. O composto α -guaiano foi encontrado apenas na primavera (7.7%); neste estudo foi encontrado em todas as estações (EU_P: 0.14%; EU_V: 0.33%; EU_O: 0.43%; EU_I: 0.29%); α -selineno encontrado apenas no verão (3.6%), neste estudo no outono e inverno (EU_O: 1.09%; EU_I: 1.01%); (*E*)-cariofileno encontrado apenas no verão (8.4%) e outono (2.0%), neste estudo foi encontrado em todas as estações (EU_P: 3.96%; EU_V: 5.31%; EU_O: 4.60%; EU_I: 4.37%); e por fim β -elemeno foi encontrado no verão (8.2%) e outono (4.1%), neste estudo foi encontrado no verão, outono e inverno (EU_V: 0.94%; EU_O: 0.69%; EU_I: 0.71%). Os demais compostos não apresentaram similaridade (GONÇALVES, 2021). Esta discrepância pode ser devido à variação genética da espécie, clima, tipo de solo, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação UV, nutrientes e altitude, o que pode justificar as variações significativas na composição química dos diferentes OEs de uma mesma espécie (STENGER, 2021).

Figura 12 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie *Eugenia uniflora*.



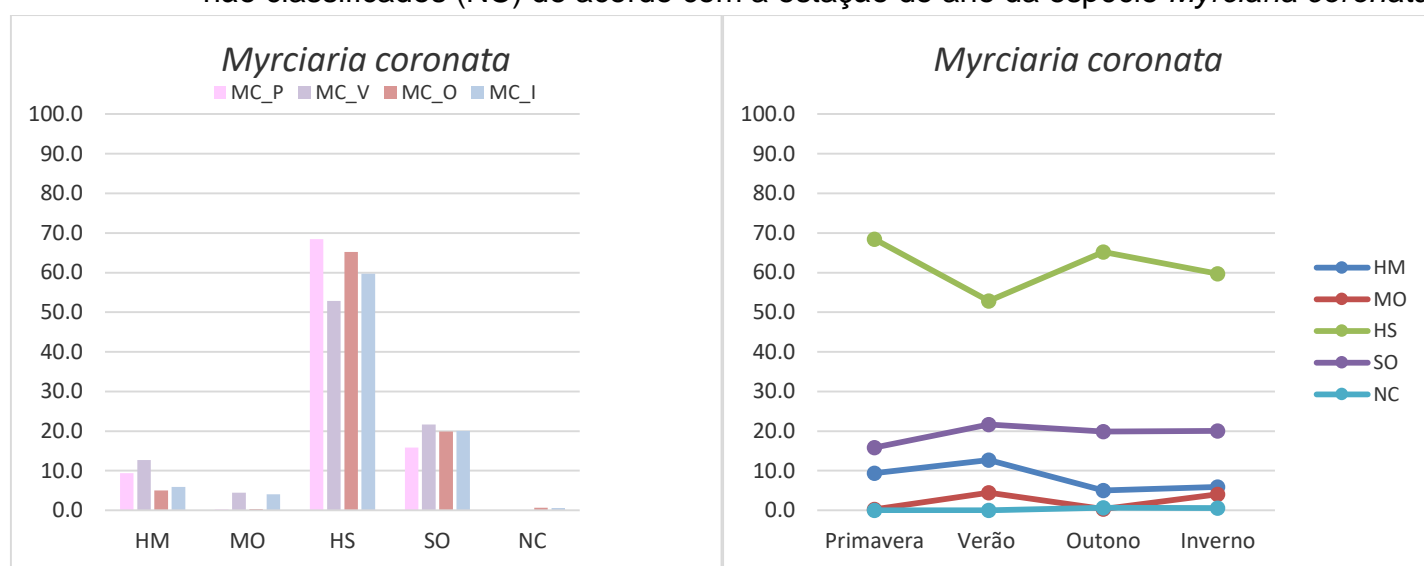
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

5.3.4 *Myrciaria coronata*

As análises de CG-EM para o estudo de sazonalidade da espécie *M. coronata* permitiram inferir a presença de 47 – 57 compostos por desreplicação variando as concentrações de 90.3 – 93.9% entre as diferentes estações do ano. Os sesquiterpenos estão presentes em maior porcentagem, sendo a maior parte dos compostos classificados como HS, com suas concentrações variando de 52.9 – 68.5%. Ao observarmos o gráfico da Figura 13 verificamos que há diferença significativa nas concentrações de HS, sendo as estações primavera e outono as que apresentam maiores porcentagens, o que se justifica pela presença dos compostos majoritários que são classificados como HS, sendo germacreno d (MC_P: 9.76%; MC_O: 10.76%) e (*E*)-cariofileno (MC_P: 8.78%; MC_O: 8.35%), γ -elemeno (12.10%) e β -selineno (6.84%), onde os dois últimos compostos são das estações primavera e outono, respectivamente. Nas estações verão e inverno apenas os dois compostos majoritários são classificados como HS, sendo os compostos (*E*)-cariofileno (MC_V: 7.32%) e β -selineno (MC_I: 7.06%) encontrados, respectivamente, nas estações citadas e germacreno d (MC_V: 7.32%; MC_I: 5.91%), como composto em comum. Esta espécie apresenta porcentagens muito baixas de MO, tendo apenas o composto 1,8-cineol (MC_P: 0.24%; MC_V: 4.22%; MC_O: 0.32%; MC_I: 4.06%) em todas as

estações e o linalol (0.24%) exclusivo do verão. Os monoterpenos, MO e HM, seguem, em concentrações bem inferiores aos sesquiterpenos, o caminho inverso, ou seja, suas concentrações são maiores no verão e inverno. Não foi encontrado na literatura estudos dos OEs desta espécie, sendo assim estes resultados são inéditos até o momento.

Figura 13 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpenos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie *Myrciaria coronata*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

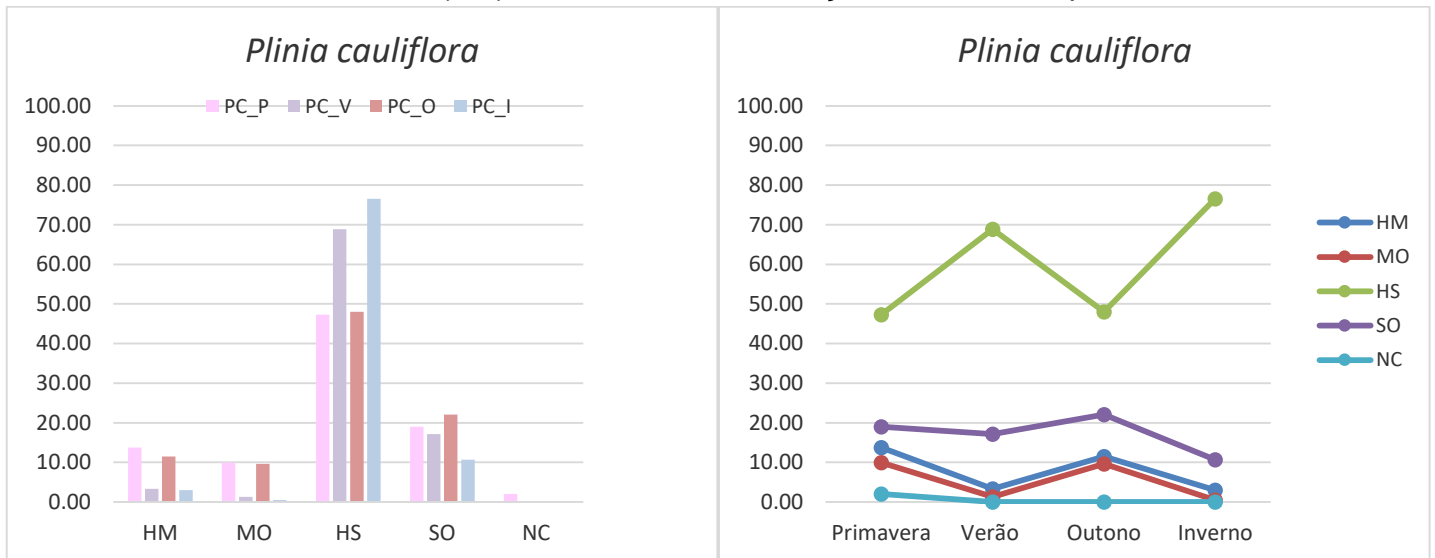
5.3.5 *Plinia cauliflora*

As análises de CG-EM para o estudo de sazonalidade da espécie *P. cauliflora* permitiram inferir a presença de 49 – 58 compostos por desreplicação variando as concentrações de 90.6 – 92% entre as diferentes estações do ano. Os sesquiterpenos estão presentes em maior porcentagem, sendo a maior parte dos compostos, em todas as estações, classificados como HS, com suas concentrações variando de 47.3 – 76.5%. É possível observar através da Figura 14 que, mesmo tendo maior quantidade em todo ano, há grande variação nas concentrações dos HS, sendo estes com concentrações mais elevadas no verão, estação com maior média do índice de precipitação pluvial (288.8mm) e maior temperatura (21.4°C) e inverno, estação com menor média do índice de precipitação (15.4mm) e menor temperatura (17.7°C), registrado no ano da coleta.

Essas estações apresentam os mesmos compostos majoritários, porém com concentrações distintas, onde se observa que as menores concentrações foram encontradas no verão, sendo (*E*)-cariofileno (PC_V: 5.48%; PC_I: 8.57%) e germacreno d (PC_V: 6.14%; PC_I: 17.90%), o que nos permite inferir que, para esta espécie, ambos os compostos são encontrados em maior quantidade nos dias mais frios e com baixo teor de chuva. Vale ressaltar que os compostos citados são classificados como HS. Os demais compostos são classificados como SO, HM e MO, e observa-se que, ocorre o processo oposto ao HS, ou seja, apresenta maiores concentrações nas estações da primavera e outono e o composto majoritário nestas estações é o mesmo, 1,8-cineol (PC_P: 9.44%; PC_O: 9.17%) e classificado como MO.

Na literatura o relato característico da espécie *P. cauliflora* é a presença de maior porcentagem de sesquiterpenos. Entretanto, estudos encontrados apresentam discrepância em relação aos compostos majoritários a este trabalho, sendo apenas dois compostos semelhantes relatados como majoritários, assim como neste trabalho, porém em estação também, distinta. Um estudo realizado em Viamão-RS, a coleta da espécie ocorreu no inverno e obteve vinte e dois compostos identificados, tendo os compostos espatulenol (27.2%), óxido de cariofileno (21.6%) e *epi*-globulol (8.1%), como seus majoritários (APEL, 2006). Outro estudo realizado em Santa Helena-GO, entre a primavera e verão, obteve cinquenta e dois compostos identificados, tendo os compostos (*E*)-cariofileno (14.69%), β -bisaboleno (9.36%) e (*E, E*)- α -farneceno (8.07%), como seus compostos majoritários (DA SILVA, 2018). E por fim, um estudo em Hidrolândia, também no estado de Goiás, obteve vinte e oito compostos, em que os três compostos majoritários foram germacreno d (20.48 - 27.2%), β -eudesmol (14.84 - 19.2%) e α -eudesmol (10.28 - 12.94%). Neste último estudo, foram coletadas a mesma espécie em seis solos distintos, sendo que os compostos majoritários foram os mesmos havendo variação apenas nas suas porcentagens (DUARTE, 2010).

Figura 14 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpenos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie *Plinia cauliflora*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

5.3.6. *Psidium guajava*

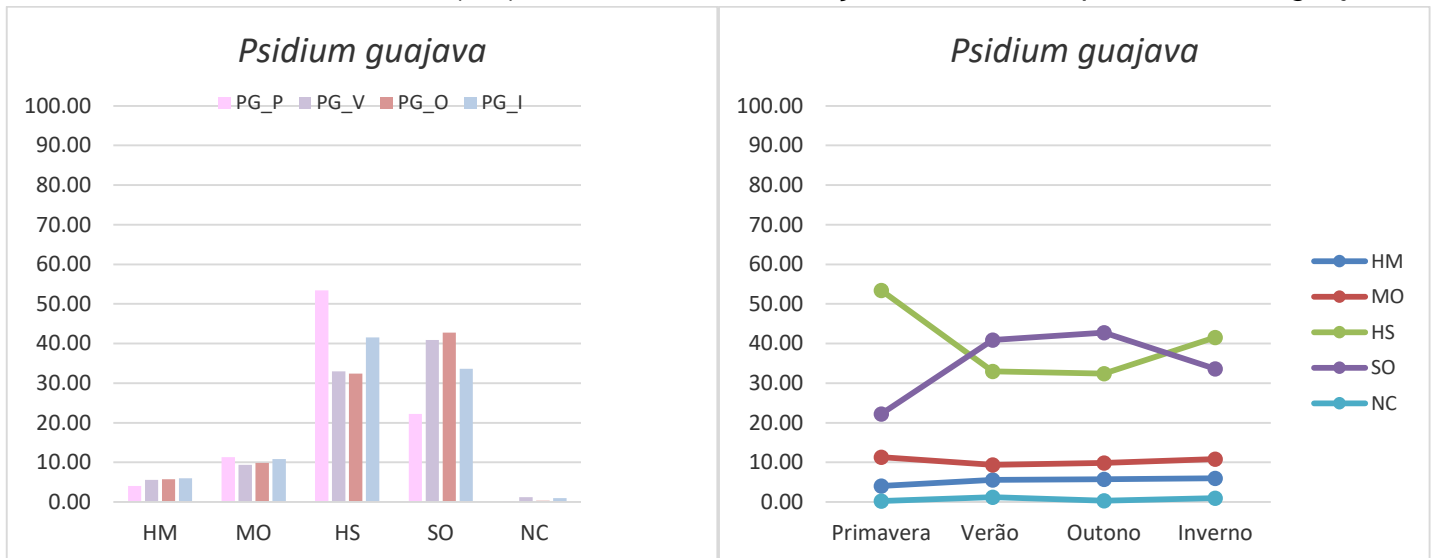
Por fim, as análises de CG-EM para o estudo de sazonalidade da espécie *P. guajava* permitiram determinar a presença de 50 – 58 compostos por desreplicação variando as concentrações de 90.1 – 93% entre as diferentes estações do ano. Os sesquiterpenos estão presentes em maior porcentagem, sendo a maior parte dos compostos das estações primavera e inverno classificados como HS, com suas concentrações variando de 53.4 e 41.5%, respectivamente. Já a maior parte dos compostos das estações verão e outono estão classificados como SO, com suas concentrações variando de 40.9 e 42.7%, respectivamente. É possível observar nos gráficos da Figura 15 a seguir, que as concentrações dos HS e SO se alteram, ou seja, quando há aumento das concentrações de SO há queda nas concentrações de HS e vice-versa. Vale destacar que na primavera os três compostos majoritários são SH com concentrações elevadas, sendo os compostos aromadendreno (20.93%), (*E*)-cariofileno (10.21%) e *allo*-aromadendreno (10.08%). No inverno dois compostos majoritários são SH, sendo os compostos (*E*)-cariofileno (10.21%) e β -selineno (8.91%). Entretanto, no verão e outono, os compostos majoritários são classificados como SO, sendo o globulol (9.67%) e cariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -ol (7.86%),

respectivamente. Vale ressaltar que o composto (*E*)-*cariofileno* em todas as estações do ano, desta espécie, está presente entre os três compostos majoritários.

Na literatura estudos encontrados apresentam diferença em relação aos compostos majoritários deste presente trabalho, sendo apenas um composto semelhante relatado como majoritário: (*E*)-*cariofileno*. Um estudo realizado em Linhares-ES e Mimoso do Sul-ES, a coleta das espécies ocorreu no inverno e obteve trinta e três compostos, tendo os compostos (*E*)-*cariofileno* (PG_L: 16%; PG_M: 14.2%), α -humuleno (PG_L: 11.4%; PG_M: 7.1%), e β -bisabolol (PG_L: 8.8%; PG_M: 10.1%), como seus majoritários (DE SOUZA, 2017). Um estudo realizado por De Lima, 2008, analisou quatro espécies diferentes de *P. guajava* e todos apresentaram o composto 1,8-cineol como majoritário, sendo suas concentrações variando de 42.68 – 12.83%. Além deste composto, também pode-se destacar selin-11-en-4- α -ol (20.98 – 22.19%) e óxido de cariofileno (9.09 – 9.40%). Essas espécies foram coletadas em Lavras-MG, no outono de 2008.

Outro estudo, realizado em Rio Verde-GO, foi extraído OEs das folhas, a coleta ocorreu no outono e obteve treze compostos identificados, tendo α -cadinol (37.8%), (*E*)-*cariofileno* (12.2%), nerolidol (9.1%), α -selineno (8.8%), β -selineno (7.4%) e óxido de cariofileno (7.2%), como seus compostos majoritários (FERNANDES, 2021). Vale ressaltar que no presente estudo esses OEs obtiveram atividade anti-*T.cruzi*. E por fim, um estudo realizado na província de Punjab, no Paquistão, onde se analisou os OEs das espécies de goiaba branca e vermelha, coletadas no verão, obtiveram quarenta e cinquenta e dois compostos, respectivamente. Ambos os OEs não apresentaram compostos majoritários iguais, sendo os majoritários da espécie de goiaba branca: (*E*)-*cariofileno* (9.08%), nerolidol (6.68%) e óxido de cariofileno (6.18%). Já os compostos majoritários da espécie goiaba vermelha foram: α -felandreno (11.66%), eucaliptol (10.01%) e α -terpineol (7.78%) (HANIF, 2018).

Figura 15 - Correlação hidrocarbonetos monoterpênicos (HM), monoterpênicos oxigenados (MO), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS), sesquiterpênicos oxigenados (SO) e compostos não classificados (NC) de acordo com a estação do ano da espécie *Psidium guajava*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Por se tratar de estudo sazonal de seis espécies diferentes, verifica-se que há uma ampla diversidade química. Analisando visualmente os compostos dos OEs (Tabela 11) não há nenhum composto semelhante a todas as espécies nas diferentes estações do ano. Entretanto, ao observar sazonalmente cada uma das espécies verificamos que *C. viminalis* apresenta mais de 38% dos compostos comuns, com diferentes concentrações em cada uma das diferentes estações do ano e quase 29% são compostos exclusivos, sendo o inverno a estação que concentra maior número desses compostos, correspondendo a mais de 53% dos mesmos. *E. citriodora* apresenta menos de 1% dos compostos comuns, com diferentes concentrações em cada uma das diferentes estações do ano e pouco mais de 38% são compostos exclusivos, sendo no verão a estação que concentra maior número desses compostos, correspondendo a quase 52% dos mesmos. *E. uniflora* apresenta mais de 18% dos compostos comuns, com diferentes concentrações em cada uma das diferentes estações do ano e quase 44% são compostos exclusivos, sendo na primavera a estação que concentra maior número desses compostos, correspondendo a quase 61% dos mesmos. *M. coronata* apresenta mais de 35% dos compostos comuns, com diferentes concentrações em cada uma das diferentes estações do ano e quase 27% são compostos exclusivos, sendo na primavera e no inverno as estações onde se concentra maior número desses compostos,

correspondendo a mais de 32% dos mesmos. *P. cauliflora* apresenta mais de 37% dos compostos comuns, com diferentes concentrações em cada uma das diferentes estações do ano e quase 19% são compostos exclusivos, sendo na primavera a estação que concentra maior número desses compostos, correspondendo a mais de 53% dos mesmos. *P. guajara* apresenta 29% dos compostos comuns, com diferentes concentrações em cada uma das diferentes estações do ano e quase 20% são compostos exclusivos, sendo no outono a estação que concentra maior número desses compostos, correspondendo a 47% dos mesmos. Os compostos exclusivos de cada espécie nas diferentes estações pode ser observado na Tabela 12.

Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

Compostos ^[a]	RT ^[b]	LI ^[c]	RI ^[d]	CVP	CVV	CVO	CVI	EEP	EEV	EEO	E EI	EUP	EUV	EUO	EUI	MCP	MCV	MCO	MCI	PCP	PCV	PCO	PCI	PGP	PGV	PGO	PGI	CL.
33 terpinoleno	10.98	1086	1052	0.2	0.1	0.1	0.0	-	-	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	0.9	0.5	-	-	-	3.5	2.7	HM
34 linalol	11.32	1096	1082	0.6	1.1	1.0	0.5	1.9	0.7	0.5	0.8	-	-	-	-	-	0.2	-	-	0.5	0.5	1.4	2.8	-	0.1	0.2	-	MO
35 isovalerato de isopentila	11.6	1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-	-	-	MO
36 <i>cis</i> -óxido de rosa	11.77	1108	1114	-	-	-	-	-	0.1	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
37 exo-fenhol	12.28	1121	1138	0.2	0.1	0.3	0.2	0.6	0.3	0.5	-	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
38 α -campholenal	12.46	1126	1155	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
39 <i>trans</i> -pinocarveol	12.99	1139	1131	0.5	0.2	0.6	0.2	1.0	0.3	0.2	-	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
40 <i>cis</i> - β -terpineol	13.2	1144	1158	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
41 <i>neo</i> -isopulegol	13.37	1148	1196	-	-	-	-	-	0.7	1.8	4.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
42 hidrato de canfeno	13.43	1149	1088	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
43 isopulegol	13.43	1149	1196	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
44 citronela	13.58	1153	1125	-	-	-	-	-	0.2	22.5	49.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
45 iso-isopulegol	13.86	1159	1196	-	-	-	-	-	0.1	0.2	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
46 isoborneol	13.87	1160	1138	0.8	-	0.4	0.5	1.6	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
47 borneol	14.29	1165	1138	0.3	0.1	0.5	0.2	0.5	0.3	0.7	-	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	SO
48 terpinen-4-ol	14.66	1177	1137	0.9	1.7	1.5	1.1	4.0	5.6	0.3	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
49 <i>p</i> -cymen-8-ol	14.91	1182	1197	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
50 (<i>Z</i>)-3-butanoato de hexenila	15.09	1186	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
51 α -terpineol	15.21	1188	1143	4.2	6.4	6.1	4.2	11.0	5.5	2.5	-	3.9	-	-	-	-	0.6	-	-	1.1	1.6	1.9	0.7	-	-	-	-	HM
52 <i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	15.24	1189	1201	-	-	-	0.1	0.4	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
53 <i>endo</i> -acetato de fencila	16.57	1220	1277	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
54 citronelol	16.8	1225	1179	-	-	-	-	-	-	22.0	39.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
55 <i>cis</i> -carveol	16.94	1226	1206	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
56 nerol	16.97	1229	1228	-	-	-	-	-	0.1	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
57 <i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	17	1230	1201	-	-	-	0.0	0.2	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
58 neral	17.32	1238	1174	-	-	-	-	-	-	0.1	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
59 formato de isobornila	17.36	1239	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.6	-	-	-	NC
60 geraniol	17.95	1252	1228	1.3	2.8	2.0	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
61 piperitona	17.95	1252	1158	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
62 geranial	18.62	1267	1174	-	-	-	-	-	0.2	0.2	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
63 acetato de bornila	19.49	1285	1277	-	-	-	-	-	-	0.2	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2	NC

Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

Compostos ^[a]	RT ^[b]	LI ^[c]	RI ^[d]	CVP	CVV	CVO	CVI	EEP	EEV	EEO	E EI	EUP	EUV	EUO	EUI	MCP	MCV	MCO	MCI	PCP	PCV	PCO	PCI	PGP	PGV	PGO	PGI	CL.
64 <i>trans</i> -óxido de linalol acetate	19.64	1288	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
65 metil geranata	21.19	1324	1252	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
66 8-hidroxi-neo-mentol	21.44	1330	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	MO
67 δ-elemeno	21.77	1338	1377	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	0.8	0.9	2.5	2.2	0.4	0.5	-	0.6	-	-	-	-	HS
68 α-acetato de terpinila	22.26	1349	1333	-	-	-	-	-	0.2	6.1	-	10.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
69 α-cubebeno	22.33	1351	1344	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	-	0.1	0.4	0.2	0.4	-	-	-	-	HS
70 α-longipineno	22.41	1352	1403	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
71 eugenol	22.7	1359	1392	0.2	0.2	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.3	0.1	0.2	NC
72 α-bourboneno	22.8	1383	1344	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	-	-	-	HS
73 α-ylangeno	23.43	1375	1221	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.1	0.1	-	0.2	0.2	0.1	0.4	-	0.3	-	0.3	0.3	0.2	HS
74 isoleno	23.48	1376	1419	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.5	-	0.7	0.3	0.3	0.5	1.0	-	-	-	0.6	-	HS
75 α-copaeno	23.49	1376	1221	-	-	-	-	-	-	0.2	-	0.3	1.4	1.3	2.0	1.1	2.3	2.2	2.6	2.4	2.3	0.3	0.9	5.5	2.8	-	-	HS
76 acetato de geranila	23.7	1379	1352	0.1	0.2	0.2	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
77 β-panasinseno	23.78	1382	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
78 β-cubebeno	24.04	1388	1339	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.7	0.2	0.1	0.2	-	0.2	0.6	0.1	-	-	HS
79 β-bourboneno	24.05	1388	1339	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.2	0.1	0.2	0.2	1.1	0.7	-	-	0.7	-	0.3	0.6	-	-	HS
80 β-elemeno	24.15	1390	1398	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9	0.7	0.7	0.7	1.0	2.9	1.8	0.2	0.4	-	1.5	0.5	1.0	0.4	0.8	HS
81 (<i>E</i>)-jasmone	24.19	1391	1338	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
82 sativeno	24.21	1391	1339	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	0.1	0.2	0.5	-	-	0.4	0.5	0.2	-	5.5	9.7	-	0.1	HS
83 fenil etil isobutanoato	24.31	1393	1394	-	-	-	-	-	-	-	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
84 sibireno	24.62	1400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
85 (<i>Z</i>)-Isoeugenol	24.9	1406	-	-	0.2	-	-	-	0.2	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MO
86 α-gurjuneno	25	1409	1419	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.5	-	-	0.5	0.7	6.2	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7	HS
87 β-copaeno	25.9	1432	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	0.1	0.3	0.4	HS
88 β-gurjuneno	25.95	1433	1403	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.3	-	0.3	0.3	0.4	-	1.0	0.1	-	-	-	HS
89 γ-elemeno	26.08	1436	1465	-	-	-	-	-	-	-	0.0	-	7.2	11.3	11.9	12.1	0.4	4.0	-	0.3	0.4	-	-	-	-	-	-	HS
90 β-humuleno	26.16	1438	1574	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	HS
91 α-guaieno	26.2	1439	1490	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.3	0.4	0.3	-	0.3	3.1	4.5	4.0	3.1	6.6	6.2	0.4	0.7	7.4	8.9	HS
92 aromadendreno	26.27	1441	1386	0.1	0.0	-	-	-	1.1	0.3	-	1.4	1.0	3.6	3.0	3.0	3.9	0.2	1.9	2.8	2.4	0.6	-	-	-	-	-	HS
93 2-fenil etil butanoato	26.28	1441	1458	-	0.1	0.1	0.3	1.4	1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
94 (<i>E</i>)-cariofileno	26.36	1419	1494	-	0.1	-	-	-	-	-	2.7	1.2	4.0	5.3	4.6	4.4	8.8	7.3	8.4	5.4	9.4	5.0	1.1	2.9	-	-	-	HS
95 6,9-guaiadieno	26.39	1444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	0.6	-	-	-	-	HS

Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

Compostos ^[a]	RT ^[b]	LI ^[c]	RI ^[d]	CVP	CVV	CVO	CVI	EEP	EEV	EEO	E EI	EUP	EUV	EUO	EUI	MCP	MCV	MCO	MCI	PCP	PCV	PCO	PCI	PGP	PGV	PGO	PGI	CL.	
96	α-himachaleno	26.68	1451	1494	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	0.4	HS	
97	espirolepequino	26.69	1451	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	HS	
98	trans-muurolo-3,5-dieno	26.78	1453	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	0.3	-	-	0.1	-	0.1	HS	
99	α-humuleno	26.82	1454	1579	-	-	-	-	-	0.3	0.1	0.5	2.0	1.7	1.9	1.2	1.5	1.4	1.0	1.7	1.9	4.1	-	0.3	0.3	-	4.5	HS	
100	allo-aromadendreno	27.07	1460	1386	0.2	0.0	0.2	0.1	0.3	-	0.2	-	0.6	3.7	1.4	1.7	7.1	3.8	1.1	1.3	2.2	2.2	0.3	2.0	-	-	-	HS	
101	cis-cadina-1(6),4-dieno	27.18	1463	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	HS
102	cis-muurolo-4(14),5-dieno	27.35	1466	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS	
103	4,5-di-epi-aristolocheno	27.63	1473	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.4	-	0.2	-	0.5	6.3	8.5	HS	
104	trans-cadina-1(6),4-dieno	27.77	1476	1440	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	-	1.0	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	HS	
105	γ-gurjuneno	27.8	1477	1461	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-	-	-	3.8	2.8	0.3	0.2	-	-	-	-	HS	
106	benzoato de pentila	27.84	1478	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	NC	
107	γ-muurolo	27.91	1479	1435	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5	2.0	1.5	3.0	1.3	1.2	2.1	1.9	2.0	2.3	3.2	0.6	-	-	-	HS	
108	germacreno d	27.99	1481	1515	-	-	-	-	-	-	-	-	11.4	17.5	18.8	9.8	8.2	10.8	5.9	3.7	2.8	-	1.4	-	-	-	-	HS	
109	α-amorfeno	28.13	1484	1440	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	0.8	0.6	0.5	0.3	0.6	0.2	0.5	0.5	-	-	-	-	-	-	HS	
110	β-selineno	28.37	1490	1469	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	1.1	1.3	0.8	1.1	5.0	6.8	7.1	3.3	2.6	0.3	1.2	0.3	0.1	0.4	-	HS
111	δ-selineno	28.49	1492	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
112	trans-muurolo-4(14),5-dieno	28.53	1493	1435	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
113	cis-cadina-1.4-dieno	28.62	1495	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.1	1.4	-	0.7	2.0	2.5	1.0	0.8	HS	
114	γ-amorfeno	28.63	1495	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6	0.1	0.2	0.5	-	-	-	0.1	0.1	HS	
115	valenceno	28.66	1496	1474	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	0.2	-	-	0.2	0.2	0.4	1.5	-	0.9	0.8	1.6	1.7	HS	
116	viridifloreno	28.68	1496	1419	-	-	-	-	-	0.4	-	1.5	-	-	-	6.2	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.2	0.2	0.2	HS	
117	α-selineno	28.74	1498	1474	-	-	-	0.2	0.5	0.4	-	-	-	1.1	1.0	1.2	3.2	2.1	2.0	3.2	2.6	7.7	1.5	-	3.9	6.6	5.2	HS	
118	biciclogermacreno	28.83	1500	1499	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	2.1	-	0.2	1.6	-	1.6	3.2	4.1	6.7	HS	
119	isodauceno	28.83	1500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	0.7	-	-	NC	
120	α-muurolo	28.84	1500	1580	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	0.8	1.1	1.2	0.3	0.9	0.9	0.6	1.0	0.8	1.2	4.8	3.4	1.7	2.4	HS	
121	α-chamigreno	28.96	1503	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	HS	
122	(E,E)-α-farneseno	29.03	1505	1458	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	0.1	HS	
123	germacreno a	29.18	1509	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.7	0.2	-	0.6	3.0	2.0	-	-	-	-	-	0.1	0.2	0.4	HS	
124	α-bulneseno	29.2	1509	1490	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
125	δ-amorfeno	29.29	1512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-	0.2	0.3	-	3.3	0.5	0.2	0.4	1.2	0.7	-	-	-	-	HS	
126	α-panasinseno	29.3	1540	1416	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.3	0.2	-	-	-	-	-	-	HS

Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

Compostos ^[a]	RT ^[b]	LI ^[c]	RI ^[d]	CVP	CVV	CVO	CVI	EEP	EEV	EEO	E EI	EUP	EUV	EUO	EUI	MCP	MCV	MCO	MCI	PCP	PCV	PCO	PCI	PGP	PGV	PGO	PGI	CL.
127 α-alasqueno	29.31	1512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.6	-	-	-	0.2	-	-	-	-	HS
128 γ-cadineno	29.35	1513	1435	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.9	1.7	1.5	1.5	1.3	1.4	1.2	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
129 <i>trans</i> -cicloisolongifol-5-ol	29.36	1513	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-	-	-	-	-	SO
130 δ-cadineno	29.72	1523	1469	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	5.0	4.3	4.6	3.7	2.7	3.4	4.8	2.9	2.5	0.2	-	0.1	0.1	-	-	HS
131 <i>trans</i> -cadina-1,4-dieno	30.18	1534	1440	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	0.5	-	0.1	0.3	3.4	0.3	20.9	4.8	0.2	0.8	HS
132 α-cadineno	30.33	1538	1440	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	0.9	-	-	0.7	0.2	0.2	0.7	0.5	0.5	0.3	4.4	-	-	-	-	HS
133 α-calacoreno	30.62	1545	1547	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	HS	
134 selina-3,7(11)-dieno	30.66	1546	1507	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2	-	0.2	-	-	0.2	0.1	0.4	0.2	-	0.4	0.2	-	0.3	HS
135 flavesona	30.69	1547	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC
136 β-vetiveneno	31.02	1555	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	HS
137 germacreno b	31.24	1561	1603	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.6	5.4	5.2	0.3	6.1	2.1	2.1	-	0.1	0.9	-	1.0	1.6	-	-	HS
138 (<i>E</i>)-nerolidol	31.32	1563	1564	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	-	0.4	0.4	SO
139 β-calacoreno	31.43	1565	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HS
140 epiglobulol	31.55	1600	1530	0.2	0.2	0.4	0.4	1.5	1.7	0.5	-	1.3	1.4	1.0	1.9	2.7	1.7	2.2	1.4	0.4	0.5	0.2	-	-	-	0.2	-	SO
141 palustrol	31.56	1568	1530	-	-	0.1	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	0.8	1.1	1.5	1.3	SO
142 longipinanol	31.58	1569	-	-	-	-	-	-	-	1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	SO
143 álcool cariofilênico	31.7	1572	1677	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2	0.6	0.5	SO
144 espatulenol	31.96	1578	1536	0.8	0.3	0.5	0.2	0.7	0.6	0.6	-	1.5	4.9	5.3	3.7	1.7	4.3	2.6	2.9	3.8	2.9	1.1	0.9	0.3	0.1	1.1	0.9	SO
145 óxido de cariofileno	32.16	1583	1507	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	4.4	3.8	5.4	7.5	3.4	0.6	0.9	1.8	2.4	0.1	0.2	SO
146 gleenol	32.33	1587	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2	0.2	0.2	SO
147 β-copaen-4α-ol	32.49	1590	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	SO
148 globulol	32.5	1590	1530	0.9	0.7	1.0	-	-	0.7	0.8	-	2.0	3.8	1.8	-	2.1	2.4	-	0.3	0.1	0.4	-	0.2	-	-	-	-	SO
149 viridiflorol	32.58	1592	1530	-	-	-	0.2	0.4	2.3	-	-	-	1.1	0.8	-	1.5	-	-	-	2.4	2.3	2.8	2.1	0.5	0.6	2.0	2.5	SO
150 cubeban-11-ol	32.7	1595	-	-	-	0.5	0.2	0.5	0.7	0.3	-	0.6	1.0	0.6	0.7	1.0	0.9	-	0.3	0.5	0.5	-	-	-	0.1	-	SO	
151 rosifoliol	32.89	1600	1598	0.9	0.7	1.2	0.1	0.3	-	0.2	-	0.5	1.2	0.4	0.8	0.5	1.2	-	0.4	-	-	-	0.4	-	-	1.0	SO	
152 guaiol	32.92	1600	1614	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	3.5	0.9	0.4	-	-	SO
153 ledol	32.99	1602	1530	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	0.3	1.0	1.1	-	0.4	0.5	0.5	1.6	0.7	-	-	-	-	SO
154 epóxido de humulenol	33.21	1608	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2	0.2	-	1.2	0.4	0.6	0.9	1.2	2.5	1.3	10.1	5.4	0.1	0.2	SO
155 1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	33.6	1618	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO
156 2,7Z-bisaboladien-4-ol	33.6	1619	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO
157 junenol	33.61	1619	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.4	0.3	0.4	-	-	0.3	-	-	-	-	-	-	1.4	0.5	0.8	SO

Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Conclusão)

Compostos ^[a]	RT ^[b]	LI ^[c]	RI ^[d]	CVP	CVV	CVO	CVI	EEP	EEV	EEO	E EI	EUP	EUV	EUO	EUI	MCP	MCV	MCO	MCI	PCP	PCV	PCO	PCI	PGP	PGV	PGO	PGI	CL.	
158 1- <i>epi</i> -cubenol	33.95	1628	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO
159 muurola-4.10(14)-dien-1β-ol	34.06	1631	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.2	7.9	3.0	HS	
160 selina-1,3,7(11)-trien-8-one	34.15	1634	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.7	6.3	6.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO	
161 <i>epi</i> -α-cadinol	34.38	1640	1580	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	0.7	1.1	9.2	0.5	4.8	9.4	9.5	10.5	SO	
162 cariofileno-4(12),8(13)-dien-5α-ol	34.4	1640	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.3	0.6	1.5	1.1	1.7	4.0	1.0	0.2	0.5	0.2	-	SO	
163 cariofileno-4(12),8(13)-dien-5β-ol	34.41	1640	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.7	-	SO	
164 <i>epi</i> -α-muurolol	34.46	1642	1580	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.9	1.5	1.7	1.2	0.7	3.6	1.6	-	-	1.5	-	-	0.6	1.1	0.4	SO	
165 selina-3.11-dien-6-α-ol	34.54	1644	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.2	-	-	SO	
166 α-muurolol	34.61	1646	1580	-	-	-	-	-	-	0.2	-	0.2	0.9	0.6	0.7	0.4	0.3	1.2	0.8	0.2	0.4	0.2	0.4	-	-	-	-	SO	
167 cubenol	34.63	1646	1580	-	-	-	-	-	-	0.3	-	0.6	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO	
168 β-eudesmol	34.79	1650	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	0.3	-	0.4	-	0.2	-	-	6.6	2.1	4.4	0.5	0.8	0.3	0.4	SO	
169 α-eudesmol	34.91	1653	1598	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	5.3	1.6	SO		
170 α-cadinol	34.93	1654	1580	-	-	-	-	-	0.1	0.2	-	0.2	2.8	2.9	2.8	2.3	2.7	3.6	3.8	-	0.2	-	-	-	-	-	-	SO	
171 selin-11-en-4α-ol	35.14	1659	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-	4.6	4.1	SO	
172 14-hidroxi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	35.53	1669	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	SO
173 cadaleno	35.8	1676	1706	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8	-	-	SO	
174 Z-acetato de nerolidil	35.85	1677	1754	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	NC	
175 germacra-4(15),5,10(14)-trien-1α-ol	36.18	1686	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.4	0.2	-	-	0.5	0.5	-	6.1	3.8	17.9	-	-	-	-	SO	
176 germacrona	36.48	1693	1774	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	0.5	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO	
177 eudesm-7(11)-en-4-ol	36.74	1700	1647	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	0.3	-	1.0	1.3	2.3	1.4	1.3	1.5	1.3	1.4	SO	
178 amorfa-4.9-dien-2-ol	36.77	1700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	0.3	-	-	SO	
179 agglomerono	36.96	1698	-	-	-	-	0.6	2.9	2.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC	
180 2(<i>E</i>),6(<i>Z</i>)-farnesol	37.27	1715	1710	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	SO	
181 selina-1,3,7(11)-trien-8-one epóxido	38.46	1748	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.4	5.5	5.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	SO	
182 pentadecanol	39.42	1774	1755	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SO	
183 hexadecanol	43.03	1875	1854	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-	-	0.2	1.0	0.3	0.4	NC	
184 fitol	45.37	1942	2045	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	0.3	0.7	0.4	-	-	-	0.6	2.0	2.1	3.8	3.0	0.8	0.6	0.5	0.7	NC	
Hidrocarboneto Monoterpênico (HM)				41.8	45.4	43.9	21.1	32.9	54.7	18.3	0.9	32.3	0.0	0.0	0.0	9.4	12.7	5.0	5.9	13.8	3.4	11.5	3.0	4.0	5.6	5.7	6.0		
Monoterpeno Oxigenado (MO)				50.8	47.1	47.1	72.6	32.0	22.3	63.2	95.4	31.2	0.0	0.0	0.0	0.2	4.5	0.3	4.1	9.9	1.3	9.7	0.5	11.3	9.4	9.9	10.8		
Hidrocarboneto Sesquiterpênico (HS)				0.3	0.3	0.2	0.3	8.5	4.4	4.3	1.3	10.3	54.5	61.9	62.7	68.5	52.9	65.2	59.7	47.3	68.8	48.0	76.5	53.4	33.0	32.4	41.5		
Sesquiterpeno Oxigenado (SO)				3.0	2.0	4.0	1.3	6.9	8.1	4.5	0.1	9.5	33.7	29.4	28.2	15.8	21.7	19.9	20.0	19.0	17.2	22.0	10.6	22.3	40.9	42.7	33.7		

Tabela 11 - Composição dos óleos essenciais de 6 espécies de Myrtaceae coletadas para estudo de sazonalidade nas diferentes estações do ano no Estado de Minas Gerais (Brasil). As análises foram realizadas por CG-EM e a anotação foi baseada na similaridade dos espectros teóricos encontrados na base de dados NIST08 e nos índices de retenção de Kovats. (Continuação)

	CVP	CVV	CVO	CVI	EEP	EEV	EEO	E EI	EUP	EUV	EUO	EUI	MCP	MCV	MCO	MCI	PCP	PCV	PCO	PCI	PGP	PGV	PGO	PGI
Não classificado (NC)	1.2	2.1	1.9	2.0	13.4	6.4	7.6	0.5	13.2	2.5	0.9	1.0	0.0	0.0	0.7	0.6	2.0	0.0	0.0	0.0	0.2	1.2	0.4	1.0
Total	97.2	96.8	97.0	97.3	93.7	95.9	97.9	98.2	96.4	90.6	92.2	91.9	93.9	91.7	91.1	90.3	92.0	90.6	91.2	90.7	91.2	90.1	91.1	93.0
Composto identificado desreplicação	28	37	38	34	31	51	52	22	47	55	48	47	57	50	47	57	53	58	49	47	50	58	54	53

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Legenda: ^a Os compostos são listados em ordem de seu LI;

^b RT = tempo de retenção (min);

^c RI = índice de retenção relativo à série homóloga de n-alcanos (C10 –C27) usando coluna RTX-5;

^d LI = Índice de retenção de literatura;

Hidrocarbonetos monoterpênicos (HM);

Monoterpenos oxigenados (MO);

Hidrocarbonetos sesquiterpênicos (HS);

Sesquiterpenos oxigenados (SO).

Traço (<0,1%)

Compostos não detectados são marcados como (-).

Tabela 12 - Compostos exclusivos das espécies dos OEs da família Myrtaceae do estudo de sazonalidade de cada estação do ano.

Espécies	Estação do ano	Compostos exclusivos
<i>C. viminalis</i>	Primavera	-
	Verão	(<i>E</i>)-cariofileno, Isoleno, (<i>Z</i>)-isoeugenol, (<i>Z</i>)-4-hexenol
	Outono	<i>cis</i> -carveol, flavesona, palustrol
	Inverno	<i>p</i> -cimeno, α -selineno, <i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol, <i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol, <i>p</i> -menta-1(7),8-dieno, acetato de hexenil <(3 <i>Z</i>)>, agglomerono, viridiflorol
<i>E. citriodora</i>	Primavera	acetato de geranila, geranato de metila, (<i>Z</i>)-3- formato de hexila
	Verão	α -felandreno, δ -cadineno, Isoleno, Campholenal < α >, <i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol, <i>p</i> -cymen-8-ol, <i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol, <i>trans</i> -óxido de linalol, piperitona, <i>cis</i> -carveol, Isovalerato de isopentila, <i>trans</i> -óxido acetato de linalol, formato de isobornil, (<i>E</i>)-nerolidol, viridiflorol
	Outono	sabinense, γ -elemeno, α -longipineno
	Inverno	Isopulegol, isobutirato de isoamila, bergamal, (<i>E</i>)-jasmona
<i>E. Uniflora</i>	Primavera	α -terpineol, (<i>Z</i>)- β -ocimeno, σ -cimeno, canfeno, α -Fenchene, Δ^2 -carena, <i>trans</i> -cadinina-1,4-dieno, viridifloreno, 1,8-cineol, terpinen-4-ol, (<i>Z</i>)-3-butanoato de hexenil, <i>trans</i> -pinocarveol, <i>exo</i> -fenchol, α -camfolenal, hidrato de canfeno, α -acetato de terpinila, acetato de geranila, acetato de bornila, geranato de metil, (<i>Z</i>)-4-hexenol, <i>endo</i> -acetato de fencila, cubenol, 1- <i>epi</i> -cubenol, borneol
	Verão	eudesm-7(11)-en-4-ol, Isodauceno, <i>trans</i> -muuro-la-4(14),5-dieno, <i>cis</i> -muuro-la-4(14),5-dieno, (<i>E,E</i>)- α -farneseno, β -copaeno, sativeno, α -ylangeno, α -cadineno, δ -elemeno, δ -amorfenol
	Outono	α -bulneseno, isoleno, valenceno, ledol
	Inverno	-
<i>M. coronata</i>	Primavera	(<i>E</i>)- β -ocimeno, mirceno, α -felandreno, viridifloreno, 1- <i>epi</i> -cubenol, palustrol, guaiol
	Verão	<i>epi</i> - α -cadinol, linalol, σ -cimeno, α -terpineol
	Outono	hexadecanol, eudesm-7(11)-en-4-ol, cubenol, junenol
	Inverno	fitol, α -alasqueno, α -himachaleno, espirolepequineno, <i>trans</i> -muuro-la-3,5-dieno, β -copaeno, γ -amorfenol
<i>P. cauliflora</i>	Primavera	terpinoleno, γ -amorfenol, 4,5-di- <i>epi</i> -aristolocheno, α -panasinseno, fitol
	Verão	pentadecanol, <i>trans</i> -cicloisolongifol-5-ol, <i>trans</i> -cadinina-1(6),4-dieno, sibireno
	Outono	6,9-guaiadieno, α -chamigreno, β -vetiveneno
	Inverno	viridifloreno, α -calacoreno
<i>P. guajara</i>	Primavera	Isoleno, <i>cis</i> - β -Terpineol, santolina trieno
	Verão	β -humuleno, (<i>Z</i>)-Acetato de nerolidila, benzoato de pentila
	Outono	amorfa-4,9-dien-2-ol, cadaleno, selina-3.11-dien-6- α -ol, longipinanol, <i>epi</i> - α -cadinol, cubenol, (<i>Z</i>)-3-butanoato de hexenila, <i>trans</i> -cadinina-1,4-dieno
	Inverno	<i>p</i> -cimeno

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Portanto, ao observar a tabela 12 anterior, pode-se concluir que é muito difícil conseguir qualquer tipo de informação, seja de todas as espécies no estudo sazonal, ou apenas em uma das espécies por cada estação do ano. Isso ocorre devido à grande diversidade química, tanto pelo número de compostos quanto por suas respectivas concentrações.

Para que se pudesse fazer inferências mais conclusivas e abrangentes acerca da composição química dos OEs entre as espécies analisadas nas diferentes estações do ano, tentou-se a construção de modelos matemáticos multivariados, como por exemplo, PCA ou PLS-DA (ou OPLS-DA). Entretanto, não foram contruídos modelos matemáticos satisfatórios para tais análises e, por isso, não foi possível aqui incluir estudos metabolômicos sobre a sazonalidade, neste presente trabalho.

5.4 ATIVIDADE ANTI-*T.cruzi* E CITOTOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PARA ESTUDO DA SAZONALIDADE

O ensaio anti-*T.cruzi* foi realizado também com as 24 amostras de óleos essenciais para o estudo de sazonalidade de seis diferentes espécies da família Myrtaceae, listadas na Tabela 13. Como controle positivo, assim como no estudo anterior, utilizou-se o benzonidazol, uma vez que atualmente é o único medicamento utilizado para tratamento da Doença de Chagas no Brasil. Os valores obtidos de CI_{50} representam a média e o desvio padrão das duplicadas, e foram determinados para a forma tripomastigota de *T.cruzi* e o valor de CC_{50} foi determinado pelas células NCTC.

Dos vinte e quatro OEs estudados (6 diferentes espécies em cada uma das quatro estações), onze deles apresentaram valores de CI_{50} inferiores a 10 $\mu\text{g/mL}$ contra formas tripomastigotas do *T. cruzi* e podem ser considerados ativos (CARNEIRO, 2017; ESTEVAM, 2017; FERNANDES, 2021; SANTOS, 2019): *E. uniflora*_Primavera ($CI_{50} = 3.1 \mu\text{g/mL}$), *E. uniflora*_Verão ($CI_{50} = 4.1 \mu\text{g/mL}$), *E. uniflora*_Outono ($CI_{50} = 3.6 \mu\text{g/mL}$), *P. cauliflora*_Primavera ($CI_{50} = 8.5 \mu\text{g/mL}$), *P. cauliflora*_Verão ($CI_{50} = 8.5 \mu\text{g/mL}$), *P. cauliflora*_Outono ($CI_{50} = 1.3 \mu\text{g/mL}$), *P. cauliflora*_Inverno ($CI_{50} = 2.7 \mu\text{g/mL}$), *P. guajava*_Primavera ($CI_{50} = 2.6 \mu\text{g/mL}$), *P. guajava*_Verão ($CI_{50} = 6.5 \mu\text{g/mL}$), *P. guajava*_Outono ($CI_{50} = 9.0 \mu\text{g/mL}$), *P. guajava*_Inverno ($CI_{50} = 4.0 \mu\text{g/mL}$).

Entretanto, a seleção das espécies, assim como anteriormente, deu-se através do índice de seletividade (IS), onde foram consideradas promissoras aquelas cujo valor do IS foram superior a 10, como preconiza the Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi). Os óleos selecionados podem ser considerados como fontes promissoras de compostos tripanomicidas, sendo que, quanto maior esse valor, mais ativa é considerada a espécie, maior o potencial antichagásico (GUTIERREZ, 2019; SOUZA, 2017; SOUZA, 2021a). Desta forma observa-se na Tabela 13, que há sete OEs com IS maiores que 10: *E. uniflora*_Primavera (SI = 27.0), *E. uniflora*_Verão (SI = 18.1), *E. uniflora*_Outono (SI = 15.5), *P. cauliflora*_Outono (SI = 23.3), *P. cauliflora*_Inverno (SI = 11.4), *P. guajava*_Primavera (SI = 12.5) e *P. guajava*_Inverno (SI = 13.2).

Pôde-se observar que todas as espécies selecionadas se mostraram muito promissoras para a atividade anti-*T.cruzi*, comparadas ao valor de CI_{50} do padrão benzonidazol, sendo *P. cauliflora*_Outono a espécie que apresentou o melhor valor; além disso apresentou o segundo maior valor de IS (23.3). A espécie *E. uniflora*_Primavera foi a espécie que apresentou o maior valor de SI (27.0). As demais espécies promissoras, os valores de CI_{50} variaram de 5 a 31 vezes mais ativas que o padrão, e a variação de IS foi entre 11.4 a 18.1.

Interessante notar que das seis espécies do estudo sobre a sazonalidades apenas três delas foram consideradas promissoras, *E. uniflora*, *P. cauliflora*, e *P. guajava*. Entretanto, não foram em todas as estações que as mesmas foram consideradas promissoras. *E. uniflora*, foi considerada inativa apenas no inverno, *P. cauliflora*, foi considerada promissora nas estações outono e inverno e, por fim, *P. guajava* considerada promissora nas estações primavera e inverno. Desta forma, podemos afirmar que os índices pluviométricos e temperatura, que foram dois fatores que tivemos acesso na época da coleta, são fundamentais na produção de diferentes compostos para que a espécie seja considerada promissora ou inativa.

Tabela 13 - Atividade anti-*T.cruzi* e citotoxicidade de óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae e controle positivo de Benzonidazol.

Espécies	Código	CI ₅₀ (µg/mL)	CC ₅₀ (µg/mL)	IS
<i>C. viminalis</i>	CV_P	36,7 ± 22,8	> 200	5.5
	CV_V	105,2 ± 17,6	> 200	1.9
	CV_O	103,6 ± 37,6	> 200	1.9
	CV_I	71,9 ± 1,9	> 200	2.8
<i>E. citriodora</i>	EC_P	37,7 ± 21,8	> 200	5.3
	EC_V	44,8 ± 25,9	> 200	4.5
	EC_O	59,9 ± 34,9	> 200	3.3
	EC_I	65,2 ± 4,0	> 200	3.1
<i>E. uniflora</i>	EU_P	3,1 ± 2,1	84,4 ± 34,4	27.0
	EU_V	4,1 ± 3,2	74,4 ± 25,4	18.1
	EU_O	3,6 ± 2,0	56,3 ± 2,9	15.5
	EU_I	21,0 ± 3,9	60,0 ± 1,1	2.9
<i>M. coronata</i>	MC_P	20,5 ± 14,4	41,7 ± 20,2	2.0
	MC_V	14,0 ± 18,1	37,2 ± 15,6	2.7
	MC_O	18,5 ± 15,6	88,9 ± 31,4	4.8
	MC_I	10,3 ± 4,0	69,5 ± 14,1	6.7
<i>P. cauliflora</i>	PC_P	8,5 ± 2,0	63,3 ± 7,1	7.4
	PC_V	8,5 ± 0,4	65,0 ± 10,2	7.6
	PC_O	1,3 ± 0,4	31,3 ± 3,4	23.3
	PC_I	2,7 ± 0,5	31,1 ± 0,2	11.4
<i>P. guajara</i>	PG_P	2,6 ± 0,3	32,3 ± 5,6	12.5
	PG_V	6,5 ± 1,5	37,8 ± 4,3	5.9
	PG_O	9,0 ± 0,7	36,4 ± 9,1	4.1
	PG_I	4,0 ± 2,8	52,6 ± 6,2	13.2
Benzonidazol		42,5 ± 8,1	> 200	4.7

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

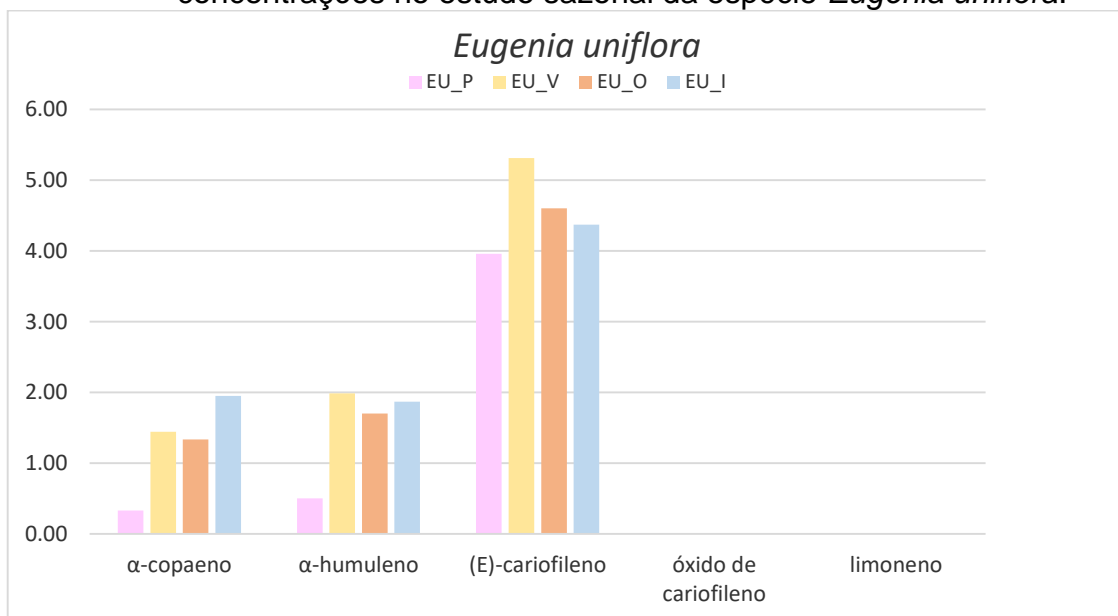
Legenda: CI₅₀ – 50% de concentração inibitória; CC₅₀ – 50% de concentração citotóxica; IS – índice de seletividade; calculado pela razão CC₅₀ contra células NCTC/CI₅₀ contra parasitas (formas tripomastigotas).

Com a grande diversidade de compostos químicos apresentados por cada uma das espécies, o apropriado seria utilizar o método analítico multivariado, para verificar os biomarcadores responsáveis pela atividade anti-*T.cruzi*. Entretanto, tentou-se fazer análises por PLS e OPLS, com o software utilizado no estudo anterior, porém não foi possível obter nenhum modelo matemático satisfatório. Sendo assim, optou-se pelo uso de gráficos para verificar os possíveis biomarcadores.

Desta forma, utilizou-se os cinco principais biomarcadores do estudo anterior para obter alguma resposta quanto às espécies promissoras de acordo com as

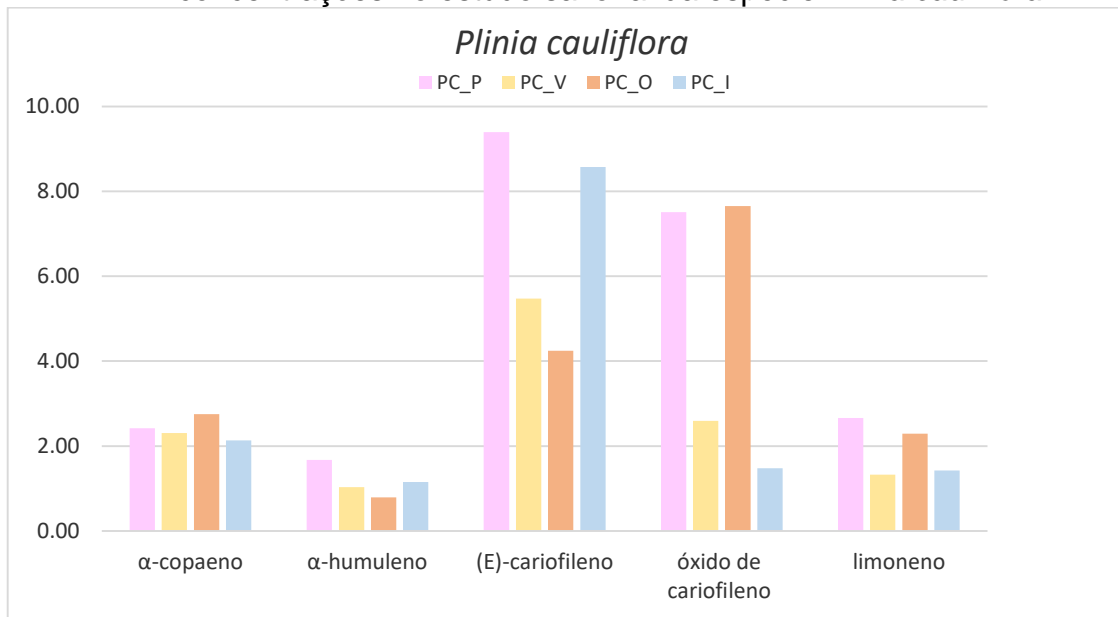
estações em que os resultados foram satisfatórios. Portanto, foram produzidos gráficos para que se pudesse observar a ausência ou presença dos compostos considerados biomarcadores com suas respectivas concentrações. Entretanto não foi possível chegar a nenhuma conclusão. Para a espécie *E. uniflora*, em todas as estações, houve a presença dos compostos α -copaeno, α -humuleno e (*E*)-cariofileno, sendo que para os primeiros compostos citados, a única estação que apresentou menor concentração foi a primavera e, pelos resultados obtidos, foi o que apresentou melhor IS. Os demais compostos, óxido de cariofileno e limoneno foram ausentes (Figura 16). *P. cauliflora* apresenta todos os biomarcadores em sua composição em todas as estações do ano, porém em concentrações diferentes, assim também não foi possível observar relação entre as estações consideradas promissoras e as inativas (Figura 17). *P. guajara* apresenta quase todos os biomarcadores com concentrações diferentes nas diferentes estações, sendo apenas o óxido de cariofileno ausente na primavera. Entretanto, assim como nos gráficos anteriores, não foi possível fazer uma correlação entre espécies promissoras e inativas (Figura 18).

Figura 16 - Correlação dos principais biomarcadores do estudo anterior e suas concentrações no estudo sazonal da espécie *Eugenia uniflora*.



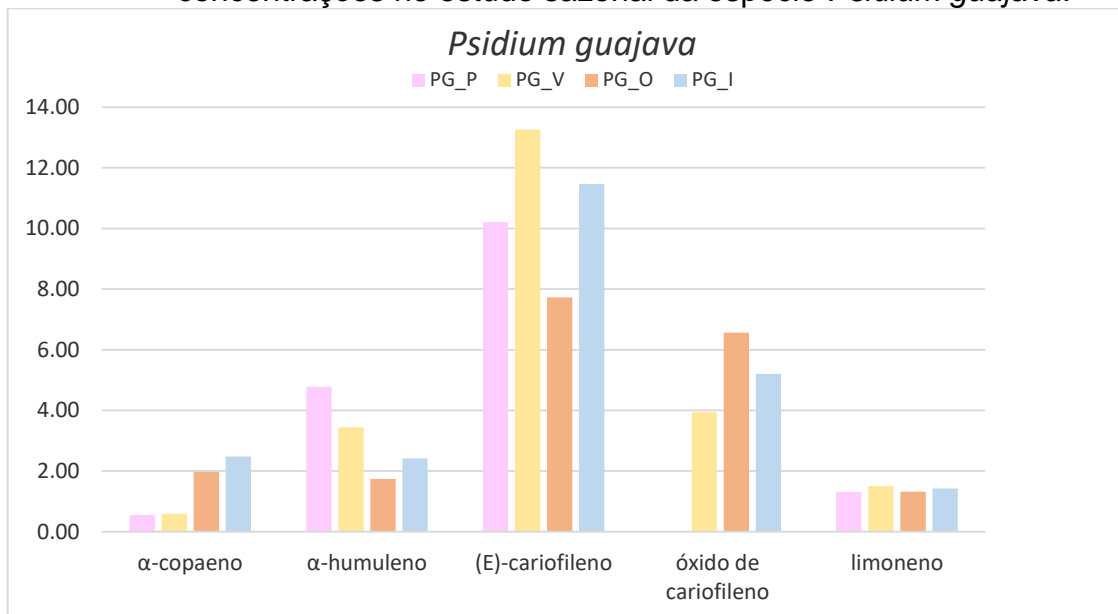
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Figura 17 - Correlação dos principais biomarcadores do estudo anterior e suas concentrações no estudo sazonal da espécie *Plinia cauliflora*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Figura 18 - Correlação dos principais biomarcadores do estudo anterior e suas concentrações no estudo sazonal da espécie *Psidium guajava*.

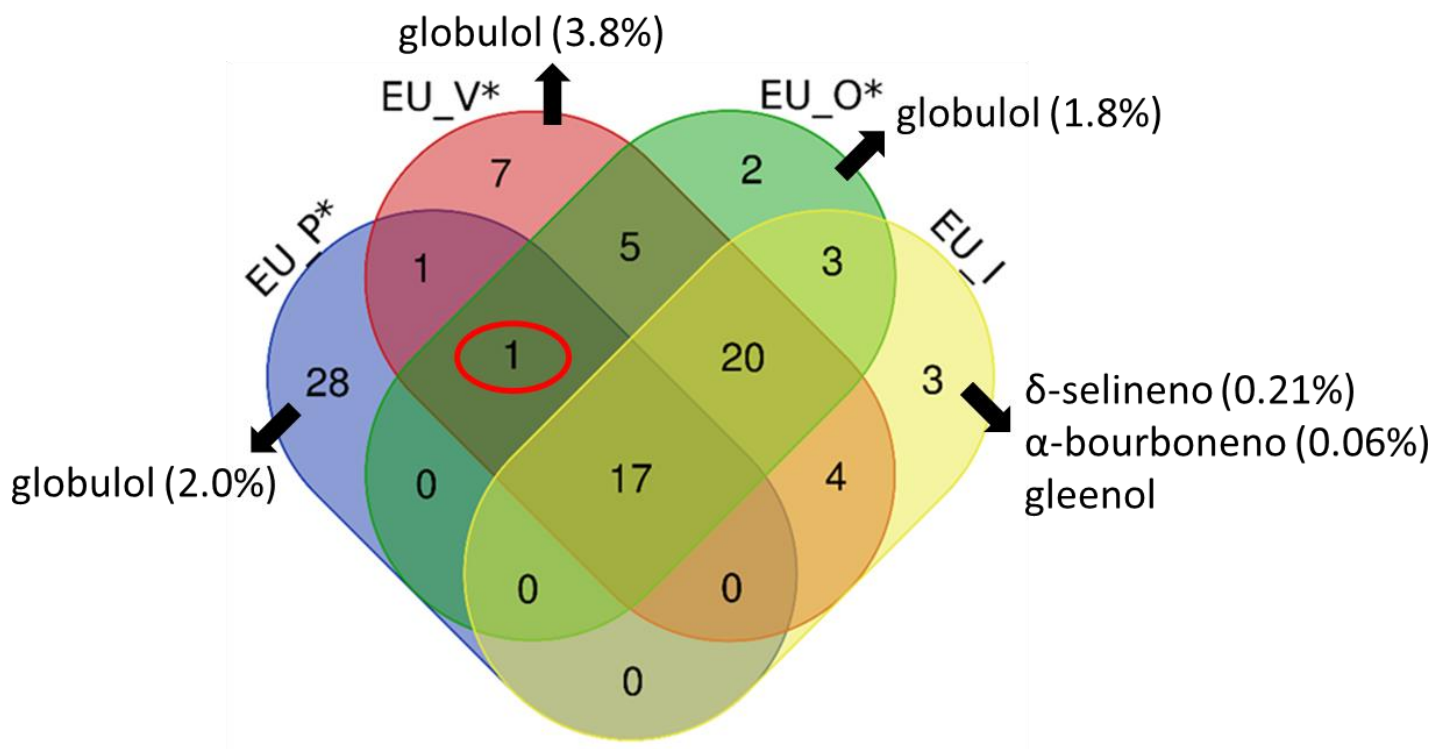


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Por fim, fez-se o uso do diagrama de *Venn*, utilizando o tempo de retenção dos compostos, para ilustrar e comprovar a análise visual realizada para encontrar os possíveis compostos comuns das espécies, em suas estações consideradas

promissoras e inativas. Na espécie *E. uniflora*, apenas os OEs da estação inverno foi considerado inativo, encontrou-se três compostos exclusivos desta estação: sendo δ -selineno (0.21%); α -bourboneno (0.06%) e gleenol (3.03%). Além disso, para esta espécie o composto globulol (EU_P: 2.04%; EU_V: 3.81%; EU_O: 1.78%) está ausente apenas no inverno (Figura 19).

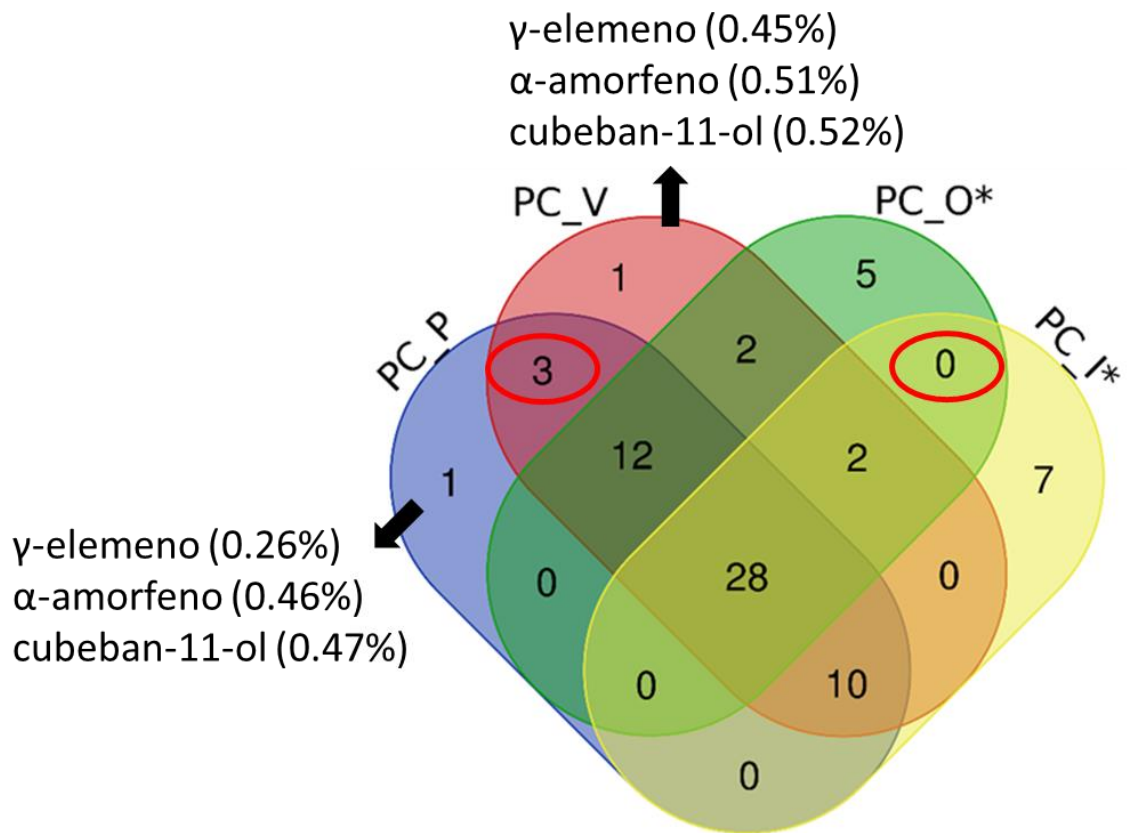
Figura 19 - Diagramas de Venn com a sobreposição do número de compostos semelhantes no estudo sazonal da espécie *Eugenia uniflora*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na espécie *P. cauliflora* não foi possível verificar nenhuma relação entre as estações consideradas promissoras, entretanto três compostos foram encontrados nas estações consideradas inativas: γ -elemeno (PC_P: 0.26%; PC_V: 0.45%), α -amorfenol (PC_P: 0.46%; PC_V: 0.51%) e cubeban-11-ol (PC_P: 0.47%; PC_V: 0.52%) (Figura 20).

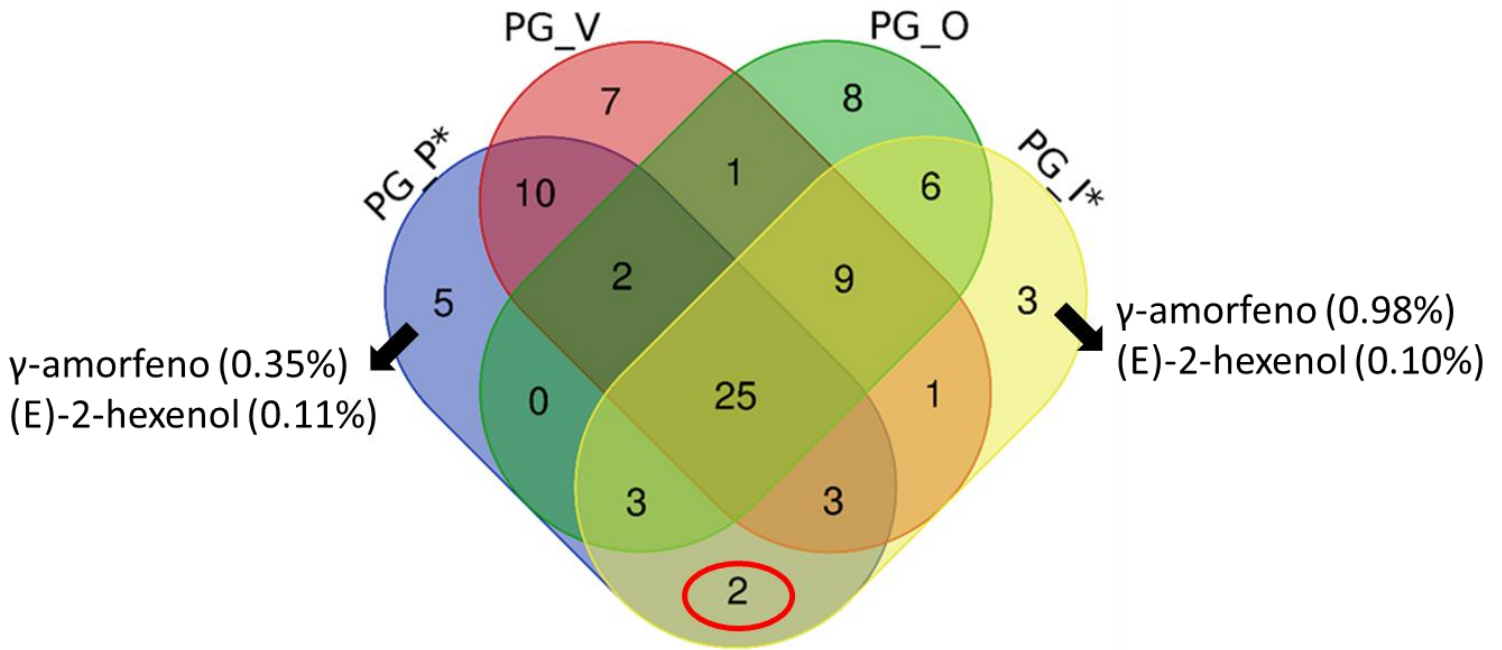
Figura 20 - Diagramas de Venn com a sobreposição do número de compostos semelhantes no estudo sazonal da espécie *Plinia cauliflora*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Por fim, para a Na espécie *P. guajara* apenas os OEs das estações primavera e inverno foram ativos. Assim, encontrou-se dois compostos que são exclusivos apenas nestas: γ-amorfeno (PG_P: 0.35%; PG_I: 0.98%) e (*E*)-2-hexenol (PG_P: 0.11%; PG_I: 0.10%) (Figura 21). Entretanto, não foi possível encontrar na literatura nenhum destes compostos com referência à atividade anti-*T.cruzi*.

Figura 21 - Diagramas de Venn com a sobreposição do número de compostos semelhantes no estudo sazonal da espécie *Psidium guajava*.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

6 CONCLUSÕES

A análise dos óleos essenciais por CG-EM, em triplicata, permitiu a desreplicação das 18 espécies diferentes da família Myrtaceae e a mesma foi satisfatória e eficaz, uma vez que obteve-se 177 compostos diferentes com concentrações entre 90,4 – 98,1% da composição total dos OEs. Destes, a menor quantidade de compostos identificados pela desreplicação foi 22, representando 98.1% e a maior foi 67, representando 94.9% da concentração total do EO. Além disso, os sesquiterpenos foi o grupo mais representativo, estando presente, em maior quantidade, em cerca de 94% das espécies. A elevada porcentagem de compostos desreplicados (mais de 90% de todos os OEs) é um fator de extrema importância, uma vez que, é possível analisar e demonstrar a similaridade ou dissimilaridade das espécies em estudo de forma precisa.

A análise visual foi difícil de realizar, pois é diversificada a quantidade de compostos químicos diferentes nos OEs, entretanto foi possível determinar que em torno de 0.10% dos compostos estão presentes a quase todas as espécies, e aproximadamente 33% são exclusivos de alguma. Sendo assim, houve a necessidade de realizar análise estatística variada, iniciando a análise multivariada não-supervisionada, PCA, ao qual mostrou a similaridade entre algumas espécies e dissimilaridade entre outras. Observou-se também, por essa análise, que a maioria das espécies do mesmo gênero não são similares quanto se esperaria.

Foi realizada a atividade anti-*T.cruzi* para essas 18 diferentes espécies, onde a seleção das espécies para o estudo metabolômico, deu-se através do índice de seletividade (IS). Desta forma, foram selecionadas 8 espécies (*Calyptanthes brasilienses*, *Calyptanthes widgeniana*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia acutata*, *Eugenia florida*, *Eugenia widgrenii*, *Plinia cauliflora* e *Psidium guajava*) consideradas promissoras para atividade anti-*T.cruzi*. Vale destacar que a espécie *E. florida* apresentou o maior potencial antitripanomicida com $IC_{50} = 0,3 \mu\text{g/mL}$ e $IS = 108,7$.

Além da análise de PCA, após realizar atividade anti-*T.cruzi* foi relacionada essa atividade, determinada entre as espécies da família Myrtaceae estudadas, com a composição química de modo a encontrar os principais biomarcadores através de análises estatísticas supervisionadas (PLS-DA). Após realizar essa análise foi

possível identificar 33 possíveis compostos que influenciam na atividade anti-*T.cruzi*, sendo alguns com influência positiva (23) e outros de forma negativa (10). Destes, após a análise multivariada dos dados, merecem destaque: (*E*)-cariofileno, α -humuleno, limoneno, óxido de cariofileno e α -copaeno que desempenham um papel importante na ação anti-*T. cruzi*. Em contrapartida, germacreno d foi associado às espécies não ativas.

Vale ressaltar que, os óleos essenciais de *E. widgrenii* e *C. widgreniana*, também considerados promissores para anti-*T.cruzi*, foram estudados quimicamente pela primeira vez.

Além disso, seis espécies do estudo primário foram selecionadas para realizar o estudo da sazonalidade, onde foi possível verificar a influência da temperatura e índice pluviométrico em decorrência de cada estação, na variabilidade química dos compostos.

A análise dos óleos essenciais por CG-EM, em triplicata, permitiu a desreplicação de 24 OEs diferentes de acordo com a estação do ano, na qual as seis espécies selecionadas foram coletadas. Assim como no primeiro estudo, a análise foi satisfatória e eficaz, uma vez que obteve-se 185 compostos diferentes com concentrações entre 90,4 – 98,15% da composição total dos OEs.

Com o estudo da sazonalidade pode-se observar que a quantidade de compostos majoritários sesquiterpenos ou monoterpenos, é característica da espécie, independente da estação do ano na qual ocorreu a coleta, com exceção apenas da espécie (*E. uniflora*).

De forma similar, a análise visual foi difícil de realizar, seja de todas as espécies no estudo sazonal, ou apenas em uma das espécies para cada estação do ano. Isso ocorre devido à grande diversidade química, tanto pelo número de compostos quanto por suas respectivas concentrações. Desta forma, para que fossem feitas inferências mais conclusivas e abrangentes sobre a composição química dos OEs entre as espécies analisadas nas diferentes estações do ano, tentou-se a construção de modelos matemáticos multivariados, como o PCA. Entretanto, não foram construídos modelos matemáticos satisfatórios para tais análises.

Foi realizado também, o ensaio anti-*T.cruzi* com as 24 amostras de óleos essenciais para o estudo de sazonalidade de seis diferentes espécies da família Myrtaceae, e a seleção das espécies promissoras, assim como ocorreu anteriormente,

se deu pelo valor do índice de seletividade (IS). Desta forma, foram selecionadas como promissoras para a atividade anti-*T.cruzi* sete OEs, sendo eles: *E. uniflora*_Primavera, *E. uniflora*_Verão, *E. uniflora*_Outono, *P. cauliflora*_Outono, *P. cauliflora*_Inverno, *P. guajava*_Primavera e *P. guajava*_Inverno. Neste estudo, a espécie *P. cauliflora* na estação outono apresentou o maior valor de IS, sendo 27.0.

Com a grande diversidade de compostos químicos apresentados por cada uma das espécies, o apropriado seria utilizar o método analítico multivariado, para verificar os biomarcadores responsáveis pela atividade anti-*T.cruzi*. Entretanto, as análises por PLS e OPLS, com o software utilizado no estudo anterior, não foi possível obter nenhum modelo matemático satisfatório. Desta forma, não foi possível aqui incluir estudos metabolômicos sobre a sazonalidade neste trabalho. Sendo assim, optou-se pelo uso de gráficos para verificar se os biomarcadores do estudo anterior seriam os mesmos deste estudo, entretanto, também não foi possível fazer nenhuma inferência a respeito desta informação.

Por fim, fez-se o uso de diagrama de *Venn*, para encontrar os possíveis compostos comuns das espécies, em suas estações consideradas promissoras e inativas. Na espécie *E. uniflora*, onde apenas os OEs da estação inverno foram considerados inativos, encontrou-se três compostos exclusivos desta estação, sendo δ -selineno, α -bourboneno e gleenol. Além disso, para esta espécie o composto globulol está ausente apenas no inverno. Na espécie *P. guajara* apenas os OEs das estações primavera e inverno foram ativos e encontrou-se dois compostos exclusivos, γ -amorfeno e (*E*)-2-hexenol. Finalmente, para a espécie *P. cauliflora* não foi possível verificar nenhuma relação entre as estações consideradas promissoras, entretanto três compostos foram encontrados nas estações consideradas inativas: γ -elemeno, α -amorfeno e cubeban-11-ol.

Diante disso, este estudo fornece uma visão geral do perfil químico dos OEs de espécies da família Myrtaceae associado a atividade anti-*T. cruzi*, sendo importante devido à escassez de novos medicamentos com atividade anti-*T.cruzi*.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. 2017. **Identification of Essential Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 4.1th ed. USA: Allured Corp.

ALCÂNTARA, I. S., MARTINS, A. O. B. P. B., DE OLIVEIRA, M. R. C., CORONEL, C., GOMEZ, M. C. V., ROLÓN, M., WANDERLEY, A. G., QUINTANS JR, L. J, ARAÚJO, A. A. S., ARAÚJO, A. C. J., FREITAS, P. R., COUTINHO, H. D. M., DE MENEZES, I. R. A. Cytotoxic potential and antiparasitic activity of the *Croton rhamnifolioides* Pax leaves. & K. Hoffm essential oil and its inclusion complex (EOCr/ β -CD). **Polymer Bulletin**. Brasil. 2021.

ANKAD, G.M.; UPADHYA, V.; SANDEEP R. P. Total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of leaves and stem bark extracts of *Allophylus Cobbe* (L.) Raeusch. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**. India. v.86; n.1; p. 145–49. 2016

APEL, M. A., SOBRAL, M., SCHAPOVAL, E. E. S., HENRIQUES, A. T., MENUT, C., & BESSIERE, J.-M. Essential oil composition of eugenia florida and eugenia mansoi. **Journal of Essential Oil Research**. Porto Alegre. v.16, n. 4, 321- 322. 2004.

APEL, M. A., SOBRAL, M., ZUANAZZI, J. A., HENRIQUES, A. T Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). **Flavour Fragr. J.** Porto Alegre. v. 21; p. 565–567. 2006.

APEL, M. A., LIMA, M. E. L., SOBRAL, M., YOUNG, M. C. M., CORDEIRO, I., SCHAPOVAL, E. E. S., HENRIQUES, A.T., MORENO, P. R. H. Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*. **Pharmaceutical Biology**. Porto Alegre. v. 48, n. 4, p. 433-438. 2010.

ARAÚJO-FILHO, J. V.; RIBEIRO, W. L. C.; ANDRÉ, W. P. P.; CAVALCANTE, G. S.; GUERRA, M. C. M.; MUNIZ, C. R.; MACEDO, I. T. F.; RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; DE OLIVEIRA, L. M. B. Effects of *Eucalyptus citriodora* essential oil and its major component, citronela, on *Haemonchus contortus* isolates susceptible and resistant to synthetic anthelmintics. **Industrial Crops & Products**. Fortaleza. v. 124, p. 294–299. 2018.

ARAÚJO-FILHO, J. V.; RIBEIRO, W. L. C.; ANDRÉ, W. P. P.; CAVALCANTE, G. S. ; RIOS, T. T.; SCHWINDEN, G. M.; DA ROCHA, L. O.; MACEDO, I. T. F.; DE MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; DE OLIVEIRA, L. M. B. Anthelmintic activity of *Eucalyptus citriodora* essential oil and its major component, citronela, on sheep gastrointestinal nematode. **Braz. J. Vet. Parasitol.** Fortaleza. v. 28, n. 4, p. 644-651. 2019.

ARIAS, M; VALLEJO, G.A.; GARAVITO, G. Trypanocidal activity of traditional antiparasitic medicinal plants from the amazon. **Pharmacognosy Research**. Bogotá. v. 13, n. 4, p. 227-32. 2021.

- AZEREDO, C.M.O.; SOARES, M.J. Combination of the essential oil constituents citral, eugenol and thymol enhance their inhibitory effect on *Crithidia fasciculata* and *Trypanosoma cruzi* growth. **Revista Brasileira de Farmacologia**. Curitiba. v. 23, p. 762-768. 2013.
- BANSALA, A.; BOEHMEA, A. K.; EITERA, L. C.; SCHMIDTA, J. M.; SETZERA, W. N.; VINCENT, M. A. Chemical composition and bioactivity of the leaf oil of *Calyptanthes pallens* (Poir.) Griseb. from Abaco Island, Bahamas. **Natural Product Communications**. USA. v. 1, n. 4, p. 303-309. 2006.
- BELINATO, J.R.; BAZIOLIA, J.M.; SUSSULINIA, A.; AUGUSTO, F.; FILLA, T. P. Metabolômica microbiana: inovações e aplicações. **Química Nova**. Campinas. v. 42, n. 5, p. 546-559. 2019.
- BOUFRIDI, A.; QUINN, R.J.; Turning metabolomics into drug discovery. *Australia*. v. 27, n. 8; p. 1334-1338. 2016.
- BENCHAA, S.; HAZZITB, M.; ABDELKRIMA, H. Allelopathic effect of *Eucalyptus citriodora* essential oil and its potential use as bioherbicide. **Chemistry & Biodiversity**. Algeria. v. 15, n. 8. 2018.
- BRITO, J. R.; DA COSTA-SILVA, T. A.; TEMPONEC, A. G.; FERREIRA, E. A.; LAGO, J. H. G. Dibenzylbutane neolignans from *Saururus cernuus* L. (Saururaceae) displayed anti-*Trypanosoma cruzi* activity via alterations in the mitochondrial membrane potential. **Fitoterapia**. Diadema. v. 137, p. 104251. 2019.
- BRITO, G. S. B.; DA SILVA, A. P. S.; DA CUNHA, R. X.; DA FONSECA, C. S.M.; ARAÚJO, T. F. S.; CAMPOS, J. K. L.; NASCIMENTO, W. M.; ARAÚJO, H. D. A.; SILVA, J. P. R.; TAVARES, J. F.; DOS SANTOS, B. S.; LIMA, V. L. M. Anti-inflammatory, hypoglycemic, hypolipidemic, and analgesic activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Brazilian grape) epicarp. **Journal of Ethnopharmacology**. Pernambuco. 2020.
- CANUTO; G. A. B.; DA COSTA, J. L.; DA CRUZA, P. L. R.; DE SOUZA, A. R. L.; FACCIOA, A. T.; KLASSENC, A.; RODRIGUES, K.T.; TAVARES, M. F. M. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**. São Paulo. v. 41, n. 1, p. 75-91. 2018.
- CARNEIRO, N. S.; ALVES, J. M.; ALVES, C. C. F.; ESPERANDIM, V. R.; MIRANDA, M. L. D. Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana* (Myrtaceae): Composição química e atividades tripanocida e citotóxica *in vitro*. **Rev. Virtual Quim**. Pouso Alegre. v. 9, n. 3, p. 1381-1392. 2017.
- CASCAES, M. M.; GILHON, G. M. S. P.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B.; SANTOS, L. S. Constituents and pharmacological activities of myrcia (myrtaceae): a review of an aromatic and medicinal group of plants. **Int. J. Mol. Sci**. Belém. v. 16, p. 23881-23904. 2015.

CASTRO, M. R.; VICTORIA, F. N.; OLIVEIRA, D.H.; JACOG, R.G.; SAVEGNAGO, L.; ALVES, D. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: antioxidant and antifungal activity. **Pharm Biol.** Pelotas. v. 53, n. 2, p. 242–250. 2015.

COSTA, D. P.; SANTOS, S. C.; SERAPHINB, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.** Goiânia. v. 20, n. 7, p. 1287-1293. 2009.

COSTA, E.V. ET AL. Biological activities of the essential oil from the leaves of *Xylopi laevigata* (Annonaceae). **The Journal of Essential Oil Research.** Sergipe. v. 25, n. 3, p. 179–185. 2012.

COSTA, E. V., DUTRA, L. M., SALVADOR, M. J., RIBEIRO, L. H. G., GADELHA, F. R., & DE CARVALHO, J. E. Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmanii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. **Natural Product Research.** Sergipe. v. 27, n. 11, p. 997–1001. 2013.

COSTA, W. K.; GOMES, N. O. C.; DOS SANTOS, B. S.; BEZERRA FILHO, C. M.; OLIVEIRA, A. M.; DA SILVA, G. C.; DE VERAS, B. O.; OLIVEIRA, F. G. S.; DE AGUIAR, J. C. R. O. F.; NAVARRO, D. M. A. F.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, M. V. First report on the chemical composition of leaf essential oil of *Myrciaria pilosa* Sobral & Couto and its antimicrobial and antivirulence activities against *Staphylococcus aureus*. **Natural Product Research.** p. 1–5. Pernambuco. 2020.

CROFT, S. L., CHATELAIN, E. AND BARRETT, M. P. Antileishmanial and antitrypanosomal drug identification **Emerging Topics in Life Sciences.** Glasgow. v.1, p. 613–620. 2017.

CRUZ, A.V.M.; KPLAN, M.A.C. Uso medicinal de espécies das famílias myrtaceae e melastomataceae no brasil. Rio de Janeiro. v. 11, n.1, p. 47 - 52, ago./dez. 2004.

CUNHA, LUIZ C. ET AL. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** Goiânia. p. 19, n. 2A, p. 403-411. 2009.

DA SILVA, V. P.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.; BRETANHA, L. C.; BALLESTE, M. P., MICKE, G. A.; SILVEIRA, E. V; MARTINS, C. H. G.; AMBROSIO, M. A. L. V; SILVA, T. S.; TAVARES, D. C.; MAGALHÃES, L. G.; SILVA, F. G.; EGEEA, M. B. Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Industrial Crops and Products.** Rio Verde. v. 123, p. 638–645. 2018.

DE CAMARGO, R. G. Variação sazonal e regional dos óleos essenciais de *piper marginatum* jacq. (piperaceae). 2018. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas) – Instituto de Química, UFPR, Curitiba, 2018.

DE LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; ANDRADE, M. A.; NASCIMENTO, E. A.; DE MORAIS, S. A. L; NELSON, D. L. Composition of the essential oil from the leaves of tree domestic varieties and one wild variety of the guava plant (*Psidium guajava* L., Myrtaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** Lavras. v. 20, n. 1, p. 41-44.

2008.

DE SOUZA, T. S.; FERREIRA, M. F. S.; MENINI, L., SOUZA, J. R. C. L.; PARREIRA, L. A.; CECON, P. R.; FERREIRA, A. Essential oil of *Psidium guajava*: Influence of genotypes and environment. **Scientia Horticulturae**. Alegre. v. 216, p. 38–44. 2017.

DE VOS, R. C. H. ET AL. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Netherlands. v.2, n. 4, p. 778–91. 2007.

DIAZ, J. G.; ARRANZ, J. C. E.; BATISTA, D. G. J.; FIDALGO, L. M.; ACOSTA, J. L. V.; MACEDO, M. B.; COS, P. Antileishmanial potentialities of croton linearis leaf essential oil. **Natural Product Communications**. Santiago de Cuba. v. 13, n. 5, p. 629-634. 2018.

DOS SANTOS, J. F. S.; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; SILVA, M. K. N.; DE MATOS, Y. M. L.; DE FREITAS, T. S.; DOS SANTOS, A. T. L.; DA CRUZ, R. P.; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, T. H. S.; DE BRITO, E. S.; SALES, D. L.; ALMEIDA, W. O.; DA COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chemistry**. Crato. 2018.

DNDia. Drugs for Neglected Diseases initiative, 2019. Disponível em: <https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/> Acesso em 01/09/2022.

DUARTE, A. R.; SANTOS, S. C. ; SERAPHINB, J. C.; FERRI, P. H. Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves. **J. Braz. Chem. Soc.** Goiânia. v. 21, n . 9, p. 1672-1680. 2010.

DUARTE, G. H. B. **Metabolômica por LC-ESI-QTOF-MS em plasma de camundongos NOD/SCID sob tratamento quimioterápico: potenciais biomarcadores da leucemia**. 2016. 77p. Dissertação (Mestrado em Química) – Unicamp, Campinas, SP. 2016.

DUVAL, J.; PECHER, V.; POUJOL, M.; LESELLIER, E. Research advances for the extraction , analysis and uses of anthraquinones : A review. **Industrial Crops & Products**. Orleans. v. 94, p. 812-833. 2016.

EL-NASHAR, H. A. S.; ELDEHNA, W. M.; AL-RASHOOD, S. T.; ALHARBI, A.; ESKANDRANI, R. O.; ALY, S. H. GC/MS Analysis of essential oil and enzyme inhibitory activities of *Syzygium cumini* (Pamposia) grown in egypt: chemical characterization and molecular docking studies. **Molecules**. Egito. v. 26. 2021.

ESTEVAM, E.B.B; ALVES, C.C.F.; ESPERANDIM, V.R.; CAZAL, C.M.; SOUZA, A.F.; MIRANDA, M.L.D. Chemical composition, anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of the essential oil from green fruits of *Protium ovatum* (BURSERACEAE). Rio Verde. 2017.

- ESTEVAM, E.B.B; ALVES, et al. *In vitro* antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from *Protium ovatum* leaves (Burceraceae). **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**. Rio Verde. v. 89, n. 4, p. 3005-3013. 2018.
- FALEIRO, D.; IMMICH, S. M.; MAJOLO, F.; MAYER, L.; ETHUR, E. M.; GOETTERT, M. I. GC/MS analysis and potential cytotoxic activity of *Calyptanthes grandifolia* (O. Berg) , *Calyptanthes tricona* (D. Legrand) and *Myrciaria plinioides* (D. Legrand) essential oil in RAW264.7 and CHO-K1 cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. Lajeado. v. 89, p. 1431–1441. 2017.
- FARIAS, D.P; NERI-NUMA, I.A.; ARAÚJO, F.F.; PASTORE, G.M. Acritical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food application swith functional claims. **Food Chemistry**. v.306. Campinas. 2020.
- FERNANDES, C. C.; REZENDE, J. L.; SILVA, E. A. J.; SILVA, F. G.; STENICO, L.; CROTTI, A. E. M.; ESPERANDIM, V. R.; SANTIAGO, M. B.; MARTINS, C. H. G.; MIRANDA, M. L. D. Chemical composition and biological activities of essential oil from flowers of *Psidium guajava* (Myrtaceae). *Braz. J. Biol. Rio Verde*. v. 81, n. 3 p. 728-736. 2021.
- FERREIRA, F. B. P.; Milaré, Á. C. F. H. R.; Gonçalves, J. E.; Lazarin-Bidóia, D.; Nakamura, C. V.; Sugauara, R. R.; FERNANDEZ, C. M. M.; GAZIM, Z. C.; DEMARCHI, I. G.; SILVEIRA, T. G. V.; Lonardoní, M. V. C. (2020). *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg essential oil induces antileishmanial activity and remodeling of the cytoplasm organelles. **Natural Product Research**. Maringá. 2020.
- FERREIRA, FERREIRA, O. O.; DA SILVA, S. H. M.; DE OLIVEIRA, M. S.; ANDRADE, E. H. A. Chemical composition and antifungal activity of *Myrcia multiflora* and *Eugenia florida* essential oils. **Molecules**. Belém. v. 26, n. 7259. 2021.
- FRANCO, C. J. P.; Ferreira, O. O.; de Moraes, Â. A. B.; Varela, E. L. P.; Nascimento, L. D.; Percário, S.; de Oliveira, M. S.; Andrade, E. H. A. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Eugenia patrisii* Vahl, *E. puniceifolia* (Kunth) DC., and *Myrcia tomentosa* (Aubl.) DC., leaf of family Myrtaceae. **Molecules**. Belém. v. 26, 3292. 2021.
- FRAUCHES, N. S.; AMARAL, T.O.; LARGUEZA, C.B.D.; TEODORO, A.J. Brazilian Myrtaceae fruits: A review of anticancer proprieties. **British Journal of Pharmaceutical Research**. Rio de Janeiro. v. 12, n. 1, p. 1-15. 2016.
- GALVÃO, B. V. D.; ARAUJO-LIMA, C. F.; SANTOS, M. C. P.; SELJAN, M. P.; CARRÃO-DANTAS, E. K.; AIUB, C. A. F.; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L.; GONÇALVES, E. C. B. A.; FELZENSZWALB, I. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Jaboticaba) leaf extract: In vitro anti-*Trypanosoma cruzi* activity, toxicity assessment and phenolic-targeted UPLC-MS metabolomic analysis. **Journal of Ethnopharmacology**. Rio de Janeiro. v. 277, n. 114217. 2021.
- GOMES, G. A.; MARTINS-CARDOSO, K.; DOS SANTOS, F. R.; FLORENCIO, M.; ROSA, D.; ZUMA, A. A.; Santiago, G. M. P.; Mottaf, M. C. M.; de Carvalho, M. G.; FAMPA, P. Antileishmanial activity of the essential oils of *Myrcia ovata* Cambess.

and *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch leads to parasite mitochondrial damage. **Natural Product Research**. Sobral. p. 1–5. 2020

GONÇALVES^a, G. M.; Martins, V. C.; da Costa, A. R. H.; Fernandes, T. F. C.; Pacheco, S.; Gama, P. E.; SOUZA, M. C.; GODOY, R. L. O.; LAUREANO, R.; CORTES, W. S.; CARVALHO, M. G.; Marinho, B. G. Essential oil of *Myrciaria tenella* (DC.) O. Berg: effects of distillation time on its chemical composition and evaluation of its anti-inflammatory and antinociceptive effects. **Journal of Essential Oil Research**. Rio de Janeiro. v. 33, n. 4, p. 394–409. 2021.

GONÇALVES^b, A. J.; NUNEZ, E. G. F.; SANTOS, R. O.; OTAVIANO, B. T. H.; IMBERNON, R. L.; POKER, F. C.; FERREIRA, M. J. P.; SANNOMIYA, M. Study of seasonality and location effects on the chemical composition of essential oils from *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of Medicinal Plants Research**. São Paulo. v. 15, n. 7, p. 321-329. 2021.

GRECCO, S. S ET AL. Neolignans from leaves of *Nectandra Leucantha* (Lauraceae) display in vitro antitrypanosomal activity via plasma membrane and mitochondrial damages. **Chemico-Biological Interactions**. Santo André. 2017.

GUTIERREZ, Y.; SCULL, R.; VILLA, A.; SATYAL, P.; COS, P.; MONZOTE, L.; SETZER, W. chemical composition, antimicrobial and antiparasitic screening of the essential oil from *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb. **Molecules**. Havana. v. 24, n. 8, p. 1615. 2019.

HANIF, M. U.; HUSSAIN, M. U.; Chatha, S. A. S; Kamal, G. M.; Ahmad, T. Variation in composition and bioactivities of essential oil from leaves of two different cultivars of *Psidium guajava* L. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. Paquistão. v. 21, n. 1, p. 65-76. 2018.

HAWKINS, D. M. The problem of overfitting. **J. Chem. Inf. Comput. Sci**. v. 44 p. 1-12. Minneapolis. 2004

KHAJVACI, H.; SHAMSDIN, S. A.; ZAMANI, M. In vitro cytotoxicity and apoptotic assay of *Eucalyptus globulus* essential oil in Colon and liver cancer cell lines. **Journal of Gastrointestinal Cancer**. Iran. 2021.

LIMA, M.S.; LAPORT, M.S.; LOROSA, E.S.; JURBERG, J.; DOS SANTOS, K.R.N.; DA SILVA NETO, M.A.C. Bacterial community composition in the salivary glands of triatomines (*Hemiptera: Reduviidae*). **PLoS Negl Trop Dis**. Rio de Janeiro. v.12; n. 9. 2018.

MARIN, R.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F.M.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Volatile components and antioxidant activity from some myrtaceous fruits cultivated in southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**. Porto Alegre. v. 27, n. 2, p. 172-177. 2008.

MARQUES, A. P. S.; Bonfim, F. P. G.; Dantas, W. F. C.; Puppi, R. J.; Marques, M. O. M. Chemical composition of essential oil from *Varronia curassavica* Jacq. accessions

in different seasons of the year. **Industrial Crops and Products**. Botucatu. v. 140. 2019.

MARTINS, M. M.; DE AQUINO, F. J. T.; DE OLIVEIRA, A.; DO NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R.; BORGES, M. S.; DE MELO, G. B.; DA SILVA, C. V.; MACHADO, F. C.; DE MORAIS, S. A. L. Chemical composition, antimicrobial and antiprotozoal activity of essential oils from *Vernonia brasiliensis*(Less) Druce (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. Uberlândia. v. 18, n. 3, p. 561–569. 2015.

MARTINS, L. N. S. B.; Venceslau, A. F. A.; Brandão, R. M.; Braga, M. A.; Batista, L. R.; Cardoso, M. G.; Pinto, L. M. A. antibacterial and antifungal activities and toxicity of the essential oil from *Callistemon viminalis* complexed with β -cyclodextrin. **Current Microbiology**. Lavras. v. 78, n. 6, p. 2251–2258. 2021.

MELO, C. R.; BLANK, A. F.; OLIVEIRA, B. M. S.; SANTOS, A. C. C.; CRISTALDO, P. F.; ARAÚJO, A. P. A.; BACCI, L. Formicidal activity of essential oils of *Myrcia lundiana* chemotypes on *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**. São Cristóvão. 2021.

MENNAI, I.; LAMERA, E.; SLOUGUI, N.; BENAICHA, B.; GASMI, S., SAMAI, Z.; RAHMOUNIA, N.; BENSOUICI, C.; PINTO, D. C. G. A. Chemical composition and antioxidant, antiparasitic, cytotoxicity and antimicrobial potential of the Algerian *Limonium Oleifolium* Mill. essential oil and organic extracts. **Chemistry & Biodiversity**. Algeria. v. 18, n. 9. 2021.

MORENO, E. M.; LEAL, S.M.; STASHENKO, E.E; GARCÍA, L.T. Induction of programmed cell death in *Trypanosoma Cruzi* by *Lippia alba* essential oils and their major and synergistic terpenes (citral , limoneno and óxido de cariofileno). Colombia. p. 1-16. 2018.

NAKAMURA, M. J.; MONTEIRO, S. S.; BIZARRI, C. H. B.; SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. S. Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast. **Biochemical Systematics and Ecology**. Manguinhos. p.38, n.6, p. 1170–1175. 2010.

PEREIRA, N. L. F.; AQUINO, P. E. A.; JÚNIOR, J. G. A. S.; CRISTO, J. S.; VIEIRA FILHO, M. A.; MOURA, F. F.; FERREIRA, N. M. N.; SILVA, M. K. N.; NASCIMENTO, E. M.; CORREIA, F. M. A.; CUNHA, F. A. B.; BOLIGON, A. A.; COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F.; GUEDES, M. I. F. *In vitro* evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial Pathogenesis**. Juazeiro do Norte. v. 110, p. 512–518. 2017.

PEREIRA, P.S.; OLIVEIRA, C.V.B.; MAIA, A.J.; TINTINO, S.R.; OLIVEIRA-TINTINO, C.D.D.M.; VEGA-GOMEZ, M.C.; ROLÓN, M.; CORONEL, C.; DUARTE, A.E.; BARROS, L.M.; KAMDEM, J. P.; SIYADATPANAH, A.; WILAIRATANA, P. ; COUTINHO, H. D. M. Cytotoxicity of essential oil cordia verbenaceae against *Leishmania brasiliensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**. Crato. v. 26, n. 15, p. 4485. 2021.

- PITA, S.S.R.; PASCUTTIA, P.G. Alvos terapêuticos na Doença de Chagas: a tripanotona redutase como foco. **Rev. Virtual Quim.** Rio de Janeiro. v. 3, n. 4, p. 307-324. 2011.
- QUIJANO-CÉLIS, C.; GAVIRIA, M.; VANEGAS-LÓPEZ, C.; PINO, J. A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Callistemon viminalis* (Gaertn.) G. don leaves from Colombia. **Journal of Essential Oil Bearing Plants.** Bogotá. v. 13, n. 6, p. 710-716. 2010.
- QUINTERO, W. L.; MORENO, E. M.; PINTO, S. M. L.; SANABRIA, S. M.; STASHENKO, E.; GARCÍA, L. T. Immunomodulatory, trypanocide, and antioxidant properties of essential oil fractions of *Lippia alba* (Verbenaceae). **BMC Complementary Medicine and Therapies.** Colombia. v. 21, n. 1. 2021.
- RADULOVIC, N. S.; RANDJELOVIC, P. J.; STOJANOVIC, N.M.;CAKIC, N.D.; BOGDANOVIC, G.A.; ZIVANOVIC, A.V. Aborirginal bush foods: A major phloroglucinol from Crimson Bottlebrush flowers (*Callistemon critinus*, Myrtaceae) displays strong antinociceptive and anti-inflammatory activity. *Food Research International.* Serbia. v. 77. p. 280-289. 2015.
- RAMADASS, M.; THIAGARAJAN, P. A review on melaleuca alternifolia (tea tree oil). **Int J Pharm Bio Sci.** India. v. 6, n. 4, p. 655 – 661. 2015.
- RAPOSO, J. D. A.; FIGUEIREDO, P. L. B.; SANTANA, R. L.; DA SILVA JR, A. Q.; SUEMITSU, C.; DA SILVA, R.; MOURÃO, R. H. V.; MAIA, J. G. S. Seasonal and circadian study of the essential oil of *Myrcia sylvatica* (G. Mey) DC, a valuable aromatic species occurring in the Lower Amazon River region. **Biochemical Systematics and Ecology.** Santarém. v. 79, p. 21–29. 2018.
- SALES, V. S. ET AL. Antiparasitic activity and essential oil chemical analysis of the *Piper Tuberculatum Jacq* Fruit. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research.** Crato. v.17, n.1, p. 268-275. 2016.
- SALMAZZO, G.R.; VERDAN, M.H.; SILVA, F.; CICARELLI, R.M.; MOTA, J.S.; SALVADOR, M.J.; DE CARVALHO, J.E.; CARDOSO, C.A.L.: Chemical composition and antiproliferative, antioxidant and trypanocidal activities of the fruits from *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg (Myrtaceae). **Natural Product Research.** Dourados. 2019.
- SAMPAIO, M. G. V.; DOS SANTOS, C. R. B.; VANDESMET, L. C. S.; DOS SANTOS, B. S.; SANTOS, I. B. S.; CORREIA, M. T. S; MARTINS, A. L. B.; DA SILVA, L. C. N.; MENEZES, I. R. A.; GOMEZ, M. C. V.; DA SILVA, M. V. Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil. **Natural Product Research.** Recife. p. 1–5. 2019.
- SANTOS, L.S.; ALVES, C.C.F.; ESTEVAM, E.B.B.; MARTINS, C.H.G.; SILVA, T.S; ESPERANDIM, V.R.; MIRANDA, M.L.D. Chemical composition, *in vitro* trypanocidal and antibacterial activities of the essential oil from the dried leaves of *Eugenia dysenterica* DC from Brazil. *Rio Verde.* v. 22, n. 2, p. 347-355. 2019.

SIDDIQUE, S.; PARVEEN, Z.; FIRDAUS-E-BAREEN; MAZHAR, S.; CHAUDHARY, M. N.; SAEED, K. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Callistemon viminalis* (Gaertn.) G. Don leaves. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. Paquistão. v. 20, n. 2, p. 524–534. 2017.

SILVA, N. L. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado , Da Área de Proteção Ambiental Municipal Do Inhamum , Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**. Caxias. v. 6, p.1–17. 2010.

SILVA, T. B.; MENEZES, L. R. A.; SAMPAIO, M. F. C.; MEIRA, C. S.; GUIMARÃES, E. T.; SOARES, M. B. P.; PRATA, A. P. N.; NOGUEIRA, P. C. L.; COSTA, E. V. Chemical composition and anti-*Trypanosoma cruzi* activity of essential oils obtained from leaves of *Xylopia frutescens* and *X. laevigata* (Annonaceae). **Natural Product Communications**. Feira de Santana. v. 8, n. 3, p. 403-406. 2013.

SOUZA, A.; SILVA, M. C.; CARDOSO-LOPES, E. M.; CORDEIRO, I.; SOBRAL, M. E. G.; YOUNG, M. C. M.; MORENO, P. R. H. Differential acetyl cholinesterase inhibition by volatile oils from two specimens of *Marlierea racemosa* (Myrtaceae) collected from different areas of the atlantic rain forest. São Paulo. v. 4, n. 8, p. 1143-1146. 2009.

SOUZA, L. I.O.; BEZZERA-SILVA, P. C.; NAVARRO, D. M. A. F.; DA SILVA, A. G.; CORREIA, M. T. S.; DA SILVA, M. V.; DE FIGUEIREDO, R. C. B. Q. The chemical composition and trypanocidal activity of volatile oils from Brazilian Caatinga plants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. Pernambuco. v. 96, p. 1055–1064. 2017.

SOUZA^a, D. C. S.; COSTA-SILVA, T. A.; MORAIS, T. R.; BRITO, J. R.; FERREIRA, E. A.; ANTAR, G. M.; SARTORELLI, P.; TEMPONE, A. G. LAGO, J. H. G. Simplified derivatives of dibenzylbutyrolactone lignans from *Hydrocotyle bonariensis* as antitrypanosomal candidates. **Chemistry & Biodiversity**. Diadema. 2021.

SOUZA^b, A. M.; OLIVEIRA, V. B.; OLIVEIRA, C. F.; BETIM, F. C. M.; PACHECO, S. D. G.; COGO, L. L.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil obtained from *Eugenia pyriformis* Cambess. (Myrtaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba. v. 64. 2021.

STADNIK, A.; OLIVEIRA, M.I.U.; ROQUE, N. Levantamento florístico de Myrtaceae no município de Jacobina, Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil. **Hoehnea** Feira de Santana. v. 43, n. 1, p. 87-97. 2016.

STENGER, L. D.; ABATI, R.; PAWLAK, I. G.; VARPECHOSKI, G. O.; VISMARA, E. S.; BARBOSA, L. R.; JUNIOR, A. W.; LOZANO, E. R.; POTRICH, M. Toxicity of essential oil of *Eugenia uniflora* (L.) to *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) and selectivity to the parasitoid *Cleruchoides noackae* (Lin & Hubert) (Hymenoptera: Mymaridae). **Crop Protection**. Paraná. v. 147. 2021.

SURBHI, A. K.; SINGH, S.; KUMARI, P.; RASANE, P. Eucalyptus: phytochemical composition, extraction methods and food and medicinal applications. **Advances in Traditional Medicine**. India. 2021.

WHO. World Health Organization. Chagas' disease (American trypanosomiasis). 2022. Disponível em: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em: 09/09/2022

WOLFENDER, J.; MARTI, G.; THOMAS, A.; BERTRAND, S. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. **Journal of Chromatography A**. Geneva. v. 1382, p. 136–64. 2015.

YI, LUNZHAO ET AL. Chemometric Methods in Data Processing of Mass Spectrometry-Based Metabolomics : A Review *analytica chimica acta* chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics : A review. **Analytica Chimica Acta**. China. 2016.

YULIANA^a, N. D.; KHATIB, A.; YOUNG, H. C.; VERPOORTE, R. Metabolomics for bioactivity assessment of natural products. Netherlands. v .169, p. 157–69. 2011.

YULIANA^b, N. D., VERPOORTE, R.; CHOI, Y.H. Metabolomics : A new bioactivity screening method for plants. Netherlands. p. 6902–6906. 2011.

ZHAO, Q.I.; LI, J. Z. F. Application of metabolomics in the study of natural products. **Natural Products and Bioprospecting**. China. v.8, n. 4, p. 321–334. 2018.