

Bioprospecção dos constituintes voláteis de espécies do gênero *Croton L.* do Delta do Parnaíba

Bioprospection of volatile constituents of species of the genus *Croton L.* from the Delta do Parnaíba

Bioprospección de constituyentes volátiles de especies del género *Croton L.* del Delta do Parnaíba

Recebido: 26/04/2022 | Revisado: 04/05/2022 | Aceito: 08/05/2022 | Publicado: 15/05/2022

Yanna Portela Cavalcante

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0252-7108>
Universidade Estadual do Piauí, Brasil
E-mail: portelayanna@gmail.com

Beatriz Oliveira Amaro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8738-6991>
Instituto Evandro Chagas, Brasil
E-mail: biaamaro@gmail.com

Francisco Artur e Silva Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9201-7074>
Universidade Estadual do Piauí, Brasil
E-mail: artur@phb.uespi.br

Resumo

O presente estudo teve como objetivo promover a bioprospecção dos constituintes voláteis de espécies do gênero *Croton L.*, bem como avaliar o potencial sócio-econômico aliado às atividades biológicas de constituintes voláteis dessas espécies presentes na flora do Delta do Parnaíba. Para obtenção dos óleos essenciais foram coletadas amostras das partes aéreas de *Croton blanchetianus*, *C. campestris*, *C. floribundus*, *C. heliotropiifolius* e *C. rhamnifolius* que foram individualmente, submetidas ao processo de hidrodestilação e posteriormente, realizada a análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS) e acoplada ao detector de ionização em chama (CG/FID). A identificação dos constituintes voláteis foi efetuada através da determinação do índice de Kovats simulados e comparação com dados da literatura. O óleo essencial do *C. rhamnifolius* foi submetido ao teste de sensibilidade a antimicrobianos pelo método de difusão em disco. A análise fitoquímica identificou 33 constituintes no óleo essencial das cinco espécies, principalmente os monoterpenos (sabineno, limoneno, α -pineno, p-cimeno, eucaliptol) e sesquiterpenos (biciclogermacreno, germacreno-D, trans-cariofileno) muito das vezes como constituintes majoritários, o possibilitou a utilização desses compostos como marcadores químicos para classificação taxonômica das espécies do gênero *Croton*. O teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco apresentou atividade inibitória promissora do óleo de *C. rhamnifolius* contra cepas Gram-negativas de microrganismos, o que torna este óleo de grande interesse medicinal.

Palavras-chave: *Croton blanchetianus*; *Croton campestris*; *Croton floribundus*; *Croton heliotropiifolius*; *Croton rhamnifolius*; Óleo Essencial.

Abstract

The present study aimed to promote the bioprospecting of volatile constituents of species of the genus *Croton L.*, as well as to evaluate the socio-economic potential allied to the biological activities of volatile constituents of these species present in the flora of the Delta do Parnaíba. To obtain the essential oils, samples of the aerial parts of *Croton blanchetianus*, *C. campestris*, *C. floribundus*, *C. heliotropiifolius* and *C. rhamnifolius* were collected and individually submitted to hydrodistillation and then analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) and coupled to a flame ionization detector (GC/FID). Identification of the volatile constituents was carried out by determining the simulated Kovats index and comparison with literature data. The essential oil of *C. rhamnifolius* was submitted to antimicrobial sensitivity test by the disk diffusion method. The phytochemical analysis identified 33 constituents in the essential oil of the five species, mainly monoterpenes (sabinene, limonene, α -pinene, p-cymene, eucalyptol) and sesquiterpenes (bicyclogermacrene, germacrene-D, trans-caryophyllene) very often as major constituents, which enabled the use of these compounds as chemical markers for taxonomic classification of species of the genus *Croton*. The sensitivity test to antimicrobials by the disk diffusion method showed promising inhibitory activity of *C. rhamnifolius* oil against Gram-negative strains of microorganisms, which makes this oil of great medicinal interest.

Keywords: *Croton blanchetianus*; *Croton campestris*; *Croton floribundus*; *Croton heliotropiifolius*; *Croton rhamnifolius*; Essential oil.

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo promover la bioprospección de constituyentes volátiles de especies del género *Croton L.*, así como evaluar el potencial socioeconómico aliado a las actividades biológicas de los constituyentes volátiles de estas especies presentes en la flora del Delta do Parnaíba. Para la obtención de los aceites esenciales se recolectaron muestras de partes aéreas de *Croton blanchetianus*, *C. campestris*, *C. floribundus*, *C. heliotropiifolius* y *C. rhamnifolius*, las cuales fueron sometidas individualmente al proceso de hidrodestilación y posteriormente, al análisis de cromatografía de gases acoplado a la espectrometría de masas (CG/MS) y acoplado al detector de ionización de llama (CG/FID). La identificación de los constituyentes volátiles se realizó mediante la determinación del índice de Kovats simulado y comparación con datos de la literatura. El aceite esencial de *C. rhamnifolius* fue sometido a la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco. El análisis fitoquímico identificó 33 componentes en el aceite esencial de las cinco especies, principalmente los monoterpenos (sabineno, limoneno, α -pineno, p-cimeno, eucaliptol) y sesquiterpenos (biciclogermacreno, germacreno-D, trans-cariofileno) a menudo como componentes principales., permitió el uso de estos compuestos como marcadores químicos para la clasificación taxonómica de especies del género *Croton*. La prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión en disco mostró una actividad inhibitoria prometedora del aceite de *C. rhamnifolius* contra cepas de microorganismos Gram-negativos, lo que hace que este aceite sea de gran interés medicinal.

Palabras clave: *Croton blanchetianus*; *Croton campestris*; *Croton floribundus*; *Croton heliotropiifolius*; *Croton rhamnifolius*; Aceite esencial.

1. Introdução

Os produtos de origem natural são metabólitos e/ou subprodutos derivados de microrganismos, plantas ou animais (Baker *et al.*, 2000), e estão ligados intimamente à evolução da espécie humana, pois têm sido amplamente utilizados para melhorar a qualidade de vida das pessoas. Dessa forma, o isolamento de moléculas oriundas de produtos naturais tem sido uma preocupação central das ciências químicas e biológicas (Cavalcanti *et al.*, 2020).

A bioprospecção não é algo novo, pois a humanidade tem analisado e explorado os recursos naturais desde o seu início como civilização. De maneira geral, a bioprospecção consiste na busca por compostos orgânicos em microrganismos, plantas e animais que sejam úteis para a humanidade (Filho *et al.*, 2014), e que podem levar ao desenvolvimento de um produto, sendo relevante para uma ampla variedade de setores e atividades, incluindo agricultura, biotecnologia, biorremediação, biomonitoramento, indústria cosmética e farmacêutica, produção de combustíveis, saúde, entre outros (Saccaro JR, 2011). Além disso, é um cenário vem crescendo os estudos atualmente, principalmente quando relacionado a bioprospecção na Amazônia e sua biodiversidade de componentes que podem gerar ótimos resultados (Rufino & Abegg, 2022). Outro ponto, é a manutenção da sustentabilidade e da biodiversidade amazônica, para que os estudos contribuam com a sua conservação, com a preservação cultural e de produtos derivados, seguindo os conhecimentos tradicionais como guia para a construção das pesquisas científicas (Galves *et al.*, 2021).

A definição de bioprospecção abrange também a produção de fitoterápicos e antibióticos, o melhoramento genético de espécies, a descoberta de enzimas com propriedades medicinais e nutricionais, entre vários outros fatores que podem contribuir para a economia, farmacologia, nutrição, medicina, veterinária e agronomia (Strobel & Daisy, 2003). Atualmente, um dos exemplos mais conhecidos é o descobrimento do ácido acetilsalicílico (a aspirina), resultante do salgueiro europeu (*Salix spp.*), há muito tempo já usado, tornou-se uma medicação utilizada em todo o mundo até os dias de hoje (Lima *et al.*, 2020). Vale ressaltar que a bioprospecção é de suma importância para a sustentabilidade, visto que contribui com a preservação ecológica, utilizando-se dos recursos naturais e não do patrimônio ambiental.

As atividades bioprospectivas permitem, a partir da variedade biológica, descobrir com eficácia novos compostos e desenvolver novos bioprodutos agregando valor à biodiversidade. Dentre as mais diversas fontes das quais são provenientes os produtos naturais, as que mais se destacam são as plantas, das quais são usados folhas, flores, frutos, casca e raízes (Martins & Garlet, 2016). As plantas são capazes de fornecer uma série de produtos naturais bioativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de vários fármacos (Simões *et al.*, 2017). Segundo Lorenzi e Matos (2009), o uso de plantas medicinais

vem evoluindo com o passar do tempo e têm sido a principal fonte de substâncias utilizadas na medicina. As plantas são, portanto, constituídas por diversos compostos orgânicos diferentes que, quando isolados, podem apresentar inúmeras atividades biológicas que trazem benefícios ao homem. Por isso, a bioprospecção de substâncias químicas oriundas de vegetais deve continuar contribuindo para o uso seguro deles como fonte alternativa de medicamentos.

Estes produtos naturais são oriundos das mais diversas famílias de plantas que são empregadas na terapia de vários males, seja na forma de chás, pomadas, extratos, entre outros (Cavalcanti et al., 2020). Uma das famílias de interesse da ciência é a família Euphorbiaceae. Esta família botânica é composta por mais de 300 gêneros, representando cerca de 8.000 espécies (Lira et al., 2019), sendo uma das mais diversas entre as famílias de Angiospermas no bioma Cerrado, e embora supostamente cosmopolita, quase não há representantes em regiões polares (baixas temperaturas), mas apresenta maior diversidade em regiões subtropicais e tropicais (Webster, 2014). O gênero *Croton L.* é o segundo com mais diversidade dessa família e está representado por cerca de 300 espécies no Brasil, agrupadas principalmente em cerrados, campos rupestres e caatinga (Caruzo et al., 2010, 2020).

O gênero *Croton L.* é um dos mais importantes desta família, inclui cerca de 1.200 espécies distribuídas nas Américas (Lira et al., 2019) e possui uma ampla variedade de espécies ricas em metabólitos secundários (Bezerra et al., 2020). Este gênero tem grande potencial para a indústria farmacêutica, concedendo características medicinais para muitas espécies, apresentando metabólitos secundários, como alcalóides, flavonóides e terpenóides (Payo et al., 2001) e sendo utilizadas para tratar diversas enfermidades, tais como problemas digestivos, diabetes e febre (Araújo et al., 2017).

A química desse gênero de plantas tem sido amplamente estudada, visto que muitas de suas espécies apresentam óleos essenciais ricos em metabólitos secundários voláteis, comumente associados a importantes atividades biológicas. Os óleos essenciais consistem em compostos naturais, voláteis e complexos, caracterizados por apresentarem um forte odor, produzidos por plantas aromáticas e representam uma importante contribuição para a medicina popular, devido a sua funcionalidade e sua fácil obtenção (Machado & Júnior, 2011). Considerando o uso da biodiversidade vegetal, quando o órgão representa um substrato renovável (ex. resina, folha, flor, fruto, semente), é possível extrair-se a essência sem eliminar a planta, o que a torna uma fonte de óleo ecologicamente correta (Siani et al., 2006).

Segundo Navarrete et al. (2011), uma das principais características de um óleo essencial são suas atividades antimicrobianas e antioxidantes, apresentando estruturas fenólicas que o tornam ativo contra microrganismos. Portanto, muitas plantas podem servir como alternativa terapêutica devido à atividade antimicrobiana comumente associada aos seus óleos essenciais (Santos et al., 2012), os quais desempenham papel fundamental na defesa contra microrganismos e predadores entre outras funções diversas necessárias à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema.

Geralmente, os óleos essenciais são constituídos por moléculas de natureza terpênica. Segundo Siani et al. (2006), o perfil terpênico apresenta geralmente compostos constituídos de 10 e de 15 moléculas de carbonos (monoterpenos e sesquiterpenos), mas, a depender da composição da planta e do método de extração, podem ser encontrados terpenos menos voláteis na composição do óleo essencial. Portanto, levando em consideração uma mesma espécie de planta, o número de compostos, suas quantidades relativas e o rendimento de óleos variam significativamente. Isso pode ser atribuído ao método de extração do óleo, além dos parâmetros climáticos, localidade e fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, e estágio de desenvolvimento da planta na época da colheita (Bakkali et al., 2008).

O Delta do Parnaíba apresenta zona climática intertropical e está situado na região Nordeste do Brasil, no hemisfério Sul e Ocidental. Possui uma ampla área de cobertura de aproximadamente 2.750 Km², sendo caracterizado por um complexo agregado de ecossistemas divididos por baías e estuários. Consiste em uma região bastante dinâmica formada pela tensão ecológica entre as formações de Cerrado a sudoeste, Caatinga a leste e Sistemas marinhos ao norte (Castro, 2007; Guzzi, 2012), sendo caracterizada por apresentar vegetação rastejante e arbustiva que está sujeita a inundações frequentes com o fluxo

das marés, e se distingue principalmente por variações na composição e profundidade do solo em relação ao lençol freático, sendo classificada como manguezal, mata ciliar de várzea e vegetação de tabuleiro (Radambrasil, 1981). Esse ecossistema rico em diversidade vegetal é de suma importância para o equilíbrio ambiental da zona costeira do estado do Piauí, que reúne grande número de espécies amplamente utilizadas pela cultura popular local como fonte alternativa de fitomedicamentos no combate a doenças. Apesar de sua grande extensão e de sua variada formação vegetal, trabalhos que evidenciem a biodiversidade do Delta são recentes e bastante escassos (Guzzi, 2012).

Nesse contexto, levando em consideração que o estudo químico contribui para o desenvolvimento de novos medicamentos, além de propiciar o conhecimento da flora local e garantir à população daquela determinada região o uso correto e seguro dos costumes populares, o presente trabalho tem o intuito de promover a bioprospecção de constituintes voláteis de espécies do gênero *Croton L.* da flora do Delta do Parnaíba – PI, contribuindo, dessa forma, com o quadro científico/social no sentido de comprovar a eficácia e o uso seguro de recursos naturais, e no desenvolvimento socioeconômico da região, incentivando o extrativismo sustentável e ecologicamente correto da Região.

2. Metodologia

2.1 Tipo de pesquisa

Considerando os procedimentos utilizados no decorrer de seu desenvolvimento, a pesquisa é classificada como experimental e bibliográfica. Para Fonseca (2002), a pesquisa experimental submete a diferentes tratamentos grupos de assuntos coincidentes, verificando e comparando se as diferenças observadas nos resultados são estatisticamente significantes. Com isso, na pesquisa experimental podem ser testadas hipóteses que firmam relações de causa e efeito. Por outro lado, a pesquisa bibliográfica é feita através do levantamento de referencial teórico, com base em artigos científicos, livros, revistas, objetivando a obtenção de conhecimentos prévios sobre o tema da pesquisa (Fonseca, 2002).

2.2 Coleta e identificação do material botânico

O material vegetal foi coletado nos municípios de Parnaíba-PI e Camurupim-PI em fevereiro de 2018, período chuvoso que corresponde à época de florescimento. Um representante da espécie *Croton rhamnifolius Kunth* (tombo 6724), uma de marmeleiro (*C. blanchetianus Baill.* (tombo 6725)) e três de velame (*C. heliotropifolius Kunth* (tombo 6726), *C. floribundus Spreng.* (tombo 6723) e *C. campestris A.St.-Hill.* (tombo 6727) foram coletados para o estudo. O material vegetal foi herborizado e incorporado ao Herbário Delta do Parnaíba da Universidade Federal do Piauí (UFPI), para correta identificação.

2.3 Obtenção e identificação dos constituintes voláteis

As partes aéreas dos materiais vegetais foram, individualmente, submetidas ao processo de hidrodestilação em aparelho doseador de óleo essencial tipo Clevenger modificado por Gottlieb (Gottlieb & Magalhães, 1960), levando a obtenção dos óleos essenciais de cada espécie coletada.

Os óleos essenciais obtidos foram enviados para análise em Espectrômetro de Massa Hewlett-Packard, pertencente a Universidade Federal do Ceará (UFC) de modelo HP-5791 A, acoplado a cromatógrafo Gás-Líquido modelo HP A série II (CG/MS), provido de coluna capilar DB-5 (dimetilpolisiloxano) com 30,0 m de comprimento; 0,25mm de diâmetro interno e filme de 0,1µm. A razão de aquecimento do injetor foi de 35-180°C/4°C/min e 180-280°C/35°C/min, utilizando o hélio como o gás de arraste. A análise Cromatografia Gasosa Acoplada ao Detector Ionização em Chama (CG/FID), foi efetuada num cromatógrafo Shimadzu GC-17^a equipado com detector FID, usando coluna capilar DB-5 (dimetilpolisiloxano) com 30,0m x

0,25mm de diâmetro interno e filme de 0,25µm, utilizando razão de aquecimento do injetor de 35-180°C/4°C/min e 180-280°C/17°C/min, utilizando hidrogênio como gás de arraste. A identificação dos constituintes químicos voláteis do óleo essencial foi efetuada através da determinação do índice de Kovats simulados, pesquisa em espectroteca (Alencar *et al.*, 1990), e comparação com dados da literatura (Adams, 2007).

2.4 Teste de atividade de sensibilidade a antimicrobianos

Foi utilizado o método descrito originalmente por Bauer *et al.* (1996), conhecido como método de disco-difusão. As Culturas bacterianas desenvolveram-se a 37 oC durante 24 horas em BHI, com posterior preparação das suspensões em salina 0,9% concentração 1,5x10⁸ células/mL, utilizando a escala 0,5 de McFarland, Placas de Petri com ágar Müller Hinton (MH), semeadas com 100 µL de cada suspensão bacteriana e utilizados discos de papel de filtro embebidos nas soluções contendo o óleo essencial de *C. rhamnifolius* (70mg/ml) e Oxacilina ou Kanamicina (0,05 mg/mL) como controle positivo e clorofórmio como controle negativo (Araújo *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2004; Albuquerque *et al.*, 2004; Menezes-Torres *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2006).

3. Resultados e Discussão

3.1 Fitoquímica das espécies do gênero *Croton* L.

Após o processo de extração dos óleos essenciais das cinco espécies de *Croton*, foi possível determinar o rendimento relativo de cada óleo essencial. A extração do óleo essencial do *C. rhamnifolius* forneceu 436,7 mg com rendimento de 0,09% de óleo, o *C. heliotropiifolius* forneceu 168,3 mg e rendimento de 0,03% de óleo, por sua vez o *C. floribundus* forneceu 102,5 mg com rendimento de 0,02% de óleo, *C. campestris* forneceu 200,1 mg com rendimento de 0,04% de óleo, e por fim, *C. blanchetianus* forneceu 1.113 mg de óleo, com 0,22 % foi a espécie que apresentou maior rendimento por massa de folha fresca. Na literatura é observado que os rendimentos dos óleos essenciais extraídos de diversas espécies do gênero *Croton* variando entre 0,02 e 1,15% sendo obtido de várias partes da planta, como das folhas, caule, raízes (Angélico *et al.*, 2011).

A análise por CG/MS e CG/FID dos óleos essenciais permitiu determinar, respectivamente, qualitativo e quantitativamente a composição dos óleos essenciais dos *Croton blanchetianus* (OECB), *C. heliotropiifolius* (OECH), *C. Floribundus* (OECF) e *C. campestris* (OECC), *C. rhamnifolius* (OECR) como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Análise química CG/MS dos óleos das espécies *Croton blanchetianus* (OECB), *C. heliotropiifolius* (OECH), *C. floribundus* (OECF), *C. campestris* (OECC) e *C. rhamnifolius* (OECR), e as respectivas porcentagens (%) de contribuição de cada composto. (NC) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (IK) Índice de Kovats simulados.

Constituintes	N C	TR	IK	Amostra (%)				
				OECB	OECH	OECF	OECC	OECR
Monoterpenos hidrocarbonetos								
α -Tujeno	1	7.9	930	-	0,4	-	2,6	-
α -pineno	2	8.1	939	2,0	0,5	4,3	10,4	9,9
Canfeno	3	8.6	954	-	-	-	1,3	2,1
Sabineno	4	9.4	975	-	2,5	15,5	23,8	7,1
β -pineno	5	9.5	979	0,5	-	1,3	1,4	-
Mirceno	6	10.1	990	-	9,1	1,4	1,8	-
α -Felandreno	7	10.5	1002	0,5	-	2,3	5,8	4,6
α -Terpineno	8	10.9	1017	-	-	-	0,8	-
<i>p</i> -Cimeno	9	11.2	1026	-	0,8	2,6	0,8	10,9
Limoneno	10	11.4	1029	2,5	10,4	11,2	12,7	-
β -trans-Ocimeno	11	12.1	1050	1,0	-	-	-	-
γ -Terpineno	12	12.5	1059	-	-	-	10,8	-
α -Terpinoleno	13	13.6	1088	-	1,4	-	1,7	-
Subtotal				6,5	25,1	38,6	73,9	34,6
Monoterpenos oxigenados								
Eucaliptol	14	11.7	1031	-	-	-	-	45,5
β -Linolol	15	14.0	1098	-	1,3	-	-	-
Linolol	16	15.2	1100	-	-	-	-	1,6
Terpineol-4	17	16.8	1177	-	-	2,0	1,3	2,8
α -Terpineol	18	17.3	1189	-	0,8	-	0,9	2,2
Subtotal				0	2,1	2,0	2,2	52,1
Sesquiterpenos hidrocarbonetos								
α -Copaeno	19	24.1	1375	-	0,9	-	-	-
β -Elemeno	20	24.6	1376	12,7	1,1	-	1,1	-
trans- β -cariofileno	21	24.8	1392	-	-	-	-	3,2
trans-Cariofileno	22	25.6	1419	17,0	20,0	30,7	10,9	1,1
α -Humuleno	23	26.6	1454	2,8	1,8	2,9	0,9	-
Germacreno-D	24	27.6	1485	20,6	13,1	5,9	2,6	-
Biclogermacreno	25	28.1	1494	33,5	19,4	13,0	6,3	1,7
Germacreno-A	26	28.3	1509	4,9	-	-	-	-
γ -Cadineno	27	28.6	1513	-	1,0	-	-	-
δ -Cadineno	28	28.8	1523	-	1,3	-	-	-
Germacreno-B	29	29.9	1561	1,9	4,0	-	-	-
Oxido Cariofileno	30	31.7	1581	-	-	3,5	-	2,3
Subtotal				93,4	62,6	56,0	21,8	8,3
Sesquiterpenos oxigenados								
Bornilacetato	31	20.8	1285	-	-	-	2,0	-
Espatulenol	32	30.4	1578	-	-	-	-	2,6
δ -Cadinol	33	32.3	1636	-	1,1	-	-	-
Subtotal				0	1,1	0	2,0	2,6
Total identificado				100	90,9	96,6	100	97,6

Fonte: Dados da pesquisa.

A análise do óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas resultou na identificação de 33 constituintes no óleo essencial das cinco espécies. Destes, o maior número de compostos identificados foi observado na espécie *C. campestris*, apresentando na constituição de seu óleo essencial 20 constituintes, enquanto o menor número foi observado na espécie *C. blanchetianus*, apresentando 12 constituintes (Tabela 1).

Foi possível identificar 100% dos constituintes voláteis do *C. blanchetianus* e *C. campestris*, sendo que a primeira apresentou como componente majoritário os compostos bicilogermacreno (33,5%), germacreno-D (20,6%) e o trans-cariofileno (17,0%). Pinho-da-Silva *et al.* (2010), também observaram o bicilogermacreno como principal composto em *C. blanchetianus*, no entanto, segundo Angélico *et al.* (2011), os componentes majoritários são 1,8-cinol, eucalipitol e α -pineno, essa diferença é justificada pela influência do ambiente e das condições climáticas em que se encontra a planta, tais fatores interferem na rota Biosintética das plantas, e consequentemente, na formação dos constituintes voláteis.

Os compostos sabineno (23,8%), limoneno (12,7%) e trans-cariofileno (10,9%) foram predominantes no óleo essencial de *C. campestris*. Os constituintes químicos identificados para essa espécie no presente trabalho não corroboram com os observados em outras literaturas que apresentaram níveis diferentes (El Babili *et al.*, 2009; Santana, 2011), também justificado pela influência dos fatores externos sobre a produção dos constituintes voláteis da planta.

A análise do óleo essencial de *C. heliotropiifolius* permitiu identificar 97,7% dos seus constituintes químicos, apresentando como componentes majoritários o trans-cariofileno (20,0%), bicilogermacreno (19,4%), germacreno-D (13,1%). A literatura descreve estes três sesquiterpenos como componentes principais para o óleo essencial desta espécie (Doria *et al.*, 2010).

O óleo essencial de *C. floribundus*, por sua vez, foi possível identificar 96,6% dos seus constituintes voláteis, e os compostos trans-cariofileno (30,7%), sabineno (15,5%) e o bicilogermacreno (13,4%) apresentaram-se como os principais constituintes. Já para o óleo essencial de *C. rhamnifolius* foi possível identificar 97,56% de seus constituintes químicos, sendo o eucalipitol (45,5%) como o componente majoritário, seguido por p-cimeno (10,9%) e α -pineno (9,8%). Esses compostos também foram identificados em diferentes concentrações nos estudos de Craveiro *et al.* (1981), Silva (2008), Costa *et al.* (2013), Vidal *et al.* (2016) e Castro *et al.* (2019).

A comparação dos resultados demonstra que a variabilidade na composição dos óleos essenciais depende essencialmente da origem das amostras, da influência da posição geográfica e do clima. Embora os compostos α - e β -pineno estejam presentes em baixa quantidade no óleo obtido das partes aéreas dessas espécies ($0,2 \pm 10,4\%$ e $0,5 \pm 1,4\%$, respectivamente), a co-ocorrência destes monoterpenos pode ser uma característica comum do gênero *Croton* (Bracho & Crowley, 1966; Craveiro *et al.*, 1981; Radulovic *et al.*, 2006). Os compostos identificados neste estudo são consistentes com os dados da literatura para *Croton spp.*, sendo os óleos essenciais caracterizados por uma predominância de monoterpenos e sesquiterpenos (Meccia *et al.*, 2000; Salatino *et al.*, 2007; Fontenelle *et al.*, 2008; Câmara *et al.*, 2017; Castro *et al.* (2019)).

A análise dos constituintes majoritários de cada espécie permitiu observar um padrão na rota biossintética das plantas analisadas, onde os constituintes sesquiterpenos trans-cariofileno e bicilogermacreno apresentam-se em todas as espécies analisadas, muitas vezes, como um dos componentes majoritários. Outro sinalizado de que essas espécies apresentaram rota biossintética semelhante é a presença do monoterpeno α -pineno em todas as espécies, tanto por fazer parte dos constituintes dessas plantas, como também, pela porcentagem semelhante de contribuição para composição dos constituintes voláteis. Desta forma os compostos trans-cariofileno, bicilogermacreno e α -pineno podem ser qualificados como possíveis marcadores químicos para análise quimiotaxonômica das espécies do gênero *Croton*.

Para fins de apresentação, os compostos foram agrupados nas seguintes classes químicas: monoterpenos hidrocarbonetos (6,5-73,9%); monoterpenos oxigenados (0-52,1%); sesquiterpenos hidrocarbonetos (8,3-93,4%); e

sesquiterpenos oxigenados (0-2,6%). Vários compostos foram observados em diferentes espécies de *Croton*, com algumas sendo ricas em monoterpenos (Craveiro *et al.*, 1981) e um grupo menor com sesquiterpenos como compostos principais (Radulovic *et al.*, 2006).

Verificou-se que na amostra de OECC foi obtida a maior porcentagem relativa de monoterpenos, correspondente à 73,0%; na amostra de OECR foi obtida a maior porcentagem relativa de monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos oxigenados, correspondentes à 52,1% e 2,6% respectivamente; e na amostra de OECB verificou-se a maior porcentagem relativa de sesquiterpenos correspondente à 93,4% (Tabela 1).

A espécie *C. blanchetianus* apresentou, em sua amostra de óleo essencial, 6,5% de monoterpenos e 93,4% de sesquiterpenos, totalizando 100% de terpenoides, não apresentando compostos oxigenados. *C. heliotropifolius* apresentou 25,1% de monoterpenos, 2,1% de monoterpenos oxigenados, 62,6% de sesquiterpenos e 1,1% de sesquiterpenos oxigenados, totalizando 90,9% de terpenoides. *C. floribundus* apresentou 38,6% de monoterpenos, 2,0% de monoterpenos oxigenados e 56,0% de sesquiterpenos, totalizando 96,6% de terpenoides, não apresentando compostos oxigenados. *C. campestris* apresentou 73,9% de monoterpenos, 2,2% de monoterpenos oxigenados, 21,8% de sesquiterpenos e 2,0% de sesquiterpenos oxigenados, totalizando 100% de terpenoides. E por fim, *C. rhamnifolius* apresentou em sua constituição 34,6% de monoterpenos, 52,1% de monoterpenos oxigenados, 8,3% de sesquiterpenos e 2,6% de sesquiterpenos oxigenados, totalizando 97,6% de terpenoides (Tabela 1). Comparando as espécies vegetais e a porcentagem dos compostos em cada classe química, as amostras de OECF, OECC e OECR tem maior similaridade química em relação à composição de monoterpenos, enquanto as amostras de OECC e OECR possuem maior similaridade em relação aos seus compostos sesquiterpenos oxigenados.

3.2 Teste de sensibilidade a antimicrobianos

O óleo essencial do *C. rhamnifolius* foi submetido ao teste de sensibilidade a antimicrobianos pelo método de difusão em disco apresentando uma promissora atividade inibitória para as cepas *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis* (Tabela 2).

Tabela 2 - Teste de sensibilidade a antimicrobianos pelo método de difusão em disco.

Microrganismos	Óleo essencial/ halo inibição (mm)			
	<i>C. rhamnifolius</i>	Clorofórmio	Oxacilina	Kanamicina
<i>Bacillus subtilis</i>	12/15	0/0	22/19	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/0	0/0	20/22	---
<i>Chromobacterium violaceum</i>	0/0	0/0	---	33/34
<i>Escherichia coli</i>	0/0	0/0	---	23/22
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	19/22	0/0	---	17/18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20/21	0/0	---	19/18
<i>Salmonella choleraesuis</i>	23/24	0/0	---	18/18
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0/0	0/0	---	20/20

Fonte: Dados da pesquisa.

O óleo de *C. rhamnifolius* mostrou-se seletivo para cepas de microrganismos do tipo Gram-negativo, o que torna esse óleo de grande interesse medicinal, uma vez que essa classe de cepas é responsável pela maioria das resistências antimicrobianas, que pode ser explicada pela presença de uma membrana fosfolipídica externa, que é quase impermeável aos

compostos lipofílicos (Nikaido & Vaara, 1985).

Segundo Nostro *et al.* (2000), a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é mais propícia em bactérias Gram-positivas, uma vez que, o contato direto do óleo com a membrana causa tanto um aumento da permeabilidade iônica, como o vazamento de constituintes fundamentais intracelulares das bactérias, ou a deterioração dos sistemas enzimáticos bacterianos (Cowan, 1999), resultado este observado neste estudo apenas para *Bacillus subtilis*.

A maioria das propriedades antibacterianas dos óleos essenciais tem sido associada a terpenóides oxigenados como álcoois e cetonas e alguns hidrocarbonetos (Koroch *et al.*, 2007; Adra, *r et al.* 2016). Acredita-se que os óleos essenciais contendo monoterpenos podem acumular-se na membrana celular bacteriana, causando perda de integridade, fuga de conteúdo intracelular, levando à lise e morte celular (Huang *et al.*, 2018).

Segundo Yin *et al.* (2012), o eucaliptol aumenta a permeabilidade da membrana citoplasmática microbiana, causando uma considerável perda de ATP citoplasmático. Essa ação deve-se à sua capacidade de interagir com a membrana citoplasmática, em que pode se dissolver na bicamada lipídica, alinhando-se entre as cadeias de ácidos graxos. Tal distorção da estrutura física poderia causar a expansão e desestabilização da membrana, aumentando sua fluidez e resultando no incremento de sua permeabilidade passiva. Acredita-se que sua efetividade esteja relacionada à presença de um grupo éter no anel fenólico que lhe confere alto poder reativo.

Silva *et al.* (2010) reforçaram a importância das interações entre os compostos de baixa concentração, mostrando que a presença de p-cimeno e γ -terpineno aumenta a ação antimicrobiana de compostos majoritários como o eucaliptol, porém o p-cimeno não tem efeito antibacteriano se usado sozinho, apenas quando combinado, pois ele facilita o transporte do eucaliptol por meio da membrana citoplasmática para o interior da célula bacteriana (Naigre *et al.*, 1996).

A atividade antimicrobiana do óleo de *C. rhamnifolius* pode também estar associada à presença dos monoterpenos α -pineno, p-cimeno e linalol, que já foram estudados anteriormente e são conhecidos por possuir tal bioatividade (Hinou, Harvala & Hinou, 1989; Prudent *et al.*, 1993; Peres, 1997; Martins *et al.*, 2000; Heluani *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2013; Santiago *et al.*, 2016; Medeiros *et al.*, 2017; Mouwakeh *et al.*, 2019). O biciclogermacreno é referido na literatura como o principal componente em muitos óleos essenciais com propriedade antibacteriana (Heluani *et al.*, 2005; Shafaghat, 2011; Almeida *et al.*, 2013), no entanto, este sesquiterpeno foi identificado em baixa quantidade neste trabalho (1,7%).

4. Conclusão

A análise fitoquímica de *Croton blanchetianus*, *C. campestris*, *C. floribundus*, *C. heliotropifolius* e *C. rhamnifolius* permitiu determinar o rendimento relativo (que variou de 0,02% a 0,22%) e identificar 33 constituintes no óleo essencial das cinco espécies. Os compostos majoritários foram variados, sendo os principais o germacreno-D, sabineno, limoneno, eucaliptol, p-cimeno, biciclogermacreno, trans-cariofileno, α -pineno, sendo que estes três últimos se apresentam em todas as espécies analisadas e podem ser qualificados como possíveis marcadores químicos para análise quimiotaxonômica das espécies do gênero *Croton L.*

Dentre as diferentes espécies oleíferas estudadas, *C. rhamnifolius* foi selecionada para teste de sensibilidade aos antimicrobianos devido ao seu uso na medicina tradicional como erva medicinal. O óleo essencial dessa espécie apresentou um rendimento de 0,56% pelo processo de hidrodestilação e que após análise do óleo essencial em CG\MS revelou que sua constituição é formada por monoterpenos (85,06%) e sesquiterpenos (12,50%), sendo os componentes majoritários o Eucaliptol (45,53%) e o para-cimeno (10,92%) num total de 97,56% dos compostos identificados. O teste de sensibilidade realizado pelo método de difusão em disco mostrou uma promissora atividade inibitória contra as cepas *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*, revelando uma seletividade do óleo de *C.*

rhamnifolius para as cepas de microrganismos do tipo gram-negativo.

As perspectivas futuras são promissoras, esse gênero de plantas vem sendo estudado por diversos grupos de pesquisa, sendo importante para entendermos como se apresentam os óleos essenciais que são ricos em metabólitos secundários voláteis e essenciais para as atividades biológicas, assim como, possuem uma boa funcionalidade e são fáceis de adquirir. Atualmente, sua utilização vem crescendo, principalmente no uso de plantas medicinais, além disso, os estudos apontam sua importância na saúde da população, sendo importante ser estudado futuramente medicamentos alternativos utilizando como base essas fontes naturais.

Agradecimentos

Agradeço o apoio da Universidade Estadual do Piauí, aos professores, coordenadores e responsáveis técnicos. Ao professor orientador Francisco Artur e Silva Filho, pelas orientações na realização deste trabalho e por todo o conhecimento repassado nesta jornada.

Referências

- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Carol Stream: Allured publishing Corporation, vol. 456, p. 544-545.
- Adrar, N., Oukil, N., & Bedjou, F. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial Crops and Products*, 88, 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.007>
- Albuquerque M. R. J. R., et al. (2004). Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (DC) Baker (Asteraceae). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(22), 6708-6711. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0352881>
- Alencar, J. W., et al. (1990). Kovats Indices Simulation Essencial Oils Analysis. *Química Nova*, 13(4), 282.
- Almeida, T. S., et al. (2013). Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 630-633. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.010>
- Angélico, E. C., et al. (2011). Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton blanchetianus* (Bail): resultados preliminares. *Revista de Biologia e Farmácia*, 5, 44-49.
- Araújo E. C. C., et al. (2003). Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 3760-3762. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf021074s>
- Araújo, F. M., et al. (2017). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil *Industrial Crops and Products*, 105, 203-206. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.016>
- Baker, D., et al. (2000). Natural products vs. combinatorials: a case study. *Special Publication-Royal Society of Chemistry*, 257, 66-74, 2000.
- Bakkali, F., et al. (2008). Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-75. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Bauer, A. W., et al. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Microbiol.*, 40: 2413-5. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5325707/>
- Bezerra, A. J. N., et al. (2020). Avaliação da segurança não clínica do triterpeno ácido acetil aleurítico (AAA) isolado de *Croton zehntneri* em zebrafish (*Danio rerio*) adulto. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 55932-55940. <https://brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/14676>
- Bracho, R., & Crowley, K. J. (1966). The essential oils of some Venezuelan *Croton* species. *Phytochemistry*, 5, 921-926. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82788-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82788-0)
- Câmara, C. A. G., et al. (2017). Chemical composition and acaricidal activity of essential oils from *Croton Rhamnifolioides* pax and hoffm. In different regions of a caatinga biome in northeastern Brazil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6), 1434-1449. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1416677>
- Caruzo, M. B. R., et al. (2010). *Croton rufolepidotus* (Euphorbiaceae s. str.), a New Species from Antioquia, Colombia. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 20(3), 248-251. <https://doi.org/10.3417/2008111>
- Caruzo, M. B. R., et al. (2020). *Croton in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17497>.
- Castro, A. A. J. F. (2007). Unidades de planejamento: uma proposta para o estado do Piauí com base na dimensão diversidade de ecossistemas. *Publicações Avulsas em Conservação de Ecossistemas*, 18, 1-28.

- Castro, K. N. de C., et al. (2019). Acaricidal potential of volatile oils from Croton species on Rhipicephalus microplus. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 811-815. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.09.001>
- Cavalcanti, D. F. G., Da Silveira, D. M., & Silva, G. C. Da. (2020). Aspectos e potencialidades biológicas do gênero Croton (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 45931-45946. <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/viewFile/13079/10995>
- Costa, A. C. V., et al. (2013). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of a Croton rhamnifolioides leaves Pax & Hoffm. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(6), 2853-2863. 10.5433/1679-0359.2013v34n6p2853
- Costa J. G. M., et al. (2004). Composition and larvicidal activity of essential oils from heartwood of Auxemma glazioviana Taub. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 529-531. <https://doi.org/10.1002/ffj.1332>
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agentes. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 12, p. 564-582.
- Craveiro, A. A., et al. (1981). Volatile constituents of brazilian Euphorbiaceae. genus Croton. *Journal of natural products*, 44(5), 602-608. <https://doi.org/10.1021/np50017a019>
- Doria, G. A. A., et al. (2010). A Study of the larvicidal activity of two Croton species from northeastern Brazil against Aedes aegypt. *Pharmaceutical Biology*, 48(6), 615-620. <https://doi.org/10.3109/13880200903222952>
- El Babili, F., et al. (2009). Essential oil of leaves of Croton campestris St. Hilaire, its secretory elements, and its biological activity. *Journal of Essential Oil Researsh*, 21(3), 272-275. <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700168>
- Fontenelle, R. O. S., et al. (2008). Antifungal activity of essential oils of Croton species from the Brazilian Caatinga biome. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, 104(5), 1383-1390. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03707.x>
- Fonseca, J. J. S. (2002). *Metodologia da pesquisa científica*. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará.
- Filho, S. A., Silva, C. G. N. D., & Bigi, M. D. F. M. A. (2014). Bioprospecção e biotecnologia. *Parcerias Estratégicas*, 19(38), 45-80. http://200.130.27.16/index.php/parcerias_estrategicas/article/view/732/672
- Galves, J. M., Oliveira, D. A. D., & Correia, K. B. D. S. (2021). Bioprospecção na Amazônia: um mapeamento sistemático dos recursos biológicos e genéticos. In: *Sustentabilidade informacional em ecossistemas de conhecimentos Manaus*: EDA. <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/3303>
- Guzzi, A. (2012). *Biodiversidade do Delta do Parnaíba: litoral piauiense*. Parnaíba: Editora da UFPI (EDUFPI).
- Gottlieb, O. R., & Magalhães, M. T. (1960). Eucaliptol no óleo essencial do rizoma do lírio do brejo. *Bol.Inst.Agric*, 60, 21-22.
- Heluani, C. S., et al. (2005). Antimicrobial activity and chemical composition of the leaf and root oils from Croton hieronymi Griseb. *Journal of Essential Oil Research*, 17(3), 351-353. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698927>
- Hinou, J. B., Harvala, C. E., & Hinou, E. B. (1989). Antimicrobial activity screening of 32 common constituents of essential oils. *Pharmazie*, 44: 302 – 3. <https://europepmc.org/article/med/2772009>
- Huang, J. et al. (2018). Antibacterial activity of Artemisia asiatica essential oil against some common respiratory infection causing bacterial strains and its mechanism of action in Haemophilus influenzae. *Microbial pathogenesis*, v. 114, p. 470-475. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.032>
- Koroch, A. R. et al. (2007). Bioactivity of essential oils and their componentes. *Flavours and fragrances*, 87-115. 10.1007/978-3-540-49339-6_5
- Lima, R. A., et al. (2020). A importância da taxonomia, fitoquímica e bioprospecção de espécies vegetais visando o combate e enfrentamento ao COVID-19. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 7(1), 607-617. <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/3721>
- Lira, E. C., de et al. (2019). O Marmeleiro (Croton sp.) e os seus arredores: manejo e oportunidades de utilização na produção florestal. *Brazilian Journal of Development*, 5(11), 27147-27160. <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/4927>
- Lorenzi, H. F., & Matos, F. J. A. (2009). *Plantas Medicinais do Brasil*, nativas e exóticas. (2a ed.): Plantarum.
- Machado, B. F. M. T., & Junior, A. F. (2011). Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. *Cadernos acadêmicos*, 3(2), 105-127. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/137219>
- Martins, A. P., et al. (2000). Antimicrobial activity and chemical composition of the bark oil of Croton stellulifer, an endemic species from S. Tome e Príncipe. *Planta medica*, 66(07), 647-650. 10.1055/s-2000-8623
- Martins, M. C., & Garlet, T. M. B. (2016). Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. *Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology (REGET)*, 20, (1), 438-448. <https://pdfs.semanticscholar.org/583e/acee0a837d16464ac1b5c756bc1ee00de248.pdf>
- Meccia, G., et al. (2000). Essential oil of Croton ovalifolius Vahl from Venezuela. *Journal Flavour Fragrance*, Ichihara, 15(3), 144-146. [https://doi.org/10.1002/1099-1026\(200005/06\)15:3<144::AID-FFJ882>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1099-1026(200005/06)15:3<144::AID-FFJ882>3.0.CO;2-C)
- Medeiros, V. M., et al. (2017). Chemical composition and modulation of bacterial drug resistance of the essential oil from leaves of Croton grewoides. *Microbial pathogenesis*, v. 111, p. 468-471. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.034>
- Mouwakeh, A., et al. (2019). Nigella sativa essential oil and its bioactive compounds as resistance modifiers against Staphylococcus aureus. *Phytotherapy Research*, 33(4), 1010-1018. <https://doi.org/10.1002/ptr.6294>

- Menezes-Torres, M. C., et al. (2021). Composição química do óleo essencial das folhas de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Development*, 7(2), 15862-15872. <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/24760>
- Naigre, R., et al. (1996). Comparison of antimicrobial properties of monoterpenes and their carbonylated products. *Planta Medica*, v. 62, p. 275-277. 10.1055/s-2006-957877
- Navarrete, A., et al. (2011). Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. *I&EC Research*, Washington, v. 50, p. 4667-4671. <https://doi.org/10.1021/ie102218g>
- Nikaido, H., & Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological Reviews*, 1, 1-32. <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/mr.49.1.1-32.1985>
- Nostro, M. P. A., et al. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. (2000). *Lett. Appl. Microbiol.* 30(5), 379-384. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00731.x>
- Payo, H. A., et al. (2001). Tamizaje fitoquímico preliminar de especies del género *Croton* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 35(3), 203-206. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75152001000300008&script=sci_arttext&tlng=en
- Peres, M. T. L. P., et al. (1997). Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 56(3), 223-226. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00039-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00039-1)
- Pinho-da-Silva, L., et al. (2010). *Croton sonderianus* essential oil samples distinctly affect rat airway smooth muscle. *Phytomedicine*, 17(10), 721-725. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.01.015>
- Prudent, D., et al. (1993). Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the atoumau from Martinique (*Alpina speciosa* K. Schum.). *Journal of Essential Oil Research*, v. 5: 255 – 64. <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698218>
- RADAMBRASIL - Projeto Radar da Amazônia: Projeto RadamBrasil. (1981). *Levantamento de Recursos Naturais - Folha SD 25 Piauí, geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso potencial da terra*. Brasil, Ministério das Minas e Energia. Rio de Janeiro: IBGE. p. 633.
- Radulovic, N., et al. (2006). Essential oil composition of four *Croton* species from Madagascar and their chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 34, p. 648-653. <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-f16a6df5-1767-30ae-a4d4-276592fb5400>
- Rufino, J. L. da S., & Abegg, M. A. (2022). Mapeamento Sistemático das produções sobre bioprospecção na Amazônia entre o período de 2010-2020. *Research, Society and Development*, 11(5), e34911528179-e34911528179.
- Saccaro JR, N. L. (2011). A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. *Ambiente & Sociedade*, 14(1), 229-244. <https://search.proquest.com/openview/7997c929ad583faf8a15b07079b6f1ae/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2035034>
- Salatino, A., Salatino, M. L. F., & Negri, G. (2007). Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian chemical society*, 18, 11-33. <https://www.scielo.br/pdf/jbchs/v18n1/01.pdf>
- Santana, S. V. (2011). *Estudo comparativo de óleos essenciais de espécies de Croton do estado de Sergipe*. 95f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de pós-graduação em Química, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.
- Santiago, J. A., et al. (2016). Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L.: secretory structures, antibacterial and antioxidant activities. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 38(2), 139-147. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v38i2.28303>
- Santos, R. P., et al. (2006). Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, 17, 1027-1030. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000500030>
- Santos, T. G., et al. (2012). Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. Presl.) C. DC. *Química Nova*, v. 35, p. 477-481. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300007>
- Shafaghath, A. (2011). Antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oils from flower, leaf and stem of *Origanum vulgare* ssp. *viride* growing wild in northwest Iran. *Natural product communications*, 6(9), 1934578X1100600933. <https://doi.org/10.1177/1934578X1100600933>
- Siani, A. C., et al. (2006). Óleos essenciais: potencial anti-inflamatório. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. 23, 38-43.
- Silva, F. K. S. (2008). *Contribuição ao estudo fitoquímico de Croton rhamnifolius (Euphorbiaceae)*. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Pós-graduação em Química Orgânica, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/9404>
- Silva, J. P. L., et al. (2010). Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella enteritidis*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30, 136-141. Suplemento 1. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500021>
- Simões, C. M. O., et al. (2017). Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. *Artmed Editora*, Porto Alegre.
- Strobel, G. & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 491-502. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003>
- Vidal, C. S., et al. (2016). Chemical composition, antibacterial and modulatory action of the essential oil of *Croton rhamnifolioides* leaves Pax and Hoffman. *Bioscience Journal*, 32(6). <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-965822>
- Webster, G. L. (2014). Euphorbiaceae. In: *Flowering plants*. Eudicots. Springer, Berlin, Heidelberg. 51-216.
- Yin, Q. H., et al. (2012). Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of carvacrol on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2. *Cytotechnology*, 64(1), 43-51. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10616-011-9389-y>