



ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS BRUTOS DE *Croton tetradenius* Baill

Alda M. F. Fernandes¹; Priscila da C. Rodrigues¹; Laís L. Reis¹; Victor S. A. de Lira¹; Paulo R. R. de Jesus¹; Floricéa M. Araújo¹.

¹Metabolomics Research Group, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia,

Rua Barão de Jeremoabo s/n, 40170-115, Salvador, Brazil

alda.mayara@ufba.br

Palavras-Chave: Análise estatística; metabolômica; marcadores quimiotaxonômicos; terpenos.

Introdução

O gênero *Croton* L. pertencente à família Euphorbiaceae, conta com aproximadamente 1300 espécies, ocorrem em regiões de clima tropical e está presente nos continentes Americano, Africano e Asiático (ALMEIDA-PEREIRA *et al.*, 2019). Devido a variedade de metabólitos encontrados, as suas espécies são objeto de vários estudos fitoquímicos e biológicos.

Pesquisas bibliográficas realizadas para o gênero destacam a presença de classes metabólicas como flavonoides, polissacarídeos, diterpenos, terpenos oxigenados (classe marcadora do gênero) e esteroides (OLIVEIRA *et al.*, 2022), com diversas atividades farmacológicas, como: anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antifúngico, antimicrobiano, antidiabético, antioxidante, anti nociceptivo e antitumoral, apesar de algumas espécies de *Croton* serem consideradas tóxicas (GUERRA JÚNIOR *et al.*, 2022).

A *Croton tetradenius* Baill., conhecida popularmente na Comunidade Quilombola de Três Lagoas (Amargosa-BA) como Barba de bode, é uma espécie endêmica do Brasil que ocorre principalmente na região nordeste e na medicina popular é utilizada para o tratamento de constipações intestinais.

Muitas espécies do gênero *Croton*, são plantas aromáticas, produzindo óleos essenciais, compostos majoritariamente por terpenos, com diversas propriedades bioativas, tornando-os atrativos para estudos de suas composições químicas e atividades biológicas. Para *C. tetradenius* são encontrados estudos do óleo essencial, sendo que para espécies de origem nacional, dois são realizados com espécimes coletados no estado da Bahia e sete no estado de Sergipe.

No entanto, não existem relatos de estudos químicos ou farmacológicos para os extratos da espécie, sendo estes o objeto de pesquisa deste trabalho, que visa apresentar a análise da composição dos constituintes fixos, investigar algumas de suas potencialidades e contribuir com a quimiotaxonomia de *C. tetradenius*.

Os compostos antioxidantes postergam as reações de degradação oxidativa das células por meio do sequestro de radicais livres. Eles podem influenciar outras bioatividades, como por exemplo, atuar em processos inflamatórios, auxiliando na recuperação do organismo e até mesmo inibindo reações associadas como, por exemplo, a dor no organismo humano.



Desta forma, a atividade antioxidante de *Croton tetradenius* foi escolhida para ser analisada devido a importância para a farmacologia da descoberta de novos compostos naturais que apresentam essa capacidade.

Material e Métodos

A espécie foi coletada em quintais dos moradores da comunidade de Três Lagoas (Amargosa - Bahia), e a sua excisada enviada para o Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, sendo catalogada sob HURB nº 6573. Os extratos foram obtidos a partir do material seco em temperatura ambiente, moídos e macerados com hexano, acetato de etila e metanol. O material filtrado foi concentrado com uso do rotaevaporador, obtendo-se 6 extratos brutos: dos galhos em acetato de etila - BCA; em hexano - BCH; e em metanol - BCM; e das folhas em acetato de etila - BFA; em hexano - BFH; e em metanol - BFM.

Foi realizado o método de redução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH*), descrito por Ribeiro, *et al.* (2023), para determinar a atividade antioxidante (AA) dos extratos na forma de soluções metanólicas. A curva de calibração do radical foi construída com concentrações de 0 a 60 µg/mL, e os extratos foram testados em faixas de concentração variadas. As absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro com leitor de placas de 96 poços (VersaMax™ Microplate Reader, EUA). O metanol foi usado como branco e os resultados foram calculados, apresentados como IC50% (concentração do extrato necessária para inibir 50% da concentração do radical).

Para a cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas (UPLC-MS) foram preparadas soluções estoque de 1mg/mL dos extratos em álcool metílico, grau HPLC, filtradas com membranas de 0.45 µm. 500 µL dessas soluções foram diluídos em 500 µL de acetonitrila e injetados no equipamento.

Utilizou-se uma coluna C18 (3.0 mm x 150 mm, 2.6 µm, Kinetex, Phenomenex) à 40°C, com gradiente de eluição: 25% por 2 min; 25 até 80% em 20 min; e 80 até 90% por 2 min. E recondicionamento com 25% por 5 min. O fluxo de injeção utilizado foi de 0.2 mL/min. E para análise por espectrofotometria de massas, foi realizada a configuração de 50 a 1000 m/z, 3,2 kV na interface ESI, no modo de ionização positivo.

Os dados brutos tridimensionais, obtidos pela UPLC-MS, foram processados no software XCMS (<https://xcmsonline.scripps.edu/>), gerando tabelas com informações sobre os tempos de retenção alinhados, relação massa/carga (m/z) e áreas correspondentes, representando a intensidade de cada metabólito nas amostras.

Os metabólitos foram identificados investigando as razões m/z na biblioteca do banco de dados Human Metabolome Database - HMDB (<https://hmdb.ca/spectra/ms/search>) e por comparação com razões m/z de substâncias identificadas em outras espécies do gênero, citadas em estudos. Foi considerado um desvio máximo de 3 ppm; e os adutos de [M+H]⁺ ou [M+Na]⁺.

Realizou-se a análise estatística no software MetaboAnalyst 6.0 (<http://www.metaboanalyst.ca>). Aplicou-se a normalização pela mediana, a transformação pela raiz cúbica e o dimensionamento pela escala de Pareto. Os dados referentes à composição química foram analisados por PLS-DA e a atividade antioxidante foi analisada por correlação linear.

Resultados e Discussão

Apresentar tabelas, gráficos, etc. Na discussão, se for o caso confrontar os dados obtidos com os da literatura, em espaço simples, fonte Times New Roman, tamanho 12, justificado. Máximo de 8.000 caracteres com os espaços.

Após o tratamento dos dados, foram identificados um total de 47 metabólitos, dos quais 23 foram definidos com os seus isômeros. As classes majoritárias foram os flavonoides e os terpenos, sendo os compostos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Flavonoides e terpenos presentes nos extratos brutos de *C. tetradenius*.

Classe (quantidade)	Observação sobre estrutura	Compostos
Flavonoides (11)	Com estruturas definidas	Delfinidina; Canzonol V; Grossamida; Malvidina 3-ramnosídeo; Delfinidina 3-cafeoilglicosídeo; e 3-Cafeoilpelargonidina 5-glicosídeo.
	Um dos isômeros	Laricitrina, Patuletina ou 4',5,6,7,8-Pentahidroxi-3'-metoxiflavona; Chandalone ou Mammegin; Apigenina 7-arabinosídeo ou 5-Hidroxi-3,3',7,8-tetrametoxi-4',5'-metilendioxi-flavona; Malvidina 3-arabinosídeo ou Peonidina 3-galactosídeo; Cianidina 3,5-diglicosídeo ou Cianidina 3,5-digalactosídeo.
Terpenos (8)	Com estruturas definidas	25(R)-Hidroxiptopropanaxadiol; Alisol A 24-acetato; Cucurbitacina E; e Bakuchiol.
	Um dos isômeros	Cadaleno ou Guaiazuleno; β -trans-guaieno, β -cariofileno, δ ou β -elemeno; bicilogermacreno ou espatulenol; (9Z,9'Z)-Metilbixina, cis ou trans-Metilbixina.

Outras classes metabólicas foram identificados em menores quantidades: 3 alcaloides; um composto alquilglicosinolato; 4 amidas; 1 amina; 1 aminoálcool; 1 benzodioxina; 1 benzofenona; 1 carbazol; 1 composto carbonílico; 1 cumestano; 1 diarilheptanoides; 1 éster; 1 esteroide; 1 fenilpiridina; 2 fenilpropanoides; 1 hidrocarboneto insaturado; 2 lignanas; 1 pirrolidina e 1 quinolina.

Dentre os terpenos isoméricos, os sesquiterpenos de fórmula molecular (FM) $C_{15}H_{24}$ e $C_{15}H_{24}O$, e o fenilpropanoide Metileugenol, foram relatados em outras espécies de *Croton*.

Para os isômeros de FM $C_{15}H_{24}$, relatam-se atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e potencial anticâncer, para o β -guaieno (ADENIYI *et al.*, 2024); efeitos anti-inflamatório, anticonvulsivantes e analgésicos (FRANCOMANO *et al.*, 2019), neuroprotetores, antioxidante, cardioprotetora, hepatoprotetora, gastroprotetora,

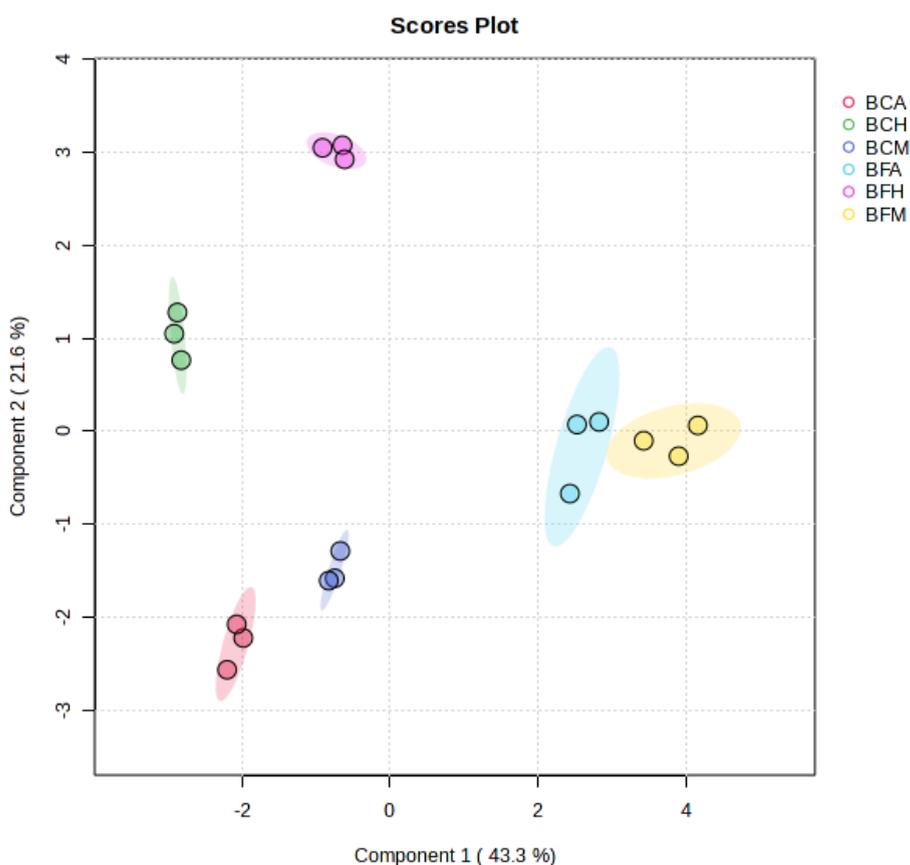
nefroprotetora, antimicrobiana e imunomoduladora (MACHADO *et al.*, 2018) no β -cariofileno; atividade antitumoral, para o β -elemeno (HU *et al.*, 2017); e potencial antioxidante para o δ -elemeno (FEITOSA *et al.*, 2024).

Para os sesquiterpenos de FM $C_{15}H_{24}O$, são reportadas atividade antifúngica (SILVA *et al.*, 2007) e efeito larvicida (GOVINDARAJAN, BENELLI; 2016) para o biciclogermacreno; propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antiproliferativas e antimicobacterianas (DO NASCIMENTO *et al.*, 2018) e repelente (CANTRELL *et al.*, 2005) para o espatulenol.

E o metileugenol é utilizado como aromatizante alimentar, com propriedades inseticidas (HUANG *et al.*, 2002), um potencial efeito antinociceptivo (YANO *et al.*, 2006) e carcinogênico genotóxico (DE VINCENZI *et al.*, 2000).

A análise por PLS-DA forneceu um gráfico de “Scores Plot” (Figura 1), que possibilita observar a classificação dos dados. O primeiro componente explica 43,3% da variância total, enquanto o segundo explica 21,6% da variância total.

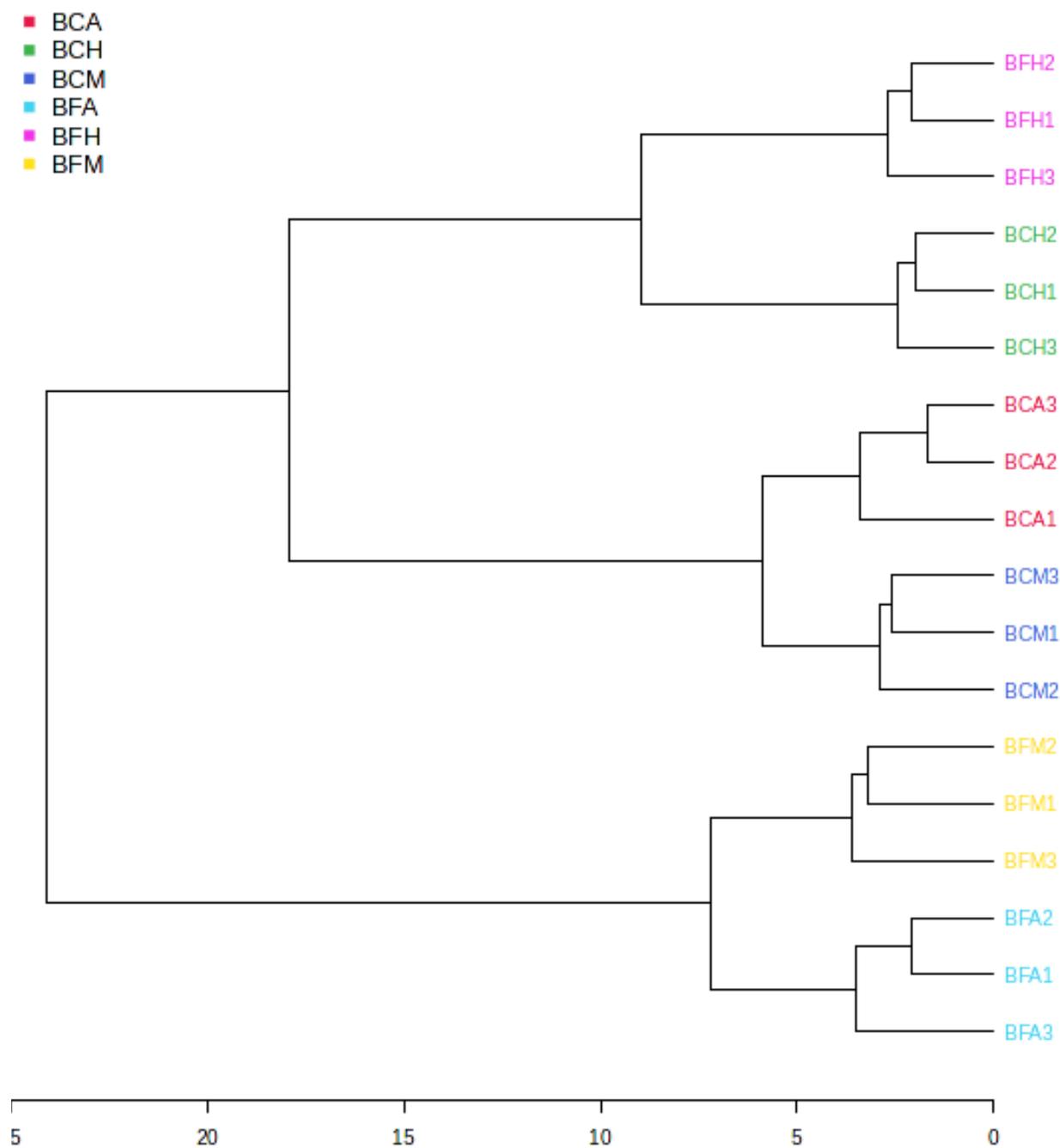
Fig 1. Scores Plot de PLS-DA dos extratos brutos de *C. tetradenius*.



Fonte: MetaboAnalyst 6.0

A análise do dendrograma de agrupamento hierárquico (Figura 2), permite agrupar observações semelhantes entre as amostras e visualizar padrões implícitos em toda a estrutura de dados.

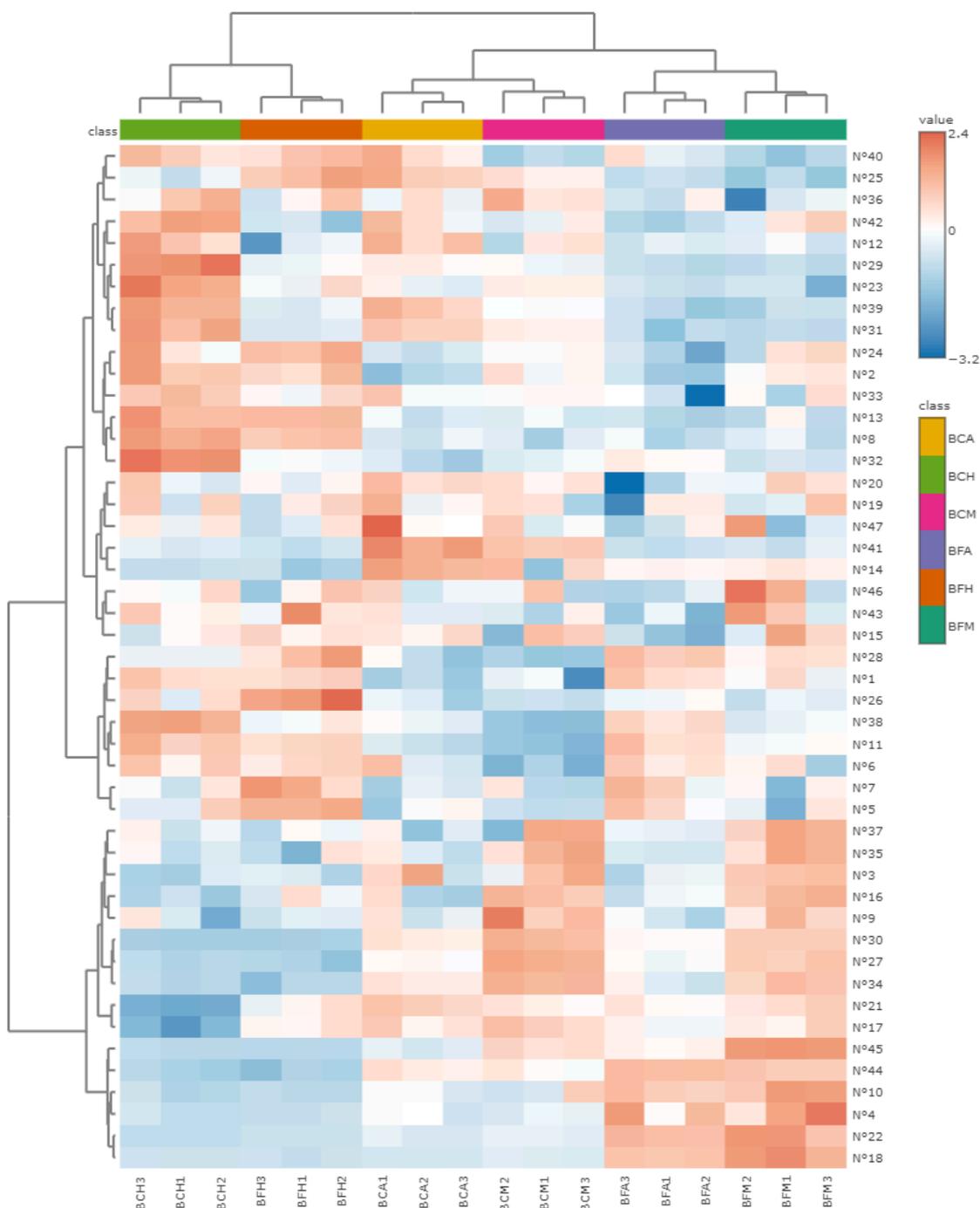
Fig 2. Análise de agrupamentos dos extratos brutos de *C. tetradenius*.



Fonte: MetaboAnalyst 6.0.

O *heatmap* (Figura 3), indica as variações de concentração dos metabólitos nos diferentes extratos, utilizando cores que variam do vermelho ao azul para indicar a intensidade em cada um.

Fig 3. Heatmap dos extratos brutos de *C. tetradenius*.



Fonte: MetaboAnalyst 6.0.

Estas ferramentas permitiram identificar que há semelhanças entre os extratos BCA e BCM, BFA e BFM e entre BCH e BFH, nos quais estão mais concentrados sete dos oito terpenos identificados.

Os resultados indicam que os compostos extraídos das folhas em acetato de etila e em metanol apresentam semelhanças, como polaridades intermediárias, podendo ser extraídos pelos dois solventes. Esta mesma observação justifica a semelhança entre BCA e BCM.

E que a semelhança observada entre BCH e BFH deve-se à similaridade das composições de ambos quanto aos compostos menos hidrofílicos, pois o hexano, solvente mais hidrofóbico utilizado nas extrações, conseguiu extrair espécies químicas semelhantes e em quantidades parecidas destas duas diferentes partes da planta.

Observa-se, pela análise visual do *heatmap*, que BCH concentra 6 dos 8 terpenos: 3-Cafeoilpelargonidina 5-glicosídeo (Nº43); um dos isômeros sesquiterpênicos de FM C₁₅H₂₄O (Nº8); um dos diterpenos de C₂₆H₃₂O₄ (Nº32); 25(R)-Hidroxiptopropanaxadiol (Nº38); Bakuchiol (Nº11); e um dos sesquiterpenos de FM C₁₅H₂₄ (Nº6). E o BFH concentra um dos isômeros sesquiterpênicos de FM C₁₅H₁₈ (Nº5) e tem a segunda maior concentração do Nº 8, 11 e 6.

A maioria dos terpenos identificados são oxigenados, relatados nas pesquisas bibliográficas como marcadores quimiotaxonômicos do gênero. Estando presentes majoritariamente no extrato hexânico, indica que as interações estabelecidas com o solvente são suficientes, influenciado pelo fato do hexano ter sido o primeiro solvente empregado nas extrações sucessivas, tendo uma maior disponibilidade dos compostos passíveis de extração.

Os flavonoides atuam como pigmentos vegetais e desempenham uma função protetora contra a radiação UV (BABU e LIU, 2019). Foi observado que a maioria dos identificados concentram-se no BFM, e pode estar associada ao fato da área superficial das folhas ser maior os caules e raízes, além de ter pigmentos e estarem mais expostas à agentes externos, necessitando de mais proteção. Considerando a estrutura polifenólica de muitos flavonoides, era esperado que o solvente mais efetivo na extração fosse um solvente mais hidrofílico, como o metanol.

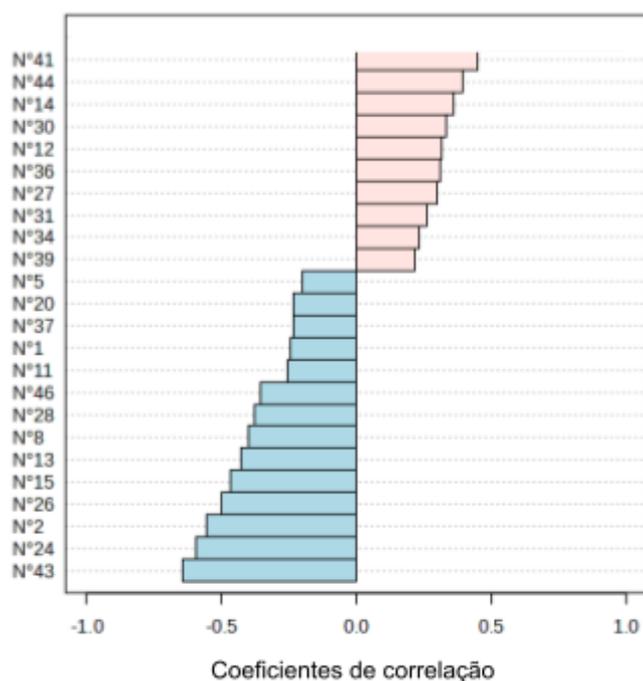
Investigar o potencial antioxidante de vegetais viabiliza a descoberta de novos fitoterápicos, uma vez que essa ação pode estar diretamente associada a outras funções, como: anti-inflamatória, analgésica e antitumoral. Compostos fenólicos são capazes de doar hidrogênio para a estabilização de um radical livre, formando radicais intermediários que se estabilizam por ressonância. Considerando esta estabilidade, eles apresentam alta capacidade antioxidante e retardam a degradação oxidativa das células. Assim, os flavonoides, classe mais representativa no extrato de *C. tetradenius*, são bastante atrativos pelas atividades que podem exercer.

No entanto, outras classes também podem atuar como antioxidantes, estabilizando os radicais por diferentes mecanismos como: a doação formal de átomos de hidrogênio, a partir de ligações fracas entre o hidrogênio e átomos com alta eletronegatividade; reações de adição a sistemas poli-insaturados, com formação de radicais pouco reativos ao O₂; processos de co-oxidação caracterizados por reações rápidas de terminação cruzada e ainda por extinção catalítica do superóxido (FOTI; AMORATI, 2009). Mas como a estabilidade do radical derivado destas reações pode ser mais fraca, o potencial antioxidante será diminuído.

Os testes de sequestro de radical DPPH possibilitaram determinar a AA dos extratos BCA (IC_{50%} = 258,77 ± 5,74 µg/mL); BCH (IC_{50%} = 809,42 ± 5,61 µg/mL); BCM (IC_{50%} = 131,21 ± 1,24 µg/mL); e BFA (IC_{50%} = 81,89 ± 6,36 µg/mL). Observa-se que a espécie apresenta atividade antioxidante relativamente baixa.

Ao realizar a análise de correlação de padrões lineares, utilizando esses valores de quantificação como parâmetro, foram obtidos 23 metabólitos que mais influenciam na atividade

Fig 4. Correlação entre a atividade antioxidante e os metabólitos dos extratos de *Croton tetradenius*.



Fonte: MetaboAnalyst 6.0.

Tabela 2. Compostos que influenciam positivamente a atividade antioxidante dos extratos de *C. tetradenius*.

Nº	Composto	Fórmula molecular	Classe
Nº41	Alisol A (24-acetato)	$C_{32}H_{52}O_6$	Triterpeno
Nº44	Condrocurina	$C_{36}H_{38}N_2O_6$	Alcaloide
Nº14	Linoleamida	$C_{18}H_{33}NO$	Amida
Nº30	Aschantina ou Hemiarisina ou Isoyateina	$C_{22}H_{24}O_7$	Lignanas
Nº12	(E)-1,7-difenilhept-4-en-3-ona ou (4E,6Z)-1,7-difenilhepta-4,6-dien-3-ol	$C_{19}H_{20}O$	Diarilheptanoides lineares
Nº36	Malvidina 3-ramnosídeo	$C_{23}H_{25}O_{11}$	Antocianina
Nº27	Lepidina C	$C_{21}H_{20}N_4O_2$	Alcaloide
Nº31	Chandalone ou Mammegin	$C_{25}H_{24}O_5$	Flavonoides
Nº 34	Lirioresinol A ou (+)-Seringaresinol	$C_{22}H_{26}O_8$	Lignanas furanoides
Nº39	24-Epibrassinolida ou Brassinolida	$C_{28}H_{48}O_6$	Lactonas esteroidais

Os baixos coeficientes de correlação observados, < 0.5 , indicam que as correlações positivas que mais influenciam, não são altas para a AA e ao analisar a estrutura dos metabólitos tabelados, observa-se que a capacidade redutora daria-se por um mecanismo de estabilização menos eficiente, que resultaria numa baixa AA. Estando de acordo com os resultados dos testes de sequestro do radical do DPPH para *C. tetradenius*.

Tabela 3. Compostos que influenciam negativamente a atividade antioxidante dos extratos de *C. tetradenius*.

Nº	Composto	Fórmula molecular	Classe
Nº5	Cadaleno ou Guaiazuleno	$C_{15}H_{18}$	Sesquiterpeno
Nº20	Dehidrofitoesfingosina	$C_{18}H_{37}NO_3$	1,3-aminoálcool
Nº37	Neoglucobrassicina ou 4-Metoxiglucobrassicina ou 5-Metoxiglucobrassicina	$C_{17}H_{22}N_2O_{10}S_2$	Alquilglucosinolato
Nº1	3-prop-2-enilciclohexeno ou 2,3-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno	C_9H_{14}	Hidrocarboneto
Nº11	Bakuchiol	$C_{18}H_{24}O$	Monoterpenoide aromático
Nº46	Cianidina-3,5-diglucosídeo ou Cianidina 3,5-digalactosídeo	$C_{27}H_{31}O_{16}$	Antocianina
Nº28	Clusiafenona B	$C_{23}H_{26}O_4$	Benzofenona
Nº8	Biciclogermacreno ou Epatulenol	$C_{13}H_{24}O$	Sesquiterpo
Nº 13	9-Octadecenal	$C_{18}H_{34}O$	Aldeído graxo
Nº15	Laurocapram ou 9-Octadecenamida ou Oleamida	$C_{18}H_{35}NO$	Amida
Nº26	Mucoenina B ou (R)-Mahanina ou Pirafolina D	$C_{23}H_{25}NO_2$	Carbazol
Nº2	2,6-Dimetilquinolina ou 4,8-Dimetilquinolina ou 2,4-Dimetilquinolina	$C_{11}H_{11}N$	Quinolina
Nº24	13-Docosenamida	$C_{22}H_{43}NO$	Amida
Nº43	Malvidina 3-arabinosídeo ou Peonidina 3-galactosídeo	$C_{30}H_{27}O_{13}$	Antocianina

Dentre os compostos que influenciam negativamente estão alguns fenólicos, como a antocianina Nº43. Que poderiam estabilizar o radical livre inicial e originar um radical com uma alta estabilidade, por deslocalização do elétron desemparelhado. Mas a influência negativa deve-se provavelmente à presença destes compostos em quantidades maiores nos extratos que apresentaram baixa AA, porém, em baixas concentrações, considerando a composição total dos extratos.

Conclusões

Após as análises realizadas, pode-se observar que uma diversidade de classes metabólicas compõe os extratos de *C. tetradenius*, porém, destacam-se a presença de flavonoides e terpenos, sendo alguns destes já relatados para outras espécies de *Croton*, podendo ser potenciais marcadores quimiotaxonômicos do gênero.

A espécie apresenta atividade antioxidante moderada que pode ser justificada, a partir da análise de correlação linear, em que os compostos responsáveis pela AA apresentam baixos potenciais antioxidante, e os que têm altos potenciais, encontram-se em baixíssimas



concentrações nos extratos que possuem as atividades antioxidantes mais altas, não sendo portanto suficientes para influenciar na atividade.

Os compostos identificados nos extratos de *Croton tetradenius*, já relatados para outras espécies do gênero, apresentam uma ampla bioatividade nas quais incluem as atividades anti-inflamatória e analgésica. Essas ações são influenciadas pela atividade antioxidante proveniente dos efeitos isolados de cada substância ou por meio sinergismo entre as classes de metabólitos, como: flavonoides, terpenos, alcaloides e amidas, corroborando com a atividade antioxidante observada a qual potencializa o seu uso medicinal da espécie.

A partir dos resultados observados, a espécie pode ser considerada atrativa para o desenvolvimento de estudos fitoquímicos mais aprofundados, para investigar as potencialidades apresentadas e o efeito observado pela comunidade, sendo necessários investigações mais específicas.

Agradecimentos

À FAPESB pelo fomento à pesquisa, à CNPq e a UFBA pela bolsa concedida.

Ao Laboratório de Análises Cromatográficas e Espectrométricas - IQ - UFBA (LACE) pela aquisição dos espectros de UPLC/MS.

Referências

ALMEIDA-PEREIRA, C. S., NOGUEIRA, P. C. de L., BARBOSA, A. A. T., NIZIO, D. A. de C., ARRIGONI-BLANK, M. de F., SAMPAIO, T. S., ... BLANK, A. F. "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of a *Croton tetradenius* Baill. germplasm". *Journal of Essential Oil Research*, 1(11), 2019.

OLIVEIRA, A. M; FREITAS, A. F. S; COSTA, W. K; MACHADO, J. C. B; BEZERRA, I. C. F; FERREIRA, M. R. A; PAIVA, P. M. G; NAPOLEÃO, T. H; SOARES, L. A. L. "Flavonoid-rich fraction of *Croton blanchetianus* Baill. (Euphorbiaceae) leaves: Chemical profile, acute and subacute toxicities, genotoxicity and antioxidant potential", *South African Journal of Botany*, 144, 238-249, 2022.

GUERRA JÚNIOR, J.I; FERREIRA, M.R.A.; OLIVEIRA, A.M. de; SOARES, L.A.L. "Croton sp.: uma revisão sobre usos populares, atividades biológicas e composição química. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*", [S. l.], 2, 2022.

RIBEIRO, L. A. F. ; DOS SANTOS, I. B. F.; FERRAZ, C. G.; DE SOUZA-NETA, L. C.; SILVA, V. R.; SANTOS, L. de S.; BEZERRA, D. P.; SOARES, M. B. P.; ZAMBOTTI-VILLELA, L.; COLEPICOLA, P.; FERREIRA, A. G.; ARAÚJO, F. M.; RIBEIRO, P. R. 'Bioactive compounds from *Vellozia pyrantha* A.A.Conc: A metabolomics and multivariate statistical analysis approach', *Fitoterapia* , 171, 2023.



ADENIYI, S. A., OYEKU, J. S., OWAN, T. “GC-MS Analysis and Biological Roles of Phytochemical Compounds in n-Hexane Extract of *Durio zibethinus* Murr. Seeds”. *South Asian Research Journal of Natural Products*, 7(1), 9-19, 2024.

FRANCOMANO, F.; CARUSO, A.; BARBAROSSA, A.; FAZIO, A.; La TORRE, C.; CERAMELLA, J.; MALLAMACI, R.; SATURNINO, C.; IACOPETTA, D.; SINICROPI, M.S. “ β -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties”. *Applied Sciences*, 9(24), 5420, 2019.

MACHADO, K. da C., ISLAM, M. T., ALI, E. S., ROUF, R., UDDIN, S. J., Dev, S., ... MELO-CAVALCANTE, A. A. de C. “A systematic review on the neuroprotective perspectives of beta-caryophyllene.” *Phytotherapy Research*, 32(12), 2018.

HU, Y., ZHOU, Y. J., BAO, J., HUANG, L., NIELSEN, J., KRIVORUCHKO, A. “Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for production of germacrene A, a precursor of beta-elemene”. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 44(7), 1065–1072, 2017.

FEITOSA, B. S., FERREIRA, O. O., FRANCO, C. J. P., KARAKOTI, H., KUMAR, R., CASCAES, M. M., JAWARKAR, R. D., MALI, S. N., CRUZ, J. N., de MENEZES, I. C., de OLIVEIRA, M. S., & de AGUIAR ANDRADE, E. H. “Chemical Composition of *Piper nigrum* L. Cultivar Guajarina Essential Oils and Their Biological Activity”. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 29(5), 947, 2024.

SILVA, L. da ., ONIKI, G. H., AGRIPINO, D. G., MORENO, P. R. H., YOUNG, M. C. M., MAYWORM, M. A. S., LADEIRA, A. M. “Biciclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae)”. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 17(3), 361–367, 2007.

GOVINDARAJAN, M., BENELLI, G. “Eco-friendly larvicides from Indian plants: Effectiveness of lavandulyl acetate and bicyclogermacrene on malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 395–402, 2016.

DO NASCIMENTO, K. F., MOREIRA, F. M. F., ALENCAR SANTOS, J., KASSUYA, C. A. L., CRODA, J. H. R., CARDOSO, C. A. L., ... FORMAGIO, A. S. N. “Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol”. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 351–358, 2018.

CANTRELL, C. L., KLUN, J. A., BRYSON, C. T., KOBASISY, M., DUKE, S. O. “Isolation and Identification of Mosquito Bite Deterrent Terpenoids from Leaves of American (*Callicarpa americana*) and Japanese (*Callicarpa japonica*) Beautyberry”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5948–5953, 2005.

YANO, S., SUZUKI, Y., YUZURIHARA, M., KASE, Y., TAKEDA, S., WATANABE, S., ... MIYAMOTO, K. “Antinociceptive effect of methyleugenol on formalin-induced hyperalgesia in mice”. *European Journal of Pharmacology*, 553(1-3), 99–103, 2006.



HUANG, Y., HO, S.-H., LEE, H.-C., YAP, Y.-L. “Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae)”. *Journal of Stored Products Research*, 38(5), 403–412, 2002.

DE VINCENZI, M., SILANO, M., STACCHINI, P., & SCAZZOCCHIO, B. “Constituents of aromatic plants: I. Methyleugenol”. *Fitoterapia*, 71(2), 216–221, 2000.

BABU, P. V. A.; LIU, D. “Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population”, Ed. R. R. Watson, Academic Press, 1, 371–392, 2009.

FOTI, M. C.; AMORATI, R. “Non-phenolic radical-trapping antioxidants”. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(11), 1435–1448, 2009.