



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



ARIADNA ISIS OLIVEIRA DE ARCELINO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE INSETICIDA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E FLORES DE *Plumeria pudica* Jacq.

Recife, 2022

ARIADNA ISIS OLIVEIRA DE ARCELINO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE INSETICIDA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E FLORES DE *Plumeria pudica* Jacq.

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Licenciatura Plena em Química da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como requisito necessário à obtenção do grau de
licenciada em Química.

Orientada pelo Prof^o Dr^o Marcílio Martins de
Moraes.

Recife, 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A668c Arcelino, Ariadna Isis Oliveira de
 COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE INSETICIDA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS
 ESSENCIAIS DAS FOLHAS E FLORES DE *Plumeria pudica* Jacq. / Ariadna Isis Oliveira de Arcelino. - 2022.
 59 f. : il.

 Orientador: Marcilio Martins de Moraes.
 Inclui referências.

 Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Química,
 Recife, 2022.

 1. *Plutella xylostella*. 2. Óleo essencial. 3. *Plumeria pudica*. I. Moraes, Marcilio Martins de, orient. II. Título

CDD 540

ARIADNA ISIS OLIVEIRA DE ARCELINO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE INSETICIDA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E FLORES DE *Plumeria pudica* Jacq.

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Licenciatura Plena em Química da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como requisito necessário à obtenção do grau de
licenciada em Química.

30/09/2022

Profº Drº Marcílio Martins de Moraes

Orientador

Profº Drº Claudio Augusto Gomes da Camara

Examinador

Profª Drª Carolina Alves de Araújo

Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me acalmar nos momentos de angústia e permitir que eu pudesse chegar até aqui.

Agradeço aos meus pais, Maria Cecília e Gilson Murilo e as minhas irmãs Esther Isabelle e Aline beatriz por acreditarem em mim e sempre me incentivar.

Agradeço ao meu namorado José Diego, por sempre acreditar que eu seria capaz, até quando eu não acreditava, por todo incentivo e apoio.

Agradeço aos meus familiares em especial a minha avó Tereza Cristina, por toda educação e por sempre acreditar que eu seria capaz e as minhas tias Maria Camila e Maria Celina, por cada palavra de incentivo e apoio.

Agradeço ao meu antigo professor de português Hugo Ramos, por ter me ajudando quando eu não tinha nem passagem para ir à escola, por acreditar na educação e fazer a diferença.

Agradeço aos amigos que tornaram o caminho mais leve e sempre estiveram comigo, em especial a Arthur Gomes, Audson Matheus, Emanuelle Silva, Joyce Ribeiro, Marcílio Santos.

Agradeço ao meu orientador professor Marcílio Martins, por sempre me apoiar, me acalmar, incentivar e acreditar que eu seria capaz.

Agradeço ao Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos, por permitir que toda essa pesquisa fosse realizada e a todos seus integrantes que não medem esforços para ajudar uns aos outros, em especial agradeço a Alice Mariana, Carolina Alves, João Paulo, Lucas Vitor, Maria Clara e Tchiara Margarida.

Por fim agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo.

Paulo Freire.

RESUMO

Produtores agrícolas costumam sofrer com o ataque de insetos praga que causam grandes prejuízos às plantações, entre esses insetos está a *Plutella xylostella*, conhecida popularmente como traça-das-crucíferas, pois costuma atacar plantações de *Brassicas*, esta praga já causou um prejuízo global de cerca de US\$ 4 bilhões. Atualmente o controle dessa praga é realizado com inseticidas comerciais, porém o uso demorado desses produtos tende a causar uma maior resistência da praga, além de contaminar solo, trabalhadores rurais e mamíferos. Com isso, vem sendo estudado o uso de produtos naturais como extrato e óleo essencial de plantas, como uma alternativa para o controle dessas pragas agrícolas, visto que esses materiais possuem em sua composição química metabólitos secundários com alta toxicidade a insetos pragas sem causar danos ao ambiente, trabalhadores e consumidores. O presente trabalho analisou a composição química do óleo essencial das folhas e flores da *Plumeria pudica* com o intuito de avaliar sua composição química e propriedades inseticidas e antioxidantes. A análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) revelou a presença de 8 e 13 compostos no óleo essencial das folhas e flores, respectivamente. Os compostos majoritários identificados foram o (2E)-hexenal (40,67%) e ácido láurico (39,97%) para as folhas e flores, respectivamente. O bioensaio de toxicidade foi realizado através do contato residual e contato direto com o óleo das flores de *P. pudica* com concentrações de 10µL/mL e 15µL/mL sobre a *P. xylostella*, para o teste utilizando o contato residual o óleo não apresentou toxicidade, por outro lado, utilizando o contato direto a concentração de 10µL/mL apresentou uma toxicidade de 92% e 15µL/mL de 93,10%. Nos testes antioxidantes verificou-se que os óleos das folhas e flores se mostraram ativos tanto no teste ABTS quanto com DPPH. Para o teste de inibição da acetilcolinesterase (AChE) foi utilizado os óleos das folhas e flores de *P. pudica*, os dois óleos apresentaram inibição, sendo o óleo da flor o que apresentou a inibição mais próxima ao do controle positivo com uma IC₅₀ de 9,94 mg/mL. O ensaio de citotoxicidade frente a *Artemia salina* também foi realizado com os óleos das folhas e flores com concentrações entre 10-100µg/mL e ambos não apresentaram toxicidade.

Palavras chave: *Plutella xylostella*, Óleo essencial, *Plumeria pudica*

ABSTRACT

Agricultural producers usually suffer from the attack of pest insects that cause great damage to plantations, among these insects is *Plutella xylostella*, popularly known as cruciferous moth, as it usually attacks *Brassicas* plantations, this pest has already caused a global damage of about of US\$ 4 billion. Currently, the control of this pest is carried out with commercial insecticides, but the excessive use of these products tends to cause greater resistance of the pest, in addition to contaminating soil, rural workers and mammals. With that, seeing being studied the use of natural products such as extract and essential oil of plants, as an alternative for the control of these agricultural pests, since these materials have in their chemical composition secondary metabolites with high toxicity to insect pests without causing damage to the environment, workers and consumers. The present work analyzed the chemical composition of the essential oil of the leaves and flowers of *Plumeria pudica* in order to evaluate its chemical composition and insecticidal and antioxidant properties. The analysis by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) revealed the presence of 8 and 13 compounds in the essential oil of leaves and flowers, respectively. The major compounds identified were (2*E*)-hexenal (40.67%) and lauric acid (39.97%) for leaves and flowers, respectively. The toxicity bioassay was carried out through residual contact and direct contact with the oil of *P. pudica* flowers with concentrations of 10 μ L/mL and 15 μ L/mL on *P. xylostella*, for the test using residual contact the oil did not show toxicity, on the other hand, using direct contact, the concentration of 10 μ L/mL showed a toxicity of 92% and 15 μ L/mL of 93.10%. In the antioxidant tests it was found that the two oils were active both in the ABTS and DPPH test. In the antioxidant tests, it was found that the oils from the leaves and flowers were active both in the ABTS test and with DPPH. For the acetylcholinesterase (AChE) inhibition test, the oils from the leaves and flowers of *P. pudica* were used, both oils showed inhibition, and the flower oil showed the closest inhibition to the positive control with an IC₅₀ of 9.94 mg/ml. The cytotoxicity assay against *Artemia salina* was also performed with the oils of leaves and flowers with concentrations between 10-100 μ g/mL and both showed no toxicity.

Keywords: *Plutella xylostella*, Essential oil, *Plumeria pudica*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variedade das flores de <i>P. rubra</i>	19
Figura 2. <i>Plumeria pudica</i>	21
Figura 3. Estrutura química.....	24
Figura 4. Estrutura molecular do ácido dodecanóico.....	25
Figura 5. Ciclo de vida da <i>P. xylostella</i>	28
Figura 6. Representação da reação do radical DPPH [•]	30
Figura 7. Representação da reação do radical ABTS ^{•+}	31
Figura 8. Hidrodestilação das folhas e flores de <i>P. pudica</i>	34
Figura 9. Tratamento e obtenção dos óleos essenciais das folhas e flores de <i>P. pudica</i>	34
Figura 10. Cromatógrafo gasoso e espectrômetro de massas	36
Figura 11. Cromatograma do OE das flores e folhas de <i>P. pudica</i>	42
Figura 14. Principais compostos identificados no óleo essencial das folhas de <i>P. pudica</i>	44
Figura 15. Principais compostos identificados no óleo essencial das flores de <i>P. pudica</i>	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Componentes majoritários dos óleos essenciais extraídos das folhas e flores de diferentes <i>Plumeria</i>	22
Tabela 2. Composição química do OE das folhas e flores de <i>P. pudica</i>	42
Tabela 3. Pré-teste do bioensaio de toxicidade residual e de contato direto sobre a <i>P. xylostella</i>	47
Tabela 4. Resultado da avaliação do teste de inibição da enzima AChE do óleo essencial das folhas e flores de <i>P. pudica</i>	48
Tabela 5. Atividade antioxidante dos óleos essenciais das folhas e flores de <i>P. pudica</i>	49

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Obtenção do óleo essencial	33
Esquema 2. Preparo do bioensaio de toxicidade frente à <i>P. xylostella</i>	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A. salina – *Artemia salina*

ABTS^{•+} – (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolino -6-sulfônico))

ACh – acetilcolina

AChE – Acetilcolinesterase

CG – Cromatografia Gasosa

CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

DPPH[•] (2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato)

EM – Espectrometria de Massa

IR^a – Índice de Retenção Calculado.

IR^b –Índice de Retenção Obtido.

OE – Óleo Essencial

P. alba – *Plumeria alba*

P. obtusa – *Plumeria obtusa*

P. pudica – *Plumeria pudica*

P. rubra - *Plumeria rubra*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Sobre a Planta: Família <i>Apocynaceae</i>	18
3.1.1 <i>Plumeria</i>	18
3.1.2 Revisão sobre o estudo biológico da espécie <i>Plumeria pudica</i>	22
3.2 Metabólitos secundários	23
3.3 Ácidos Graxos	24
3.4 Técnica de hidrodestilação	25
3.5 Óleos essenciais	26
3.6 Traça das crucíferas	26
3.7 Atividade de Inibição da Acetilcolinesterase	28
3.8 Toxicidade frente à <i>Artemia salina</i> Leach	29
4 METODOLOGIA	32
4.1 Coleta e identificação do material botânico	32
4.2 Obtenção dos óleos essenciais	32
4.3 Análise da composição química do óleo essencial por cromatografia gasosa (CG-FID) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	35
4.3.1 Identificação dos componentes do óleo essencial	36
4.4 Criação da <i>Pluella xylostella</i>	36
4.5 Bioensaio de toxicidade residual larval	37
4.6 Bioensaio de toxicidade direto larval	37
4.7 Inibição de Acetilcolinesterase CE ₅₀	38

	14
4.8 Citotoxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	38
4.9 Atividade antioxidante	39
4.9.1 Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres DPPH [·]	39
4.9.2 Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres ABTS ^{·+}	40
4.10 Análise estatística	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Composição química dos óleos essenciais das folhas e flores de <i>P. pudica</i> .	42
5.2 Análise comparativa do óleo essencial de espécies de <i>Plumeria</i>	45
5.3 Bioensaio de toxicidade	47
5.4 Inibição Acetilcolinesterase	47
5.5 Atividade de citotoxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	49
5.6 Atividade antioxidante	49
REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

Por conta de suas dimensões e localização o Brasil é um dos maiores produtores agrícolas do mundo, porém nos últimos anos vem sofrendo grandes perdas por conta do ataque de diversas pragas, entre essas pragas está a *Plutella xylostella*. Conhecida popularmente como traça-das-crucíferas, a *P. xylostella* costuma atacar plantações de *Brassicacae* (acelga, alface, couve, entre outras) (FURLONG, WRIGHT e DOSDALL, 2012). Essa praga possui um ciclo de vida curto, cerca de 20 dias, que se divide em quatro instares, sendo o terceiro instar o período em que a praga causa os maiores danos às plantações. A época do ano mais favorável para sua reprodução é o verão, logo essa praga é uma das mais presentes no Brasil devido ao seu clima (DIAS, SOARES e MONNERAT, 2004; THULER, BORTOLI e BARBOSA, 2007).

Atualmente o controle da *P. xylostella* é realizado através do uso de inseticidas comerciais, entretanto o uso demorado desses produtos provoca uma maior resistência da praga, além de contaminar o meio ambiente, trabalhadores do campo e seus consumidores (RONDELLI, et al., 2012). Desta forma, vêm sendo estudado o uso de produtos derivados de plantas como óleo essencial (OE) e extratos, como alternativas para o controle de pragas agrícolas, uma vez que materiais possuem em sua composição compostos pertencentes às classes dos metabólitos secundários que apresentam alta toxicidade aos insetos pragas. O uso de extratos e óleos se tornam mais atrativo por revelarem a presença de compostos que não contaminam o solo, lençóis freáticos, plantas, organismos não alvo e seus consumidores (PADIAL, et al., 2020; RONDELLI, 2010). Por exemplo, os extratos das folhas da espécie *Plumeria rubra* coletado na Índia revelou propriedades inseticida sobre o *Sitophilus oryzae* (PRAKASH, et al., 2014).

A família Apocynaceae está dividida em outras três subfamílias: Apocinoideae, Echioideae e Plumeroideae (JÚNIOR AND JARDIM, 2021; COUTINHO E LOUZADA, 2018). Entre elas encontra-se o gênero *Plumeria*, que está dividido em 11 espécies, que crescem em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (BIHANI, 2021).

As espécies de *Plumeria* variam desde arbustos a árvores, possuem látex branco que pode causar irritações quando em contato com a pele ou olhos. As espécies desse gênero são amplamente utilizadas para fins ornamentais por possuírem flores com aroma agradável. As diferentes espécies do gênero *Plumeria* diferem entre si pelas folhas e flores com diferentes cores e formatos (BIHANI AND MHASKE, 2020). No Brasil, o gênero *Plumeria* está

distribuído em várias regiões do país e no nordeste sua presença é confirmada em todos os estados (KOCH, et al. 2015).

Entre as espécies conhecidas do gênero *Plumeria*, destaca-se a *P. rubra* que é amplamente usada na medicina popular para tratamentos de hepatite, traqueites, diabetes e distúrbios gastrointestinais (ALENCAR, et al., 2015; AHMED, et al., 2017). A decocção da casca de *P. rubra* também é utilizada como purgativo, bactericida, antitumoral, emenagogo e para o tratamento de doenças venéreas (BARRETO, et al., 2007). O extrato das folhas de *P. rubra* coletado no Paquistão revelou propriedades antimicrobiana e anti-inflamatório (AKHTAR, et al., 2013). De acordo com a literatura, a composição química do óleo essencial das flores de *P. rubra* de diferentes variedades cromáticas foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). As análises revelaram diferenças quantitativas na composição química dos óleos essenciais das flores de diferentes colorações, apresentando principalmente em suas composições derivados de ácidos graxos, benzenóides, monoterpenos e sesquiterpenos (BARRETO, et al., 2014). A análise por CG-EM dos extratos apolares das folhas de *P. rubra* revelaram a presença de ésteres metílicos, ácidos graxos e terpenóides (BARRETO, et al., 2018).

Outra espécie que se destaca por ser amplamente encontrada no nordeste brasileiro é a *Plumeria pudica* Jacq, que é utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças de pele e dores de dente (FERNANDES, et al., 2015). Análise com os extratos das flores de *P. pudica* coletadas no distrito de East Godavari, Índia, revelou propriedades anti-artrite (RAVISHANKAR, et al., 2021). A análise fitoquímica dos extratos hidroalcoólico das folhas de *P. pudica* revelaram a presença de alcaloides, carboidratos, saponinas, flavonoides, taninos e triterpenos (Chamakuri et al., 2020). Porém, até o presente momento não existe relatos sobre estudos químicos e propriedades biológicas dos óleos essenciais da espécie *P. pudica*.

Diante disto, o presente trabalho tem como objetivo analisar a composição química do óleo essencial das folhas e flores de *Plumeria pudica*, bem como avaliar suas propriedades inseticida e antioxidante.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Identificar a composição química do óleo essencial das folhas e flores de *P. pudica* e avaliar suas propriedades inseticida e antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o óleo essencial por hidrodestilação das folhas e flores de *P. pudica*;
- Identificar os constituintes químicos presentes nos óleos essenciais das folhas e flores de *P. pudica*;
- Avaliar a concentração efetiva dos óleos essenciais de *P. pudica* através do teste enzimático de Acetilcolinesterase;
- Avaliar a capacidade inseticida dos óleos essenciais de *P. pudica* sobre a *Plutella xylostella*;
- Avaliar a propriedade antioxidante dos óleos essenciais de *P. pudica* através dos testes de ABTS^{•+} e DPPH[•].

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Sobre a Planta: Família *Apocynaceae*

Família Apocynaceae possui cerca de 400 gêneros que estão divididos em outras três subfamílias: Apocinoideae, Echitoideae e Plumerioideae (JÚNIOR AND JARDIM, 2021; COUTINHO E LOUZADA, 2018). Na medicina popular, as espécies da família Apocynaceae são usadas no tratamento de problemas como febre, doenças gastrointestinais, diabetes, entre outras (ISLAM E LUCKY, 2019). As espécies variam de arbusto à árvore, apresentam látex e suas flores são encontradas nas extremidades dos ramos em forma de racemas, tendo como características ser hermafrodita, gamopétala, actinomorfas, pentâmeras, frequentemente coloridas e possuem um aroma agradável (VELLOSO, 1998).

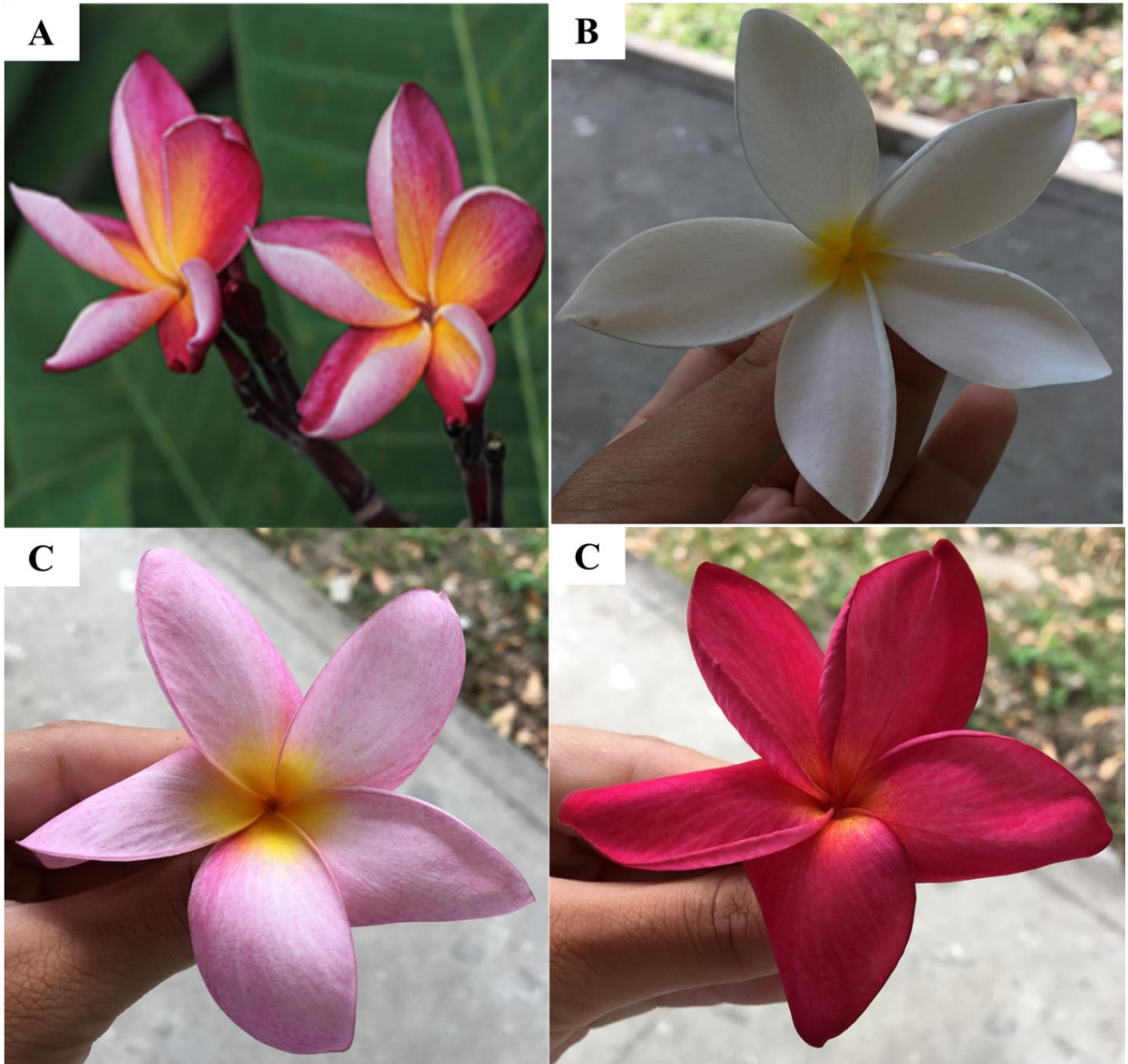
3.1.1 *Plumeria*

Classificação taxonômica: reino Plantae, filo Tracheophyta, classe Magnoliopsida, ordem Gentianales, família Apocynaceae.

Comumente as pessoas utilizam plantas na medicina popular e para ornamentação, um gênero notável para esse uso é o gênero *Plumeria*, que possui cerca de 11 espécies, sendo as mais conhecidas a *P. rubra*, *P. obtusa* e *P. alba* (BIHANI, 2021).

P. rubra: Esta espécie é comumente cultivada em países tropicais e subtropicais e é popularmente conhecida como uma planta ornamental devido suas belas flores (GONG, et al., 2019). As flores dessa espécie possuem uma grande variedade e são identificadas de acordo com suas cores, atualmente existem quatro variações de *P. rubra* aceitas pela comunidade científica, sendo três delas diferenciadas pelas cores e aromas: *P. rubra* L. forma tricolor (R & P) Woodson (A), que tem como característica flores com corolla na cor branca, lóbulos rosa e centro amarelo; *P. rubra* L. forma acutifolia (Ait) Woodson (B), que tem como característica flores brancas com centro amarelo e *P. rubra* L. forma típica (C), que tem como característica flores com vários tons de rosa (BARRETO, et al., 2014).

Figura 1. Variedade das flores de *P. rubra*.



(A): *P. rubra* L. forma tricolor (R & P) Woodson (Foto: Plants of the word) (B): *P. rubra* L. forma acutifolia (Ait) Woodson (Foto: Elaborada pela autora) (C): *P. rubra* L. forma típica (Foto: elaborada pela autora)

A *P. rubra* é comumente utilizada na medicina popular na Ásia e América latina para o tratamento de diversas enfermidades como diarreia, asma, febre e estudos indicam atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatório, anticâncer, larvicida entre outras (DEY AND MUKHERJEE, 2015).

Os constituintes químicos do óleo essencial das flores de *P. rubra* podem variar de acordo com a cor de cada flor, segundo Barreto e colaboradores (2014) a *P. rubra* forma tricolor apresenta uma baixa produção de monoterpenos e hidrocarbonetos e uma maior produção de

compostos benzenóidicos; a *P. rubra* forma acutifolia também apresenta uma baixa produção de monoterpenos, com exceção do linalol, produção de compostos benzoicos e ausência de sesquiterpenos e a *P. rubra* forma típica apresenta uma maior quantidade de sesquiterpenos e hidrocarbonetos (BARRETO, et al., 2014).

P. pudica: Esta espécie é nativa do Panamá, Colômbia e Venezuela, é uma árvore de porte pequeno com folhas que lembram uma flecha (D) (RAVISHANKAR, et al., 2021). Assim como a *P. rubra*, a *P. pudica* também é utilizada na medicina popular para diarreia, inflamações entre outros (FERNANDES, et al., 2015). Até o momento não há relatos na literatura sobre a composição química dos óleos essenciais das folhas e flores de *P. pudica*

Figura 2. *Plumeria pudica*



Foto: elaborada pela autora

3.1.2 Revisão sobre o estudo biológico da espécie *Plumeria pudica*

A revisão literária foi realizada no período de setembro/2022, através do SciFinder (Chemical Abstract), usando as palavras *Plumeria*, com filtro para trabalhos com óleos essenciais. Os tipos de documentos selecionados foram artigos, revisões, jornais, letters e preprint, que forneceram o levantamento de 59 trabalhos, no período de 1930 até 2021. Entretanto, verificou-se no levantamento que até o presente momento nenhum trabalho dos óleos essenciais relacionando estudos químicos e biológicos das espécies *Plumeria pudica*.

Tabela 1. Componentes majoritários dos óleos essenciais extraídos das folhas e flores de diferentes *Plumeria*

Espécies	Parte da planta	Compostos	Local de coleta	Referência
<i>P. alba</i>	Flores	Salicilato de benzila (33,98±0,04%)	Índia	Sahoo et al., 2021
<i>P. rubra</i> . cv. <i>acutifolia</i>	Flores	(±)- <i>trans</i> -Nerolidol	China	Zhang et al., 2016
<i>P. rubra</i>	Flores	Salicilato de benzila (26,7%) Benzoato de benzila (22,3%)	Índia	Goswami et al., 2016
<i>P. rubra</i>	Flores	Humuleno	Rio de janeiro	Barreto et al., 2014
<i>P. alba</i>	Flores	Limoneno (9,1%)	Nigéria	Lawala et al., 2014
	Folhas	Linalol (13,2%)		
<i>P. rubra</i>	Flores	9-Hexacoseno (14,6%)	China	Liu et al., 2012
<i>P. rubra</i> Linn var. <i>acutifolia</i>		Ácido hexadecanoico (35,8%)		
<i>P. rubra</i>	-	Ácido benzoico 1, 6, 10- dodecatrien-3-ol, 3, 7, 11- trimetil,	-	Xiao et al., 2011
<i>P. rubra</i>	-	Nonadecano (15,63%)	Nigéria	Obuzor et al., 2011
<i>P. obtusa</i>	Flores	Salicilato de benzila (27,58%)	Tailândia	Pitpiangchan et al., 2009

<i>P. acuminata</i>	-	Salicilato de benzila (39,0%)	Malásia	Tohar et al., 2006
<i>P. rubra</i> Linn. (reddish-orange flower)	-	Benzoato de feniletil (12,3%)		
<i>P. rubra</i> Linn. (red flower)	-	Ácido palmítico (27,2%) Ácido linoleico (20,7%)		
<i>P. obtusa</i>	Flores	Salicilato de benzila (45,4%)	Malásia	Tohar et al., 2006
<i>P. acuminata</i> (yellow flower)		Ácido palmítico (36,2%)		
<i>P. rubra</i> (pink flower)		Ácido láurico (30,8%)		
<i>P. rubra</i> (orange flower)		Salicilato de benzila (20,9%)		
<i>P. alba</i>	Flores	Ácido hexadecanoico (33,56- 41,31%)	Indonésia	Wartini et al., 2014
<i>P. rubra</i>	Flores	α -Camfolenona (7,12- 34,43%)	China	Gong et al., 2019
<i>P. rubra forma acutifolia</i>	Flores	Linalol		Omata et al., 1991
<i>P. rubra</i> Irma Bryan	Flores	β -Feniletil		Omata et al., 1992
<i>P. accuminata</i>	-	Ácido palmítico (32,7%)		Qazi et al., 1973

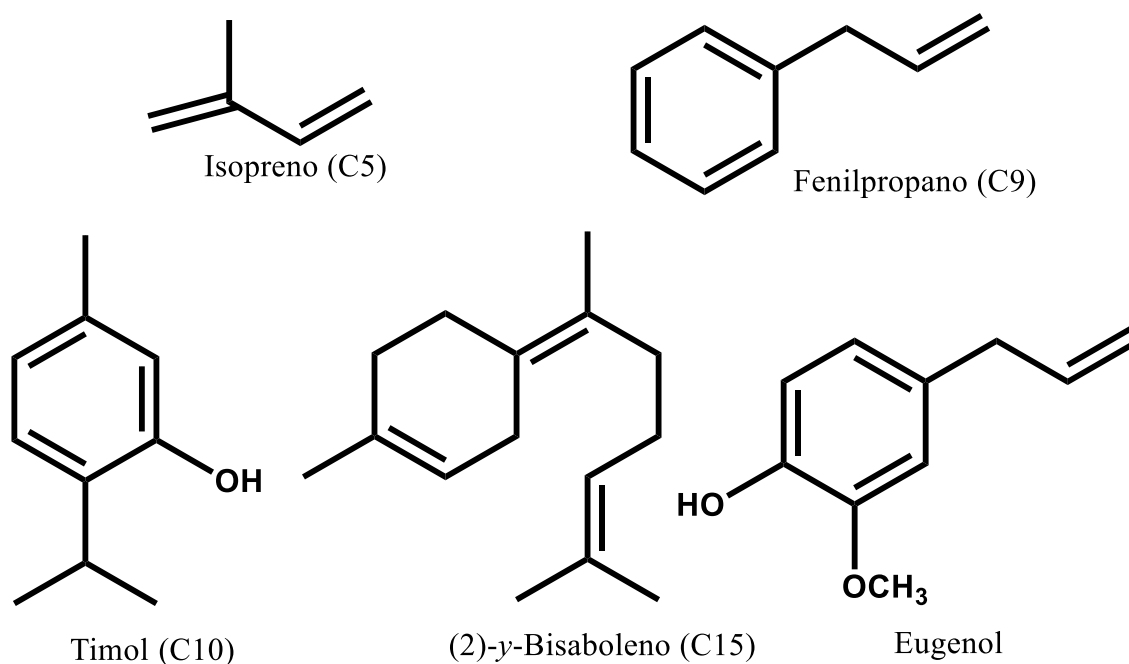
3.2 Metabólitos secundários

Algo comum aos seres vivos são os metabólitos primários, eles possuem funções essenciais à sobrevivência como divisão celular, estocagem de reprodução e respiração (FUMAGALI et al., 2008). De forma contrária aos metabólitos primários, os metabólitos secundários são encontrados mais amplamente em organismos vegetal e apresentam funções importantes para a manutenção e sobrevivência dessas plantas como: defesa contra herbívoro, atração de polinizadores, regulação do metabolismo entre outras (MEYER et al., 2013). Os

metabólitos secundários são classificados levando em consideração sua rota biossintética, desse modo, suas principais moléculas são compostos fenólicos, flavonoides, esteroides, terpenos e alcaloides (FUMAGALI et al., 2008). Os metabólitos secundários podem ser obtidos através dos OEs contidos nas plantas, tal óleo são substâncias que podem ser extraídas de diversas partes de plantas através de diversas técnicas, sendo a técnica de arraste a vapor a utilizada neste trabalho. Na composição química dos OEs estão presentes principalmente monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (BIZZO, HOVELL e REZENDE, 2009).

Os terpenoides são compostos formados pela junção de unidades de isopreno (C_5), com 5 carbonos. Monoterpenos (C_{10}) que apresentam 10 carbonos, por exemplo, o timol, o sesquiterpeno (C_{15}), com 15 carbonos, como o bisaboleno e o fenilpropanoide eugenol (DEWIK, 2009. p.189) (Figura 5).

Figura 3. Estruturas químicas



Fonte: autora

3.3 Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos alifáticos, amplamente distribuídos em vegetais, onde geralmente estão ligados a açúcares, glicerol e grupos fosfatos para formar lipídios (NASCIMENTO, 2014; DESBOIS et al., 2010). Os ácidos graxos comumente estão ligados a lipídios e para sua remoção é necessário o uso de enzimas. A catálise dessas moléculas

gera os ácidos graxos livres, que são cadeias de carbono ligadas a átomos de hidrogênio. Os números de átomos de carbonos dos ácidos graxos variam entre 4 e 28, tendo em uma de suas extremidades um grupo carboxila e na outra o grupo metila (RUIZ-RODRIGUEZ et al., 2010).

Os ácidos graxos são classificados de acordo com o tipo de ligações entre átomos de carbonos, quando possuem apenas ligações simples são referidos como saturados, já se tiverem ligações duplas são designados de acordo com o número destas, sendo monoinsaturados (uma ligação dupla em toda a molécula) e poli-insaturados, quando apresentam mais de uma ligação dupla (DESBOIS et al., 2010; RUIZ-RODRIGUEZ et al., 2010). Outra classificação é baseada de acordo com o número de átomos de carbono na estrutura dos ácidos graxos, onde cadeias com número inferior a oito carbonos são referidos como ácidos graxos de cadeia curta e acima de 16 carbonos são designados ácidos graxos de cadeia longa (DESBOIS et al., 2010). Os ácidos graxos apresentam várias atividades biológicas, incluindo antimicrobiana, citotóxica, antioxidante e sinalização (DESBOIS et al., 2010; NASCIMENTO, 2014).

Figura 4. Estrutura molecular do ácido dodecanóico.



Fonte: autora

3.4 Técnica de hidrodestilação

Hidrodestilação é uma técnica empregada para extrair óleos essenciais de plantas, podendo ser elas frescas ou não. Os óleos possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, desse modo, tendem a ser puxados pelo vapor d'água. Nesta técnica é utilizado o aparelho do tipo Clevenger modificado, após a extração o óleo obtido deve ser seco e mantido em baixa temperatura (SIMÕES et al., 2017).

3.5 Óleos essenciais

Dentre os produtos naturais, uma importante classe com contínuo crescimento, destaca-se os óleos essenciais. Estes óleos são extraídos das plantas, geralmente de folhas, flores, sementes ou raízes, e são voláteis, com forte odor, pois são bastante concentrados. São ricos em metabólitos secundários, o que contribui para o uso nos diversos seguimentos industriais. Os óleos essenciais têm atividades biológicas e meios de ações semelhantes aos produtos convencionais, por este motivo, é um insumo natural aprovado em meios orgânicos - Instrução Normativa – IN – 46 do Ministério da Agricultura (PAULETTI & SILVESTRE, 2018).

Óleos essenciais são descritos como produtos de grande potencial terapêutico, farmacológico e são frequentemente utilizados na aromaterapia. São também utilizados na fabricação de perfumes, mas também na formulação de fármacos. Além destas propriedades, destacam-se outras vantagens biológicas como a ação larvicida, antioxidante, anti-inflamatória, fungicida, entre outras (MACHADO e JÚNIOR, 2011). É importante destacar que os óleos essenciais são característicos de cada espécie e inclusive de cada parte da planta. Ou seja, suas composições podem variar de acordo com a área da planta extraída. Ainda, vários fatores podem contribuir para alteração dos constituintes dos óleos essenciais.

O processo de extração pode causar ligeiras mudanças na composição, além disso, a região, clima, irrigação, cultivo, entre outros fatores podem também provocar a mudança. Por este motivo, muitos estudos levam em conta a variação sazonal, logo, avaliam toda mudança na composição durante o passar dos meses (PAULETTI e SILVESTRE, 2018). Existem diversos tipos de extrações, como destacado por Almeida et al. (2020), a hidrodestilação, destilação a vapor, extração por solventes orgânicos, extração com fluido supercrítico e outros. Assim, é possível observar os diversos meios de obtenção dos óleos essenciais. Com o estudo dos óleos ao passar dos anos, é conhecido que seus componentes são complexos e diversos. Consistem em monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, flavonoides, entre outros compostos voláteis, que juntos formam uma mistura, dando origem ao óleo. A complexidade estrutural dessas substâncias contribui para o retardar o desenvolvimento de resistência das pragas. (MACHADO e JÚNIOR, 2011)

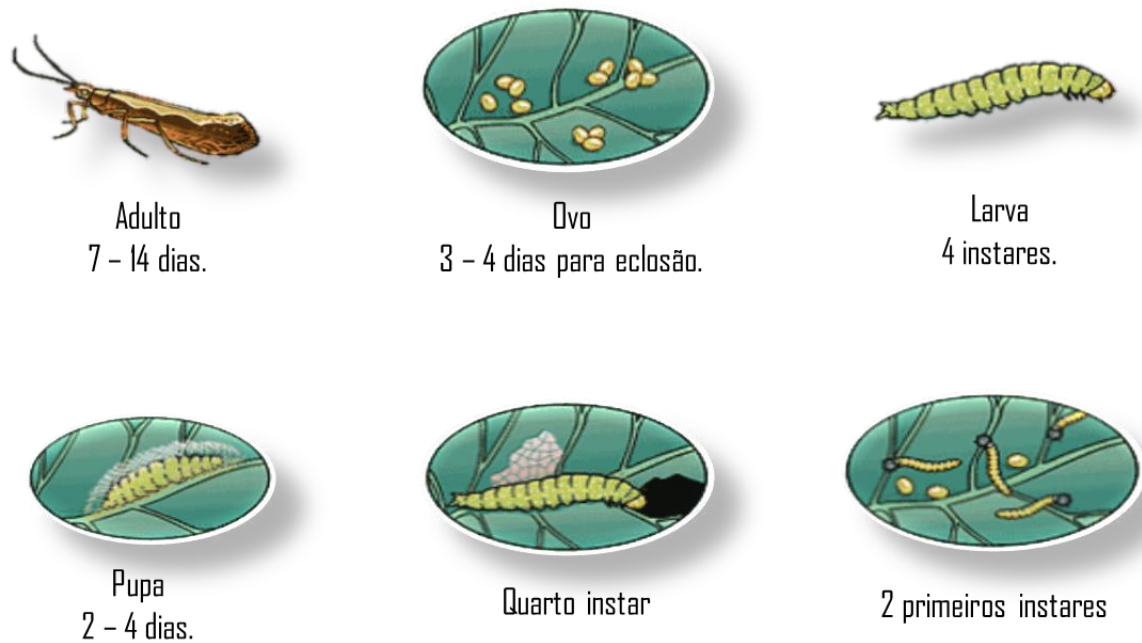
3.6 Traça das crucíferas

Alguns organismos são causadores de infestações em diversas plantações pelo mundo, entre eles está a *Plutella xylostella* que também é conhecida como traça-das-crucíferas, esta praga costuma atacar plantações de crucíferas e já foi responsável por um prejuízo global de cerca de US \$4 a 5 bilhões ao ano (FURLONG, WRIGHT e DOSDALL, 2012).

A *Plutella xylostella* possui um ciclo de vida que pode variar de 11 a 28 dias a depender da temperatura, o verão é a época do ano mais favorável para essa praga reproduzir, durante seu ciclo de vida a *P. xylostella* possui quatro instares larvais (Figura 7). Devido ao clima favorável no Brasil a praga está presente durante todo o ano. (DIAS, SOARES e MONNERAT, 2004; THULER, BORTOLI e BARBOSA, 2007). Após a eclosão dos ovos, que apresentam uma coloração esverdeada, nascem as larvas que penetram o interior das folhas das crucíferas e após alguns dias passam a alimentar-se da parte exterior da folha, com isso podem causar a perda total da plantação (GALLO, et al., 2002).

A forma mais comum de combate a traça-das-crucíferas é através do controle químico, entretanto o uso demasiado desses materiais pode causar uma resistência na praga além de efeitos indesejados em humanos e animais (RONDELLI, et al., 2012). Com isso, vem sendo empregado o uso de OEs na forma de bioinseticidas como uma alternativa para o controle de pragas, pois apresentam metabólitos secundários capazes de controlar diversas pragas agrícolas, além de possuírem maiores benefícios do que os inseticidas químicos, como uma degradação mais rápida no ambiente, são menos persistentes, possuem uma baixa toxicidade para os consumidores entre outras propriedades (PADIAL, et al., 2020; RONDELLI, 2010).

Figura 5. Ciclo de vida da *Plutella xylostella*



Fonte: Google imagens

3.7 Atividade de Inibição da Acetilcolinesterase

A enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas é a acetilcolinesterase (AChE). O bom funcionamento do sistema colinérgico depende de níveis normais de ACh, um transmissor envolvido no aprendizado e na memória (VINUTHA et al., 2007). Este neurotransmissor é encontrado no cérebro e junções neuromusculares e a hidrólise da acetilcolina é essencial para que as transmissões sinápticas colinérgicas ocorram antes da chegada de um novo impulso elétrico (SANTOS, 2009). Esse processo é realizado pela enzima AChE, que no sistema nervoso, age como mediadora das sinapses.

Dentre os “defensivos agrícolas” mais conhecidos, os organofosforados e carbamatos possuem o mecanismo de ação tóxica de inibição da enzima acetilcolinesterase, presente nas sinapses nervosas do sistema nervoso central e periférico, por isso são grupo de inseticidas genericamente conhecidos como anticolinesterásicos (BURONFOSSE & BURONFOSSE, 1995). Esses defensivos atuam basicamente nos insetos através da via da acetilcolinesterase, porém acabam sendo tóxicos também aos mamíferos, daí a importância da busca de compostos que atuem através de outras vias metabólicas nos insetos e assim apresentem uma menor toxicidade aos mamíferos.

3.8 Toxicidade frente à *Artemia salina* Leach

A *Artemia salina* Leach é um microcrustáceo da família Artemiidae e da ordem Anostraca, vive em meio salino e serve como alimento vivo para peixes. Esta espécie pode produzir cistos e náuplios. Os cistos, que são os ovos de resistência, apresentam um diâmetro médio de 250 µm, podendo ser armazenados a seco, suportando o vácuo. Os náuplios recém eclodidos possuem cerca de 450 µm de comprimento e a *Artemia* adulta possui um corpo alongado, medindo em média 10 mm de comprimento (NASCIMENTO et al., 2008).

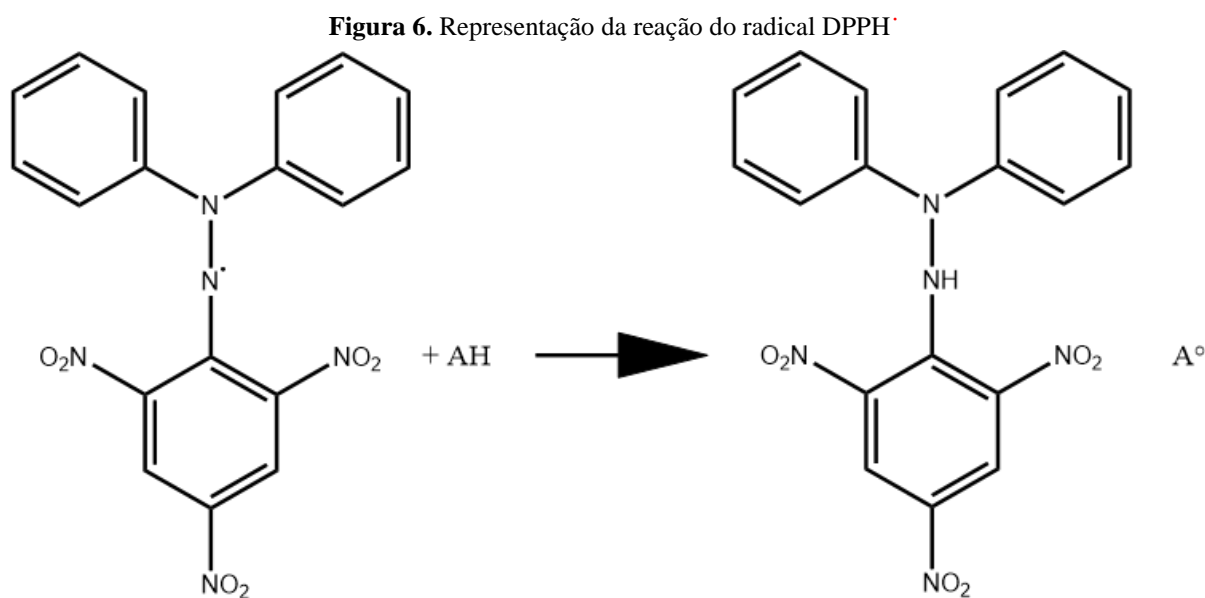
Os cistos de *A. salina* são facilmente encontrados em comércios e lojas de animais, e para realizar a eclosão basta serem colocados em uma solução salina e submetidos a luz, num intervalo de 48 horas. De forma geral, os compostos bioativos apresentam uma certa toxicidade frente as larvas de *A. salina*. Assim, a letalidade ao microcrustáceo pode ser utilizada como um teste preliminar rápido e simples durante o processo de isolamento de produtos naturais (RAHMAN, 2001). Meyer em 1982 estabeleceu junto com seus colaboradores uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média, DL₅₀, apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*. Com isso, considera-se que os valores notados acima de 1000 µg/mL, são consideradas não tóxicas, e quando inferior a 1000 µg/mL são consideradas tóxicas (MEYER, 1982). Há relatos na literatura que correlacionam a atividade frente a *A. salina* com o ensaio de atividade antitumoral (HARADA, 2009) e além disso, essa metodologia também é utilizada como biomonitora e bioindicadora da qualidade da água, e também na determinação da citotoxicidade de pesticidas organofosforados (VARÓ, 2002). O bioensaio com os náuplios de *A. salina* mostra-se bastante útil, podendo poupar a necessidade de ensaios antitumorais caros ou em animais, avaliando e no fracionamento para bioatividades, podendo levar ao isolamento de diversos produtos naturais. Além do ensaio está sendo utilizado em diversas outras atividades biológicas, confirmando assim, a sua sensibilidade e versatilidade em estudos de toxicidade (HARADA, 2009).

3.9 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante é uma técnica de eliminação de radicais livres, podendo ser determinada espectrofotometricamente por diversos métodos diferentes, dos quais foram utilizados no presente trabalho que é a atividade de eliminação de radicais DPPH' (2,2-difenil-

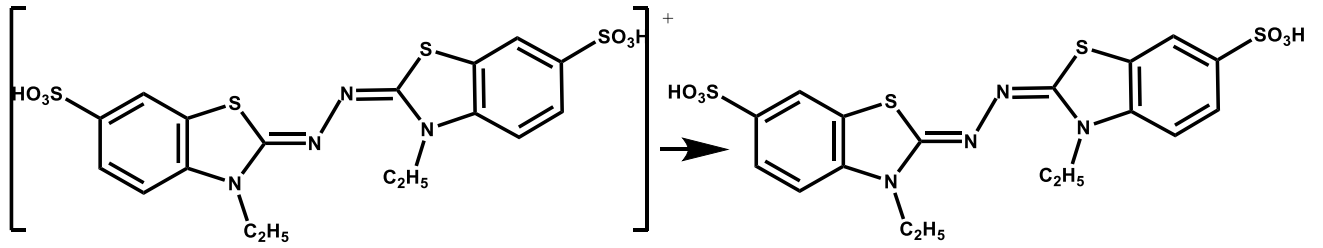
¹- picril-hidrazil-hidrato) e geração do cátion radical $ABTS^{\cdot+}$ (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolino -6-sulfônico)) (SMAILI et al., 2021).

O método de eliminação de radicais DPPH \cdot é uma técnica onde é realizada uma análise estrutural do composto a ser testado, com isso observa-se à capacidade da molécula de agir como um eliminador de radicais livres, e também a influência no comportamento eletroquímico. O método que pode ser usado para a determinação da capacidade antioxidante da mesma maneira que a eliminação do radical DPPH \cdot (Figura 11), devido à correlação encontrada entre os potenciais de oxidação e o poder anti-radical. Essa determinação eletroquímica é barata e também rápida, permitindo fazer medições em uma variedade de condições experimentais. (ARTEAGA et al., 2012).



A geração do cátion radical $ABTS^{\cdot+}$ é baseada na ativação da metamioglobina com peróxido de hidrogênio na presença de $ABTS^{\cdot+}$ para produzir o cátion radical, isso na presença ou ausência de antioxidantes. Isso é com base no fato que os antioxidantes de reação mais rápida também podem contribuir para a redução do radical ferrilmioglobina (Figura 13). Esse método é aplicável ao estudo de antioxidantes solúveis em água e solúveis em lipídeos, compostos puros e extratos alimentares (RE et al., 1999).

Figura 7. Representação da reação do radical ABTS^{•+}



Fonte: autora

4 METODOLOGIA

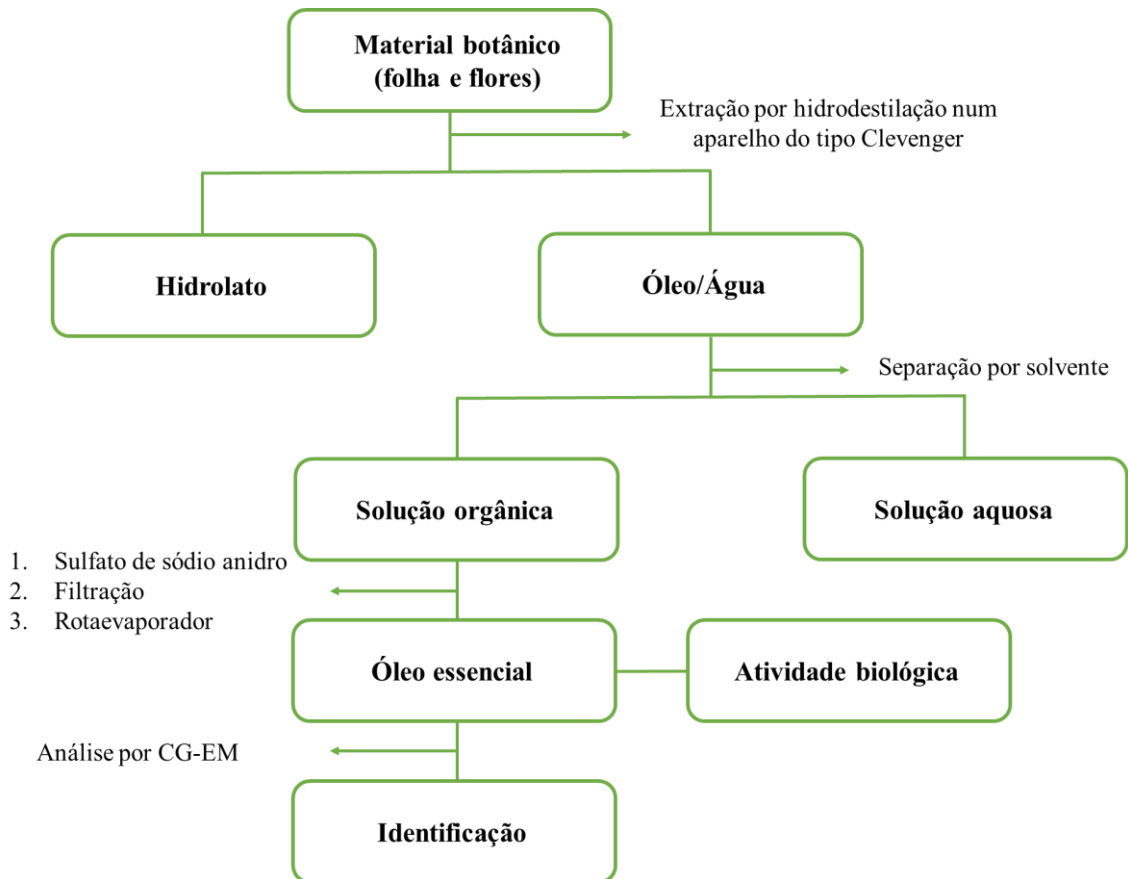
4.1 Coleta e identificação do material botânico

A espécie *P. pudica* foi escolhida levando em consideração à disponibilidade e o fácil acesso as plantas. As folhas e flores de *P. rubra* foram coletadas na cidade do Paulista, no bairro de Pau Amarelo – Pernambuco – Brasil (7°54'31.813" S e 34°50'26.970" W). Todas as coletas foram realizadas no período matutino.

4.2 Obtenção dos óleos essenciais

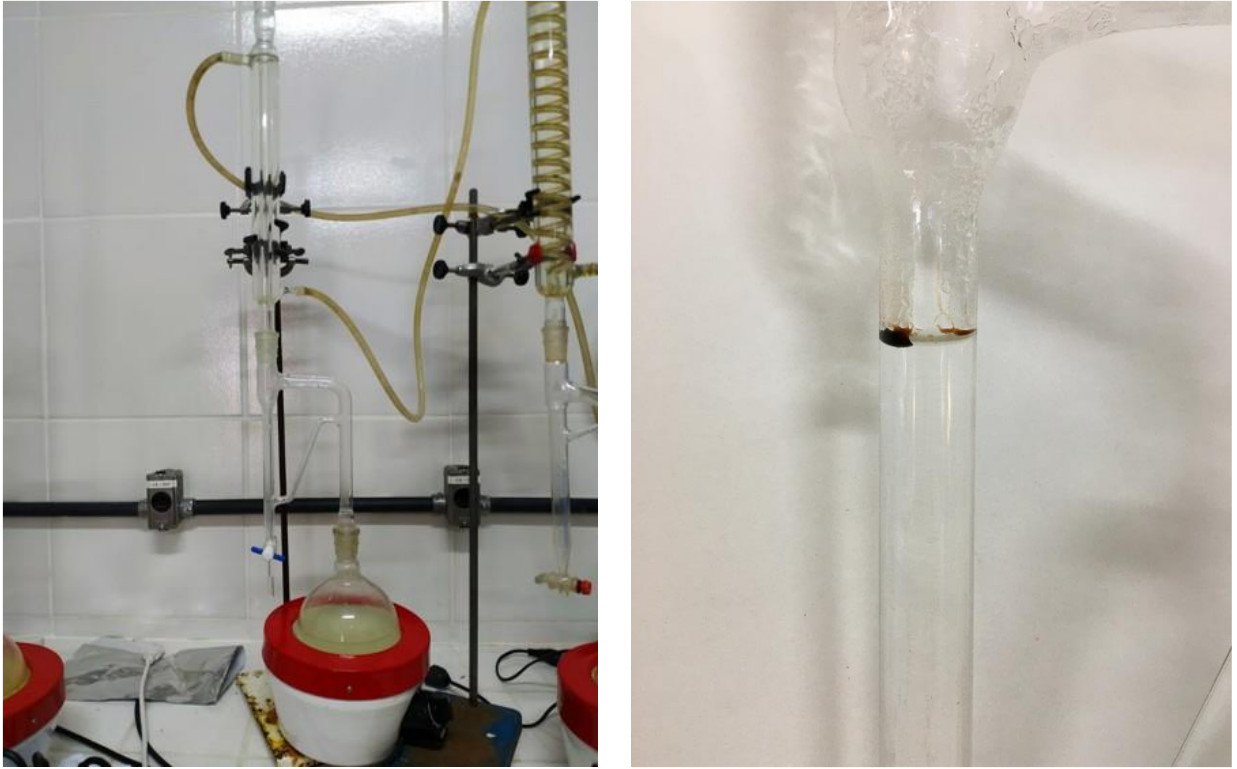
A obtenção dos OEs das folhas e flores da *P. pudica* foram realizadas através da técnica de hidrodestilação utilizando um aparelho do tipo Clevenger modificado. Após duas horas de extração, a amostra contendo o hidrolato (Figura 8), óleo essencial e água, foi retirada do equipamento com o intuito de obter apenas o OE. A extração do OE foi realizada usando como base a diferença de densidade do OE com a água (Figura 9). A extração do óleo presente do hidrolato foi realizada utilizando 50 mL de *n*-hexano, em seguidas as duas fases foram separadas com auxílio de um funil de separação e o remanescente de água presente no óleo foi removido utilizando sulfato anidro de sódio, e o volume do solvente foi reduzido em equipamento de rotaevaporador. Os OEs foram armazenados em recipientes de vidro hermeticamente fechados e mantidos a baixa temperatura (-5 °C) até a análise.

Esquema 1. Obtenção do óleo essencial



Fonte: autora

Figura 8. Hidrodestilação das folhas e flores de *P. pudica*.



Fonte: autora

Figura 9. Tratamento e obtenção dos óleos essenciais das folhas e flores de *P. pudica*



Fonte: autora

4.3 Análise da composição química do óleo essencial por cromatografia gasosa (CG-FID) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

Os rendimentos dos óleos foram expressos em porcentagens (g / 100 g de material vegetal fresco). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A análise quantitativa do CG foi realizada utilizando um aparelho PerkinElmer Clarus 500 CG equipado com um detector de ionização de chamas (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 apolar (espessura de película de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) (J & W Scientific). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240 °C a uma velocidade de 3 °C min^{-1} . As temperaturas do injetor e do detector foram de 210 °C. O hidrogênio foi usado como gás portador a uma taxa de fluxo de 1 mL min^{-1} no modo dividido (1:30). O volume de injeção foi de 0,5 μL de solução diluída (1/100) de óleo em *n*-hexano. A quantidade de cada composto foi calculada a partir de áreas de pico de GC-FID na ordem da eluição da coluna DB-5 e expressa como uma porcentagem relativa da área total dos cromatogramas. As análises foram realizadas em triplicata.

A análise qualitativa por cromatografia gasosa – acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) foi realizada utilizando um sistema cromatográfico CG-EM QP2010 SE Plus Shimadzu com detector seletivo de massa, operando com um impacto de elétrons de 70 eV com intervalo de varredura de 0,5s e fragmentos de m/z 40 a 550 Da. com os seguintes parâmetros: gás de arraste = hélio, fluxo = 1 mL/min, modo Split (1:30); volume de injeção de 1 μL diluído (1/100) do óleo em *n*-hexano.

Figura 10. Cromatógrafo gasoso e espectrômetro de massas.



Fonte: autora

4.3.1 Identificação dos componentes do óleo essencial

A identificação dos componentes foi baseada em índices de retenção de CG-EM com referência a uma série homóloga de C₈-C₄₀ *n*-alcanos calculados usando a equação de Van der Dool e Kratz (VAN DEN DOOL e KRATZ, 1963) e por computador comparando com a massa biblioteca espectral do sistema de dados CG-EM (NIST 14 e WILEY 14) e coinjeção com padrões autênticos, bem como outros espectros de massa publicados (ADAMS, 2017). As porcentagens de área foram obtidas a partir da resposta CG-FID sem o uso de um padrão interno ou fatores de correção.

4.4 Criação da *Plutella xylostella*

Inicialmente foram coletados espécimes de *Plutella xylostella* de couve no município do Recife no ano de 2015 e mantido no Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As *Plutella xylostella* foram criadas a uma temperatura de 25 ± 1 °C, com umidade relativa do ar de $65 \pm 5\%$, em um fotoperíodo de

12 horas e sem utilização de inseticidas. A metodologia de criação foi adaptada de Bandeira et al. (2013).

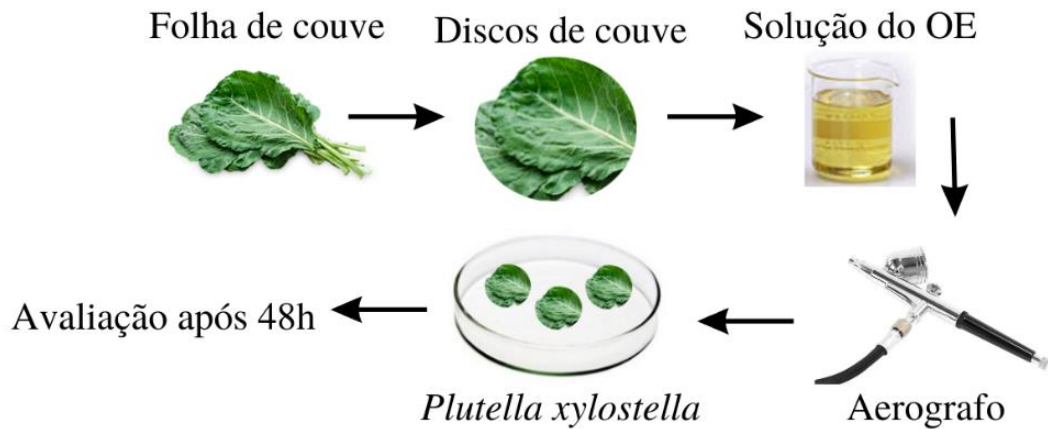
4.5 Bioensaio de toxicidade residual larval

O método para a realização dos bioensaios foram baseados na metodologia proposta por Bandeira et al. (2013). Os testes foram realizados utilizando discos de folhas de couve de 2,5cm de diâmetro, onde foi aplicado com aerógrafo diferentes soluções preparadas com o OE, diluído no solvente para dissolver (WPDA = água destilada + 1,0% monolaurato de polioxietileno sorbitano + 0,1% de ácido dodecilbenzenossulfônico), após aplicado, os discos foram secos em temperatura ambiente e transferidos em tríades para placas de Petri contendo um disco de papel de filtro embebido em água. Em cada disco são adicionadas dez larvas de *Plutella xylostella* do terceiro instar e a mortalidade registrada após 48 h (figura 11) (BANDEIRA et al., 2013; SANTANA et al., 2022).

4.6 Bioensaio de toxicidade direto larval

O método para a realização dos bioensaios foram baseados na metodologia proposta por Bandeira et al. (2013). Os testes foram realizados utilizando discos de folhas de couve de 2,5cm de diâmetro, diferentes soluções preparadas com o óleo essencial, diluído no solvente para dissolver (WPDA = água destilada + 1,0% monolaurato de polioxietileno sorbitano + 0,1% de ácido dodecilbenzenossulfônico). Os discos são transferidos em tríades para placas de Petri contendo um disco de papel de filtro embebido em água, em cada disco são adicionadas dez larvas de *Plutella xylostella*, do terceiro instar e em seguida é aplicada a solução com o óleo essencial utilizando um aerógrafo e a mortalidade registrada após 48 h (Esquema 2) (BANDEIRA et al., 2013; SANTANA et al., 2022).

Esquema 2. Preparo do bioensaio de toxicidade



Fonte: autora

4.7 Inibição de Acetilcolinesterase CE_{50}

A inibição da atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi determinada quantitativamente com base no método descrito por Ellmann (1961) com algumas modificações, utilizando um leitor de microplacas ELISA EZ Read 2000, absorvância a 405 nm a cada 13 segundos por cinco vezes. Em placas de 96 poços, foram utilizadas as seguintes soluções por poços: 50 μ L de tampão fosfato 50 mM pH 7,4, 125 μ L ácido ditionitrobenzóico (DTNB, 3 mM em tampão fosfato 50 mM pH 8), 25 μ L de acetilcolinesterase (AChE de enguia elétrica, 1 U/mL em tampão fosfato 50 mM pH 7,4) e 25 μ L da amostra de óleo diluída em MeOH, que foram incubados por 15 min a 25°C. Em seguida, 25 μ L de iodeto de acetiltiocolina (ACTI, 15 mM em tampão fosfato 50 mM pH 7,0) foram adicionados como substrato e a atividade de AChE foi medida. As diluições das amostras e dos padrões positivos utilizadas nas avaliações quantitativas em microplaca, que partiram de solução mãe com concentração de 1 mg/mL foram: 100 μ g/mL, 50 μ g/mL, 25 μ g/mL, 12,5 μ g/mL, 6,25 μ g/mL, 3,12 μ g/mL, 1,56 μ g/mL, e 0,78 μ g/mL. O padrão utilizado como controle positivo foi cloridrato de donepizila. Todas as amostras foram analisadas em triplicata, e após normalização dos dados, foi realizado teste de curva de regressão não linear pelo programa estatístico GraphPad Prism v7.01.

4.8 Citotoxicidade frente à *Artemia salina*

O bioensaio de letalidade para larvas de *Artemia salina* foi realizado utilizando a metodologia descrita por Meyer et al. (1982) com algumas modificações. Os cistos do microcrustáceo *Artemia salina* foram colocados em um recipiente plástico com solução salina artificial (23 g de sal marinho/1 litro de água destilada/0,7 g de bicarbonato de sódio), sob iluminação artificial, aeração e controle da temperatura (20-30 °C) para a eclosão dos ovos por 24 horas. Após 24 horas, as larvas foram expostas a diferentes concentrações (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg/mL) dos produtos a serem testados por 24 horas, utilizando-se tubos de ensaio, cada um contendo cerca de 10 náuplios, nas 10 diferentes concentrações, cada uma em triplicata constituindo um ensaio, buscando sempre a maior concentração em que se observasse 0% de mortalidade e a menor concentração em que se defligrasse 100% de mortalidade, de modo a obter a CL₅₀; 24 h (concentração letal para 50% da população em 24 h). As soluções foram preparadas em 2% de DMSO (dimetilsulfóxido) e avolumadas com solução salina artificial. Após 24 h de exposição, foi realizada a contagem de náuplios vivos e mortos e os resultados foram submetidos a tratamento estatístico utilizando a regressão linear, o qual forneceu os valores de CL₅₀; 24 h.

4.9 Atividade antioxidante

4.9.1 Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres DPPH[·]

A atividade antioxidante dos óleos essenciais das flores *C. echinata* foi realizada contra o radical livre DPPH[·] seguindo a metodologia de Silva et al. 2006. Soluções estoque foram preparadas a partir dos extratos e da fração de metanol em várias concentrações (0,10 a 5,0 mg/mL). Por meio de análise preliminar, quantidades adequadas de soluções estoque das amostras e 450 µL da solução de DPPH[·] (23,6 mg/mL em EtOH) foram transferidas para tubos Eppendorf de 0,5 mL e o volume foi completado com EtOH, após homogeneização. As amostras foram sonicadas por 30 min e a quantidade de DPPH[·] foi registrada em um dispositivo UV-vis (Biochrom EZ Read 2000) em um comprimento de onda de 517 nm em uma placa de 96 poços. O ácido ascórbico foi usado como controle positivo e todas as concentrações foram testadas em triplicata. A porcentagem de atividade de eliminação (% SA) foi calculada a partir da equação:

$$\% \text{ AS} = 100 \times \frac{(\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}})}{\text{Abs}_{\text{controle}}}$$

onde $Abs_{controle}$ é a absorvância do controle contendo apenas a solução de etanol de DPPH \cdot , e $Abs_{amostra}$ é a absorvância do radical na presença da amostra ou ácido ascórbico padrão. O índice de atividade antioxidante (AAI) foi calculado de acordo com Scherer e Godoy, 2009, da seguinte forma:

$$AAI = \frac{\text{concentração final de DPPH } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})}{IC_{50} (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})}$$

Valores de AAI abaixo de 0,5 indicam baixa atividade antioxidante, valores entre 0,5 e 1,0 indicam atividade moderada, valores entre 1,0 e 2,0 indicam atividade forte e valores de AAI acima de 2,0 indicam atividade antioxidante muito forte.

4.9.2 Atividade antioxidante de sequestro de radicais livres ABTS \cdot^+

A determinação da atividade antioxidante de OE de flores de *P. echinata* contra o cátion radical ABTS \cdot^+ foi realizada seguindo a metodologia descrita por Re et al., 1999, em um aparelho UV-vis (Biochrom EZ Read 2000, Figura 11), utilizando Trolox como o composto padrão. As concentrações iniciais das soluções das amostras foram de 0,1–1,0 mg/mL, com a adição de 450 μ L da solução radical ABTS \cdot^+ para dar concentrações finais de amostras de 2,5–100,0 μ g / mL. As amostras foram protegidas da luz e sonicadas por 6 min. A absorvância das amostras e o controle positivo foram medidos em um comprimento de onda de 734 nm usando uma microplaca de 96 poços. Cada concentração foi testada em triplicado. A porcentagem de atividade de eliminação de radicais livres de ABTS \cdot^+ foi calculada pela equação:

$$\% AS = 100 \times \frac{(Abs_{controle} - Abs_{amostra})}{Abs_{controle}}$$

onde $Abs_{controle}$ é a absorvância do controle contendo apenas a solução de etanol de ABTS \cdot^+ , e $Abs_{amostra}$ é a absorvância do radical na presença da amostra ou TROLLOX padrão.

A eficiência antirradicalar foi estabelecida por meio de análise de regressão linear e o intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$) obtido por meio do programa estatístico GraphPad Prism 5.0. Os resultados foram expressos através do valor da Concentração Efetiva média (CE_{50}), que representa a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais.

4.10 Análise estatística

Após atenderem aos testes de normalidade e homogeneidade de variância (Proc Univariate) os dados de mortalidade e oviposição foram submetidos à ANOVA e as comparações das médias realizadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software SAS (versão 9.0) SAS INSTITUTE 2002. Foram determinadas as concentrações letais médias (CL_{50}) do óleo essencial de *Plumeria pudica*, por meio da análise de PROBIT através do software POLO-PC (FINNEY, 1971)

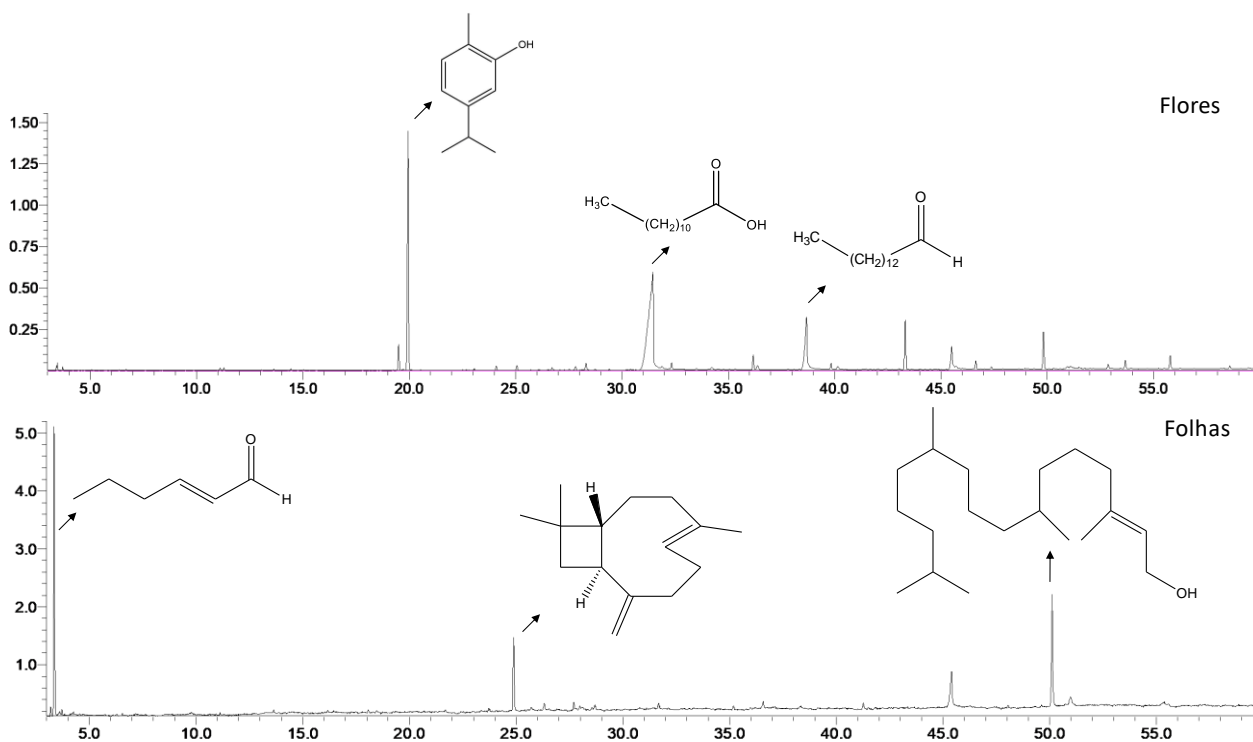
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição química dos óleos essenciais das folhas e flores de *P. pudica*.

Os óleos obtidos das folhas e flores de *P. pudica* apresentaram rendimento de 0,154% e 0,035% com colorações amarela e marrom, respectivamente.

A análise da composição química dos óleos das folhas e flores de *P. pudica* revelou a presença de 8 e 13 constituintes, representando 99,90 e 97,58% do óleo respectivamente (Figura 11; Tabela 2).

Figura 11. Cromatograma do OE das folhas e flores de *P. pudica*.



Fonte: autora

Tabela 2. Composição química do OE das folhas e flores de *P. pudica*.

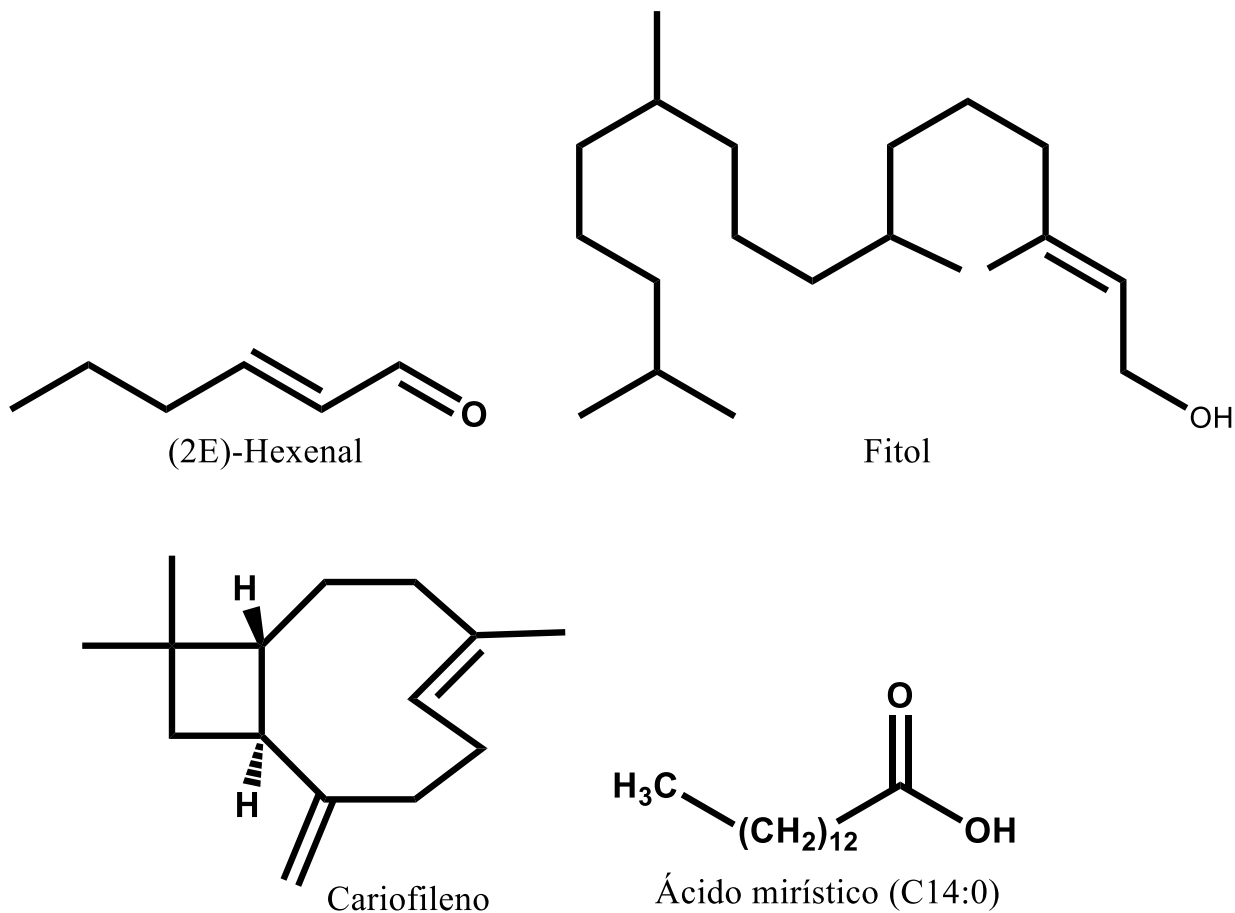
Compostos	IR ^a	IR ^b	Folhas	Flores	Probabilidade
					(%)
(2 <i>E</i>)-Hexenal	850	846	40,57	-	89,0

Timol	1297	1289	-	2,71	98,0
Carvacrol	1307	1298	-	26,00	96,0
β -Cariofileno	1415	1417	16,39	0,10	96,0
α -Hunuleno	1452	1452	1,73	0,06	88,0
(<i>E</i>)- β -Ionona	1479	1487	1,35	0,04	91,0
<i>n</i> -Pentadecano	1507	1500	0,78	0,68	92,0
Ácido láurico (Ácido dodecanóico)	1587	1565	-	39,97	96,0
<i>n</i> -Hexadecano	1610	1600	1,74	0,67	90,0
Heptadecano	1713	1600	-	1,68	97,0
Ácido mirístico (Ácido tetradecanóico)	1783	-	12,77	10,41	96,0
Eicosano	1816	1800	-	0,65	94,0
Heneicosano	1919	1800	-	5,22	97,0
Fitol	1934	1942	24,57	-	95,0
Ácido palmítico (Ácido hexadecanóico)	1987	1959	-	3,21	95,0
Octacosano	2022	2000	-	0,90	95,0
Tetracontano	2126	2000	-	4,31	95,0
Estearaldeído (Octadecanal)	2257	-	-	0,97	95,0
Total			99,12	97,58	
Hidrocarbonetos			42,31	14,11	
Derivados de ácido graxo			12,77	54,56	
Monoterpenos			-	28,71	
Sesquiterpenos			19,47	0,20	
Diterpenos			24,57	-	

IR^a = Índice de Retenção Calculado. IR^b = Índice de Retenção Obtido. % = área em percentual.

A análise da composição química do óleo essencial das folhas de *P. pudica* revelou predominância de compostos pertencentes à classe química dos hidrocarbonetos (42,31%), seguido de diterpenos (24,57%), sesquiterpenos (19,47%) e derivados de ácidos graxos (12,77%). Os principais compostos identificados no óleo das folhas foram o (*2E*)-hexenal (40,67%), fitol (24,57%), β -cariofileno (16,39%) e ácido mirístico (C14:0) (12,77%) (Figura 14).

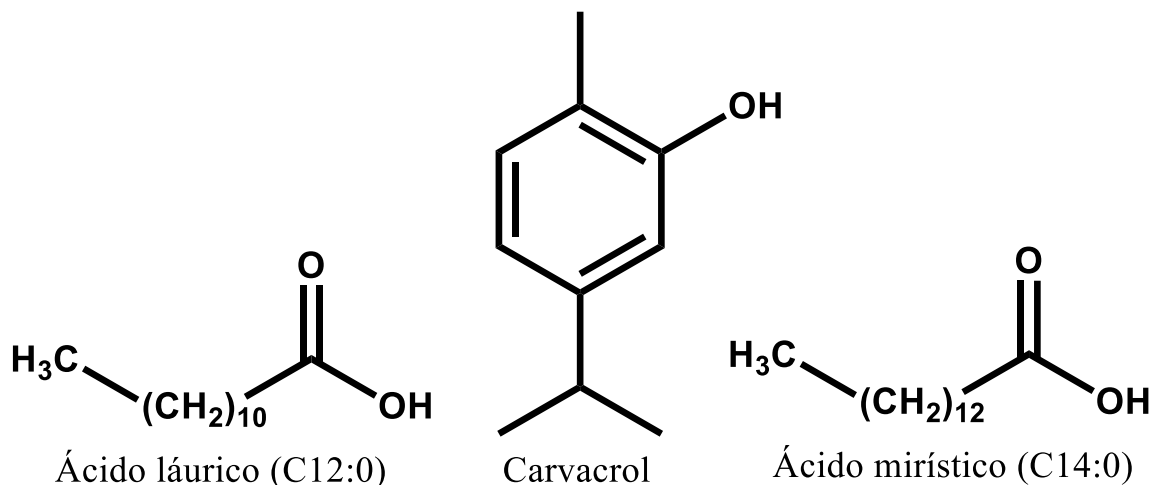
Figura 12. Principais compostos identificados no óleo essencial das folhas de *P. pudica*.



Fonte: autora

Por outro lado, os óleos das flores de *P. pudica* revelou como classe química majoritários derivados de ácido graxo (54,56%), seguido de fenilpropanoides (28,71%) e monoterpenos (14,11%). Os compostos majoritários identificados no óleo foram o ácido láurico (C12:0) (39,97%), carvacrol (26,00%) e ácido mirístico (C14:0) (10,41%) (Figura 15).

Figura 13. Principais compostos identificados no óleo das flores de *P. pudica*.



Fonte: autora

5.2 Análise comparativa do óleo essencial de espécies de *Plumeria*

Nos óleos aqui investigados verificou-se que apenas seis compostos foram concomitantemente identificados nos óleos das folhas e flores. Em nossas análises o (2E)-hexenal (40,57%) e o fitol (24,57%) identificados no óleo das folhas de *P. pudica* não foram detectados no óleo das flores. Por outro lado, o ácido láurico (39,97 %) e o carvacrol (26,00) identificados no óleo das flores não foram encontrados no óleo das folhas.

A presença de ácidos graxos como o ácido palmítico (3,21%) e o ácido láurico (39,97%) identificados em nossas análises para o óleo das flores da *P. pudica*, também são relatados nos óleos essenciais de outras espécies do gênero *Plumeria*. O óleo essencial da *P. rubra* (flor vermelha) analisado por Tohar et al., (2006) coletados na Malásia apresentaram como constituintes majoritários ácido palmítico (27,2%) e ácido linoleico (20,7%). O ácido palmítico também foi encontrado no óleo essencial da *P. acuminata* com 32,7% (OAZI et al., 1973). Tohar et al., (2006) identificou nos óleos das flores de *P. rubra* (rosa) o ácido láurico (30,8%) como constituinte majoritário.

Obuzor e colaboradores, 2011, obtiveram na Nigéria, a composição química do óleo essencial da *P. rubra* e relataram como constituinte majoritário o nonadecano (15,63%). Esse resultado está de acordo com os aqui encontrados para a composição química dos óleos essenciais das folhas e flores de *P. pudica*, que revelou a presença de diferentes hidrocarbonetos

como, *n*-pentadecano (0,78% folhas) (0,68% flores), *n*-hexadecano (1,74% folhas) (0,67% flores), heptadecano (1,68% flores), octacosano (0,90% flores), tetracontano (4,31% flores).

No Rio de Janeiro, o óleo essencial das flores de *P. rubra* foi analisado por Barreto e colaboradores (2014) e revelou a presença do humuleno no óleo. De forma semelhante, o óleo das folhas e flores de *P. pudica* aqui investigados também apresentou o α -humuleno com 1,73% e 0,06% respectivamente.

Salicilato de benzila foi identificado como constituinte majoritário dos óleos essenciais das flores de *P. alba* (33,98±0,04%) coletado na Índia (SAHOO et al, 2021), flores de *P. rubra* (26,7%) coletada na Índia (GOSWAMI et al., 2016), flores de *P. obtusa* (27,58%) coletada na Tailândia (PITPIANGCHAN et al., 2009) flores de *P. obtusa* (45,4%) e *P. rubra* (20,9%) (flor laranja) coletada na Malásia (TOHAR et al., 2006) e flores de *P. acuminata* (TOHAR et al. 2006). Entretanto, o óleo essencial das folhas e flores de *P. pudica* que obtivemos não apresenta esse composto.

Em estudo realizado Zhang et al, (2016) com o óleo das flores de *P. rubra* forma acutifólia coletada na China, revelou em sua composição química a presença do *trans*-Nerolidol. Porém, no óleo essencial das folhas e flores de *P. pudica* não é encontrado esse composto.

Os óleos essenciais das folhas e flores de *P. alba* coletado na Nigéria, e revelou a presença do limoneno (9,1%) e linalol (13,2%) como compostos majoritários (LAWALA et al, 2014). Este resultado está de acordo para o encontrado para o óleo essencial das flores de *P. rubra* forma acutifólia obtido por Omata et al., (1991), que também revelou a presença do Linalol. Por outro lado, em nossas análises para o óleo essencial das folhas e flores de *P. pudica* esses compostos não são detectados.

Liu e colaboradores (2012), analisaram a composição química dos óleos essenciais das flores de *P. rubra* e *P. rubra* variedade acutifólia coletado na China, relatando como constituintes majoritários o 9-hexacoseno (14,6%) e ácido hexadecanóico (35,8%), respectivamente. A presença do ácido hexadecanoico também foi detectada na composição química das flores da *P. acuminata* (flor amarela) coletado na Malásia por Tohar et al. (2006) que revela com percentual de 36,2%. O mesmo composto também foi identificado no óleo das flores de *P. alba* (33,56 – 41,31%) coletado na Indonésia (WARTINI et al., 2014). A composição química do óleo essencial das folhas e flores da *P. pudica* não revelou a presença desses compostos.

Em 2011, Xiao et al, analisou a composição química dos óleos essenciais de *P. rubra* e obteve como composto em maior abundância o 1, 6, 10-dodecatrien-3-ol e o 3, 7, 11-trimetil ácido benzoico. Esses constituintes não são encontrados no óleo essencial das folhas e flores de *P. pudica*.

Na China, Gong e colaboradores (2019), analisou a composição químicas das flores de *P. rubra* e relataram como constituinte principal o α -camfolenona (7,12 – 34,43%). Omata et al. (1992) analisou as flores de *P. rubra* e obteve o β -feniletilo como composto majoritário. Na *P. pudica*, tanto no óleo das folhas, quanto das flores, este composto não foi detectado.

Essa variabilidade observada nas composições químicas dos óleos essenciais das diferentes espécies do gênero *Plumeria*, pode ser justificada por conta de fatores genéticos, diferentes regiões de coleta, estação do ano e fatores fisiológicos (MORAIS, 2009).

5.3 Bioensaio de toxicidade

O teste do bioensaio de toxicidade residual larval foi realizado com o óleo essencial das flores de *P. pudica* através do contato residual, onde foi aplicado a solução do óleo em discos de couve e em seguida adicionado as pragas, e do contato direto, onde primeiramente são adicionadas as pragas nos discos de couve e em seguida aplicada a solução do óleo. O teste foi realizado nas concentrações de 10 μ L/mL e 15 μ L/mL sobre a *Plutella xylostella*. Para o contato residual o óleo essencial não revelou toxicidade sobre a praga. Já para o ensaio de contato direto, a concentração de 10 μ L/mL apresentou uma taxa de mortalidade de 92% e a concentração de 15 μ L/mL apresentou uma taxa de mortalidade de 93,10%.

Tabela 3. Pré-teste do bioensaio de toxicidade residual e de contato direto.

<i>P. pudica</i>		
Concentração μ L/mL	Contato residual	Contato direto
10	0%	92%
15	0%	93,10%

5.4 Inibição Acetilcolinesterase

A enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas é a acetilcolinesterase (AChE). O bom funcionamento do sistema

colinérgico depende de níveis normais de ACh, um transmissor envolvido no aprendizado e na memória (VINUTHA et al., 2007). Este neurotransmissor é encontrado no cérebro e junções neuromusculares e a hidrólise da acetilcolina é essencial para que as transmissões sinápticas colinérgicas ocorram antes da chegada de um novo impulso elétrico (SANTOS, 2009). Esse processo é realizado pela enzima AChE, que no sistema nervoso, age como mediadora das sinapses.

Dentre os “defensivos agrícolas” mais conhecidos, os organofosforados e carbamatos possuem o mecanismo de ação tóxica de inibição da enzima acetilcolinesterase, presente nas sinapses nervosas do sistema nervoso central e periférico, por isso são grupo de inseticidas genericamente conhecidos como anticolinesterásicos. Esses defensivos atuam basicamente nos insetos através da via da acetilcolinesterase, porém acabam sendo tóxicos também aos mamíferos, daí a importância da busca de compostos que atuem através de outras vias metabólicas nos insetos e assim apresentem uma menor toxicidade aos mamíferos.

O teste de inibição da enzima de AChE foi realizado com os OE das folhas e flores da *P. pudica* utilizando as concentrações 0,78-100 µg/mL. O resultado do teste é observado na tabela 4.

Tabela 4. Resultado da avaliação do teste de inibição da enzima AChE do óleo essencial das folhas e flores de *P.*

<i>pudica</i> .	
Amostras	IC ₅₀ µg/mL (± DP)*
<i>P. pudica</i> folha	16,61 (± 2,12)
<i>P. pudica</i> flor	9,94 (± 1,39)
Controle (cloridrato de donepizila)	5,95 (± 1,45)

DP = Desvio Padrão; *Intervalo de Confiança 95%

De acordo com os resultados obtidos, o óleo essencial das flores foi o que apresentou a maior inibição da AChE. Este resultado está de acordo com os reportados por Suriyakala e colaboradores para os extratos das flores de *Plumeria pudica* na forma de nanopartículas de prata, que se mostrou ativo em concentrações de 0,25-1,50 µg/mL. Porém, nenhum óleo foi mais ativo do que o cloridrato de donepizila usado como controle positivo.

5.5 Atividade de citotoxicidade frente à *Artemia salina*

O ensaio de citotoxicidade frente a *Artemia salina* foi realizado em triplicata para o OE das folhas e flores de *P. pudica*. Para as concentrações testadas (10-100 µg /mL) para os dois óleos apresentaram nenhuma toxicidade, não há relatos na literatura dessa atividade realizada para esses óleos. Esse resultado de baixa toxicidade para espécies do gênero *Plumeria* está de acordo com a literatura que relata uma dose letal media (DL₅₀) para os extratos de *Plumeria rubra* a uma concentração de 478,75 ppm para os extatos etanólico das flores e 818,28 ppm para o extrato das folhas (FONSECA et al., 2020).

5.6 Atividade antioxidante

O índice de atividade antio-xidante para os radicais livres DPPH[·] foi calculado de acordo com Scherer e Godoy, (2009). Para os radicais livres ABTS^{·+} a eficiência antirradicalar foi estabelecida por meio de uma análise de regressão linear e o intervalo de confiança de 95%, calculado e obtido pelo programa estatístico GranphPad Prism 5.0. O valor obtido representa a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais, e será expresso através da Concentração Efetiva média (CE₅₀). Essa análise de regressão linear e intervalo de confiança foi realizada também para os resultados do teste para os radicais livres DPPH[·]. Os resultados do ABTS^{·+} e DPPH[·] foram comparados como sendo as referências de antioxidante, o TROLOX e o ácido ascórbico, respectivamente, como pode ser visto na Tabela 5.

Tabela 5. Atividade antioxidante dos óleos essenciais das folhas e flores espécies de *Plumeria*.

Amostra	CE ₅₀ µg/ml (IC 95%)	
	DPPH [·]	ABTS ^{·+}
<i>P. pudica</i> (folha)	193,6 (160,3 - 221,8)	20,3 (15,9 - 22,1)
<i>P. pudica</i> (flores)	249,7 (245,6-254,0)	146,4 (143,3-148,8)
Ac. ascórbico	1,627 (1,431-1,824)	-
TROLOX	-	4,136

(3,719-5,825)

Ácido ascórbico e TROLOX (ácido 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxílico) foram usados como antioxidantes de referência. IC = Intervalo de confiança.

Os dois óleos exibiram atividade antioxidante (Tabela 5). O melhor resultado no teste DPPH[·] e no teste com o radical ABTS^{·+} foram encontrados para o óleo das folhas. Os resultados para o óleo das folhas podem ser explicados pelo fato desse óleo apresentar em sua composição a presença de compostos oxigenados como o (2E)-hexenal (40,57%) e o fitol (24,57%) em sua composição. Propriedade antioxidante é bem relatada para compostos que contém funções de aldeído e álcool como os encontrados em altas porcentagens no óleo das folhas de *P. pudica* (EL-GAWAD, 2016; NOGUEIRA NETO et al., 2013).

Comparando os resultados aqui obtidos para o teste DPPH[·] realizado por Fonseca e colaboradores (2020), para o extrato etanólico das folhas (495,17 ppm) e flores (782,35 ppm) de *Plumeria rubra* coletada no Ceará, verifica-se que os óleos da *P. pudica* foi mais ativo. Por outro lado, os resultados aqui obtidos no teste de DPPH[·] não diferiram estatisticamente para os resultados observados para o extrato metanólico das flores de *Plumeria rubra* coletada na Malásia (MOHAMED et al., 2018).

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456, pp. 544-545). **Carol Stream: Allured publishing corporation.**

AHMED, A. S., AHMED, Q. U., SAXENA, A. K., & JAMAL, P. (2017). Evaluation of in vitro antidiabetic and antioxidant characterizations of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton (Zingiberaceae), *Piper cubeba* L. f.(Piperaceae), and *Plumeria rubra* L.(Apocynaceae). **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 30(1).

AKHTAR, N., SALEEM, M., Riaz, N., ALI, M. S., YAGOOB, A., & JABBAR, A. (2013). Isolation and characterization of the chemical constituents from *Plumeria rubra*. **Phytochemistry letters**, 6(2), 291-298.

ALENCAR, N. M. N. D., PINHEIRO, R. S. P., FIGUEIREDO, I. S. T. D., LUZ, P. B., FREITAS, L. B. N., SOUZA, T. D. F. G. D., ... & Ramos, M. V. (2015). The Preventive effect on ethanol-induced gastric lesions of the medicinal plant *Plumeria rubra*: involvement of the latex proteins in the NO/cGMP/KATP signaling pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2015.

ALMEIDA, J. C.; ALMEIDA, P. P.; GHERARDI, S. R. M. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Revista Eletrônica Nutri Time**, Nº 1, v. 17, p. 8623-8633, 2020.

DA FONSECA, A. M. 1,2,* , FERNANDES, O. L. G. 1, COLARES, R. P. 1, MARIA MEIRU, I. L. 2, FERREIRA, M. N. A. 2, COSTA, H. P. 2, XAVIER, M. R.C. 3, ARAÚJO, M. R. SILVA DE 1, RIBEIRO, L. P. D. 2, ALCÓCER, J. C. A. 2, PINTO, O. R. DE O. 2 AND CANUTO, K. M. 4. Phytochemical study and evaluation of the biological activity of the species jasmim (*Plumeria rubra* L.). **International Journal of Development Research** Vol. 10, Issue, 01, pp. 32985-32995, January, 2020.

BANDEIRA, G. N., DA CAMARA, C. A. G., DE MORAES, M. M., BARROS, R., Muhammad, S., & AKHTAR, Y. (2013). Insecticidal activity of *Muntingia calabura* extracts against larvae and pupae of diamondback, *Plutella xylostella* (Lepidoptera, Plutellidae). **Journal of King Saud University-Science**, 25(1), 83-89.

BARRETO, A. D. S., AMARAL, A. C. F., SILVA, J. R. D. A., SCHRIPSEMA, J., REZENDE, C. M., & PINTO, A. C. (2007). Ácido 15-desmetilisoplumierídeo, um novo iridóide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himatanthus sucuuba*. **Química nova**, 30, 1133-1135.

BARRETO, A. D. S., FELICIANO, G. D., NASCIMENTO, C. D. C., PINTO, P. R., REZENDE, C. M., & PINTO, A. D. C. (2014). Volatile composition of three Floral variety of *Plumeria rubra*. **International Journal of Current Microbiology and applied sciences**, 3(8), 598-607.

BIHANI, T. (2021). *Plumeria rubra* L.–A review on its ethnopharmacological, morphological, phytochemical, pharmacological and toxicological studies. **Journal of Ethnopharmacology**, 264, 113291.

BIHANI, T., & Mhaske, N. (2020). Evaluation of in vivo wound healing activity of *Plumeria obtusa* L.(Champa) spray in rats. **Wound Medicine**, 28, 100176.

Bizzo, H. R., HOVELL, A. M. C., & REZENDE, C. M. (2009). Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, 32, 588-594.

BURONFOSSE, T; BURONFOSSE, F. (1995). Intoxications des carnivores domestiques par les inhibiteurs des cholinestérasés. **Recueil de Médecine Vétérinaire: spécial toxicologie des carnivores domestiques**, 135-141.

CHAMAKURI, S. R., SUTTEE, A., & MONDAL, P. (2020). An eye-catching and comprehensive review on *Plumeria pudica* Jacq.(Bridal Bouquet). **Plant Archives**, 20(2), 2076-2079.

COUTINHO, T. S., & LOUZADA, R. B. (2018). Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Apocynaceae. **Rodriguésia**, 69, 699-714.

DE MORAIS, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. **Congresso Brasileiro de Olericultura**, Águas de Lindóia, SP.

DESBOIS, A. P., SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Appl Microbiol Biotechnol**, n. 85, p. 1629–1642, 2010.

DEY, A., & MUKHERJEE, A. (2015). *Plumeria rubra* L.(Apocynaceae): ethnobotany, phytochemistry and pharmacology: a mini review. **Journal of Plant Sciences**, 10(2), 54.

DIAS, D. G., SOARES, C. M. S., & MONNERAT, R. (2004). Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira**, 22, 553-556.

EL-GAWAD, A.M.A. (2016). Chemical constituents, antioxidant and potential allelopathic effect of the essential oil from the aerial parts of *Cullen plicata*. **Ind Crops Prod**. 80:36-41.

Farmacognosia: do produto natural ao medicamento (recurso digital) / Organizadores, Cláudia Maria Oliveira Simões et al. – Porto Alegre: Artmed, 2017. **e-PUB**.

FERNANDES, H. B., MACHADO, D. L., DIAS, J. M., BRITO, T. V., BATISTA, J. A., SILVA, R. O., ... & OLIVEIRA, J. S. (2015). Laticifer proteins from *Plumeria pudica* inhibit the inflammatory and nociceptive responses by decreasing the action of inflammatory mediators and pro-inflammatory cytokines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 25, 269-277.

FINNEY, D.J., Probit Analysis, 3rd ed. **Cambridge University Press**, London. 1971.

FUMAGALI, E., GONÇALVES, R. A. C., MACHADO, M. D. F. P. S., VIDOTI, G. J., & OLIVEIRA, A. J. B. D. (2008). Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18, 627-641.

FURLONG, M. J., WRIGHT, D. J., & DOSDALL, L. M. (2013). Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annu. Rev. Entomol.*, 58(1), 517-541.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. Entomologia agrícola. Piracicaba: **FEALQ**, 2002. 920 p. il. (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 10).

GONG, W. C., XU, S. J., LIU, Y. H., WANG, C. M., MARTIN, K., & MENG, L. Z. (2019). Chemical composition of floral scents from three *Plumeria rubra* L.(*Apocynaceae*) forms linked to petal color proprieties. **Biochemical Systematics and Ecology**, 85, 54-59.

GOSWAMI, P., CHAUHAN, A., VERMA, R. S., & PADALIA, R. C. (2016). Chemical constituents of floral volatiles of *Plumeria rubra* L. from India. **Med Aromat Plants**, 3, 005.

HARADA, T. N. Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais. 2009. 92 f. **Dissertação** (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região CentroOeste) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009

ISLAM, M. S., & LUCKY, R. A. (2019). A study on different plants of Apocynaceae family and their medicinal uses. **J Pharm Res**, 4(1), 40-44.

LAWAL, O. A., OGUNWANDE, I. A., & OPOKU, A. R. (2014). Constituents of essential oils from the leaf and flower of *Plumeria alba* grown in Nigeria. **Natural Product Communications**, 9(11), 1934578X1400901121.

LIU, Y., WANG, H., WEI, S., & YAN, Z. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils extracted by microwave-assisted hydrodistillation from the flowers of two *Plumeria* species. **Analytical letters**, 45(16), 2389-2397.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos Essenciais: Aspectos gerais e usos em Terapias Naturais. **Cadernos acadêmicos**, Tubarão, v. 3 (2), p. 105-127, 2011.

MEYER, B. N. N R FERRIGNI, J E PUTNAM, L B JACOBSEN, D E NICHOLS, J L MCLAUGHLIN. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Med.** 1982 May;45(5):31-4. doi: 10.1055/s-2007-971236.

MOHAMED ISA, S. S. P., ABLAT, A., & MOHAMAD, J. (2018). The antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activity of *Plumeria rubra* flowers. **Molecules**, 23(2), 400.

NASCIMENTO J. E.; MELO A. F. M.; LIMA T. C.; VERAS FILHO J.; SANTOS E. M.; ALBUQUERQUE U. P.; AMORIM E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (*Phyllanthaceae*). **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 145-150, 2008

NASCIMENTO, R. S. Ácidos graxos e óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (*Arecaceae*): composição química e atividade anti-*Staphylococcus aureus*. Programa de Pós-graduação em bioquímica e fisiologia. Universidade Federal de Pernambuco (2014) 79p.

NOGUEIRA NETO, J.D.; SOUSA, D.P.D.; FREITAS, R.M. (2013). Avaliação do potencial antioxidante in vitro do nerolidol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 34(1), 125-130.

OBUZOR, G. U., & NWEKE, H. C. (2011). Fatty acids characterization of *Plumeria rubra* from Port Harcourt, Nigeria. **International Journal of Academic Research**, 3(4), 538-544.

OMATA, A., YOMOGIDA, K., NAKAMURA, S., HASHIMOTO, S., ARAI, T., & FURUKAWA, K. (1991). Volatile components of *plumeria* flowers. part 1. *Plumeria rubra* forma *Acutifolia* (poir.) woodson cv. 'common yellow'. **Flavour and fragrance journal**, 6(4), 277-279.

PADIAL, I. M. P. M., DA SILVA MATIASSO, A., DE SOUZA, S. A., & MUSSURY, R. M. (2020). Efeito de extratos vegetais de *Styrax camporum Pohl.* sobre a oviposição de *Plutella xylostella* (L., 1758)(Lepidoptera: Plutellidae). **Brazilian Journal of Development**, 6(9), 67038-67055.

PAULETTI, G. F.; SILVESTRE, W. P. Óleo essencial cítrico: produção, composição e fracionamento. **Citricultura do Rio Grande do Sul - Indicações Técnicas, 1st edn. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação**, Porto Alegre, p. 245–269, 2018.

PAULO : **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**, 2012.

PRAKASH, N. U., BHUVANESWARI, S., SRIPRIYA, N., PRAMEELA, L., BHAGYA, R., RADHIKA, B., ... & AROKIYARAJ, S. (2014). Antioxidant activity of common plants of Northern Tamil Nadu, India. **Int J Pharm Pharm Sci**, 6(4), 128-32.

QAZI, G. A., OSMAN, S. M., & SUBBARAM, M. R. (1973). Minor seed oils from plant families, Verbenaceae and *Apocyanaceae*. **J. Oil Technol. Ass. India**, 5(2), 14.

RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M. I.; THOMSON, W. J. Bioassay techniques for drug development, **Harwood academic publishers**, 200

RAVISHANKAR, K., KIRANMAYI, G. V. N., & KALA, M. L. Comparitive in vitro, in vivo anti-arthritic and anti-inflammatory activities of *Plumeria pudica* Jacq., **Enum. Syst. Pl.** 13 1760 and *Plumeria rubra* L. Sp. Pl. 209 1753 in albino rats.

RESENDE, C. M., PINTO, P. R., NASCIMENTO, C. C. H., DE VASCONCELOS, S. D. D., AZEVEDO, L. A. C., STEPHENS, P. R. S., ... & PINTO, A. C. (2018). Terpenoids and

phytosterols isolated from *Plumeria rubra* L., form *acutifolia* (ait) woodson and its fungus parasite *colesporium plumeriae*. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, 6(6), 15-22.

RONDELLI, V. (2010). Desempenho do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e do óleo de mamona para o controle de *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae). **Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco**, 47p.

RONDELLI, V. M., PRATISSOLI, D., MARQUES, E. J., DOS SANTOS JUNIOR, H. J., DE ALENCAR, J. R. D. C., STURM, G. M., & PAES, J. P. P. (2012). Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* potenciais para o controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, 30, 391-396.

RUIZ-RODRIGUEZ, A., REGLERO, G., IBAÑES, E. Recent trends in the advanced analysis of bioactive fatty acids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 51, p. 305– 326, 2010.

SAHOO, A., DASH, B., JENA, S., RAY, A., PANDA, P. C., & NAYAK, S. (2021). Phytochemical composition of flower essential oil of *Plumeria alba* grown in India. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 24(4), 671-676.

SANTANA, M. L., MELO, J. P. D., CAMARA, C. A. D., MORAES, M. M., ARAUJO, C. A., VASCONCELOS, G. J. D., ... & ZARTMAN, C. E. (2022). Lethal and sublethal effects of essential oils from *Piper capitarianum* Yunck and *Piper krukoffii* Yunck on *Plutella xylostella* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 94.

SANTOS, P.I.M. (2009). Avaliação da toxicidade aguda do inseticida metomil e o seu efeito sobre a atividade de acetilcolinesterase do peixe *Danio rerio*. Natal, RN. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SANTOS, R. B. D. (2019). Análise comparativa do potencial inseticida dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Melaleuca leucadendra* sobre a traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*) (**Bachelor's thesis**, Brasil).

SARFRAZ, M., KEDDIE, A. B., & DOSDALL, L. M. (2005). Biological control of the diamondback moth, *Plutella xylostella*: a review. **Biocontrol Science and Technology**, *15*(8), 763-789.

SILVA, T. M. S., CAMARA, C. A., DA SILVA LINS, A. C., BARBOSA-FILHO, J. M., DA SILVA, E. M. S., FREITAS, B. M., & DOS SANTOS, F. D. A. R. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of food composition and analysis**, *19*(6-7), 507-511.

SOUSA JÚNIOR, J. C. D., & JARDIM, J. G. (2021). Apocynaceae in the Atlantic Forest of Rio Grande do Norte, Brazil. **Rodriguésia**, *72*.

SURIYAKALA, G., SATHIYARAJ, S., GANDHI, A. D., VADAKKAN, K., RAO, U. M., & BABUJANARTHANAM, R. (2021). *Plumeria pudica* Jacq. flower extract-mediated silver nanoparticles: characterization and evaluation of biomedical applications. **Inorganic Chemistry Communications**, *126*, 108470.

THULER, R. T., DE BORTOLI, S. A., & BARBOSA, J. C. (2007). Effectiveness of chemical insecticides and plant products for the control of *Plutella xylostella*. **Científica (Jaboticabal)**, *35*(2), 166-174.

TOHAR, N., AWANG, K., MOHD, M. A., & JANTAN, I. (2006). Chemical composition of the essential oils of four *Plumeria* species grown on Peninsular Malaysia. **Journal of Essential Oil Research**, *18*(6), 613-617.

TOHAR, N., MOHD, M. A., JANTAN, I., & AWANG, K. (2006). A comparative study of the essential oils of the genus *Plumeria* Linn. from Malaysia. **Flavour and fragrance journal**, *21*(6), 859-863.

VARÓ, I.; NAVARRO, J. C.; AMAT, F.; GUILHERMINO, L. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. **Chemosphere**, v. 48, n. 6, p. 563-569, 2002.

VELLOSO, C. R. X. (1998). Triterpenos isolados de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) e diterpenos isolados de *Pinus caribaea* var. **Bahamensis Barr et Golf**.

VINUTHA, B.; PRASHANTH D.; SALMA K.; SREEJA SL.; PRATITI D.; PADMAJA R.; RADHIKA S.; AMIT A.; VENKATESHWARLU K.; DEEPAK M. (2007). Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, 109, 359-63.

WARTINI, N. M., PUTRA, G. G., & INA, P. T. (2014). Chemical composition of essential oil of Cendana Frangipani flower (*Plumeria alba*) with re-extraction using ethanol solvents. **Agroindustrial Journal**, 3(2), 158.

XIAO, X. Y., CUI, L. H., ZHOU, X. X., WU, Y., & GE, F. H. (2011). Research of the essential oil of *Plumeria rubra* var. *actifolia* from Laos by supercritical carbon dioxide extraction. *Zhong yao cai Zhongyaocai* **Journal of Chinese Medicinal Materials**, 34(5), 789-794.

ZHANG, S., DONG, J., & CHENG, H. (2016). Essential Oil Composition of the Flowers of *Plumeria rubra* cv. *acutifolia* from China. **Chemistry of Natural Compounds**, 52(1), 154-154.