

LUCIANA MENDES DE SOUZA

**FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
VARIAÇÃO SAZONAL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA
ORIGANOIDES* KUNTH.)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientador: **Prof. Ernane Ronie Martins**

Coorientadora: **Francine Sousa Alves da
Fonseca**

Montes Claros
2015

**S719f
2013**

Souza, Luciana Mendes.

Flavonoides totais, atividade antioxidante e variação sazonal da composição química do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) / Luciana Mendes de Souza. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2015.

116 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

Orientador: Ernane Ronie Martins.

Banca examinadora: Francine Sousa Alves da Fonseca, Lourdes Silva de Figueiredo, Janini Tatiane Lima Souza Maia, Ernane Ronie Martins.

Inclui bibliografia: f. 105-116.

1. Flavonoides totais. 2. Óleo essencial. 3. Alecrim-pimenta. I. Martins, Ernane Ronie. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Flavonoides totais, atividade antioxidante e variação sazonal da composição química do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.).

CDU: 633.88

Elaborada pela BIBLIOTECA COMUNITÁRIA DO ICA/UFMG

LUCIANA MENDES DE SOUZA

**FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VARIAÇÃO
SAZONAL DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.)**

Prof. Dr. Ernane Ronie Martins
Orientador (UFMG/ICA)

Aprovada em 27 de fevereiro de 2015.

Montes Claros
2015

Dedico à minha família que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que permitiu que eu vivesse essa experiência, por me iluminar e por sempre me guiar na jornada da vida.

Ao professor Ernane Ronie Martins, pela orientação, amizade, paciência, conselhos e preocupação.

À Dr^a Francine, pela coorientação, pela grande contribuição nesse trabalho. Por sempre se preocupar comigo e estar sempre disposta a ajudar. Pelo otimismo, força, motivação e apoio nos momentos difíceis, por dividir comigo alegrias e tristezas. Amizade, conversas, convivência e conselhos foram preciosos nessa caminhada.

À minha mãe, Luci, ao meu pai, Joaquim, e ao meu irmão, Leonardo, pelo apoio, pela compreensão e ajuda nos momentos difíceis, pelos conselhos e carinho. À minha avó Geralda, pelo carinho, amor e preocupação. Aos tios, tias, primos e primas que sempre torceram por mim.

Ao pessoal do Laboratório de Plantas Medicinais e PET/SESU, Nurys, Amanda, Júlio, Lorena, Sofia, Carol, Túlio pela amizade, brincadeiras e conversas divertidas e pela ajuda nas partes difíceis da realização do trabalho. Com certeza, sem vocês não seria possível.

Aos colegas do Mestrado, pelas conversas, apoio, por dividir as dúvidas, ideias. Em especial, Julian, pela amizade e ajuda sempre que precisei.

À Fátima, pela amizade e ajuda, e aos amigos que torceram por mim.

Ao laboratório de Química, à Ane, pela realização das análises, e ao professor Flaviano e à professora Gevany, pela ajuda e disponibilidade.

À Universidade Federal de Minas Gerais, pela oportunidade de concluir o mestrado.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

Lippia origanoides Kunth. é um arbusto nativo do Nordeste da América do Sul, usado como condimento e para fins medicinais. O óleo essencial produzido por essa espécie apresenta atividade antimicrobiana e possui como marcadores químicos: o timol e o carvacrol. No entanto, é reportado que essa espécie apresenta variação na composição química e, por isso, é classificada em quimiotipos. Além do óleo essencial, há presença de flavonoides, que atuam como antioxidantes. O objetivo deste trabalho foi determinar o teor de flavonoides, a atividade antioxidante, e estudar a variação sazonal na composição química do óleo essencial de *L. origanoides*. O primeiro estudo foi realizado com uma população natural de *L. origanoides*, com 30 indivíduos coletados na estação seca e na chuvosa. E o segundo estudo foi realizado com acessos da coleção do banco de germoplasma *in vivo* de *L. origanoides* do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG). Foram feitas coletas mensais de oito acessos durante um ano. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A análise multivariada foi empregada para avaliar a divergência genética entre as plantas da população natural. O teor de flavonoides dos acessos do banco de germoplasma foi determinado pelo método do cloreto de alumínio ($AlCl_3$) e expresso em miligrama de rutina equivalente ($mg\ RE\ g^{-1}$). A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radical DPPH, a concentração eficiente (CE_{50}) foi calculada a partir de equações obtidas da regressão quadrática, e o índice de atividade antioxidante foi calculado através da concentração do DPPH pela CE_{50} . Os resultados dos flavonoides e da atividade antioxidante foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey. O coeficiente de correlação de Pearson foi empregado para avaliar a relação existente entre flavonoides e atividade antioxidante. O teor do óleo essencial da população natural foi maior na estação chuvosa. O carvacrol foi o composto majoritário na maioria das plantas estudadas nas duas estações. O agrupamento de Tocher revelou cinco grupos distintos, sendo que o grupo 1 reuniu 26 das 30

plantas estudadas na estação seca e chuvosa, indicando que a época do ano avaliada não interferiu de forma significativa na composição do óleo essencial. Apenas quatro plantas foram alocadas em grupos distintos, ou seja, ocorreram diferenças importantes entre as duas estações para essas plantas. O teor do óleo essencial nos acessos do banco de germoplasma variou de 2,20% a 4,18%. Cinco acessos foram considerados estáveis quanto à composição química, já que os compostos majoritários não variaram durante o ano. Nesses acessos, o carvacrol foi o composto majoritário. Três acessos foram considerados instáveis, já que apresentaram compostos majoritários diferentes durante o ano. Para esses acessos, os majoritários foram o eucaliptol, carveol e o α -pineno. O valor médio de flavonoides dos acessos do banco de germoplasma foi de 254,55 mg RE g⁻¹ e seus extratos apresentaram moderada atividade antioxidante. Os flavonoides totais tiveram uma correlação positiva ($r=0,83$) com a atividade antioxidante.

Palavras-chave: CG-EM, DPPH, germoplasma, Cerrado, flavonoides, atividade antioxidante.

ABSTRACT

Lippia origanoides Kunth. is a shrub originating from the northeast of South America, used as a condiment and for medicinal purposes. The essential oil produced by this species presents antimicrobial activity and contains the following chemical markers: thymol and carvacrol. However, it is reported that this species presents variation in its chemical composition, therefore it is classified as chemotypes. Besides the essential oil, there are flavonoids, which act as antioxidants. The objective of this study was to determine the flavonoid content and the antioxidant activity, in addition to studying the seasonal variation in the chemical composition of the *L. origanoides* essential oil. The first study was conducted with a natural population of *L. origanoides*, with 30 individuals collected both in the dry season and the rainy season. The second study was conducted with accessions from the collection of germplasm bank of *L. origanoides* in vivo at the Institute of Agricultural Sciences of the Federal University of Minas Gerais (ICA-UFMG). Monthly collections of eight accessions were held during one year. The essential oil was extracted by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Multivariate analysis was used to evaluate the genetic divergence among the plants of the natural population. The content of flavonoids in the germplasm bank accessions was determined by aluminum chloride method (AlCl_3) and expressed in milligrams of rutin equivalent (mg RE g^{-1}). The evaluation of antioxidant activity was conducted by radical DPPH sequestration method, the effective concentration (EC_{50}) was calculated with the equations obtained from the quadratic regression, and the index of antioxidant activity was calculated using the concentration of DPPH divided by EC_{50} . The results of flavonoids and antioxidant activity were submitted to analysis of variance and the averages were compared by Tukey test. The Pearson correlation coefficient was used to evaluate the relationship between flavonoids and antioxidant activity. The yield of essential oil in the natural population was higher in the rainy season. Carvacrol was the major compound in most plants studied in both seasons. Tocher grouping revealed five distinct groups. Group 1 contained 26 of the 30 plants studied in both dry and rainy seasons, indicating that the time of the year evaluated did not

interfere significantly in the essential oil composition. Only four plants were divided into different groups, i.e., there were important differences between the two seasons for these plants. The yield of essential oil in the germplasm bank accessions ranged from 2.20% to 4.18%. Five accessions were considered stable regarding the chemical composition, since the major compounds did not vary during the year. In these accesses, carvacrol was the major compound. Three accessions were considered unstable, since they presented different major compounds during the year. For these accessions, the major compounds were eucalyptol, carveol and α -pinene. The average amount of flavonoids in the accesses from the germplasm bank was 254.55 mg RE g⁻¹ and its extracts showed moderate antioxidant activity. The total flavonoid had a positive correlation ($r = 0.83$) with antioxidant activity.

Keywords: GC-MS, DPPH, germplasm, Cerrado, flavonoids, antioxidant activity, essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

FIGURA 1- Estrutura química do timol e carvacrol..... **29**

CAPÍTULO 2 – TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE POPULAÇÃO NATURAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) EM DUAS ESTAÇÕES

FIGURA 1- Área de coleta no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, Minas Gerais, com os indivíduos marcados dos quais foram coletadas as folhas para extração e análise de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.)..... **37**

FIGURA 2- Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) de população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca **51**

FIGURA 3- Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) de população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca **52**

FIGURA 4- Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) de população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa..... **54**

FIGURA 5- Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) de população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa..... **55**

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 3 – FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VARIÇÃO SAZONAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) DO BANCO DE GERMOPLASMA DO ICA/UFMG

FIGURA 1 - Curva padrão de rutina utilizada na determinação de flavonoides totais em acessos de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **81**

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 2 – TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE POPULAÇÃO NATURAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) EM DUAS ESTAÇÕES

GRÁFICO 1 – Teor (%) de óleo essencial das folhas de 30 plantas de uma população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, coletadas na estação seca e na estação chuvosa. **41**

GRÁFICO 2 – Dados climatológicos no período de coleta da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, no mês de maio de 2013 (estação seca) e no mês de fevereiro de 2014 (estação chuvosa). **42**

GRÁFICO 3 – Teor médio (%) e desvio padrão do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) de uma população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca (maio de 2013) e na estação chuvosa (fevereiro de 2014). **43**

GRÁFICO 4 – Teor de carvacrol e timol (%) quantificado pelo CG-DIC nas amostras do óleo essencial de 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca. **44**

GRÁFICO 5 – Teor (%) de carvacrol e timol quantificado pelo CG-DIC nas amostras do óleo essencial de 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa. **45**

GRÁFICO 6 – Média do teor (%) de carvacrol e desvio padrão das 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do

Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, nas estações seca e chuvosa. 46

GRÁFICO 7 – Média do teor (%) de timol e desvio padrão das 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, nas estações seca e chuvosa. .. 47

GRÁFICO 8 – Teor (%) dos principais compostos detectados nas 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca. 48

GRÁFICO 9 – Teor (%) dos principais compostos detectados no óleo essencial das 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa. 48

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 3 – FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VARIAÇÃO SAZONAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) DO BANCO DE GERMOPLASMA DO ICA/UFMG

GRÁFICO 1 – Teor (%) médio do óleo essencial das folhas de oito acessos do banco de germoplasma de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, durante um ano. **83**

GRÁFICO 2 – Teor (%) do óleo essencial das folhas de oito acessos do banco de germoplasma de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, durante um ano, junho de 2013 a maio de 2014..... **85**

GRÁFICO 3 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 1 (Salinas, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **87**

GRÁFICO 4 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 2 (Turmalina, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **88**

GRÁFICO 5 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 3 (Turmalina, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **89**

GRÁFICO 6 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 6

(Cristália, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **90**

GRÁFICO 7 - Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 7 (Montes Claros, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **91**

GRÁFICO 8 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 9 (Glaucilândia, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **92**

GRÁFICO 9 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 11 (Buenópolis, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **93**

GRÁFICO 10 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 12 (Buenópolis, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **94**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE POPULAÇÃO NATURAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) EM DUAS ESTAÇÕES

1 - Agrupamento das plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, segundo método de otimização de Tocher. **57**

2 - Abundância relativa (%) dos compostos químicos detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) da população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa (fevereiro de 2014) e na estação seca (maio de 2013). **59**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3 – FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VARIAÇÃO SAZONAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) DO BANCO DE GERMOPLASMA DO ICA/UFMG

- 1** - Dados climáticos no período de realização da pesquisa (junho de 2013 a maio de 2014), no Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **86**
- 2** - Abundância relativa (%) dos compostos químicos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, durante junho de 2013 a maio de 2014. **96**
- 3** - Teores médios de flavonoides totais dos extratos das folhas de acessos de *Lippia origanoides* do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias (ICA-UFMG), Montes Claros, MG. **101**
- 4** - Concentração eficiente (CE₅₀), Índice de atividade antioxidante e teores médios de flavonoides totais dos extratos das folhas de acessos de *Lippia origanoides* da coleção de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. **103**

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Plantas medicinais	20
2.2 Metabólitos secundários.....	22
2.3 Óleos essenciais	18
2.4 Alecrim-pimenta – <i>Lippia organoides</i> Kunth.	25
2.4.1 Origem e descrição botânica.....	25
2.4.2 Uso, propriedades farmacológicas e constituição química.....	26
2.4.3 Variabilidade genética	29
2.4.4 Sazonalidade.....	30
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
CAPÍTULO 2 – TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE POPULAÇÃO NATURAL DE ALECRIM-PIMENTA (<i>LIPPIA ORGANOIDES</i> KUNTH.) EM DUAS ESTAÇÕES.....	33
RESUMO.....	33
1 INTRODUÇÃO	35
2 MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1 Coletas	37
2.2 Extração do óleo essencial	38
2.3 Análise cromatográfica – Identificação e Quantificação	38
2.3.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	27
2.3.2 Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas (CG-DIC)	39
2.3.3 Estatística	39

3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1	Teor do óleo essencial	41
3.2	Composição química do óleo essencial.....	31
3.3	Análise de agrupamento	56
4	CONCLUSÃO	58

CAPÍTULO 3 – FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VARIAÇÃO SAZONAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) DO BANCO DE GERMOPLASMA DO ICA/UFMG..... 74

	RESUMO	74
1	INTRODUÇÃO	76
2	MATERIAL E MÉTODOS	78
2.1	Coletas	78
2.2	Extração do óleo essencial	78
2.3	Análise cromatográfica – Identificação	78
2.3.1	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	78
2.4.	Determinação do teor de flavonoides totais.....	79
2.4.1	Preparo dos extratos	79
2.4.2	Estatística	79
2.5	Atividade Antioxidante.....	81
2.5.1	Estatística.....	82
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
3.1	Teor do óleo essencial	83
3.2	Composição química do óleo essencial	86
3.3	Determinação de Flavonoides Totais	100
3.4	Atividade antioxidante	101
4	CONCLUSÃO	104
	REFERÊNCIAS	105

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O emprego de plantas medicinais para a manutenção e a recuperação da saúde tem ocorrido ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local até as formas mais sofisticadas de fabricação industrial de medicamentos (HAMILTON, 2004; LORENZI; MATOS, 2008). Plantas medicinais são assim chamadas por apresentarem propriedades curativas e, ou, preventivas para determinadas doenças (CZELUSNIAK, 2012).

Conhecida popularmente como alecrim-pimenta, *Lippia origanoides* Kunth. é uma planta medicinal nativa da América Central e Nordeste da América do Sul. É um arbusto aromático, ereto e ramificado, que cresce até 3 m de altura, pertencente à família Verbenaceae (PARRA, 2007). Essa espécie é empregada, na culinária, como tempero e, na medicina tradicional, é utilizada para tratamento de doenças gastrointestinais e respiratórias (PASCUAL, 2001).

O óleo essencial obtido das folhas de alecrim-pimenta é um produto natural que possui uma ampla diversidade química e tem, como principais constituintes, o timol e o carvacrol (OLIVEIRA *et al.*, 2006) que apresentaram ação antimicrobiana (HENAO *et al.*, 2009; SARRAZIN *et al.*, 2015; ANDRADE *et al.*, 2014) antiviral (MENESES *et al.*, 2009) e inseticida (CABALLERO-GALLARDO *et al.*, 2012).

Muitas espécies de *Lippia* apresentam variações na composição química do óleo essencial, tendo diferentes quimiotipos sido relatados, com base, nos componentes majoritários encontrados em *L. origanoides* (DOS SANTOS *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2007; MENESES *et al.*, 2009; ROJAS *et al.*, 2006; STASHENKO *et al.*, 2010). Tem sido demonstrado que métodos de extração (STASHENKO *et al.*, 2004) e condições ambientais podem induzir variações significativas no rendimento e na qualidade do óleo essencial (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Em estudos realizados com extratos de populações de *L. origanoides*, além do óleo essencial, tem sido relatada a presença de flavonoides (STASHENKO *et al.*, 2010). Os flavonoides são uma classe de metabolitos

secundários, amplamente distribuídos no reino vegetal (SIMÕES *et al.*, 2004), utilizados pela planta como filtros UV, pois absorvem radiação UV-B sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa (BIEZA; LOIS, 2001). Além disso, podem atuar como antioxidantes (GRACE; LOGAN, 2000).

O objetivo deste trabalho é determinar o teor de flavonoides, a atividade antioxidante e estudar a relação existente entre a variação sazonal e a variação no teor e na composição química do óleo essencial de *L. origanoides*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

As plantas medicinais têm sido um importante recurso terapêutico desde os primórdios da história até nossos dias. As primeiras civilizações perceberam que algumas plantas continham, em sua essência, princípios ativos, os quais, ao serem experimentados no combate às doenças, revelaram empiricamente seu poder curativo (BADKE, 2011).

Planta medicinal é toda e qualquer planta que serve, de alguma maneira, para o tratamento de um problema de saúde, tendo efeito definido sobre doenças e sintomas e com eficácia comprovada cientificamente (CONCEIÇÃO, 2011).

O consumo de plantas medicinais tem base na tradição familiar e tornou-se prática generalizada na medicina popular, sendo considerado uma terapia complementar ou alternativa para a promoção da saúde (LOYA *et al.*, 2009). No Brasil, a flora medicinal, tanto a nativa quanto a exótica, é amplamente usada. A medicina popular do país é reflexo das uniões étnicas entre diferentes imigrantes e os inúmeros povos autóctones que difundiram o conhecimento das ervas locais e de seus usos, transmitidos e aprimorados de geração em geração (LORENZI; MATOS, 2008).

Os produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças, quer de forma tradicional, devido ao conhecimento das propriedades de determinada planta, que é passado de geração a geração, quer pela utilização de espécies vegetais, como fonte de moléculas ativas (CARVALHO; SILVEIRA, 2010).

A busca da população por estas plantas incentivou os pesquisadores e a indústria farmacêutica a investirem mais nas pesquisas de novos fármacos. O Brasil é um país rico em diversidade, porém este potencial para a descoberta de plantas como fonte de novas drogas é pouco explorado ou regulamentado (CALIXTO, 2000; RATES, 2001; VEIGA-JUNIOR, 2008).

As plantas medicinais têm um importante papel na saúde mundial, apesar dos grandes avanços observados na medicina moderna (CALIXTO, 2005). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus

cuidados básicos de saúde e 85% usam plantas medicinais (ROSA *et al.*, 2011).

No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS), através de seus princípios e diretrizes norteadores, adota a fitoterapia como recurso terapêutico integrativo e complementar à saúde e dispõe de políticas públicas e normatizações específicas que buscam institucionalizar esta prática (FONTENELE *et al.*, 2013).

A Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) foi criada no Sistema Único de Saúde (SUS), sendo instituída pela Portaria do Ministério da Saúde (MS) nº 971, de 03 de maio de 2006. Essa portaria tem como objetivo ampliar as opções terapêuticas aos usuários do SUS, com garantia de acesso a plantas medicinais, a fitoterápicos e a serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde (RODRIGUES, 2006). E em 2007 foi criado no Brasil e instituído o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos que visa:

“[...] garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2006).

Com vistas a atingir o objetivo desse programa, dentre as proposições, destaca-se a de:

“Promover e reconhecer as práticas populares e tradicionais de uso de plantas medicinais, fitoterápicos e remédios caseiros” (BRASIL, 2006).

As plantas utilizadas na medicina tradicional estão sendo também cada vez mais estudadas na tentativa de descoberta de novos princípios ativos (CZELUSNIAK, 2012). As espécies de plantas medicinais e aromáticas constituem uma excelente fonte de novas moléculas usadas na síntese de novas drogas para várias doenças humanas (BALUNAS; KINGHORN, 2005).

Entre as plantas utilizadas como medicinais, destacam-se as espécies da Família Verbenaceae pertencente à ordem Lamiales (JUDD, 2009).

Aproximadamente 120 espécies de *Lippia* encontram-se no Brasil, distribuídas no Cerrado e Caatinga, onde se destacam por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu aroma forte e geralmente agradável (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

No nordeste do país as espécies de *Lippia* são usadas na medicina popular para o tratamento de resfriados, gripes, bronquites e tosse. Em muitos casos, as partes usadas são as folhas e flores na forma de infusão ou decocto administradas oralmente ou por meio de emplastos (PASCUAL *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

2.2 Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários são geralmente de estrutura complexa e baixo peso molecular e apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (BERG; LUBERT, 2008). Muitos desses metabólitos estão diretamente envolvidos nos mecanismos que permitem a adequação da planta a seu meio (SIMÕES *et al.*, 2007). Esses podem servir como atrativos para polinizadores ou dispersores de sementes, agir na defesa contra inimigos naturais, infecções microbianas e virais, herbivoria, radiação UV, ou como aleloquímicos contra competidores (PICHERSKY; GANG, 2000).

Assim, despertam interesse, não só pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela atividade farmacológica que possuem. Os metabólitos secundários são de importância comercial não apenas na área farmacêutica, mas também nas áreas alimentar, agrônômica, perfumaria e outras (SIMÕES *et al.*, 2007). A humanidade tem usado os metabólitos secundários nos últimos mil anos para vários fins, tais como corantes, sabor, fragrâncias, estimulantes, alucinógenos, inseticidas, venenos e agentes terapêuticos (ENFISSI, 2010).

Os metabólitos secundários são geralmente classificados com base na rota biossintética de formação, a qual pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato dando origem aos principais grupos que são os compostos

nitrogenados, terpenos e compostos fenólicos como os flavonoides (SIMÕES *et al.*, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009). Dentre os compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas estão os monoterpenos e sesquiterpenos, os principais constituintes dos óleos essenciais das plantas (KNAAK, 2010) os quais conferem aroma característico às suas folhas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A variação genética pode causar variação quantitativa e qualitativa no metabolismo secundário da planta. E, por representar uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, a síntese de metabólitos secundários é frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001) como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, disponibilidade de nutrientes, altitude, poluição atmosférica e estímulos mecânicos ou ataque de patógenos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

2.3 Óleos essenciais

Os monoterpenos e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais das plantas e os diterpenos são minoritários (CASTRO *et al.*, 2004). Os óleos essenciais podem também ser chamados de óleos voláteis, etéreos ou essências e possuem características físico-químicas como: aparência oleosa à temperatura ambiente; volatilidade; aroma agradável; solubilidade em solventes orgânicos apolares; geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; não são estáveis em presença de luz, ar, calor, umidade e metais; e algumas destas propriedades são usadas na identificação e controle da qualidade dos óleos essenciais (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Os óleos essenciais podem ser acumulados em flores, folhas, cascas dos caules, madeira, raízes, rizomas, frutos e sementes. Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos essenciais, sua composição pode variar segundo sua localização. A síntese e o acúmulo dos óleos essenciais nas plantas variam de acordo com a família botânica a qual pertence. Na família Verbenaceae ocorrem estruturas secretoras

especializadas, tais como pelos ou tricomas glandulares (SIMÕES *et al.*, 2007).

Os óleos essenciais constituem um dos mais importantes grupos de matéria prima para a indústria alimentícia, farmacêutica, perfumaria e afins. (MORAIS, 2009). Apresentam propriedades multifuncionais como antibacteriana, antifúngica, inseticida, antiparasitária e sequestrador de radicais livres (SACCHETTI, 2005). São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas, orais e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada (SILVA-SANTOS, 2008). Na planta, apresentam funções ecológicas relacionadas à atração de polinizadores, alelopatia e defesa da planta contra herbivoria ou fungos e bactérias patogênicos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O óleo essencial extraído das folhas de alecrim-pimenta apresenta alto teor de monoterpenos oxigenados, sendo os compostos majoritários o timol e o carvacrol, que são responsáveis pela sua ação antimicrobiana (VICUNÃ *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2007). A composição química de óleos essenciais de *Lippia* spp. é também determinada por fatores genéticos e outros fatores podem ainda acarretar alterações significativas na produção desses. A ação de fatores abióticos no rendimento e composição de óleos essenciais pode ser influenciada pela sazonalidade (SILVA *et al.*, 2006; NOGUEIRA *et al.*, 2007; MORAIS, 2009), disponibilidade de água, luminosidade, temperatura, estágio de desenvolvimento da planta e seu estado nutricional (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleo essencial, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os quatro grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. O país teve destaque como exportador de óleo essencial de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de importador, devido a problemas crônicos como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor (BIZZO, 2009).

2.4 Alecrim-pimenta – *Lippia origanoides* Kunth

2.4.1 Origem e descrição botânica

Conhecida popularmente como alecrim-pimenta, *Lippia origanoides* Kunth. é uma planta medicinal nativa da América Central e Nordeste da América do Sul (PARRA, 2007). Possui outras denominações populares, como alecrim-do-campo (PASCUAL *et al.*, 2001), salva-de-Marajó e alecrim-d'Angola (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Na Colômbia, é conhecida como “orégano de monte” e na Venezuela conhecido como orégano selvagem. No México, *L. origanoides* (syn. *Lippia schomburgkiana* Schauer) é chamado orégano, e, na farmacopeia mexicana reconhecido como um substituto para o orégano comum - *L. graveolens* Kunth. O seu aroma característico, de modo semelhante ao de orégano, pode ter inspirado este nome aos botânicos Humboldt, Bonpland e Kunth (MORAIS *et al.*, 1972).

O alecrim-pimenta é um arbusto aromático, ereto e ramificado, que cresce até 3 m de altura, pertencente à família Verbenaceae. Este arbusto tem folhas simples e opostas, de tamanhos variados, devido a possíveis adaptações fisiológicas e morfológicas em resposta à exposição à luz (PARRA; RODRIGUEZ, 2007). Possui inflorescências caracterizadas por flores brancas pequenas e pediceladas (4 mm em tamanho) (DE CAMPOS *et al.*, 2011), e um elevado rendimento de frutos secos e sementes por planta. *L. origanoides* tem um odor pungente devido à presença de metabólitos secundários, como o carvacrol, timol entre outros compostos, responsáveis pelo aroma e sabor particular dessa especiaria (CALPOUZOS, 1954; ARCILA-LOZANO *et al.*, 2004).

Espécies de Verbenaceae são caracterizadas pela abundância de tricomas glandulares em órgãos vegetativos e reprodutivos, sendo tais glândulas os principais sítios de síntese e acúmulo dos metabólitos que conferem características medicinais e, ou, aromáticas a essas plantas (PASCUAL *et al.*, 2001; JUDD *et al.*, 2009). *L. origanoides* é caracterizada por pubescência em órgãos vegetativos e reprodutivos, havendo relatos de tricomas não glandulares retos, rígidos e pontiagudos, além de tricomas glandulares. Apresenta inflorescência frondosa, livre e com brácteas apicais (O'LEARY *et al.*, 2012).

A família Verbenaceae compreende 36 gêneros, incluindo herbáceas, sub-herbáceas e árvores cujos maiores centros de dispersão se encontram em países das Américas do Sul e Central, como também em territórios da África tropical (LORENZI; MATOS, 2008). *Lippia* é um dos grandes gêneros da família Verbenaceae, com aproximadamente 100 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores distribuída no Neotrópicos e África (O'LEARY *et al.*, 2012).

Algumas espécies de *Lippia*, ao longo dos anos, têm apresentado problemas de nomenclatura botânica devido à dificuldade em torno da correta identificação de certas espécies causando a utilização de diversas sinónimas para uma mesma espécie em artigos científicos (PASCUAL *et al.*, 2001). *L. origanoides* foi recentemente classificada e agora pertence a um grupo que inclui várias espécies com semelhanças morfológicas. Quatro grupos podem ser distinguidos e um deles que é dirigido por *L. origanoides* em que 28 táxons têm sido considerados como sinônimos, incluindo *L. soides*, *L. affinis*, *L. graveolens*, *L. salviifolia*, reconhecidos por seus usos tradicionais (O'LEARY *et al.*, 2012).

Os principais centros de diversidade específica das espécies de *Lippia* estão localizados no México e Brasil. No Brasil, essas se encontram na Cadeia do Espinhaço, localizada nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás. De forma que, aproximadamente, 120 espécies estão distribuídas no Cerrado e Caatinga, dois importantes biomas brasileiros, onde se destacam por seu aspecto chamativo no período da floração e por seu aroma forte e geralmente agradável (OLIVEIRA *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2011).

2.4.2 Uso, propriedades farmacológicas e constituição química

Um estudo etnobotânico realizado no município de Oriximiná (Pará, Brasil), destacou o amplo uso do alecrim-pimenta como tempero (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Infusões das folhas, parte aérea ou flores de *Lippia origanoides* são tradicionalmente utilizadas como loção tópica para o tratamento de doenças respiratórias, tais como gripe, bronquite, tosse, e asma; no tratamento de distúrbios gastrointestinais, como dor de estômago, náuseas,

indigestão, e como carminativo; bem como um anti-séptico bucal, garganta e feridas (PASCUAL *et al.*, 2001; MENEZES *et al.*, 2009; MESA *et al.*, 2009).

Em relação à atividade antimicrobiana do óleo essencial do alecrim-pimenta, Tangarife-Castaño *et al.* (2011) constataram grande eficiência dessa substância contra *Candida albicans*, o que pode ser útil para o desenvolvimento de novos produtos terapêuticos. O óleo essencial de *L. origanoides* também mostrou alta atividade antifúngica contra *Aspergillus fumigatus* entre todos os óleos e componentes testados (BETANCUR *et al.*, 2011).

Ramirez *et al.* (2009) avaliaram o óleo essencial de *L. origanoides* em relação à atividade antibacteriana. Este apresentou ação contra as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, mostrando que o óleo dessa espécie é um bom candidato como agente antimicrobiano frente a microorganismos que desenvolvem vários mecanismos de resistência. Em estudo realizado por Caballero-Gallardo *et al.* (2012) mostraram que o óleo essencial de alecrim-pimenta foi eficiente contra *Tribolium castaneum* e pode ser usado em formulações como repelente. Já Meneses *et al.* (2009), verificaram que o óleo essencial de *L. origanoides* mostrou atividade contra o vírus da febre amarela.

O óleo essencial foi testado por Borges *et al.* (2012), para tratamento da doença de Chagas, demonstrando efeito inibitório no crescimento e sobrevivência do parasita. O óleo essencial de *L. sidoides* e *L. origanoides* foi mais efetivo contra formas tripomastigotas e amastigotas respectivamente. Nenhum efeito citotóxico foi observado em células incubadas com o óleo. Isto indica que essas espécies têm potencial agente quimioterápico contra *Trypanosoma cruzi*.

O óleo essencial de *L. origanoides* testado por Escobar *et al.* (2010) apresentou ação biológica contra amastigotas de *Leishmania chagasi* e não exibiu toxicidade contra células mamárias testadas. Em outro estudo, Marques *et al.* (2010) avaliaram a atividade leishmanicida do óleo de *L. sidoides* e *L. origanoides* mostrando que logo nas primeiras 24 horas do experimento, as doses de 62,5 µg, 125 µg e de 250 µg já foram eficazes em

inibir o crescimento de 50% das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Os extratos etanólicos de *L. origanoides* foram testados e foi evidenciado efeito acaricida contra *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (SIVIRA *et al.*, 2011). Vicuña *et al.* (2010) demonstraram que o óleo essencial de *L. origanoides* tem ação antígeno-tóxica contra danos no DNA. Os estudos foram feitos em células bacterianas, os danos no DNA foram induzidos por bleomicina e verificou-se que os maiores componentes do óleo essencial, o timol e o carvacrol, são os principais responsáveis pela proteção contra danos ao DNA.

A composição química de óleos essenciais de *Lippia* spp. é também determinada por fatores genéticos, e outros fatores podem ainda acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários de tais plantas, como: disponibilidade de água, luminosidade, temperatura, estágio de desenvolvimento da planta e seu estado nutricional. No entanto, as atividades biológicas atribuídas à espécie variam de acordo com constituição química do seu óleo essencial, podendo ocorrer divergência genética dentro de uma mesma população (VEGA-VELA *et al.*, 2013). Dessa forma, a identificação química dos seus compostos fornece informações básicas para a seleção de plantas de interesse e sua correta aplicação (STASHENKO *et al.*, 2010).

O óleo essencial de *L. origanoides* possui, como principais componentes, os monoterpenos oxigenados, o timol e o carvacrol (FIG. 1) (OLIVEIRA *et al.*, 2006), que são responsáveis pelo cheiro característico e têm forte ação antimicrobiana contra fungos e bactérias (CARVALHO *et al.*, 2003). As variações nas quantidades dos componentes majoritários dos óleos essenciais de diferentes amostras de *L. origanoides*, tais como o carvacrol, timol, trans- β -cariofileno, p-cimeno, β -mirceno, α -humuleno e g-terpineno, levaram-se a fazer a classificação, segundo sua composição química em quimiotipos (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

De acordo com Vicuña *et al.* (2010), pelo menos três quimiotipos podem ser diferenciadas para *L. origanoides*, sendo que, em dois desses, os compostos majoritários são carvacrol e timol, respectivamente, e um raro

quimiotipo caracterizado pela ausência ou teor muito baixo desses compostos. Vega-vela *et al.* (2013) propôs seis quimiotipos para *L. origanoides*. No quimiotipo B, o carvacrol é o composto majoritário, quimiotipos C e D, o composto majoritário é o timol; no quimiotipo E, os compostos majoritários são o eucaliptol e α -felandreno; no quimiotipos F, são majoritários o p-cimeno e o eucaliptol (traços de $+\beta$ -felandreno); e no quimiotipo G, são majoritários o timol-metil-éter e γ -terpineno. O quimiotipo B também foi descrito por Stashenko *et al.* (2010).

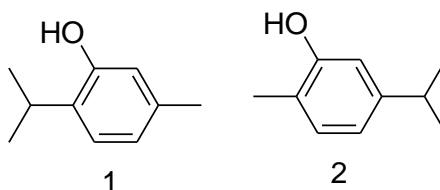


FIGURA 1- Estrutura química do timol (1) e carvacrol (2).

Fonte: Da autora.

2.4.3 Variabilidade genética

A biodiversidade pode ser definida como a variedade e a variabilidade existentes entre organismos vivos e as complexidades ecológicas nas quais eles ocorrem. Ela pode ser entendida como uma associação de vários componentes hierárquicos: ecossistema, comunidades, espécies, populações e genes em uma área definida (MOREIRA, 1994). A variação genética entre as espécies é importante, pois gera indivíduos com características distintas, propiciando capacidade de adaptação aos fatores ambientais e aos teores de metabólitos. E também, contribui, significativamente, para os programas de melhoramento genético favorecendo a seleção de plantas (MELO, 2012).

O conhecimento da estrutura genética de populações de uma espécie é fator importante no manejo de recursos genéticos com a finalidade de conservação ou domesticação (FALK *et al.*, 2001). Uma melhor compreensão dos processos atuando em populações locais requer a análise simultânea de diversos caracteres, ou conjuntos de caracteres, que expressem tanto diferentes respostas biológicas a esses processos quanto dos próprios

agentes e fatores que determinam essas respostas (DOUGLAS; MATHEWS, 1992).

Em populações de plantas, os componentes da variação ambiental, principalmente características climáticas e de solo, são importantes para determinar padrões de variação fenotípica (MORALES, 2000). O uso de compostos aromáticos requer a caracterização química detalhada e avaliação de modificações possíveis dentro das suas composições, que podem levar à formação de diferentes quimiotipos (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Devido ao extrativismo intenso e à implantação de monocultivos, diversas espécies medicinais sofreram perdas significativas de variabilidade genética. Apesar da importância sócio-econômica, a exploração indiscriminada de recursos vegetais, como o extrativismo predatório, tem contribuído para a extinção de populações locais de várias espécies utilizadas tradicionalmente na medicina popular (CASTRO, 2003).

O manejo sustentável de espécies medicinais é, portanto, fundamental em políticas de uso, produção e pesquisa de fitoterápicos; e depende do conhecimento de aspectos botânicos, ecológicos e genéticos de espécies nativas (PAVAN-FRUEHAUF, 2000).

2.4.4 Sazonalidade

A qualidade do óleo essencial depende de diferentes fatores. Entre eles estão o quimiotipo e biótipo de planta, bem como as condições climáticas (MALIK, 1974). A época de colheita pode influenciar o rendimento e a composição do óleo essencial nas plantas. Diversos trabalhos relatam as reações fisiológicas do metabolismo da planta devido aos aspectos climáticos: época do ano e suas características associadas a índices de temperatura, pluviosidade e umidade (TELES, 2010).

Existe uma correlação positiva bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos tais como flavonoides, taninos e antocianinas. As diferentes espécies de plantas estão adaptadas a uma enorme variação na intensidade e quantidade de incidência luminosa (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

As espécies apresentam épocas específicas em que contêm maior quantidade de princípio ativo no seu tecido, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia como em épocas do ano (SIMÕES *et al.*, 2007). Convém notar que, especialmente em estudos de campo e com plantas anuais, os efeitos da sazonalidade podem ser confundidos com alterações metabólicas sob controle do processo de desenvolvimento internamente (hormonalmente) controlado pela planta, devendo assim ser considerados em conjunto (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os parâmetros climáticos, temperatura atmosférica e precipitação têm sido apontadas como fatores que influenciam a composição e conteúdo de óleo essencial em várias plantas aromáticas (BOTREL, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi estudar o efeito da variação sazonal na composição química do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) e determinar o teor de flavonoides totais e a atividade antioxidante dos extratos de folhas de *L. origanoides*.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a composição química do óleo essencial de acessos da coleção do banco de germoplasma de *L. origanoides* ao longo de um ano;
- Estudar a variação na composição e teor do óleo essencial em uma população natural de *L. origanoides* na estação seca e na chuvosa;
- Quantificar o timol e o carvacrol presentes no óleo essencial;
- Identificar os componentes majoritários presentes no óleo essencial;
- Determinar o teor de flavonoides totais e a atividade antioxidante dos extratos de folhas de *L. origanoides* do banco de germoplasma.

CAPÍTULO 2 – TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE POPULAÇÃO NATURAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) EM DUAS ESTAÇÕES

RESUMO

O alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) é um arbusto nativo do Nordeste da América do Sul e alguns países da América Central e do Caribe. *L. origanoides* é usada como tempero e para fins medicinais. Possui como principais componentes os monoterpenos oxigenados, o timol e o carvacrol. A composição química do óleo de *L. origanoides* pode apresentar variação fitoquímica de acordo com os principais constituintes dos seus óleos essenciais, levando à classificação em quimiotipos. O objetivo deste trabalho foi estudar a variação na composição química do óleo essencial de uma população natural de *L. origanoides* em duas épocas do ano. Este estudo foi realizado em área de reserva do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais localizada na cidade de Montes Claros, MG. As coletas foram realizadas em duas épocas, na estação seca (maio de 2013) e na estação chuvosa (fevereiro de 2014). As folhas do alecrim-pimenta foram coletadas de 30 indivíduos distantes entre si em, pelo menos, 50m. O óleo essencial foi extraído das folhas frescas por hidrodestilação no aparelho de Clevenger e analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A quantificação relativa do timol e carvacrol foi realizada por meio da cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (CG-DIC). Análise multivariada foi empregada para avaliar a divergência genética entre as plantas. Utilizou-se como medida de dissimilaridade, a distância euclidiana média e foi realizada a análise de agrupamento, utilizando o método de otimização de Tocher, através do programa GENES. O teor do óleo essencial obtido das folhas de alecrim-pimenta coletadas no período de seca (maio de 2013) variou de 1,89% a 5,59%. No período chuvoso (fevereiro de 2014), o óleo essencial extraído variou de 2,00% a 8,13%. Na composição química do óleo essencial, o carvacrol foi o composto majoritário, na maioria das plantas estudadas tanto na estação seca quanto na chuvosa. Das trinta plantas estudadas, apenas 5 diferiram na composição química. Na estação chuvosa, a planta 15 apresentou como majoritário o timol e as plantas 16, 27, 28 e 29

apresentaram como majoritário a cânfora. Na estação seca, o timol permaneceu como majoritário da planta 15 e a cânfora permaneceu como majoritário das plantas 16, 28 e 29, já a planta 27, nessa estação, apresentou como majoritário o carvacrol. Os compostos que apresentaram maior teor, depois do majoritário carvacrol, foram o γ -terpineno, p-cimeno e o metil-eter-timol. Em geral, o teor desses compostos não variou muito, durante as estações seca e chuvosa, na maioria das plantas. A variação para esses compostos ocorreu somente nas plantas 1 e 27. Na estação chuvosa, na planta 1 houve diminuição desses compostos em relação à estação seca, e, a planta 27, houve aumento do teor desses compostos em relação à estação seca. O agrupamento de Tocher revelou cinco grupos distintos, sendo que o grupo 1 reuniu a maioria das plantas tanto em estação seca, quanto em chuvosa, indicando que a época do ano avaliada não interferiu de forma significativa na composição do óleo essencial da maioria das plantas. Apenas as plantas 16, 29, 1 e 15 foram alocadas em grupos distintos, ou seja, ocorreram diferenças importantes entre a estação seca e a chuvosa. A estação chuvosa apresentou os maiores teores de óleo essencial. A composição química do óleo essencial de *L. organoides* não varia em relação à estação seca e à chuvosa. Somente cinco plantas diferiram quimicamente das demais, notando-se certa estabilidade na composição química em relação à estação seca e à chuvosa.

Palavras-chave: CG-EM, óleo essencial, sazonalidade, composto majoritário.

1 INTRODUÇÃO

Lippia origanoides Kunth. é um arbusto nativo do Nordeste da América do Sul e alguns países da América Central e do Caribe. Atinge 3 m de comprimento, possui folhas verdes ovaladas e muito aromáticas, inflorescências em racimo, axilares e brancas (HENAO *et al.*, 2009). *L. origanoides* é usada como tempero e para fins medicinais (OLIVEIRA *et al.*, 2004), com potencial como antiespasmódico, especialmente para distúrbios gastrintestinais e geniturinários (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Parte dos benefícios da planta à saúde é atribuída ao óleo essencial produzido por essa espécie (OLIVEIRA *et al.*, 2007). O óleo essencial de *L. origanoides* possui atividades antimicrobianas (DOS SANTOS *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2007), atividade antioxidante (TELES *et al.*, 2014), anti-parasitários (BORGES *et al.*, 2012; MENESES *et al.*, 2009) e antígenotóxicas (VICUNÃ *et al.*, 2010). Possui como principais componentes, os monoterpenos oxigenados, o timol e o carvacrol (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A composição química do óleo de *L. origanoides* pode apresentar variação fitoquímica de acordo com os principais constituintes dos seus óleos essenciais levando a classificação em quimiotipos (DOS SANTOS *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2007; ZAPATA, *et al.*, 2009; CASTAÑEDA *et al.*, 2007; STASHENKO *et al.*, 2010). Quimiotipos são plantas morfológicamente similares que possuem composição diferente de metabólitos secundários (STASHENKO *et al.*, 2010). Deve-se levar em consideração que a composição química dos óleos normalmente varia com a época, idade da planta, composição do solo (ANDRADE *et al.*, 2011) e métodos de extração (STASHENKO *et al.*, 2004).

Castañeda *et al.* (2007) propôs dois quimiotipos para *L. origanoides* de acordo com os componentes majoritários presentes no óleo essencial. O quimiotipo A tem como componentes o carvacrol (36,6%), *p*-cimeno (14,0%), γ -terpineno (13,3%), timol (9,1%) e α -terpineno (3,8%). O quimiotipo B tem como componentes o *p*-cimeno (15,7%), *trans*- β -cariofileno (9,4%), α -felandreno + -3-careno (8,7%), limoneno (6,9%) e β -felandreno + eucaliptol (6,8%). Outros autores propuseram a existência de quimiotipos para essa espécie. Zapata *et al.* (2009) propôs três quimiotipos com o *trans*- β -

cariofileno/p-cimeno, timol e carvacrol. Dos Santos *et al.* (2004) identificaram o carvacrol (33,5–42,9%) como maior componente junto com γ -terpineno (8,0–10,5%), timol (5,1–8,4%), metil timol (6,1–8,7%) e p-cimeno (11,9–15,8%) para o óleo de *L. origanoides*.

O óleo essencial é produzido principalmente pelas folhas, de acordo com a sua constituição genética e em resposta aos fatores ambientais. As características relacionadas à produção vegetal estão condicionadas ao controle genético do organismo, ao ambiente em que é cultivado e à interação entre esses dois fatores. As diferentes respostas fenotípicas frente a mudanças nas condições ambientais resultam em comportamentos distintos dos genótipos, caracterizando a interação (YAMAMOTO, 2006).

Assim, vários fatores podem estar relacionados com a produção e constituição química do óleo essencial do alecrim-pimenta e todos esses aspectos são de fundamental importância quando se realiza o desenvolvimento de trabalhos de melhoramento de uma espécie medicinal visando à aplicação fitoterapêutica, uma vez que a ação dos óleos essenciais está ligada à sua constituição química (MARTINS, 2006). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar a variação na composição química do óleo essencial de uma população natural de alecrim-pimenta (*L. origanoides*) em duas épocas do ano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coletas

Este estudo foi realizado em área de reserva do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (FIG.1), localizada na cidade de Montes Claros, MG. A área de coleta possui 35,9 hectares e altitude média de 632 m, conforme cálculo feito com o *software* GPS Trackmaker. As coordenadas geográficas dos pontos de coleta foram determinadas em receptor GPS e as plantas seleccionadas para o estudo estavam, em pelo menos, 50m distantes entre si e foram marcadas por placas com o número correspondente. A coleta das folhas de 30 indivíduos foi realizada em duas épocas, uma na estação seca (maio de 2013) e uma na estação chuvosa (fevereiro de 2014). As folhas coletadas do alecrim-pimenta constituem amostra de toda a planta. Essas foram conduzidas ao Laboratório de Plantas Medicinais (ICA-UFMG) e armazenadas em freezer (-4°C).



FIGURA 1- Área de coleta no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, Minas Gerais, com os indivíduos marcados dos quais foram coletadas as folhas para extração e análise de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.).

Fonte: Da autora.

2.2 Extração do óleo essencial

A extração de óleo essencial das folhas (40 g) foi feita por hidrodestilação durante 2 h, utilizando-se o aparelho de Clevenger em um balão de 1 000 ml, contendo 500 ml de água destilada. Após a extração, o volume do óleo foi determinado em balança analítica Marte (AY220). O material vegetal resultante da extração foi submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60° C até peso constante, para a determinação da matéria seca das amostras. O teor (%) de óleo foi calculado com base no valor do volume do óleo dividido pelo peso da matéria seca da amostra e o resultado multiplicado por 100. Após a extração e a pesagem do óleo essencial do alecrim-pimenta, foi adicionado sulfato de sódio anidro, para a retirada do excesso de hidrolato das amostras, que foram armazenadas em frascos âmbar.

2.3 Análise cromatográfica – Identificação e Quantificação

2.3.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As amostras de óleo essencial foram analisadas no Laboratório de Química Instrumental do ICA/UFMG. As amostras de óleo essencial foram pesadas, utilizando-se balança analítica Shimadzu (Kyoto, Japão), e diluídas em diclorometano para análises cromatográficas e foram transferidas para vials de 2ml, e as injeções foram realizadas por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás Agilent Technologies (7890A) acoplado ao espectrômetro de massas (MS 5975C) dotado de coluna capilar de sílica fundida DB5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e hélio (99,9999% de pureza) como gás de arraste e fluxo de 1 ml·min⁻¹. O injetor foi mantido a 220 °C, com divisão de fluxo (*split*) na razão de 1:5, seguindo a programação da temperatura de 60 °C - 240 °C (3 °C min⁻¹) mantida por 10 min. A temperatura da interface foi mantida em 240° C. O sistema foi operado no modo *full scan* com impacto de elétrons de 70 eV, na faixa de 45-550 (m/z). O índice de retenção de todos os compostos foi

calculado a partir do tempo de retenção de uma mistura de *n*-alcanos (C₇-C₄₀, Sigma USA) 20 ppm, split 1:100.

Os dados gerados foram analisados utilizando o *software* MSD Chemstation juntamente com a biblioteca NIST, 2009 (*National Institute of Standards and Technology*). A abundância relativa (%) dos íons totais referentes aos compostos foi calculada a partir da área de pico do cromatograma (CG) e organizada de acordo com a ordem de eluição. A percentagem de cada componente foi calculada a partir da média normalizada da área do cromatograma. A identificação dos compostos foi realizada por comparação do espectro de massas com o da biblioteca NIST 2.0, 2009. O índice de retenção (IR) relativo foi calculado segundo Van den Dool e Kratz (1963), e comparado com informações da literatura (ADAMS, 2007).

2.3.2 Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas (CG-DIC)

A quantificação do timol e do carvacrol foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado ao detector de ionização de chamas (CG-DIC), operado nas mesmas condições do CG-EM, exceto a coluna cromatográfica que foi a HP-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) e gás de arraste nitrogênio (99,999% de pureza). O injetor foi mantido a 220 °C, com divisão de fluxo (*split*) na razão de 1:5, seguindo a programação da temperatura de 60 °C - 240 °C (3 °C min⁻¹) e do detector de 240 °C.

2.3.3 Estatística

A análise multivariada foi empregada para avaliar a divergência genética entre as plantas nas estações seca e chuvosa. Através do programa, foi analisada a porcentagem dos principais constituintes do óleo essencial e a diversidade entre plantas na população. Utilizou-se, como medida de dissimilaridade, a distância euclidiana média, que representa a diversidade que há no conjunto de acessos estudados. Consideraram-se 18 compostos que apresentaram média maior do que 1% nas amostras dos indivíduos. Foram

considerados 30 indivíduos, avaliados em duas épocas (seca e chuvosa). Para realizar a análise utilizou-se o programa GENES (CRUZ, 2006).

Após o cálculo da distância euclidiana média, foi realizada a análise de agrupamento, utilizando o método de otimização de Tocher, que é um método de agrupamento simultâneo, o qual realiza a separação dos genótipos em grupos de uma só vez, segundo suas distâncias genéticas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teor do óleo essencial

O teor do óleo essencial obtido das folhas de alecrim-pimenta coletadas no período de seca (maio de 2013) variou de 1,89% a 5,59%. No período chuvoso (fevereiro de 2014), o óleo essencial extraído variou de 2,00 a 8,13%. A estação chuvosa apresentou os maiores teores de óleo essencial (GRAF. 1), período em que as plantas encontravam-se com os ramos cheios de folhas.

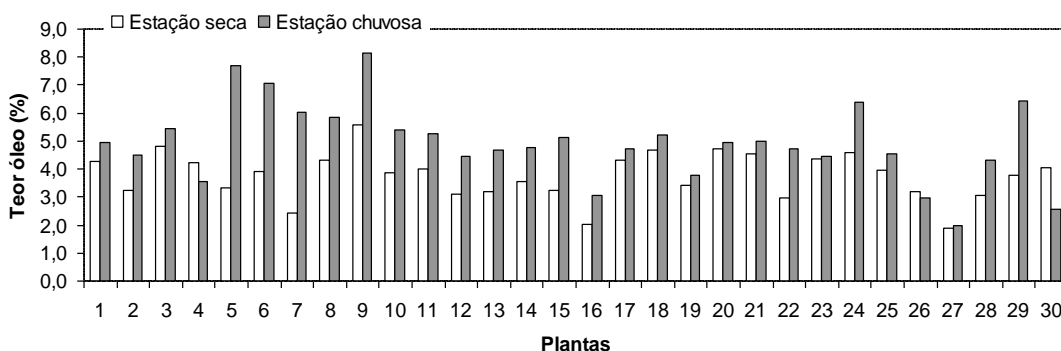


GRÁFICO 1 – Teor de óleo essencial (%) das folhas de 30 plantas de uma população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, coletadas na estação seca e na estação chuvosa.

Fonte: Da autora.

Na estação chuvosa, as plantas que apresentaram os maiores teores de óleo essencial foram a planta 9 (8,13%), planta 5 (7,71%) e planta 6 (7,08%). E os menores teores de óleo foram das plantas 26 (2,97%), planta 30 (2,55%) e planta 27 (2,00%).

Nas duas épocas deste estudo, não houve variação da insolação total, temperatura média e a umidade relativa. No entanto, a precipitação foi de 25,1 mm na estação chuvosa, e, na estação seca, não houve precipitação (GRÁF. 2), fator que pode ter influenciado o aumento da produção de óleo essencial na época chuvosa, já que ocorre a brotação de novas folhas e

consequente aumento da produção de óleo essencial. Em estudo realizado por Lopes (2010) sobre a eficiência do uso da água no alecrim-pimenta, observou-se que a produção de fitomassa e de óleo essencial nessa espécie respondeu positivamente ao aumento da lâmina de água.

Na estação seca as plantas apresentaram os menores teores de óleo essencial, talvez, devido ao fato de que nessa estação a planta perde as folhas e há o acionamento do mecanismo natural de fonte-dreno, que degrada metabólitos secundários e direciona seus compostos químicos para a manutenção do metabolismo primário (TAIZ; ZEIGER, 2009). Somente nas plantas 4, 26 e 30 os teores do óleo essencial foram maiores na estação seca que na estação chuvosa. Os maiores teores de óleo essencial da estação seca foram observados nas plantas 9 (5,59%), planta 3 (4,81%) e na planta 20 (4,74%). E as plantas que apresentaram os menores teores nessa estação foram a 7 (2,42%), a 16 (2,02%) e a 27 (1,89%).

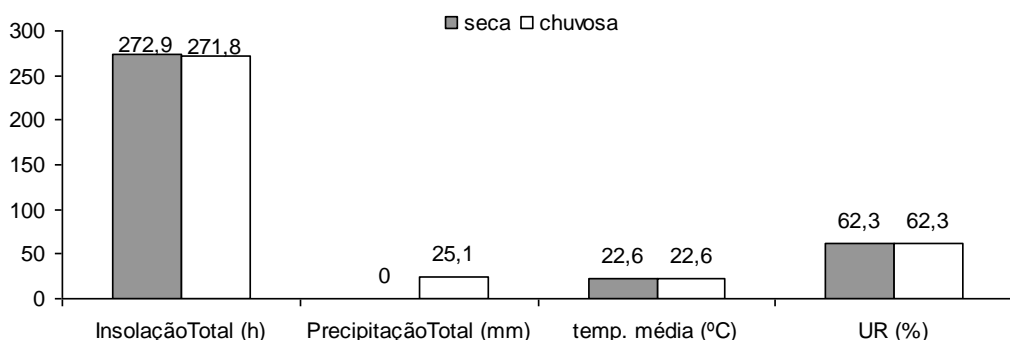


GRÁFICO 2 – Dados climatológicos no período de coleta da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, no mês de maio de 2013 (estação seca) e no mês de fevereiro de 2014 (estação chuvosa).

Fonte: <http://www.inmet.gov.br/portal/>

O teor médio do óleo essencial obtido das plantas coletadas no período de seca foi de 3,68% \pm 0,79 e, das que foram coletadas no período chuvoso, o teor médio de óleo essencial foi de 4,94% \pm 1,38 (GRAF. 3). A estação

chuvosa apresentou em média 1,18% de rendimento a mais, se comparada à estação seca.

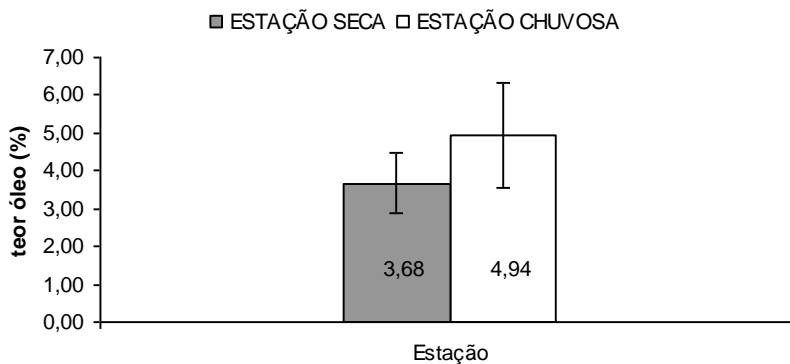


GRÁFICO 3 – Teor médio (%) e desvio padrão do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) de uma população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca (maio de 2013) e na estação chuvosa (fevereiro de 2014).

Fonte: Da autora.

Deve ser levada em consideração a influência de vários fatores climáticos no rendimento do óleo essencial, como a temperatura e índice pluviométrico (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Em estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2014), com plantas de uma população selvagem, coletadas nas estações seca e chuvosa, o teor de óleo essencial de *L. origanoides* variou de 1,7% a 4,6%. Nesse estudo o maior teor de óleo essencial foi na estação seca. Em estudo conduzido por Ramirez *et al.* (2009), com plantas coletadas em regiões diferentes da Colômbia e em épocas diferentes, o teor de óleo essencial de *L. origanoides* variou de 0,4% a 4,4%. E, em estudo realizado por Cerqueira (2014), o rendimento do óleo essencial de *L. origanoides* foi de 4,61%. Observa-se uma variação no rendimento do óleo essencial para *L. origanoides* que pode estar ligada a fatores genéticos e às condições ambientais a que estão expostas as plantas, além de diferenças no método de extração.

3.2 Composição química do óleo essencial

Na análise da composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* foram detectados 67 compostos, sendo 23 não-identificados. O óleo essencial do alecrim-pimenta apresentou principalmente mono (46%) e sesquiterpenos (20%). O carvacrol (**35**) foi o composto mais abundante, na maioria das plantas estudadas, tanto na estação seca, quanto na chuvosa.

Na estação seca, a planta 11 apresentou o maior teor de carvacrol (62,58%) e, nas plantas 16, 27 e 28 não foram detectados o timol (**33**) e o carvacrol (**35**), sendo que essas apresentaram, como composto majoritário, a cânfora (**21**). Na planta 15, o carvacrol (**35**) não foi detectado e o timol (**33**) foi o composto majoritário (43,96%). E nas plantas 14 e 17 não foi detectado o timol (**33**) (GRÁF. 4). Estudos posteriores deverão comprovar se a variação é genética.

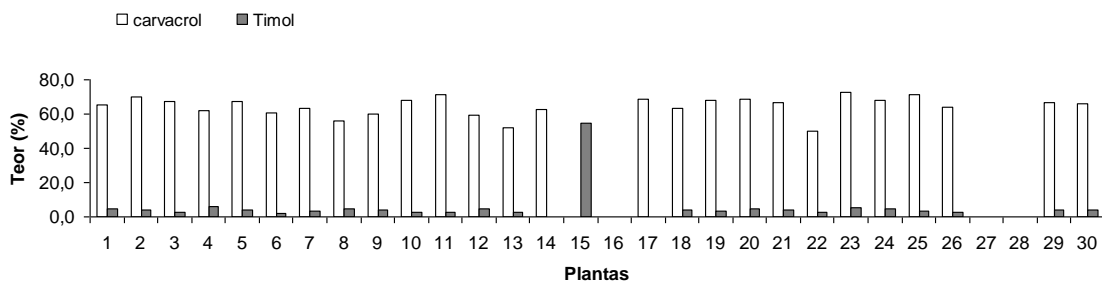
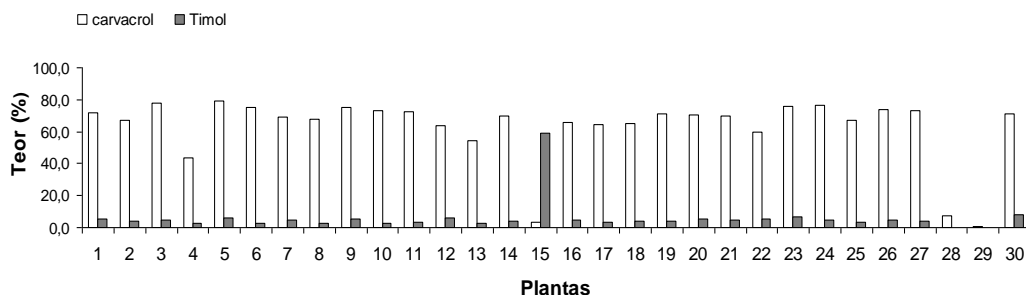


GRÁFICO 4 – Teor (%) de carvacrol e timol quantificado pelo CG-DIC nas amostras do óleo essencial de 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca.

Fonte: Da autora.

Na estação chuvosa, a planta 26 apresentou o maior teor de carvacrol (67,36%). Somente a planta 15 apresentou como composto majoritário, o timol (**35**) (47,53%), o carvacrol (**35**) foi detectado com baixo teor (3,28%). Na planta 29, o majoritário foi a cânfora (**21**), sendo que o carvacrol (**35**) e o timol (**33**) não foram detectados nesta estação. A planta 28 teve como majoritário a cânfora (**21**), sendo que não apresentou o timol (**33**) e, o carvacrol (**35**), foi detectado em baixo teor (7,47%) (GRAF.5).

Em estudo da composição química de *L. origanoides*, realizado por Teixeira *et al.* (2014), com plantas cultivadas, o carvacrol foi o composto majoritário (41,51%). Santos *et al.* (2004), estudando três coleções de *L. origanoides* também observaram o carvacrol como majoritário (33,5 a 42,9%). Já em estudo realizado por Rojas *et al.* (2006), comparando a composição química do óleo essencial de *L. origanoides*, de folhas coletadas na estação seca e chuvosa, o timol foi o composto majoritário (45 a 62%). E Vicunã *et al.* (2010), estudando plantas de uma população natural, também observaram



como majoritário, o timol (34 a 60%).

GRÁFICO 5 – Teor (%) de carvacrol e timol quantificado pelo CG-DIC nas amostras do óleo essencial de 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa.

Fonte: Da autora.

Em trabalho realizado por Ramirez *et al.* (2009), verificou-se que os óleos essenciais de *L. origanoides* que apresentaram maiores porcentagens de carvacrol apresentaram maiores halos de inibição contra *Pseudomonas aeruginosa* do que os óleos que apresentaram o timol, quando esses compostos foram avaliados de forma independente. Esse é um dado importante já que, no presente trabalho, a maioria das plantas estudadas apresentou alto teor de carvacrol tanto na estação seca quanto na chuvosa.

Portanto, o óleo essencial do alecrim-pimenta tem potencial para o desenvolvimento de novos produtos terapêuticos e, a estabilidade na produção de compostos químicos pela planta, durante o ano é um ponto

importante para que a indústria farmacêutica tenha interesse na utilização do óleo essencial dessa espécie para o desenvolvimento de fármacos, o que pode levar à proposição de uma cadeia produtiva baseada no cultivo ou manejo sustentável.

A média do teor de carvacrol na estação seca foi de 56,01% \pm 22,95 e na estação chuvosa foi de 62,52% \pm 21,21. A média do teor de timol na estação seca foi de 4,82% \pm 9,60 e, na estação chuvosa, foi de 5,95% \pm 10,11 (GRAF. 6 e 7). Esses desvios padrão indicam a diferença no teor de timol e carvacrol entre as plantas, mas as médias não variaram praticamente. Contudo, observa-se que essa diferença ocorreu em poucas plantas, já que, na maioria, os teores do timol e do carvacrol não apresentaram variação importante. O que mostra certa estabilidade no teor desses compostos nessa população nas duas estações estudadas, o que é positivo para a produção de fitoterápicos ou outros produtos.

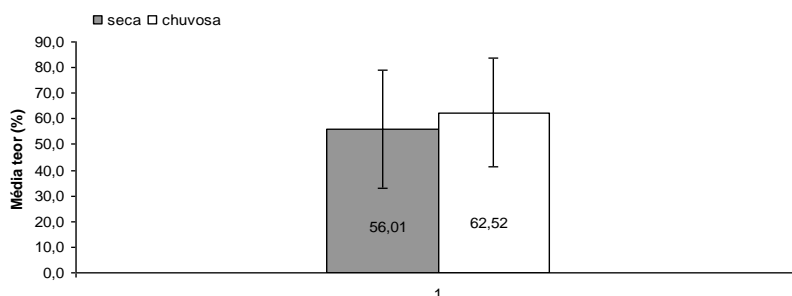


GRÁFICO 6 – Média do teor (%) de carvacrol e desvio padrão das 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, nas estações seca e chuvosa.

Fonte: Da autora.

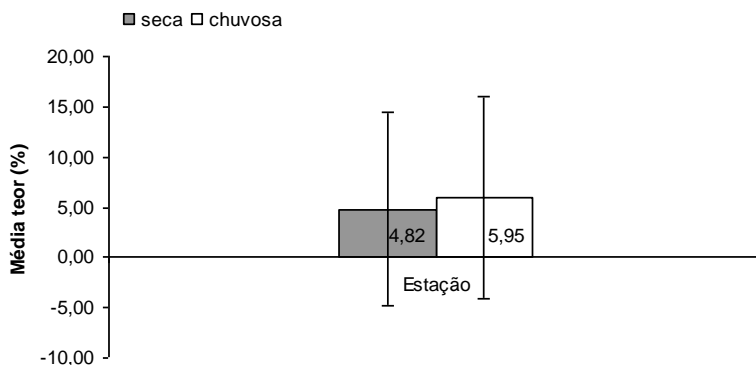


GRÁFICO 7 – Média do teor (%) de timol e desvio padrão das 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, nas estações seca e chuvosa.

Fonte: Da autora.

Além do carvacrol e timol, outros majoritários foram detectados no óleo essencial do alecrim-pimenta. No GRÁFICO 8 e 9 estão representados os teores dos principais compostos detectados nas plantas da população natural na estação seca e na chuvosa. Os compostos que apresentaram maior teor, depois do majoritário carvacrol, na maioria das plantas foram: o γ -terpineno (**14**), p-cimeno (**10**) e o metil-eter-timol (**28**). Em geral, o teor desses compostos não variou entre as estações seca e chuvosa na maioria das plantas. Na estação seca, a planta 1 apresentou como majoritário o p-cimeno (**10**) (46,79%). A cânfora (**21**) foi o composto majoritário nas plantas 16 (36,07%), 27 (38,57%) e 28 (23,19%) e não foram detectados nessas plantas o γ -terpineno (**14**), p-cimeno (**10**) e o metil-eter-timol (**28**). Na planta 29, o majoritário foi o carvacrol (**35**) (55,66%) e não foi detectado o p-cimeno (**10**), já o γ -terpineno (**14**) (4,99%) e o metil-eter-timol (**28**) (6,65%) foram detectados com baixo teor.

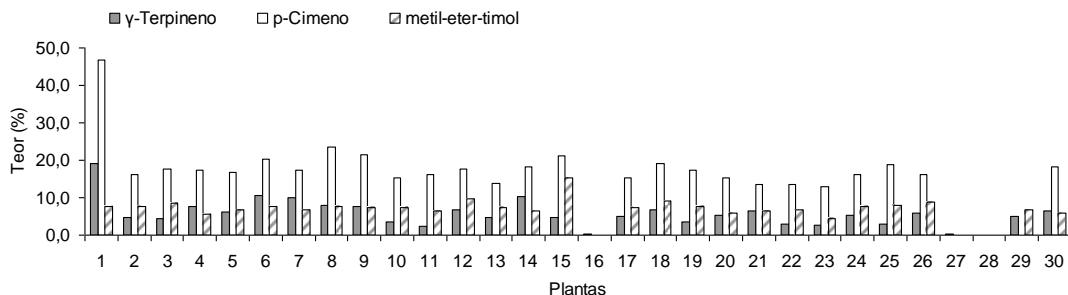


GRÁFICO 8 – Teor (%) dos principais compostos detectados nas 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca.

Fonte: Da autora.

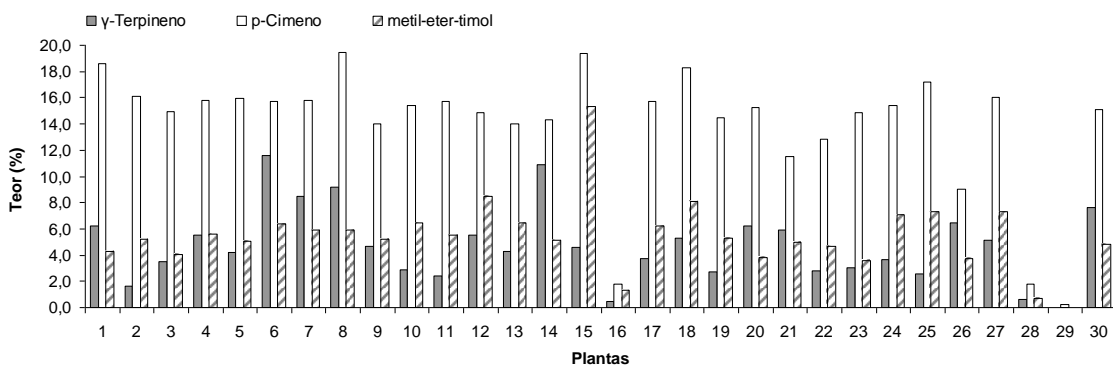


GRÁFICO 9 – Teor (%) dos principais compostos detectados no óleo essencial das 30 plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa.

Fonte: Da autora.

Na estação chuvosa, a planta 1 apresentou, como majoritário, o carvacrol (35) (71,91%) e o p-cimeno (10) com o menor teor (18,45%), se comparado à estação seca. A cânfora (21) foi o composto majoritário das plantas 16 (38,64%), 28 (37,87%) e 29 (25,51%). Nessas plantas os

compostos γ -terpineno (**14**), p-cimeno (**10**) e o metil-eter-timol (**28**) foram detectados com baixo teor e na planta 29 não foram detectados. Na planta 16 houve aumento no teor desses compostos, p-cimeno (**10**) (1,79%) e o metil-eter-timol (**28**) (1,32%).

Santos *et al.* (2004) também observaram, no óleo essencial de *L. origanoides*, o p-cimeno (11,9 a 15,8%), o γ -terpineno (8,0 a 10,5%) e o timol (5,1 a 8,4%) como principais constituintes. Em estudo realizado por Oliveira *et al.* (2007), o composto majoritário foi o carvacrol (38,6%), seguido pelo timol (18,5%), p-cimeno (10,3%) e γ -terpineno (4,1%).

A composição química de óleos essenciais de *Lippia* spp é também determinada por fatores genéticos e outros fatores podem ainda acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários de tais plantas. A ação de fatores abióticos, no rendimento e composição de óleos essenciais, pode ser influenciada pela sazonalidade (SILVA *et al.*, 2006; NOGUEIRA *et al.*, 2007; MORAIS, 2009), disponibilidade de água, luminosidade, temperatura, estágio de desenvolvimento da planta e seu estado nutricional (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Neste estudo verificou-se que as plantas 15, 16, 27, 28 e 29 diferiram da maioria na composição química principalmente em relação à presença do timol e carvacrol, compostos característicos do alecrim-pimenta. As plantas 16, 27 e 28 com ausência desses compostos, apresentaram outros majoritários como a cânfora (**21**) e o canfeno (**4**), relatados na literatura com ação antimicrobiana moderada (TIRILLINI, 1996).

A população natural não apresentou grande variação entre as plantas na composição química do óleo essencial e em relação às estações seca e chuvosa, já que somente as plantas 15, 16, 27, 28 e 29 diferiram quimicamente das demais, notando-se certa estabilidade na composição química da população estudada.

As abundâncias relativas dos componentes presentes nos óleos essenciais (>0.1%) estão apresentadas na TAB. 1. O perfil cromatográfico de algumas plantas está representado na FIGURA 2, 3, 4 e 5, onde o número sobre cada pico corresponde a um composto na TABELA 1.

Nos cromatogramas a seguir estão representados os picos correspondentes aos compostos detectados no óleo essencial extraído das folhas de alecrim-pimenta nas estações seca e chuvosa. Os compostos majoritários foram marcados com o número correspondente. A planta 5 tem o perfil químico da maioria das plantas e está representada na estação seca e chuvosa. E estão representadas também as plantas 15,16, 28 e 29, na estação seca e chuvosa que diferiram das demais em relação à presença do timol, carvacrol e outros compostos.

No cromatograma A, referente à análise do óleo essencial da planta 5, estão destacados os compostos majoritários que foram detectados na maioria das plantas na estação seca: carvacrol **(35)**, timol **(33)**, p-cimeno **(10)**, γ -terpineno **(14)**, metil-eter-timol **(28)**. No cromatograma B, referente à análise do óleo essencial da planta 16 na estação seca, não foram detectados o timol e o carvacrol, compostos marcadores do alecrim-pimenta, e outros compostos majoritários estão destacados: canfeno **(4)**, limoneno **(11)**, cânfora **(21)**, borneol **(22)** e o óxido de cariofileno **(55)**.

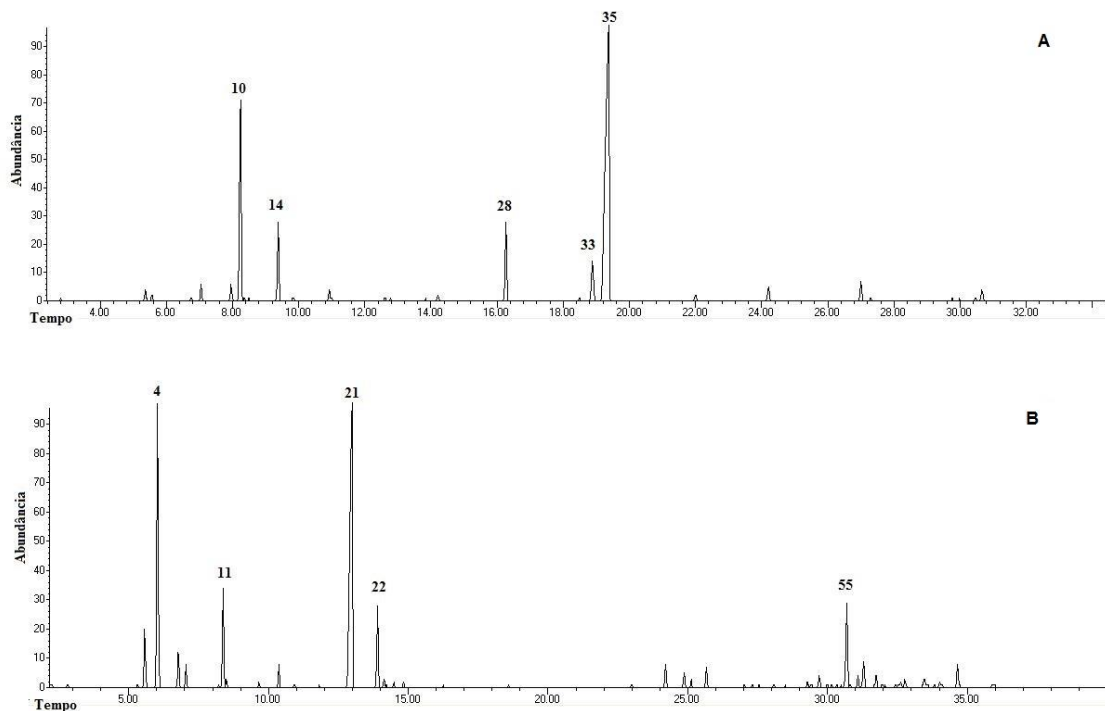


FIGURA 2 - Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) da população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca. Compostos: canfeno (**4**), p-cimeno (**10**), limoneno (**11**), γ -terpineno (**14**), cânfora (**21**), borneol (**21**), metil-eter-timol (**28**), timol (**33**), carvacrol (**35**), óxido de cariofileno (**55**). Picos não numerados não foram majoritários nas amostras.

Nota: As letras A e B no canto superior direito nos cromatogramas correspondem às plantas 5 e 16 respectivamente.

Fonte: Da autora.

No cromatograma C, referente à análise do óleo essencial da planta 15 na estação seca, estão marcados os compostos p-cimeno (**10**), γ -terpineno (**14**), metil-eter-timol (**28**) e esta foi a única que apresentou, como majoritário, o timol (**33**).

No cromatograma D, referente à análise do óleo essencial da planta 28, não apresentou timol e carvacrol na estação seca e foram detectados outros compostos majoritários: canfeno (**4**), limoneno (**11**), cânfora (**21**), β -citrал (**29**),

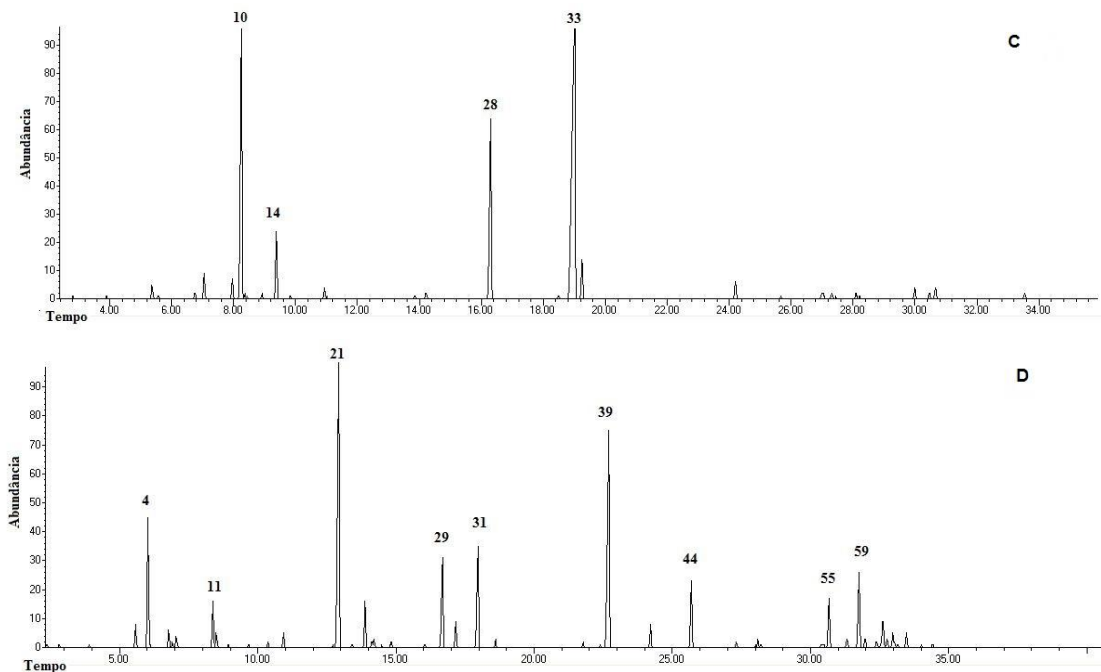


FIGURA 3 - Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) da população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação seca. Compostos: canfeno (**4**), p-cimeno (**10**), limoneno (**11**), γ -terpineno (**14**), cânfora (**21**), borneol (**22**), metil-eter-timol (**28**), β -citrал (**29**), geraniol (**31**), timol (**33**), geraniol (**39**), α -himachaleno (**44**), óxido de cariofileno (**55**), (-)-spatuleno (**59**). Picos não numerados não foram majoritários nas amostras.

Nota: As letras C e D no canto superior direito dos cromatogramas correspondem às plantas 15 e 28 respectivamente.

Fonte: Da autora.

geranial **(31)**, acetato de geraniol **(39)**, α -himachaleno **(44)**, óxido de cariofileno **(55)** e (-)-spatulenol **(59)**.

No cromatograma E, referente à análise do óleo essencial da planta 5 na estação chuvosa, os majoritários foram: carvacrol **(35)**, timol **(33)**, p-cimeno **(10)**, γ -terpineno **(14)**, metil-eter-timol **(28)**. Esses compostos foram detectados na maioria das plantas nessa estação. No cromatograma F, referente à análise do óleo essencial da planta 28, não foram detectados, na estação chuvosa, o timol e o carvacrol. Os majoritários detectados foram: canfeno **(4)**, limoneno **(11)**, cânfora **(21)**, desconhecido **(34)**.

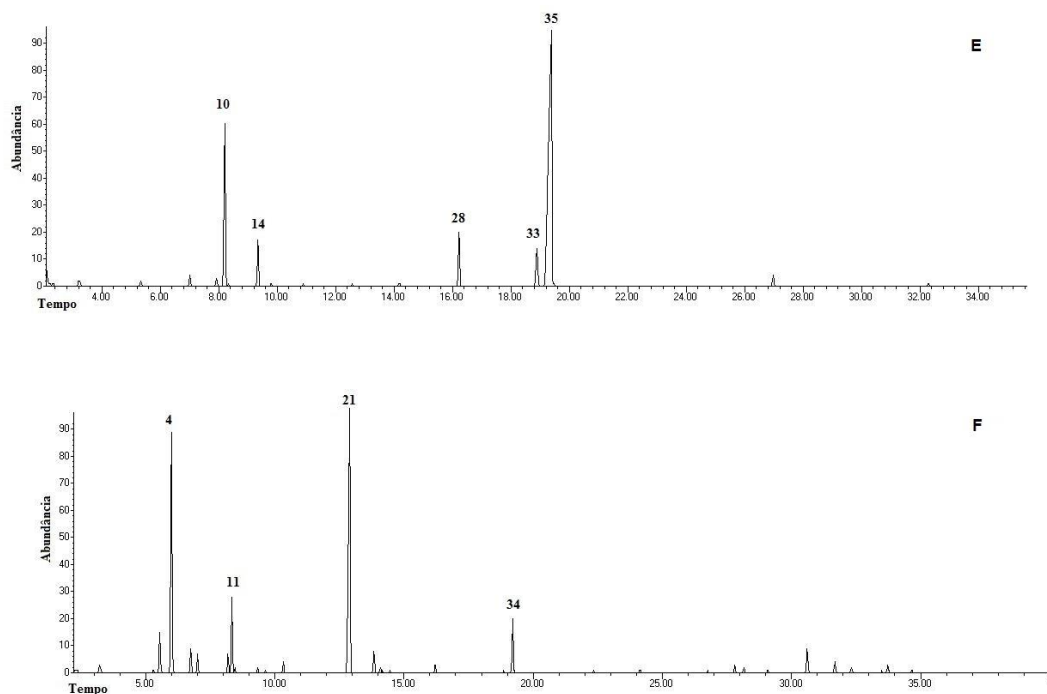


FIGURA 4 - Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) da população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa. Compostos: canfeno (**4**), p-cimeno (**10**), limoneno (**11**), γ -terpineno (**14**), cânfora (**21**), metil-eter-timol (**28**), timol (**33**), carvacrol (**35**). Picos não numerados não foram majoritários nas amostras.

Nota: As letras E e F no canto superior direito dos cromatogramas correspondem às plantas 5 e 28 respectivamente.

Fonte: Da autora.

No cromatograma G, referente à análise do óleo essencial da planta 15 da estação chuvosa, o timol (**33**) foi detectado como majoritário e carvacrol (**35**) em pequena quantidade. Outros compostos foram detectados: p-cimeno (**10**), γ -terpineno (**14**) e metil-eter-timol (**28**). No cromatograma H, referente à análise do óleo essencial da planta 29, apresentou outros majoritários diferentes da maioria das plantas: canfeno (**4**), cânfora (**21**), β -citral (**29**),

geranial (31), copaeno (38), α -himachaleno (44), óxido de cariofileno (55) e (-)-spatuleno (59).

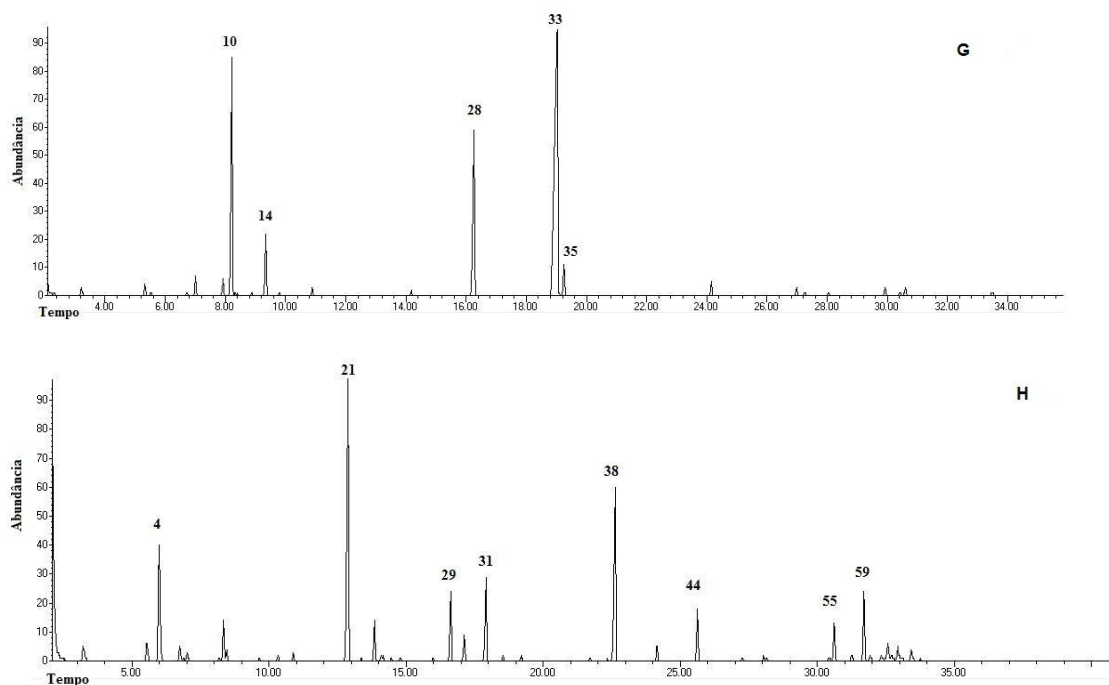


FIGURA 5 - Cromatograma de íons totais obtido por CG-EM do óleo essencial extraído de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) da população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa. Compostos: canfeno (4), p-cimeno (10), γ -terpineno (14), cânfora (21), metil-eter-timol (28), β -citral (29), geranial (31), timol (33), copaeno (38), α -himachaleno (44), óxido de cariofileno (55), (-)-spatuleno (59). Picos não numerados não foram majoritários nas amostras.

Nota: As letras G e H no canto superior direito dos cromatogramas correspondem às plantas 15 e 29 respectivamente.

Fonte: Da autora.

3.3 Análise de agrupamento

Na TABELA 2, estão agrupadas as plantas da estação seca e chuvosa, de acordo com o método de otimização de Tocher. O agrupamento de Tocher revelou cinco grupos distintos, sendo que o grupo 1 reuniu a maioria das plantas em estação seca ou chuvosa, indicando que a época do ano avaliada não interferiu de forma significativa na composição do óleo essencial da maioria das plantas. Apenas as plantas 16, 29, 1 e 15 foram alocadas em grupos distintos, ou seja, ocorreram diferenças importantes entre a estação seca e chuvosa.

Esse resultado está de acordo com as análises químicas do óleo essencial, pois as plantas que foram alocadas em grupos distintos apresentaram características químicas diferentes das demais plantas da população. A planta 16, na estação chuvosa, teve como composto majoritário a cânfora **(21)**, e o timol **(33)** foi detectado com baixo teor. A planta 29 apresentou, como composto majoritário na estação chuvosa, a cânfora **(21)**, e o timol **(33)** e o carvacrol **(35)** não foram detectados. Na planta 1, foi detectado, como majoritário na estação seca, o p-cimeno e na chuvosa, o carvacrol. E a planta 15 na estação seca e na estação chuvosa apresentou como composto majoritário, o timol **(33)**. Poucas plantas apresentaram variação na composição química, a época do ano não influenciou na produção de compostos nas plantas dessa população natural.

TABELA 2

Agrupamento das plantas da população natural de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, segundo o método de otimização de Tocher.

Grupo	Indivíduos
1	2S, 27S, 12S, 5S, 4S, 9S, 10S, 5C, 21S, 30S, 7S, 1C, 20S, 30C, 20C, 17S, 3S, 25S, 11S, 19S, 17C, 25C, 3C, 24S, 23S, 2C, 8S, 14S, 12C, 27C, 4C, 10C, 7C, 9C, 13S, 14C, 22C, 8C, 21C, 11C, 25S, 22S, 6S, 19C, 13C, 24C, 28S, 23C, 29S, 15C, 16S, 25C, 6C, 28C
2	16C
3	29C
4	1S
5	15S

Fonte: Programa GENES.

Nota: O número corresponde à planta. E a letra S – estação seca ; letra C – estação chuvosa.

4 CONCLUSÃO

Há variação no teor do óleo essencial de *Lippia origanoides*, sendo que o da estação chuvosa é superior ao da estação seca. Não há variação nos compostos principais entre as duas estações, mas há diversidade química entre os majoritários. O carvacrol é o composto majoritário, na maioria das plantas nas estações seca e chuvosa. Apenas quatro plantas diferiram quimicamente das demais, notando-se certa estabilidade na composição química em relação à estação seca e à chuvosa.

TABELA 1

Abundância relativa (%) dos compostos químicos detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) da população natural do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, na estação chuvosa (fevereiro de 2014) e na estação seca (maio de 2013).

Nº	composto	Ircal	1C	1S	2C	2S	3C	3S	4C	4S	5C	5S	6C	6S
1	(E)-2-hexenal	749,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	triacileno	923,1	0,9	-	0,6	0,8	0,7	1,0	0,9	1,3	0,7	0,9	1,0	1,0
3	α -pineno	930,8	0,3	-	0,3	0,3	-	1,1	-	0,4	0,1	0,5	0,3	0,3
4	canfeno	947,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	β -pineno	975,9	0,1	-	0,3	0,2	0,3	-	-	0,2	0,1	-	-	-
6	δ -metil- δ -hepten-2-ona	981,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	β -mirreno	986,2	1,2	-	0,8	1,2	0,8	1,3	1,1	1,6	1,0	1,3	1,4	1,4
8	α -feladreno	1005,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,0
9	α -terpineno	1015,4	1,2	2,0	0,4	1,2	0,7	1,1	1,2	1,7	0,9	1,4	1,9	1,8
10	p-cimeno	1023,3	18,6	46,8	16,1	16,3	15,0	17,6	15,8	17,2	16,0	16,6	15,7	20,2
11	limoneno	1026,8	0,2	-	0,2	-	-	0,2	0,2	0,4	0,2	-	0,3	0,2
12	eucaliptol	1030,1	-	-	-	-	-	-	-	1,6	-	-	0,1	-
13	β -ocimeno	1042,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	γ -terpineno	1055,1	6,2	19,2	1,7	4,8	3,5	4,5	5,5	7,6	4,2	6,2	11,6	10,5
15	acetofenona	1063,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	5-isopropil-2-metilbicyclo[3,1,0]hexan-2-ol	1067,9	0,2	-	0,2	0,3	-	0,3	0,2	0,3	0,3	-	0,3	0,3
17	terpinoleno	1082,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	β -linalol	1098,3	0,3	-	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	1,3	0,2	-	0,9	0,7
19	desconhecido 1	1100,3	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,8	-	-
20	desconhecido 2	1139,4	0,1	-	0,1	0,3	-	0,3	0,2	-	0,2	-	0,2	-
21	(+)-canfora	1147,4	-	-	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	borneol	1169,8	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
23	desconhecido 3	1176,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	desconhecido 4	1178,2	0,4	-	0,4	0,6	0,5	0,6	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5
25	p-cimeno-8-ol	1185,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	p-ment-1-en-8-ol	1194,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	desconhecido 5	1221,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	metil-eter-timol	1226,5	4,3	7,6	5,2	7,6	4,1	8,4	5,6	5,7	5,1	6,7	6,4	7,5
29	β -citral	1235,3	-	-	0,3	0,6	-	0,3	-	-	-	-	0,3	0,3

Continuação

Nº	composto	Ircal	1C	1S	2C	2S	3C	3S	4C	4S	5C	5S	6C	6S
62	des conhecido 19	1630,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	o-ilemeno	1635,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	des conhecido 20	1648,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	des conhecido 21	1656,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	des conhecido 22	1679,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	des conhecido 23	2212,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total		99,0	100,0	99,0	100,0	99,2	100,0	98,9	99,8	99,0	100,0	98,6	100,0
	Monoterpenos		97,4	78,3	90,2	94,7	95,1	95,0	96,1	95,3	96,8	93,9	94,0	95,9
	Sesquiterpenos		1,0	0,0	2,9	2,6	1,7	3,0	1,9	2,4	1,2	3,1	0,8	0,6
	Monoterpenos oxigenados		68,6	10,3	71,9	70,4	74,6	68,4	71,4	64,9	73,6	67,7	62,8	61,7
	Sesquiterpenos oxigenados		0,5	0,0	2,7	2,4	1,9	2,9	1,4	2,6	1,2	1,8	1,5	1,0
	Compostos des conhecidos		0,6	21,7	2,0	0,9	0,8	1,4	0,6	0,7	1,0	2,4	1,3	1,2
	Hidrocarboneto		29,2	68,0	22,3	26,3	21,9	27,3	25,5	31,5	23,2	28,1	33,0	36,0
	Outros		1,0	0,0	1,0	0,0	0,8	0,0	1,1	0,2	1,0	0,0	1,4	0,0

Nº - Picos nas figuras 2,3, 4 e 5. IRcal - Índice de retenção calculado segundo Van den Dool e Kratz. 1C - Número da planta e estação chuvosa;

1S - Número da planta e estação seca.

Continuação

Nº	composto	lrcal	7C	7S	8C	8S	9C	9S	10C	10S	11C	11S	12C	12S
33	timol	1288,6	4,3	4,2	5,0	5,3	4,5	4,4	2,3	3,0	3,1	3,7	4,4	5,1
34	desconhecido 7	1296,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	carvacrol	1299,9	55,4	52,1	52,3	46,4	61,3	50,3	63,4	60,0	65,4	62,6	57,3	48,4
36	desconhecido 8	1355,2	-	-	-	-	0,1	0,0	-	-	-	-	-	-
37	acetato de timol	1362,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	copaeno	1371,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	acetato de geraniol	1378,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	benzeno, 2-(1,1-dimetil etil)-1,4-dimetoxi-	1408,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	caricifeno	1413,0	0,7	0,7	1,1	1,3	0,9	0,9	0,6	0,9	-	-	1,2	1,3
42	α -guaieno	1429,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	desconhecido 9	1435,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	α -himachaleno	1449,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	2,5-dimetoxiacetofenona	1475,4	-	-	0,5	0,9	-	-	-	-	-	-	0,4	0,6
46	fenol, 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi-	1482,2	1,2	1,5	-	-	1,5	1,6	1,1	2,4	1,8	4,3	0,8	1,4
47	β -guaieno	1489,1	0,1	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	0,3	0,4
48	β -bisaboteno	1504,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-
49	selineno 7- ϵ -alfa	1511,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	desconhecido 10	1535,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	desconhecido 11	1549,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	desconhecido 12	1551,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	4-trans-Nerolidol	1556,5	0,2	-	0,2	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
54	desconhecido 13	1569,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	óxido de caricifeno	1574,1	0,4	0,7	0,5	1,3	0,6	1,2	0,5	0,7	-	-	0,4	0,6
56	desconhecido 14	1584,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,8
57	desconhecido 15	1589,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	desconhecido 16	1601,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	(-)-spatuleno	1603,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	desconhecido 17	1617,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	desconhecido 18	1626,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	desconhecido 19	1630,9	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	0,3	0,4
63	α -elemeno	1635,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Continuação

Nº	composto	Ircal	7C	7S	8C	8S	9C	9S	10C	10S	11C	11S	12C	12S
64	des conhecido 20	1648,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	des conhecido 21	1668,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	des conhecido 22	1679,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	des conhecido 23	2212,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total		98,6	99,6	99,0	100,0	99,0	100,0	98,9	100,0	98,7	99,4	99,3	99,8
	Monoterpenos		95,2	95,9	96,2	95,0	94,8	95,8	96,1	95,4	95,7	94,3	94,8	93,1
	Sesquiterpenos		1,8	2,2	1,1	1,3	2,4	2,6	1,7	3,3	1,8	4,3	2,1	2,7
	Monoterpenos oxigenados		66,4	63,3	63,7	60,0	71,9	62,7	73,9	72,2	75,1	73,9	71,4	64,9
	Sesquiterpenos oxigenados		1,8	2,2	1,2	2,5	2,1	2,8	1,6	3,1	1,8	4,3	1,7	2,9
	Compostos des conhecidos		0,9	0,9	0,4	0,9	0,9	0,5	0,7	0,5	0,9	0,8	1,1	1,8
	Hidrocarboneto		29,6	33,3	33,7	36,7	24,0	34,0	22,7	24,2	21,0	20,5	25,1	30,2
	Outros		1,4	0,4	1,0	0,0	1,0	0,0	1,1	0,0	1,3	0,6	0,7	0,2

Nº - Picos nas figuras 2,3, 4 e 5. IRcal - Índice de retenção calculado segundo Van den Dool e Kratz. 1C - Número da planta e estação chuvosa;

1S - Número da planta e estação seca.

Continuação

Nº	composto	10c1	13C	13S	14C	14S	15C	15S	16C	16S	17C	17S	18C	18S
1	(E)-2-hexenal	749,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
2	triciclono	923,1	0,6	0,6	1,0	1,5	0,9	-	-	-	1,0	1,1	0,9	1,2
3	α-pineno	930,8	0,5	0,6	0,2	0,4	0,3	0,3	3,3	4,1	0,2	-	0,5	0,8
4	canfeno	947,6	1,2	1,1	-	-	-	-	19,1	20,6	-	-	-	-
5	β-pineno	975,9	0,3	0,4	0,1	-	0,3	0,4	2,0	2,5	0,1	-	0,2	-
6	β-metil-5-hepten-2-ona	981,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	β-nitreno	999,2	1,1	1,2	1,2	1,5	1,5	1,7	1,4	1,3	1,1	1,4	1,2	1,5
8	α-felandreno	1005,9	-	-	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	α-terpineno	1015,4	0,8	0,9	1,7	2,0	1,2	1,5	-	-	0,9	1,2	1,0	1,4
10	p-cimeno	1023,3	14,0	13,8	14,3	18,4	19,4	21,1	1,8	-	15,7	15,3	18,3	19,0
11	limoneno	1026,8	0,4	0,4	0,2	0,4	0,1	0,2	5,4	6,3	0,2	-	0,2	0,2
12	eucaliptol	1030,1	-	-	-	1,0	-	-	0,4	0,5	-	-	-	-
13	β-cimeno	1042,0	-	-	-	-	0,2	0,3	-	-	-	-	-	-
14	γ-terpineno	1055,1	4,3	4,7	10,9	10,3	4,6	4,6	0,4	0,3	3,8	5,0	5,3	6,8
15	acetofenona	1063,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	5-iso-propil-2-metilbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol	1067,9	-	-	0,3	0,4	0,2	-	-	-	0,2	0,3	0,2	0,3
17	terpinoleno	1082,6	-	-	-	-	-	-	1,4	1,3	-	-	-	-
18	β-linalol	1088,3	4,0	4,0	0,6	0,6	0,5	0,7	-	-	3,7	0,3	1,4	0,8
19	desconhecido 1	1100,3	-	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-
20	desconhecido 2	1139,4	0,2	0,8	0,1	-	-	-	-	-	0,2	0,3	0,2	-
21	(+)-camfira	1147,4	0,8	0,0	-	-	-	-	38,6	36,1	-	-	-	-
22	borneol	1169,8	3,3	2,9	0,2	-	-	-	5,1	5,7	-	-	-	-
23	desconhecido 3	1176,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	desconhecido 4	1178,2	0,5	0,4	0,4	0,6	0,4	0,5	0,3	0,5	0,4	0,4	0,4	0,5
25	p-cimeno-8-ol	1185,9	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
26	p-ment-1-en-8-ol	1194,2	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
27	desconhecido 5	1221,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	metil-eter-timol	1226,5	6,5	7,3	5,2	6,3	15,3	15,2	1,3	-	6,3	7,4	8,1	9,1
29	β-citral	1235,3	0,2	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,3	0,1	-
30	nerol	1248,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	geraniol	1267,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	desconhecido 6	1279,6	-	-	-	-	-	0,3	-	-	0,1	-	0,1	-
33	timol	1288,6	2,6	3,1	4,8	4,0	47,5	44,0	3,4	-	3,2	3,5	3,2	4,1

Continuação

Nº	composto	lrcal	13C	13S	14C	14S	15C	15S	16C	16S	17C	17S	18C	18S
66	desconhecido 22	1679,6	-	-	-	-	-	0,0	0,3	-	-	-	-	-
67	desconhecido 23	2212,2	-	-	-	-	-	98,3	97,0	97,7	99,1	100,0	99,1	100,0
	Total		98,7	98,5	98,8	99,6	99,3	98,3	97,0	97,7	99,1	100,0	99,1	100,0
	Monoterpenos		85,4	83,3	94,7	95,6	91,9	89,9	40,1	36,9	90,6	93,6	93,0	94,2
	Sesquiterpenos		3,9	4,4	0,9	0,4	1,7	1,2	2,8	3,1	5,5	4,1	2,8	3,0
	Monoterpenos oxigenados		66,6	62,5	65,3	61,1	63,5	59,9	48,9	42,8	67,8	69,9	65,5	63,4
	Sesquiterpenos oxigenados		5,3	4,1	2,4	0,9	2,2	1,7	4,0	6,9	4,5	3,2	2,5	4,0
	Compostos desconhecidos		0,8	1,3	0,8	1,1	3,6	4,5	5,5	7,4	1,1	1,1	2,0	0,5
	Hidrocarboneto		26,0	30,7	30,3	36,5	30,0	32,1	38,5	40,6	25,8	25,7	29,2	32,2
	Outros		1,3	1,5	1,2	0,4	0,7	1,7	3,0	2,3	0,9	0,0	0,9	0,0

Nº - Picos nas figuras 2,3, 4 e 5. IRcal - Índice de retenção calculado segundo Van den Dool e Kratz. 1C - Número da planta e estação chuvosa; 1S - Número da planta e estação seca.

Continuação

Nº	composto	Ical	19C	19S	20C	20S	21C	21S	22C	22S	23C	23S	24C	24S
1	(E)-2-hexenal	749,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	lícideno	923,1	1,0	1,1	1,1	0,8	0,8	1,0	0,5	-	0,7	0,5	-	1,0
3	α-pineno	930,8	0,3	0,6	0,5	0,5	0,5	0,9	0,4	1,1	0,1	-	0,4	0,6
4	carfeno	947,6	-	-	-	-	-	-	2,5	5,2	-	-	0,1	-
5	β-pineno	975,9	0,2	0,3	0,2	-	0,2	-	0,4	0,7	0,2	-	0,1	-
6	6-metil-5-hepten-2-ona	981,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	β-mirceno	986,2	1,2	1,4	1,4	1,3	1,2	1,5	1,0	1,3	1,0	0,8	1,0	1,3
8	α-felandeno	1005,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	α-terpineno	1015,4	0,8	1,0	1,4	1,2	1,2	1,5	0,7	0,7	0,8	0,6	0,7	1,1
10	p-cimeno	1023,3	14,5	17,4	15,3	15,4	11,5	13,6	12,8	13,4	14,9	12,9	15,4	16,2
11	limoneno	1026,8	0,2	-	0,1	0,0	-	-	0,8	1,5	0,1	-	0,2	0,2
12	eucaliptol	1030,1	-	-	-	-	-	-	0,6	0,7	-	-	1,2	1,5
13	β-cadineno	1042,0	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	γ-terpineno	1055,1	2,7	3,5	6,2	5,2	6,0	6,5	2,8	2,8	3,1	2,7	3,7	5,3
15	acetofenona	1063,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	5-isopropil-2-metilbicyclo[3,1,0]hexan-2-ol	1067,9	0,3	-	0,2	-	-	-	0,2	-	0,2	-	0,3	0,3
17	terpinoleno	1082,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	β-linalil	1086,3	0,7	1,1	0,7	-	1,8	1,8	0,4	0,5	0,5	-	0,8	0,6
19	desconhecido 1	1100,3	0,1	-	0,1	0,5	-	-	-	-	0,1	0,3	0,2	-
20	desconhecido 2	1139,4	0,3	-	0,2	-	-	-	0,2	-	0,4	-	0,2	-
21	(+)-canfona	1147,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	borneol	1169,8	0,2	-	-	-	-	-	9,3	11,9	-	0,8	-	-
23	desconhecido 3	1176,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	desconhecido 4	1178,2	0,5	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	-	0,6	0,5	0,5	0,5
25	p-cimeno-8-ol	1185,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	p-ment-1-en-8-ol	1194,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	desconhecido 5	1221,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	metil-eter-limol	1226,5	5,3	7,7	3,8	5,9	5,0	6,5	4,7	6,8	3,6	4,5	7,1	7,7
29	β-citral	1235,3	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
30	nerol	1246,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	geraniol	1267,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	desconhecido 6	1279,6	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	limol	1288,6	3,9	3,5	4,8	5,2	4,0	4,8	4,2	3,5	5,9	6,3	4,1	5,1

Continuação

Nº	composto	IRcal	19C	19S	20C	20S	21C	21S	22C	22S	23C	23S	24C	24S
64	des concheado 20	1648,0	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	0,1	-
66	des concheado 21	1656,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	des concheado 22	1679,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	des concheado 23	2212,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total		98,5	99,5	99,2	100,0	98,7	99,6	98,6	99,2	99,2	100,0	99,2	100,0
	Monoterpenos		92,4	93,2	96,0	94,7	96,8	95,3	83,8	85,3	95,5	92,6	96,2	96,2
	Sesquiterpenos		3,2	3,8	1,7	3,6	1,0	2,8	2,4	2,0	1,2	5,0	1,3	2,3
	Monoterpenos oxigenados		71,9	67,8	69,8	70,4	75,4	70,4	71,2	70,4	74,5	75,8	74,0	70,4
	Sesquiterpenos oxigenados		3,4	3,9	1,5	3,3	1,1	3,0	2,8	0,0	1,5	4,6	1,6	2,5
	Compostos des concheados		1,4	0,9	0,9	1,0	0,4	0,5	1,6	0,0	1,2	0,8	1,1	0,8
	Hidrocarboneto		21,9	26,8	27,0	25,3	21,7	25,8	23,0	28,8	21,9	18,7	22,5	26,3
	Outros		1,5	0,5	0,8	0,0	1,3	0,4	1,4	0,8	0,8	0,0	0,8	0,0

Nº - Picos nas figuras 2,3, 4 e 5. IRcal - Índice de retenção calculado segundo Van den Dool e Kratz. 1C - Número da planta e estação chuvosa; 1S - Número da planta e estação seca.

Continuação

Nº	composto	Ircal	25C	25S	26C	26S	27C	27S	28C	28S	29C	29S	30C	30S
1	(E)-2-hexenal	7492	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	tricicleno	923,1	0,6	0,7	1,0	1,3	0,9	-	-	-	-	-	1,1	1,1
3	α-pineno	930,8	-	-	0,4	1,2	0,4	4,9	4,5	1,4	1,8	-	0,2	0,5
4	carfeno	947,6	-	-	-	0,5	-	24,9	25,8	8,3	10,5	-	-	-
5	β-pineno	975,9	0,1	-	-	0,4	0,2	2,8	2,4	1,1	1,3	-	0,2	-
6	6-metil-5-hepten-2-ona	981,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
7	β-mirceno	988,2	0,9	1,0	1,2	1,7	1,3	1,9	1,6	0,8	0,7	1,2	1,3	1,5
8	α-felandreno	1005,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
9	α-terpineno	1015,4	0,6	0,7	1,3	1,5	1,2	-	-	-	-	1,3	1,5	1,5
10	p-dimeno	1023,3	17,2	18,8	9,0	16,2	16,0	-	1,8	-	0,2	-	15,1	18,3
11	limoneno	1026,8	0,1	-	0,1	0,4	0,2	8,3	7,2	2,7	3,1	16,5	0,2	0,3
12	eucaliptol	1030,1	-	-	-	-	-	-	0,4	0,9	0,8	0,3	-	-
13	β-ocimeno	1042,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	γ-terpineno	1055,1	2,6	2,9	6,4	5,8	5,1	0,4	0,6	-	-	5,0	7,6	6,4
15	acetofenona	1063,5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,3	-	-
16	5-isopropil-2-metilbencilo[3,1,0]hexan-2-ol	1067,9	-	-	-	0,2	0,2	0,5	-	-	-	-	0,3	0,3
17	terpinoleno	1082,6	-	-	-	-	-	1,5	1,0	0,3	0,4	-	-	-
18	β-linalol	1098,3	1,0	1,0	-	0,9	0,5	-	-	0,8	0,6	0,6	1,3	-
19	desconhecido 1	1100,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-
20	desconhecido 2	1139,4	0,2	-	-	0,3	0,2	-	-	-	-	0,3	0,2	-
21	(+)-canfora	1147,4	-	-	-	0,7	-	38,6	37,9	23,2	25,5	-	-	-
22	borneol	1169,8	-	-	-	0,3	-	3,5	2,2	2,8	2,7	-	-	-
23	desconhecido 3	1176,1	-	-	-	-	-	-	0,5	0,4	0,4	-	-	-
24	desconhecido 4	1178,2	0,8	0,8	-	0,6	0,5	0,7	-	0,5	0,3	0,9	0,4	0,6
25	p-cimen-8-ol	1185,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	p-cimen-8-ol	1184,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-
27	desconhecido 5	1221,3	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
28	metil-ester-timol	1226,5	7,3	8,1	3,7	8,7	7,3	-	0,7	-	-	6,6	4,8	6,0
29	β-citral	1235,3	0,1	-	-	0,3	0,2	-	-	6,2	5,0	-	-	-
30	nerol	1248,5	-	-	-	-	-	-	-	1,5	1,8	-	-	-
31	geranial	1267,3	-	-	-	-	-	-	-	7,8	6,3	-	-	-
32	desconhecido 6	1279,6	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,3	-	0,1	-
33	timol	1288,6	2,2	3,5	4,1	3,3	2,8	-	-	0,5	-	4,4	6,9	5,0

Continuação

Nº	composto	Ircal	25C	25S	26C	26S	27C	27S	28C	28S	29C	29S	30C	30S
34	des conhecido 7	1296,7	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	-	-	-
35	carvacrol	1299,9	62,2	59,3	67,4	50,5	60,5	-	5,3	-	-	55,7	56,4	55,0
36	des conhecido 8	1355,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-
37	acetato de timol	1362,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	copaeno	1371,4	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-
39	acetato de geraniol	1378,6	-	-	-	-	-	-	-	19,2	15,5	-	-	-
40	benzeno, 2-(1,1-dimetil etil)-1,4-dimetoxi-	1408,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	cariofileno	1413,0	0,2	-	0,5	0,4	0,1	0,7	0,3	1,4	1,1	1,7	-	-
42	α -guaíeno	1429,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	des conhecido 9	1435,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	α -himachaleno	1449,0	-	-	-	0,2	-	-	-	4,4	3,6	-	-	-
45	2,5-dimetoxiacetofenona	1475,4	-	-	-	0,3	0,2	-	-	-	-	-	-	-
46	fenol, 3-(1,1-dimetil etil)-4-metoxi-	1482,2	0,8	1,7	2,7	2,4	1,1	-	-	-	-	2,2	1,0	2,1
47	β -guaíeno	1489,1	-	-	0,4	0,3	0,2	-	-	0,4	0,2	-	-	-
48	β -bisaboleno	1504,2	0,8	0,6	-	-	-	1,4	0,8	-	-	-	0,4	-
49	selineno 7-epi-alfa	1511,7	-	-	-	0,2	-	0,7	0,5	0,5	0,2	-	-	-
50	des conhecido 10	1535,4	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-
51	des conhecido 11	1549,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	des conhecido 12	1551,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	<i>z</i> -trans-Nerolidol	1556,5	0,1	-	0,2	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
54	des conhecido 13	1569,4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-
55	óxido de cariofileno	1574,1	0,6	0,9	0,2	0,4	0,1	4,0	2,8	3,6	3,0	1,1	-	0,3
56	des conhecido 14	1584,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	des conhecido 15	1589,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	des conhecido 16	1601,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	(-)-spatuleno	1603,1	-	-	-	-	-	1,7	-	5,3	0,5	-	-	-
60	des conhecido 17	1617,8	-	-	-	-	-	0,7	0,5	2,2	0,5	-	-	-
61	des conhecido 18	1626,9	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	-	-	-
62	des conhecido 19	1630,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-
63	α -elemeno	1635,2	-	-	-	-	-	-	-	1,2	0,9	-	-	-
64	des conhecido 20	1648,0	-	-	0,4	0,4	-	-	-	1,0	0,9	-	-	0,4

Continuação

Nº	composto	Ircal	25C	25S	26C	26S	27C	27S	28C	28S	29C	29S	30C	30S
65	des conhecido 21	1666,5	-	-	-	-	-	1,0	0,9	0,6	-	-	-	-
66	des conhecido 22	1679,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	des conhecido 23	2212,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total		98,7	100,0	99,1	100,0	99,0	99,5	97,6	98,8	97,3	99,2	99,2	99,2
	Monoterpenos		94,9	98,0	94,6	92,6	96,5	45,2	51,2	16,7	19,7	93,0	96,9	96,9
	Sesquiterpenos		1,0	1,7	3,2	3,0	1,2	0,7	0,3	5,9	4,6	3,9	1,0	2,1
	Monoterpenos oxigenados		73,1	71,8	75,2	64,9	71,5	42,6	48,4	62,8	59,2	67,9	69,7	66,3
	Sesquiterpenos oxigenados		1,6	2,6	3,1	3,4	1,4	5,8	2,8	8,9	3,5	3,3	1,0	2,4
	Compostos des conhecidos		0,8	0,8	0,4	1,5	0,7	2,9	1,9	4,6	10,7	1,2	0,8	0,9
	Hidrocarbonetos		23,2	24,9	20,4	30,2	25,5	48,3	46,5	22,5	23,9	26,8	27,6	29,6
	Outros		1,3	0,0	0,9	0,0	1,0	0,5	2,4	1,2	2,7	0,8	0,8	0,8

Nº - Picos nas figuras 2,3, 4 e 5. IRcal - Índice de retenção calculado segundo Van den Dool e Kratz. 1C - Número da planta e estação chuvosa, 1S - Número da planta e estação seca.

CAPÍTULO 3 – FLAVONOIDES TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E VARIAÇÃO SAZONAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA (*LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH.) DO BANCO DE GERMOPLASMA DO ICA/UFMG

RESUMO

O alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) é um arbusto que cresce até 3 m de altura, nativo da América Central e nordeste da América do Sul. É uma planta aromática usada para temperar alimentos e é também utilizada na medicina popular. As folhas são usadas como infusões para tratamentos gastrointestinais e respiratórios. A atividade biológica do óleo essencial depende da sua composição química, que é diverso em muitas espécies. A composição química do óleo essencial de *L. origanoides* pode variar e apresentar quimiotipos de acordo com o componente majoritário presente. Além do óleo essencial, estudos com *L. origanoides* têm relatado a presença de flavonoides que têm como características marcantes, a capacidade de atuar como antioxidantes sequestradores de radicais. O objetivo desta pesquisa foi determinar o teor de flavonoides, a atividade antioxidante dos extratos de folhas e a variação sazonal no teor e na composição química do óleo essencial de acessos de *L. origanoides* mantidos em banco de germoplasma *in vivo*. As coletas foram realizadas mensalmente durante um ano, de junho de 2013 a maio de 2014. Foram coletados dos acessos ICA 01, ICA 02, ICA 03, ICA 06, ICA 07, ICA 09, ICA11 e ICA 12, provenientes da coleção do banco de germoplasma *in vivo* de *L. origanoides* do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG). O óleo essencial foi extraído das folhas frescas por hidrodestilação no aparelho de Clevenger e analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). O teor de flavonoides foi determinado pelo método do cloreto de alumínio (AlCl₃), tendo a rutina como padrão, e expresso em miligrama de rutina equivalente (mg RE g⁻¹). A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radical DPPH e a concentração eficiente (CE₅₀) foi calculada a partir de equações obtidas da regressão quadrática e o índice de atividade antioxidante (IAA) foi calculado por meio da concentração do DPPH pela CE₅₀. Os resultados dos

flavonoides e da atividade antioxidante foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey. O coeficiente de correlação de Pearson foi empregado para avaliar a relação existente entre flavonoides e a atividade antioxidante. O teor médio do óleo essencial variou de 2,20%±0,39, no acesso 11, a 4,18%±0,91 no acesso 6. Na análise da composição química do óleo essencial de *L. origanoides* foram detectados 175 compostos, sendo 15 compostos majoritários para os oito acessos avaliados. Nos acessos 1, 2, 6, 7 e 9, considerados estáveis quanto à composição química, o carvacrol foi o composto majoritário na maior parte do ano. Os acessos 3, 7, 11 e 12, considerados instáveis, apresentaram compostos majoritários diferentes durante o ano. O valor médio de flavonoides dos acessos do banco de germoplasma foi de 254,55 mg RE g⁻¹, variando de 114,69 mg RE g⁻¹ no acesso 2, a 417,04 mg RE g⁻¹ no acesso 6. Os extratos dos acessos apresentaram moderada atividade antioxidante. Os teores de flavonoides totais dos extratos tiveram uma correlação positiva (r=0,83) com a atividade antioxidante. Há variação no teor do óleo essencial de *L. origanoides* e na sua composição química ao longo do ano e, em alguns acessos, ocorrendo até alterações do componente majoritário. O composto majoritário, na maioria dos acessos durante o ano, é o carvacrol. Os acessos de *L. origanoides* apresentam elevado teor de flavonoides totais nos extratos etanólicos das folhas e moderada atividade antioxidante. A correlação entre esses dados indica que a atividade antioxidante pode ser exercida pelos flavonoides presentes nas folhas.

Palavras-chave: CG-EM, DPPH, germoplasma, flavonoides, atividade antioxidante, composto majoritário.

1 INTRODUÇÃO

Lippia origanoides Kunth. (Verbenaceae) é um arbusto muito aromático que cresce até 3 metros de altura, nativo da América Central e nordeste da América do Sul. (PASCUAL *et al.*, 2001). Conhecida popularmente como salva-de-marajó ou alecrim-pimenta, *L. origanoides* é usada como tempero e para fins medicinais (OLIVEIRA *et al.*, 2006). As folhas são usadas como infusões para tratamentos gastrointestinais e respiratórios. Além de ser um antisséptico geral para boca, garganta e feridas (PASCUAL *et al.*, 2001).

O óleo essencial de *L. origanoides* tem comprovada ação antimicrobiana e antifúngica, e a bioatividade dos óleos essenciais produzidos por *L. origanoides* mostrou atividade frente a alguns microrganismos patogênicos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (SANTOS *et al.*, 2004; TANGARIFE-CASTAÑO *et al.*, 2011). Outras pesquisas mostram que apresenta também atividade contra o vírus da febre amarela (MENESES *et al.*, 2009), ação contra *Leishmania chagasi* (ESCOBAR *et al.*, 2010) e potencial agente quimioterápico contra *Trypanosoma cruzi* (BORGES *et al.*, 2012).

A atividade biológica do óleo essencial depende da sua composição química, que é diversa em muitas espécies. A composição química do óleo essencial de *L. origanoides* pode variar e apresentar quimiotipos de acordo com o componente majoritário presente (STASHENKO *et al.*, 2010). A composição do óleo essencial de uma espécie aromática é determinada geneticamente, porém condições ambientais podem induzir as variações significativas no rendimento e na qualidade do óleo essencial (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Além do óleo essencial, estudos realizados com extratos de populações de *L. origanoides* têm relatado a presença de flavonoides (STASHENKO *et al.*, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2010). Os flavonoides são substâncias naturais com estruturas fenólicas variáveis, tendo, como características marcantes a capacidade de atuar como antioxidantes sequestradores de radicais (WILMSEN; SPADA; SALVADOR, 2005).

Os flavonoides são acumulados principalmente em tecidos superficiais tais como epiderme, subepiderme, pelos e cutícula e utilizados pela planta como filtros UV, pois absorvem radiação UV-B sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa. Nos últimos anos, pesquisas com antioxidantes naturais têm aumentado devido a sua importância no combate de radicais livres e outras formas reativas do oxigênio, que são responsáveis por doenças como câncer e relacionadas ao envelhecimento (ISHITSUKA *et al.*, 2005).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi determinar o teor de flavonoides, a atividade antioxidante dos extratos de folhas e a variação sazonal no teor e na composição química do óleo essencial de acessos de alecrim-pimenta (*L. origanoides*) mantidos em banco de germoplasma *in vivo*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coletas

Os acessos de *L. origanoides* são provenientes da coleção do banco de germoplasma *in vivo* do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG). Os acessos selecionados foram os que tiveram maior número de componentes detectados de acordo com estudo realizado por Melo (2012). Os acessos pertencem a diversas localidades, sendo o acesso ICA 01, de Salinas, MG; o ICA 02 e 03, de Turmalina, MG; o ICA 06, de Cristália, MG; o ICA 07, de Montes Claros, MG; o ICA 09, de Glauvilândia, MG; e o ICA11 e ICA 12, de Buenópolis, MG. As coletas das folhas foram realizadas mensalmente no período da manhã entre junho de 2013 a maio de 2014. O material vegetal foi levado ao laboratório de Plantas Medicinais do ICA/UFMG e armazenadas em freezer (-4°).

2.2 Extração do óleo essencial

A extração de óleo essencial das folhas (40 g) foi feita por hidrodestilação durante 2 h, utilizando-se o aparelho de Clevenger em um balão de 1 000 ml, contendo 500 ml de água destilada. Após a extração, o volume do óleo foi determinado em balança analítica. O material vegetal resultante da extração foi submetido à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 60° C até peso constante, para a determinação da matéria seca das amostras. O teor (%) de óleo foi calculado com base no valor da massa do óleo dividido pelo peso da matéria seca da amostra, e o resultado multiplicado por 100. Após a extração e a pesagem do óleo essencial, foi adicionado sulfato de sódio anidro, para a retirada do excesso de hidrolato das amostras, que foram armazenadas em frascos âmbar.

2.3 Análise cromatográfica – Identificação

2.3.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As amostras de óleo essencial foram analisadas no Laboratório de Química Instrumental do ICA/UFMG. As amostras de óleo essencial foram pesadas, utilizando-se balança analítica Shimadzu (Kyoto, Japão) e diluídas em diclorometano para análises cromatográficas. Posteriormente, as amostras foram transferidas para vials de 2 ml e as injeções realizadas por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás Agilent Technologies (7890A) acoplado ao espectrômetro de massas (MS 5975C) dotado de coluna capilar de sílica fundida DB5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) e hélio (99,9999% de pureza) como gás de arraste e fluxo de 1 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. O injetor foi mantido a 220 $^{\circ}\text{C}$, com divisão de fluxo (*split*) na razão de 1:5, seguindo a programação da temperatura de 60 $^{\circ}\text{C}$ - 240 $^{\circ}\text{C}$ (3 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) mantida por 10 min. A temperatura da interface foi mantida em 240 $^{\circ}\text{C}$. O sistema foi operado no modo *full scan* com impacto de elétrons de 70 eV, na faixa de 45-550 (m/z). O índice de retenção de todos os compostos foi calculado a partir do tempo de retenção de uma mistura de *n*-alcanos ($\text{C}_7\text{-C}_{40}$, Sigma USA) 20 ppm, split 1:100.

Os dados gerados foram analisados utilizando o *software* MSD Chemstation juntamente com a biblioteca NIST, 2009 (*National Institute of Standards and Technology*). A abundância relativa (%) dos íons totais referentes aos compostos foi calculada a partir da área de pico do cromatograma (CG) e organizada de acordo com a ordem de eluição. A percentagem de cada componente foi calculada a partir da média normalizada da área do cromatograma. A identificação dos compostos foi realizada por comparação do espectro de massas com o da biblioteca NIST 2.0, 2009. O índice de retenção (IR) relativo foi calculado segundo Van den Dool e Kratz (1963), e comparado com informações da literatura (ADAMS, 2007).

2.4 Determinação do teor de flavonoides totais

2.4.1 Preparo dos extratos

As folhas coletadas dos oito acessos do banco de germoplasma de alecrim-pimenta foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60 $^{\circ}\text{C}$

até peso constante. Posteriormente foram trituradas, em moinho de facas, e armazenadas a -4°C em tubos falcon. O preparo do extrato vegetal seguiu a metodologia de Liu *et al.* (2008) com adaptações. Pesou-se as folhas secas e moídas (1g), colocadas em erlenmeyer, seguido da adição da solução de etanol a 60% (20 ml). O extrato foi mantido em agitador orbital por 24 horas e os extratos foram filtrados e armazenados em frasco âmbar.

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método do cloreto de alumínio de acordo com Liu *et al.* (2008), modificado. Colocou-se o referido extrato vegetal diluído (2 ml) em um tubo de ensaio e adicionou-se a solução de cloreto de alumínio (2 ml) a 2%. A mistura foi submetida à agitação em vórtex e deixada em repouso (30 minutos) ao abrigo da luz. A rutina (Sigma Aldrich, EUA) foi utilizada como padrão para a curva de calibração, na qual foram montadas com cinco concentrações distintas (0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 mg ml^{-1}) (FIG. 1). As análises e a curva de calibração foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis, modelo Cary60, (Agilent), juntamente com a determinação do pico máximo de absorção do complexo (rutina- AlCl_3). As leituras foram realizadas a 405 nm e os flavonoides totais foram expressos em miligrama de rutina equivalente (mg RE g^{-1}). A análise foi realizada em triplicata.

2.4.2. Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade no software SAEG. A correlação de Pearson foi empregada para avaliar a relação existente entre os fatores climáticos com o teor de timol e carvacrol. O coeficiente de correlação foi obtido por meio da interação da temperatura média, precipitação, insolação e umidade relativa média com o teor de timol e carvacrol. Os dados climáticos foram obtidos do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia.

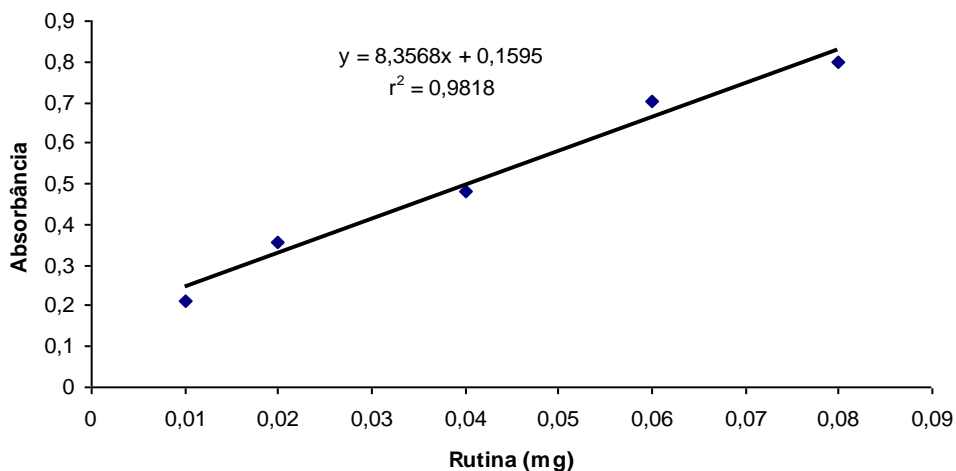


FIGURA 2 - Curva padrão de rutina utilizada na determinação de flavonoides totais em acessos de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

2.5 Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radical DPPH. A análise foi realizada em triplicata. A metodologia foi adaptada de Kondo *et al.* (2002). Os extratos etanólicos das folhas foram preparados na concentração de 1 mg ml⁻¹.

O radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) foi usado na concentração de 60 µM. Cinco concentrações do extrato (1 mg ml⁻¹) foram colocadas na solução de DPPH (3 ml) para reagir ao abrigo da luz. As leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro de UV a 517 nm, após 30 minutos. Os padrões usados foram a rutina na concentração de 1 mg ml⁻¹ e o BHT (Butil-hidroxi-tolueno) na concentração de 0,5 mg ml⁻¹.

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi determinada pela fórmula:

$$\% AA = \left(\frac{\text{Absorbância do controle} - \text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do controle}} \right) \times 100$$

Onde: Abs. Controle = absorvância do controle (solução de DPPH sem antioxidante) e Abs. Amostra = absorvância da amostra (extrato) a ser testada (MAISUTHISAKUL *et al.*, 2007).

A concentração eficiente (CE_{50}), quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, foi calculada a partir de equações obtidas da regressão quadrática da atividade antioxidante em função da concentração da amostra ($\mu\text{g ml}^{-1}$) na reação (SOUZA, 2007).

O índice de atividade antioxidante (IAA) foi calculado de acordo com Scherer e Godoy (2009).

$$IAA = \left(\frac{C_{DPPH}}{CE_{50}} \right)$$

Onde: C_{DPPH} é a concentração do DPPH ($\mu\text{g ml}^{-1}$).

As amostras foram classificadas em atividade antioxidante pobre quando o IAA < 0,5; atividade antioxidante moderada quando $0,5 < IAA < 1,0$; forte atividade antioxidante quando $1,0 < IAA < 2,0$; e atividade antioxidante muito forte quando $IAA > 2,0$.

2.5.1 Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software SAEG. O coeficiente de correlação de Pearson foi empregado para avaliar a relação existente entre flavonoides e a atividade antioxidante. Foi realizada a interação entre o teor de flavonoides e a atividade antioxidante.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teor do óleo essencial

O GRÁFICO 1 apresenta a média do teor de óleo essencial dos acessos do banco de germoplasma estudados ao longo de um ano. O teor médio do óleo essencial variou de 2,20%±0,39 no acesso 11 a 4,18%±0,91 no acesso 6 que apresentou a maior média, seguido dos acessos 2 (4,10%) e acesso 7 (3,75%). Já os que apresentaram a menor média foram os acessos 11 (2,20%), o acesso 3 (2,29%) e o acesso 9 (2,59%).

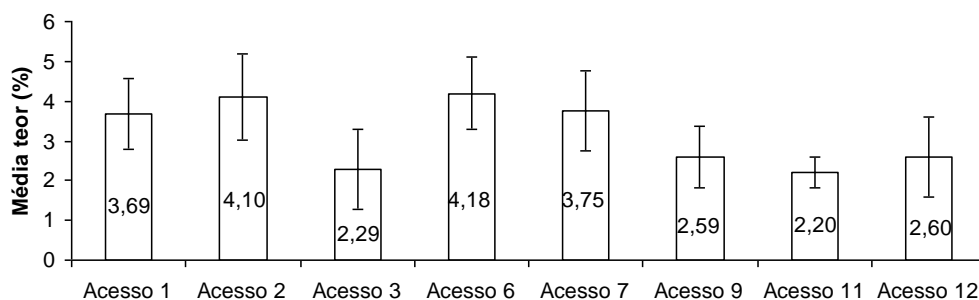


GRÁFICO 1 – Teor (%) médio do óleo essencial das folhas de oito acessos do banco de germoplasma de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, durante um ano.

Fonte: Da autora.

Em pesquisa realizada por Melo (2012), estudando os acessos de alecrim-pimenta (*L. origanoides*) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias (ICA/UFMG), os teores de óleo essencial variaram de 1,92%, no acesso 1 a 7,78% no acesso 6, sendo que este acesso também apresentou um dos maiores teores de óleo essencial no presente estudo. Em estudo realizado por Escobar (2010), com plantas coletadas de hábitat natural de localidades da Colômbia, o óleo essencial de *L. origanoides* variou de 1,5% a 4,4%. Já em estudo realizado por Oliveira (2007), com plantas cultivadas, o rendimento do óleo essencial de *L. origanoides* foi de 1%. A

produção de óleo essencial depende de vários fatores, como condições ambientais, formas de extração e horário de coleta (SIMÕES, 2007). No presente estudo, a variação observada pode estar ligada principalmente ao componente genético, uma vez que as plantas têm mesma idade e são mantidas nas mesmas condições edafoclimáticas. No GRAFICO 2 estão representados os teores do óleo essencial dos oito acessos no período de um ano. Durante a realização da pesquisa, o banco de germoplasma ficou sem irrigação durante alguns dias do mês de julho de 2013. Assim, pelo fato da espécie ser caducifólia, algumas plantas perderam folhas e não houve extração de óleo para os acessos 2 e 3 no mês de julho. No mês de agosto, não houve extração para os acessos 2, 3, 6, 9 e 11. Somente dos acessos 1, 7 e 12 foi possível a coleta de folhas e extração do óleo essencial nesse mês. A disponibilidade de água para o alecrim-pimenta é um fator importante para a produção de óleo essencial. Em estudo realizado por Lopes (2010), observou-se que a produção de fitomassa e de óleo essencial responde positivamente ao aumento da lâmina de água.

O teor do óleo essencial variou de 1,14% no acesso 9, no mês de junho, a 5,93%, no acesso 1, no mês de setembro. No mês de janeiro, não houve extração de óleo essencial dos acessos 2, 3 e 9, por não haver folhas suficientes. No mês de setembro, houve aumento no teor de óleo essencial nos acessos, exceto para o acesso 12.

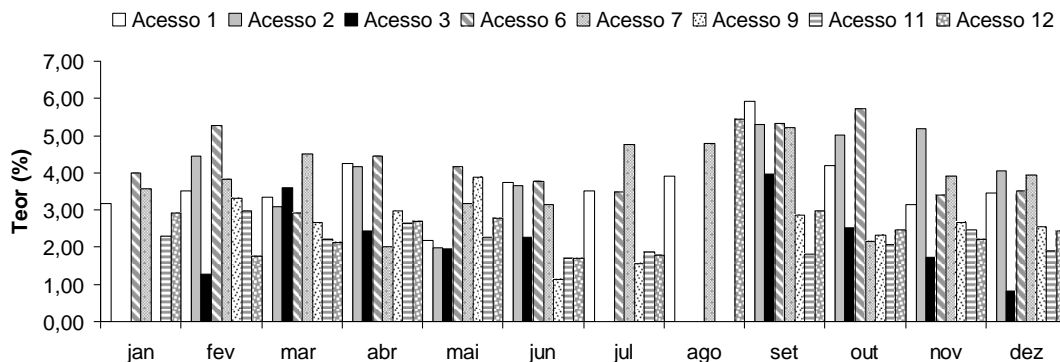


GRÁFICO 2 – Teor (%) do óleo essencial das folhas de oito acessos do banco de germoplasma de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, durante um ano, junho de 2013 a maio de 2014.

Fonte: Da autora.

De acordo com os coeficientes de variação, os acessos que apresentaram maior variação no teor de óleo essencial foram os acessos 3, 12 e 9, e os acessos que apresentaram menor variação foram os acessos 11, 6 e 2. A correlação da precipitação, temperatura média, insolação e umidade relativa média com teor do óleo essencial não foram significativas para este estudo. Portanto, esses fatores não influenciaram diretamente o teor de óleo essencial nos acessos do banco de germoplasma.

A influência da sazonalidade no teor e composição química do óleo essencial tem sido estudada para várias espécies. Ribeiro *et al.*(2014), estudando a influência do ritmo circadiano e sazonal em quimiotipos de *L. origanoides*, verificaram que o rendimento do óleo essencial variou de 1,7 a 4,6%. O menor rendimento foi em dezembro e o maior rendimento foi em junho. Já em estudo realizado por Sarrazin *et al.* (2015) com plantas coletadas de janeiro a dezembro de uma plantação experimental da Universidade Federal do Oeste do Pará, verificaram que a sazonalidade em 12 meses não afetou o rendimento médio do óleo essencial de *L. origanoides*.

3.2 Composição química do óleo essencial

Na análise da composição química do óleo essencial de *L. origanoides*, foram detectados 175 compostos. No estudo do banco de germoplasma foram identificados 15 compostos com os maiores teores para os oito acessos. O óleo essencial do alecrim-pimenta apresentou principalmente mono (78%) e sesquiterpenos (4%). Na TAB. 1, são apresentados os dados climáticos durante a realização da pesquisa. A precipitação total (mm) foi o fator climático que mais variou durante o ano, sendo que, nos meses de julho e agosto não houve precipitação e, no mês de dezembro a precipitação foi de 414,7 mm.

TABELA 1

Dados climáticos no período de realização da pesquisa (junho de 2013 a maio de 2014), no Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Mês	Insolação Total (h)	Temperatura Média (°C)	UR Média (%)	PrecipitacaoTotal (mm)
Jan	271,8	24,86	62,32	25,1
Fev	267,6	25,44	55,67	12,7
Mar	214,2	24,90	67,81	76,8
Abr	261,6	24,68	63,21	35,4
Mai	281,8	22,96	57,42	2
Jun	243,2	22,30	59,95	2,1
Jul	287,2	22,01	53,82	0
Ago	289,1	22,83	47,06	0
Set	226,8	24,66	49,35	37,8
Out	219,1	24,15	59,79	72,5
Nov	221,4	24,95	61,78	196,3
Dez	128,7	23,89	80,74	414,7

Fonte: <http://www.inmet.gov.br/portal/>

No acesso 1, os compostos majoritários durante o ano foram o carvacrol (**12**), p-cimeno (**3**), o timol (**11**) e o metil-eter-timol (**10**). Sendo o carvacrol (**12**) o majoritário em todos os meses do ano com os maiores teores (GRAF. 3). O acesso 1 foi considerado como acesso estável, já que manteve os mesmos majoritários durante o ano.

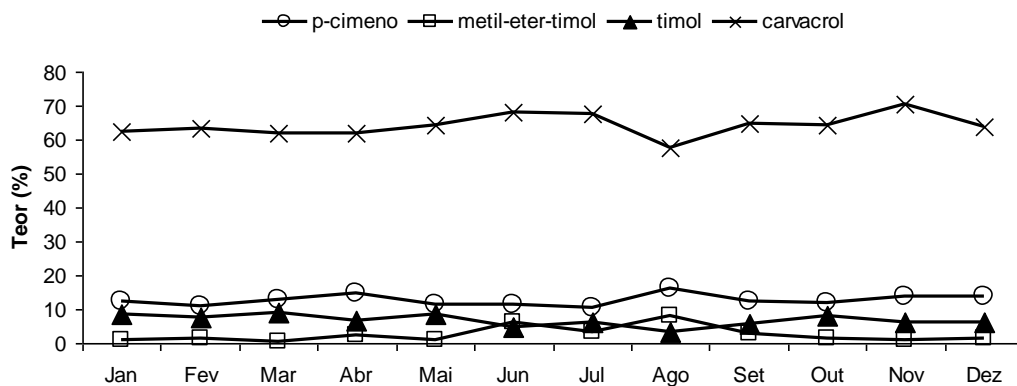


GRÁFICO 3 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) no acesso 1 (Salinas, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

O acesso 2 apresentou os mesmos compostos majoritários do acesso 1 (GRAF. 4): carvacrol (12), p-cimeno (3), o timol (11) e o metil-eter-timol (10). O carvacrol (12) também apresentou os maiores teores durante o ano. Não houve extração do óleo nos meses de janeiro, fevereiro, julho e agosto por falta de folhas. O acesso 2, nos meses em que foi possível a análise do óleo essencial, apresentou estabilidade na composição química já que os majoritários foram os mesmos durante os meses analisados.

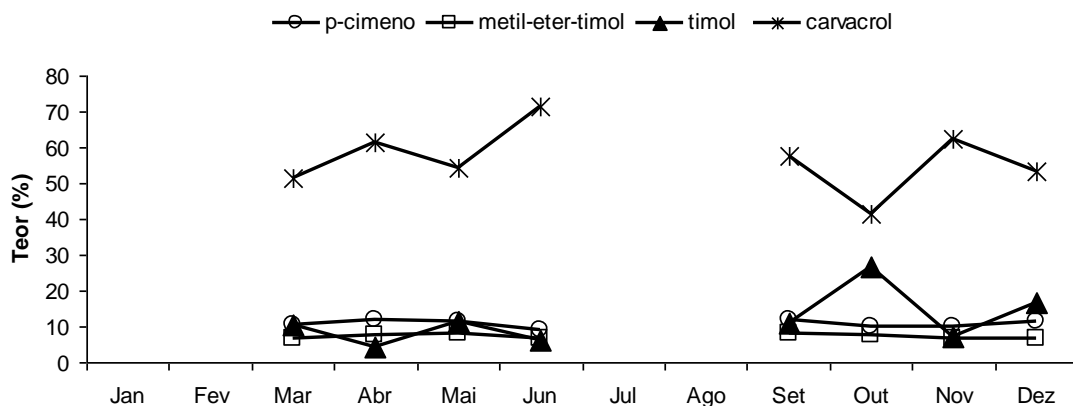


GRÁFICO 4 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) no acesso 2 (Turmalina, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

No acesso 3, o carvacrol (**12**) foi majoritário somente no mês de abril, sendo os outros majoritários o α -pineno (**1**) no mês de fevereiro, maio e novembro. O eucaliptol (**5**) foi majoritário nos meses de junho e outubro. A verbenona (**9**) foi detectada, mas não foi majoritário em nenhum mês. E o p-cimeno (**3**) foi majoritário somente no mês de março (GRAF. 5), indicando grande instabilidade na composição química do óleo essencial desse acesso, já que houve vários majoritários durante o ano, o que precisa ser mais bem estudado.

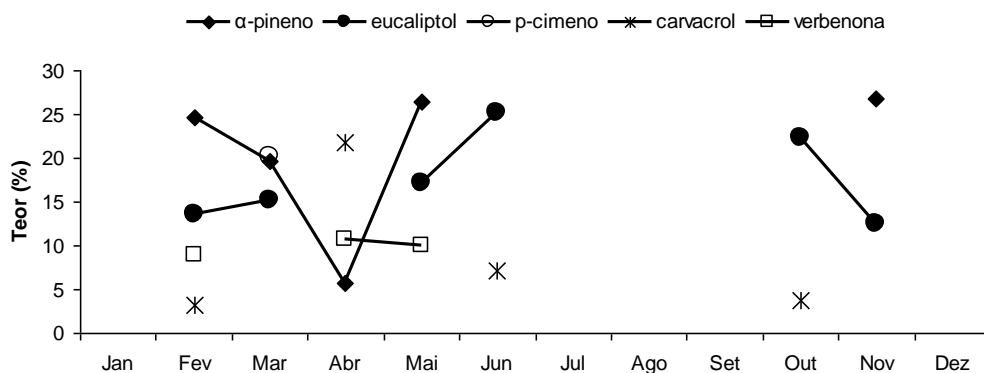


GRÁFICO 5 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 3 (Turmalina, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

Para o acesso 6, os compostos majoritários também foram o p-cimeno (**3**), o timol (**11**) e o metil-eter-timol (**10**), sendo o carvacrol (**12**), o composto com maior teor nos meses estudados. Durante o ano, esse acesso também se mostrou estável para os compostos majoritários, sendo que, no mês de novembro, somente o carvacrol foi o majoritário e no mês de agosto não houve coleta por falta de folhas (GRAF. 6).

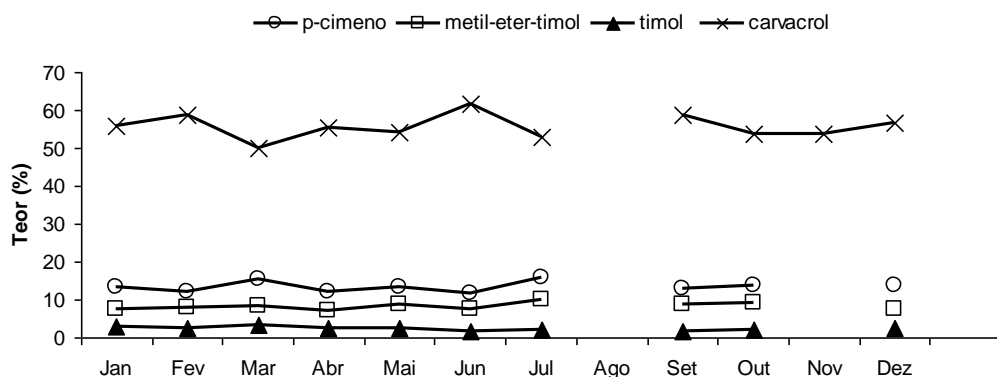


GRÁFICO 6 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) no acesso 6 (Cristália, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

O acesso 7 apresentou outros compostos majoritários, como o farnesol (13) e acetato de farnesol (14) que foram detectados somente no mês de abril. O carvacrol (12) foi o composto com maior teor durante o ano, exceto para o mês de abril. O p-cimeno (3), o metil-eter-timol (10) e o timol (11) também foram majoritários (GRAF.7).

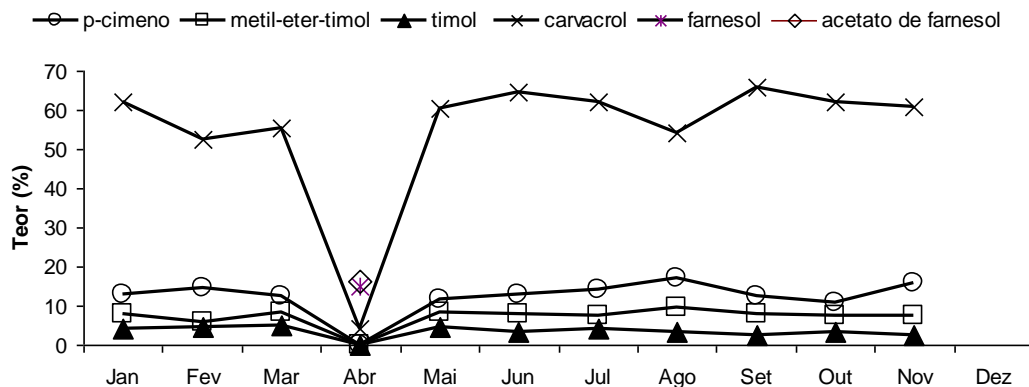


GRÁFICO 7 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) no acesso 7 (Montes Claros, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

No acesso 9, os compostos majoritários foram o p-cimeno (**3**), γ -terpineno (**6**), o timol (**11**), sendo que o carvacrol (**12**) foi o composto com maior teor em todas as épocas avaliadas. Nos meses de janeiro, abril e agosto não houve coleta por não haver folhas suficientes para a extração de óleo essencial (GRAF. 8).

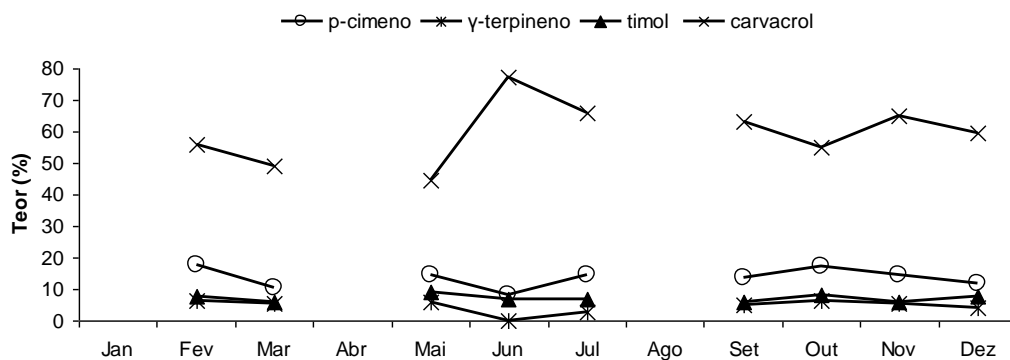


GRÁFICO 8 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.) no acesso 9 (Glaucilândia, MG) o banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

No acesso 11, os compostos majoritários foram o eucaliptol (5), o limoneno (4), o γ-terpineno (6), o timol (11) e o carvacrol (12). Sendo o eucaliptol o composto com maior teor na maior parte do ano, o γ-terpineno foi o majoritário somente no mês de setembro. No mês de agosto não houve extração de óleo por não haver folhas suficientes.

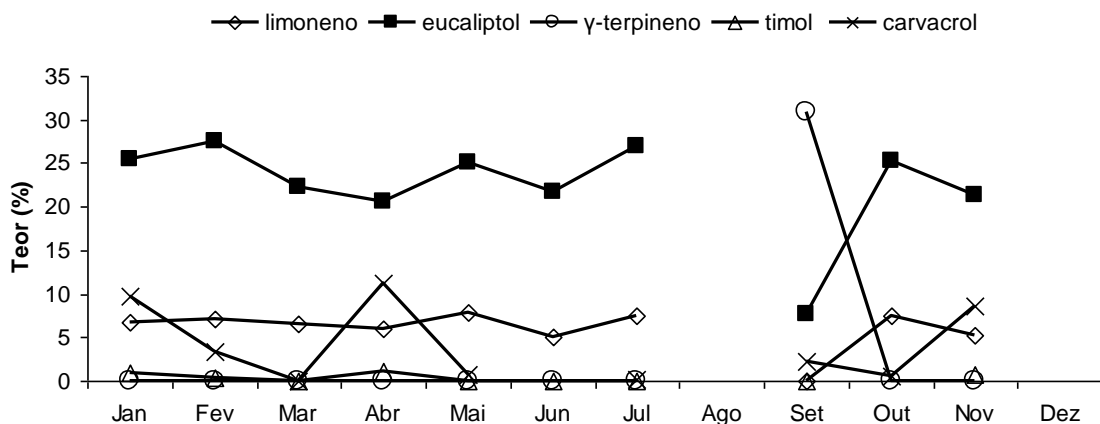


GRÁFICO 9 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) no acesso 11 (Buenópolis, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

No acesso 12, foram detectados como majoritários o canfeno (**2**), o carveol (**7**), o borneol (**8**), o timol (**11**), carvacrol (**12**) e o óxido de cariofileno (**15**). O carveol foi o composto majoritário na maior parte do ano, o carvacrol foi o majoritário somente no mês de novembro (GRAF.10).

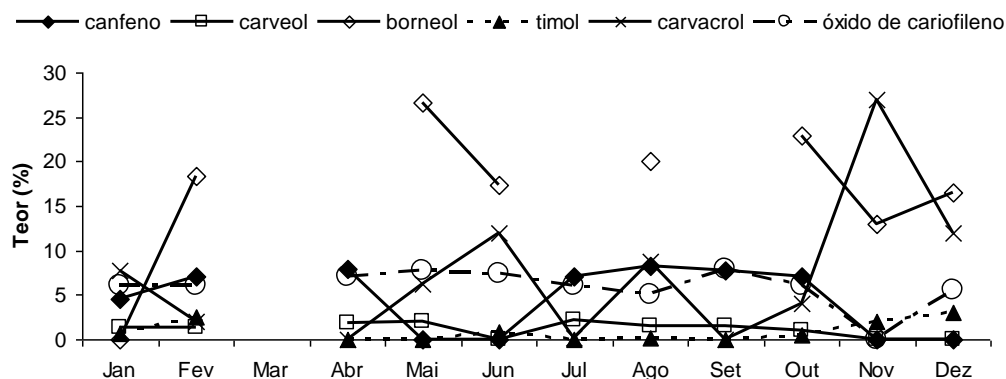


GRÁFICO 10 – Teor (%) de compostos majoritários detectados no óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia organoides* Kunth.) no acesso 12 (Buenópolis, MG) do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Fonte: Da autora.

Nos acessos 1, 2, 6, 7 e 9, o carvacrol foi o majoritário na maior parte do ano e foram os acessos mais estáveis em relação à composição do óleo essencial. Os acessos 3, 11 e 12 foram mais instáveis e apresentaram compostos majoritários diferentes ao longo do ano. A correlação entre temperatura média, insolação e umidade relativa média com o teor de timol e carvacrol, não foi significativa. Os fatores ambientais não tiveram influência direta no teor do timol e carvacrol nos acessos do banco de germoplasma.

Estudos da composição química de *L. organoides* mostraram variações fitoquímicas significativas de acordo com os principais constituintes identificados em seus óleos essenciais. São relatados três tipos químicos já descritos: p-cimeno, β - e α -felandreno, e limoneno (quimiotipo A), o carvacrol (quimiotipo B) e timol (quimiotipo C) (ROJAS *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2007; STASHENKO *et al.*, 2010). Já Santos *et al.* (2004), estudando o óleo essencial de três coleções de *L. organoides*, observaram que os compostos majoritários foram o carvacrol (33,5–42,9%) junto com γ -terpinene (8,0–10,5%), o timol (5,1–8,4%), metil-éter-timol (6,1–8,7%) e p-cimeno (11,9–

15,8%). Além de fatores genéticos, a composição química do óleo essencial é afetada por: práticas de cultivo da planta, momento de colheita, fatores climáticos, umidade, luminosidade, parte da planta extraída, transporte, processos de armazenamento, secagem e extração. Todos estes fatores podem afetar consideravelmente a composição do óleo essencial, afetando a segurança e a eficácia dos princípios ativos (TELES *et al.*, 2014).

Os monoterpenos e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais das plantas (CASTRO *et al.*, 2004). Terpenoides formam uma grande família de produtos naturais, estruturalmente diversos, derivados de unidades de isopreno. Poucos dos terpenoides têm um conceito simples de combinação linear de unidades de isopreno como o geraniol (C10) e farnesol (C15). A maioria dos terpenoides é modificada por reações de ciclização (DEWICK, 2009).

Para a formação de outros monoterpenos, a cadeia catiônica se dobra sobre a cadeia lateral para a ligação dupla (via da superfície de enzima) permitindo a repetição do mecanismo de ciclização e produz cátions pinil e bornil, formando nova ligação química. Assim α -pineno e β -pineno surgem por perda de prótons diferentes do cátion pinil, produzindo ligações duplas como cíclico ou exocíclico respectivamente. O borneol poderia potencialmente resultar da perda do cátion bornil com a água; incomum, porém, este álcool é realmente derivado por hidrólise de bornilo de difosfato. A oxidação do álcool secundário do borneol gera a cetona cânfora. Já o timol e carvacrol são derivados do p-cimeno (DEWICK, 2009).

Os compostos α -pineno, eucaliptol, canfeno, borneol e limoneno possuem a mesma origem. Os acessos que apresentaram variação química, 3, 7, 11 e 12, considerados instáveis, apresentaram esses compostos como majoritários. Por terem a mesma origem, a produção desses compostos pode estar relacionada com algum estímulo, que pode ser genético ou ambiental.

As abundâncias relativas dos componentes majoritários presentes nos óleos essenciais (>0.1%) estão apresentadas na TAB. 2.

Nº	Composto	Acesso 11												
		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	
1	α-pineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	canfeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	p-cimeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	limoneno	6,8	7,2	6,6	6	7,9	5	7,4	-	7,4	-	5,2	-	-
5	eucaliptol	25,4	27,5	22,2	20,5	25	21,8	27	-	7,6	-	25,3	-	21,4
6	γ-terpineno	-	-	-	-	-	-	-	-	30,9	-	-	-	-
7	carveol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	borneol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	verbenaona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	metil-eter-timol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	timol	0,9	0,3	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
12	carvacrol	9,7	3,4	-	11,2	0,7	-	0,2	-	2,2	-	0,5	-	8,6
13	farnesol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	acetato de farnesol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	óxido de canfeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nº	Composto	Acesso 12												
		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	
1	α-pineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	canfeno	4,6	7	7,9	-	-	-	7,1	8,3	-	7,7	7	-	-
3	p-dimeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,2	-
4	limoneno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	eucaliptol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	γ-terpineno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	carveol	1,4	1,3	1,9	2,1	2,1	-	2,2	1,5	1,6	1	-	-	-
8	borneol	-	18,4	-	-	26,6	17,4	-	20,1	-	23	13	-	16,5
9	verbenaona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	metil-eter-timol	19,6	0,6	24,3	-	1,1	25,4	1,8	23,9	-	2,7	1,6	-	-
11	timol	0,7	2,5	-	-	0,8	-	0,2	-	-	0,5	2,1	-	3
12	carvacrol	7,8	2	-	-	6,2	11,9	0,2	8,8	-	4	27	-	12
13	farnesol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	acetato de farnesol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	óxido de canfeno	6,1	6	7	7,8	7,5	6	5	7,9	6	-	-	-	5,6

3.3 Determinação de Flavonoides Totais

O valor médio de flavonoides dos acessos do banco de germoplasma foi de 254,55 mg RE g⁻¹, variando de 114,69 mg RE g⁻¹ no acesso 2 a 417,04 mg RE g⁻¹ no acesso 6. O teor médio de flavonoides totais do acesso 06 (417,04 mg RE g⁻¹) foi superior estatisticamente aos demais, enquanto o acesso 2 (114,69 mg RE g⁻¹) foi inferior aos demais acessos. Os acessos 1 (284,04 mg RE g⁻¹), acesso 7 (280,7 mg RE g⁻¹) e acesso 9 (280,7 mg RE g⁻¹) não diferiram estatisticamente entre si. E os acessos 12 (230,4 mg RE g⁻¹), acesso 3 (223,22 mg RE g⁻¹) e acesso 11 (205,58 mg RE g⁻¹) também não diferiram estatisticamente entre si (TAB. 3). A diferença do teor de flavonoides entre os acessos pode estar relacionada a aspectos genéticos, já que as plantas têm mesma idade e são mantidas nas mesmas condições edafoclimáticas, mas são de diferentes localidades.

Estudos com o gênero *Lippia* têm relatado a presença de flavonoides. Em pesquisa realizada por Pascual *et al.* (2001) foi relatada a presença dos flavonoides naringenina e a pinocembrina para *Lippia graveolens*. O estudo realizado por Almeida *et al.* (2010) resultou no isolamento do flavonoide naringenina para *Lippia sidoides*. Stashenko *et al.* (2010) observaram o flavonoide pinocembrina em *Lippia origanoides*. Estas espécies são fonte de bioativos com potencial para aplicação em cosméticos, alimentos e produtos farmacêuticos.

TABELA 3

Teores médios de flavonoides totais dos extratos das folhas de acessos de *Lippia origanoides* do banco de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG, (ICA-UFMG).

Amostras	*Teores médios de flavonoides totais mg RE g⁻¹
Acesso 6	417,04 a
Acesso 3	284,04 ab
Acesso 2	280,7 ab
Acesso 9	280,7 ab
Acesso 7	230,4 bc
Acesso 12	223,22 bc
Acesso 11	205,58 bc
Acesso 1	114,69 c

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora.

3.4 Atividade antioxidante

A quantidade necessária de extrato para decrescer a concentração inicial do DPPH em 50%, concentração eficiente (CE₅₀), variou de 27,09±4,5 a 44,38±1,70 µg ml⁻¹, sendo que houve diferença estatística entre os acessos (TAB. 4).

Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será sua CE₅₀ e maior será sua atividade antioxidante (SOUZA *et al.*, 2007). Os extratos de *L. origanoides* apresentaram uma capacidade antioxidante maior, CE₅₀ menor, se comparados ao antioxidante sintético BHT. Já o padrão rotina

apresentou maior capacidade antioxidante se comparado aos extratos dos acessos e ao BHT.

Em estudo realizado por Silva (2012), com a espécie *Lippia thymoides* (Verbenaceae), a CE_{50} foi de $15,4 \pm 1,6 \mu\text{g ml}^{-1}$ com extrato metanólico. Em outro estudo realizado por Almeida *et al.* (2010), com *Lippia sidoides*, uma espécie que muitas vezes é confundida com *L. organoides*, a CE_{50} foi de $16,3 \mu\text{g ml}^{-1}$, assim, a atividade antioxidante observada nas condições de Montes Claros e com os acessos estudados foi em média 60% inferior ao observado por esse autor.

Nesses estudos, a atividade antioxidante dessas espécies foi maior que no presente estudo. Isso pode estar relacionado à concentração usada, ao modo de preparo do extrato ou mesmo por diferirem em relação à capacidade antioxidante.

O Índice de atividade antioxidante também foi calculado e houve diferença entre os acessos (TAB. 4). O BHT e os extratos dos acessos apresentaram moderada atividade antioxidante e a rutina apresentou atividade antioxidante muito forte de acordo com o índice definido por Scherer e Godoy (2009).

Os teores de flavonoides totais dos extratos apresentaram uma correlação positiva ($r=0,83$) com a atividade antioxidante. Isso indica que a atividade antioxidante do extrato tem forte relação com os flavonoides. A capacidade antioxidante dos flavonoides é atribuída ao poder redutor do grupo fenólico, o qual reduz os radicais livres e produz o radical fenoxila, o qual, por sua vez, é estabilizado por ressonância (WILMSEN, SPADA E SALVADOR, 2005).

TABELA 4

Concentração eficiente (CE_{50}), Índice de atividade antioxidante e teores médios de flavonoides totais dos extratos das folhas de acessos de *Lippia origanoides* Kunth. da coleção de germoplasma do Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG.

Amostras	$CE_{50} \pm DP$ ($\mu\text{g/mL}$)	IAA
Acesso 6	44,38 a	0,54 \pm 0,02b
Acesso 3	41,94 ab	0,57 \pm 0,02 b
Acesso 2	40,93 ab	0,61 \pm 0,17 b
Acesso 9	38,36ab	0,63 \pm 0,03 b
Acesso 7	34,4ab	0,74 \pm 0,04 a
Acesso 12	34,23abc	0,70 \pm 0,01 a
Acesso 11	31,28bc	0,77 \pm 0,03 a
Acesso 1	27,09c	0,9 \pm 0,16 a
Rutina	2,2	10,83 \pm 0,52
BHT	48,35	0,5 \pm 0,07

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As amostras foram classificadas em atividade antioxidante pobre quando o IAA < 0,5; atividade antioxidante moderada quando 0,5 < IAA < 1,0; forte atividade antioxidante quando 1,0 < IAA < 2,0; e atividade antioxidante muito forte quando IAA > 2,0.

Fonte: Da autora.

4 CONCLUSÃO

Há variação no teor do óleo essencial de *L. origanoides* ao longo do ano, sendo que a disponibilidade hídrica pode inviabilizar a produção de óleo. O óleo essencial das folhas apresenta variação na composição química ao longo do ano e, em alguns acessos, há alteração do componente majoritário. O composto majoritário, na maioria dos acessos durante o ano, é o carvacrol.

Os acessos de *L. origanoides* apresentam elevado teor de flavonoides totais nos extratos etanólicos das folhas e moderada atividade antioxidante. A correlação entre esses dados indica que a atividade antioxidante pode ser exercida pelos flavonoides presentes nas folhas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gaschromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, CaroStream, IL, USA, 1995. 456p.

ALMEIDA, M.C.S.; ALVES, L.A.; SOUZA, L.G.S.; MACHADO, L.L.; MATOS, M.C.; OLIVEIRA, M.C.F.; LEMOS, T.L. Flavonoides e outras substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes. **Quim. Nova**, v.33, n.9, p.1877-1881. 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-z40422010000900011 Acesso em: 10 mai. 2014.

ARCILA-LOZANO, C.C.; LOARCA-PIÑA, G.; LECONA-URIBE, S.; GONZÁLEZ, E. *El oregano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes*. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.54, n.1, p.100–111. 2004. Disponível em: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=s0004-06222004000100015&script=sci_arttext Acesso em: 10 set. 2014.

ANDRADE, V. A.; ALMEIDA, A. C. ; SOUZA, D. S.; COLEN, K. G.F.; MACÊDO, A.A.; MARTINS, E. R.; FONSECA, F.S.A.; SANTOS, R. L. Antimicrobial activity and acute and chronic toxicity of the essential oil of *Lippia organoides*. **Pesq. Vet. Bras.** v. 34, n.12, p.1153-1161. 2014.

BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D.; RESSEL, L. B.; DA SILVA, F. M. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc Anna Nery**, v.15, n. 1, p.132-139, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141481452011000100019&script=sci_arttext Acesso em: 20 out.2013.

[BALUNAS, M.J.](#); [KINGHORN, A.D.](#) Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v.78, n. 5, p. 431-41, 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16198377>> Acesso em: 23 jul. 2014.

BETANCUR, L.; ZAPATA B.; BAENA A.; BUENO J.; RUÍZ, C.; STASHENKO, E., MESA, A. Actividad antifúngica, citotóxica y composición química de aceites esenciales de *Lippia organoides* H.B.K recolectadas en Colômbia. **Salud UIS**, v. 43, n.2, p. 141-148, 2011.

[BIEZA, K.](#); [LOIS, R.](#) An Arabidopsis Mutant Tolerant to Lethal Ultraviolet-B Levels Shows Constitutively Elevated Accumulation of Flavonoids and Other Phenolics , 2001. **American Society of Plant Physiologists**. Disponível em: <http://www.plantphysiol.org/content/126/3/1105.short> Acesso em: 22 jan. 2015.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, vol.32,

n.3, p. 588-594 2009. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300005&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 24 jul.2014.

BORGES, A.R.; AIRES, J.R.; HIGINO, T.M., DE MEDEIROS, M.D.; CITÓ, A.M.; LOPES, J.A., DE FIGUEIREDO, R.C. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v.32, n. 2, p.123-128, out. 2012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22771867> Acesso em: 04 out. 2014.

BOTREL, P. P.; PINTO, J. E. B. P.; FERRAZ, V.; BERTOLUCCI, S.K. V.; FIGUEIREDO, F. C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl. Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Sci. Agron.** v.32, n.3. 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86212010000300022&lng=en&nrm=iso Acesso em: 23 out. 2014.

BRASIL. Decreto nº 5.813. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 jun., 2006. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf Acesso em: 10 nov. 2014.

BRASIL. Portaria nº 971. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 mai., 2006. Disponível em: <http://dab.saude.gov.br/portaldab/biblioteca.php?conteudo=legislacoes/pnpics> Acesso em: 10 nov. 2014.

CALPOUZOS, L. Botanical aspects of oregano. **Econ. Bot.** v.8, p.222–233. 1954. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/4287811?sid=21105380280251&uid=2&uid=3737664&uid=4> Acesso em: 12 dez. 2014.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytoterapeutic agents). **Braz J Med Biol Res**, v.33, p.179-189, 2000. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.321.5104&rep=rep1&type=pdf>> Acesso em: 03 nov. 2013.

DE CAMPOS, J.M.; SOUSA, S.M.; SILVA, P.S.; PINHEIRO, L.C.; SAMPAIO, F.; VICCINI, L.F. Chromosome numbers and DNA C values in the genus *Lippia* (Verbenaceae). **Plant Syst. Evol.**p.133–140. 2011.

CABALLERO-GALLARDO, K.; OLIVERO-VERBEL, JESÚS; STASHENKO, E. E. Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia organoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. **Journal of Stored Products Research**, 50, 62-65 p., 2012. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022474X12000343> Acesso em: 24 jun. 2014.

CASTAÑEDA, M.L.; MUÑOZ, A.; MARTÍNEZ, J. R.; STANSHENKO, E. E. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. **Scientia et technica**, 33, 2007. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84903338> Acesso em: 23 set. 2014.

CASTRO, H.G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Quím. Nova**. vol.27, n.1, p. 55-57, 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000100011&lng=en&nrm=iso Acesso em: 23 ago. 2014.

CASTRO, A. H. F. **Aspectos da propagação, ecofisiologia e fitoquímica de *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.: uma espécie medicinal do cerrado**. 2003. 130 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003. Disponível em: http://www.researchgate.net/publication/35225566_Aspectos_da_propagao_e_cofisiologia_e_fitoquimica_de_Byrsonima_verbascifolia_Rich_ex_A_Juss_u_ma_espcie_medicinal_do_cerrado Acesso em: 12 jan. 2015.

CARVALHO, A.F.U.; MELO, V.M.M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M.I.L.; BANTIM, M.B.; RABELO, E.F. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., v. 98, n.4, p. 569-571, Rio de Janeiro. 2003. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12937776> Acesso em: 25 abr.2014.

CARVALHO, A. C. B.; SILVEIRA, D. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Médica**, v.48, n.2, p.219-237, 2010. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislnd.exe/iah/online/?IisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=565124&indexSearch=ID> Acesso em: 22 jan.2015.

CERQUEIRA, V. D. **Composição química do óleo essencial de *Lippia organoides* Kunth. e atividade antimicrobiana frente a diferentes sorotipos de *Haemophilus parasuis***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, BA, 2014. Disponível em: http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/mestrado/2011/valdeane_dias_cerqueira-dissertacao.pdf Acesso em: 15 jan. 2015.

CONCEIÇÃO, G. M.; A. C. RUGGIERI; M. F. V. ARAUJO; T. T. M. M. CONCEIÇÃO; M. A. M. M. CONCEIÇÃO. Plantas do cerrado: comercialização, uso e indicação terapêutica fornecida pelos raizeiros e vendedores, Teresina, Piauí. **Scientia Plena**, v.7, n.12, 2011. Disponível em: <http://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/23/421> Acesso em: 14 jun.2014.

CRUZ, C.D. Programa Genes: Análise Multivariada e simulação. Viçosa: Ed. UFV, 2006.

CZELUSNIAK, K.E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D.F.; FREITAS, G.B.L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.14, n.2, p.400-409, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722012000200022&script=sci_arttext Acesso em: 11 out.2014.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3ª ed. New York: John Wiley & Sons, 2009. 539p.

DOUGLAS, M. E.; MATHEWS, W. J. **Does morphology predict ecology? Hypothesis testing within freshwater stream fish assemblage**. *Oikos*, Copenhagen, v. 65, p. 213-224, 1992. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/3545012?sid=21105381036491&uid=2&uid=3737664&uid=4> Acesso em: 22 jan.2015.

ENFISSI, E.; BARNECHE F.; AHMED I; LICHTLE C.; LICHTLE C.; MCQUINN R.; GIOVANNONI J.; LOPEZ-JUEZ E.; BOWLER C.; BRAMLEY P. Integrative transcript and metabolite analysis of nutritionally enhanced DE-ETIOLATED1 down regulated tomato fruit. **Plant Cell**, v. 22, p.1190-1215. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20435899> Acesso em: 24 mai.2014.

ESCOBAR, P.; LEAL, S. M.; HERRERA, L. V.; MARTINEZ, J. R.; STASHENKO, E. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia spp* essential oils and their major components. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 2, Mar. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20428679> Acesso em: 23 nov. 2014.

FALK, D.A.; KNAPP, E. E.; GUERRANT, E. O. **An introduction to restoration genetics**. Society for Ecological Restoration and Plant Conservation Alliance. 2001. 30p. Disponível em: http://www.ser.org/docs/default-document-library/ser_restoration_genetics.pdf?sfvrsn=0 Acesso em: 22 jan. 2015.

FONTENELE, R.I.P.; SOUSA, D. M. P.; CARVALHO, A. L. M.; OLIVEIRA, F. A. Fitoterapia na Atenção Básica: olhares dos gestores e profissionais da Estratégia Saúde da Família de Teresina (PI), Brasil. **Ciênc. saúde coletiva**. vol.18, n.8, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232013000800023&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 13 out. 2014.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, vol.30, n.2, p. 374-381, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>. Acesso em: 22 set. 2014.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-46702011000100005&script=sci_arttext Acesso em: 24/08/2014.

HAMILTON, A.C. 2004. Medicinal plants, conservation and livelihoods. **Biodiversity and Conservation**, v. 13, n.8, p. 1477-1517.

HENAO, J.; MUÑOZ, L.J.; RIOS, E.V.; PADILLA, L.; GIRALDO, G. A. G. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta *Lippia origanoides* h.b.k. Cultivada en el departamento del Quindío. **Rev. invest. univ. Quindío**. v.19, p. 159- 164. Disponível em: http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/f4d9_n1918.pdf Acesso em:19 jul.14.

ISHITSUKA, Y. *et al.* A novel anti-photoaging ingredient with the effect of iron sequestering. **Journal of Dermatol. Sci.** n. 1, S45-S52, 2005. Disponível em: http://www.researchgate.net/publication/222071817_A_novel_anti-photoaging_ingredient_with_the_effect_of_iron_sequestering Acesso em: 05 jan.2015.

KNAAK N.; FIÚZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos Potential of essential plant oils to control insects and microorganisms. **Neotropical Biology and Conservation**. v.5, n.2, p.120-132, 2010. Disponível em: http://www.unisinos.br/blogs/ppg-biologia/files/2011/05/art08_knaak_et_al.pdf Acesso em:15 dez.2014.

KONDO S, TSUDA KM, UEDA, JE. Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. **Sci Hort**,v. 96,p.177–185.2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423802001279> Acesso em: 01 jun.2014

KUTCHAN, T.M. Ecological Arsenal and development dispatcher. The paradigm of secondary of metabolism. **Plant Physiology**. v.125, n.1, p.58-60, 2001. Disponível em:<http://www.plantphysiol.org/content/125/1/58.full> Acesso em:13 jun. 2014.

JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A., STEVENS, P.F., DONOGHUE,M.J. Sistem-tica Vegetal: Um Enfoque Filogenético. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 612p

LIU, H; QIU, AB; NONGXUE, D.B.; HUIHUANG, Y.R. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. **Food Research International**, v.41, p. 363–370. 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996908000057> Acesso em: 14 mai. 2014.

LOYA, A.M.; [GONZÁLEZ-STUART, A.](#); [RIVERA, J.O.](#) Prevalence of polypharmacy, polyherbacy, nutritional supplement use and potential product interactions among older adults living on the United States-Mexico border: a descriptive questionnaire-base study. **Drugs & Aging**, v.26, n.5, p.423-436, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19552494> Acesso em: 04 dez.2014.

LORENZI, H; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

LOPES, O. D. **Desenvolvimento e determinação do coeficiente de cultura (Kc) e da eficiência do uso de água do alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) na região de Montes Claros, MG**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração Produção Vegetal). Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG, 2010.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chem.**, 100: 1409-1418. 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605010769> Acesso em: 3 jul. 2014.

MALIK, M. N.; SCORA, W.; SOOST, R. K. Studies on the origin of the lemon. *Hilgardia* 1974, 42, 361-382. Disponível em: <https://ucanr.edu/repositoryfiles/hilg4209p361-152769.pdf> Acesso em: 21 mai. 2014.

MARQUES, L. M. M.; MEDEIROS, M. G. F.; CITO, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D. Avaliação da citotoxicidade *in vitro* e *in vivo* dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia organoides* para tratamento da leishmaniose. 2010. [62ª Reunião Anual da SBPC](#). Disponível em: <http://www.sbpsnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/6009.htm> Acesso em: 08 nov.2014.

MARTINS, F.T.; POLO, M. Variação química do óleo essencial de *hyptis suaveolens* (L.) poit., sob condições de cultivo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, p.1203-1209, 2006. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01004042200600060011. Acesso em: 13 mar.2014.

MELO, M. T. P. **Conservação de *lippia sidoides* do norte de minas gerais e vale do jequitinhonha: localização, coleta, ecogeografia, crescimento, modo de reprodução e divergência genética**. 2012, 85p. Dissertação (Mestrado). Produção vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG.

MENESES, R.; OCAZONEZ, R. E.; MARTÍNEZ, J. R.; STASHENKO, E. E. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication *in vitro*. *Annals of Clinical Microbiology and*

Antimicrobials, 2009. Disponível em: <http://www.ann-clinmicrob.com/content/8/1/8> Acesso em: 07 out. 2014.

MESA, A.C.; MONTIEL, J.; ZAPATA, B.; DURÁN, C.; BETANCUR, L.; STASHENKO, E. Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.104, p.878-884. 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19876560> Acesso em: 13 jan. 2015.

MORAIS, A. A.; MOURA, O, J. C., GOTTLIEB, O. R; SILVA, M. L; MARX, M. C.; MAIA, J. G. S. Óleos Essenciais da Amazônia Contendo Timol. **Acta Amazonica**, v.2, n.1, p. 45–46, 1972. Disponível em: <https://acta.inpa.gov.br/fasciculos/2-1/PDF/v2n1a09.pdf> Acesso em: 21 nov. 2014.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009. Disponível em: http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_3/p_4_palestra_resumo_lilia_ap.pdf Acesso em: 21 out. 2014.

MORALES, E. Estimating phylogenetic inertia in *Tithonia* (Asteraceae): a comparative approach. **Evolution**, Lawrence, v. 54, n. 2, p. 475-484, 2000.

MOREIRA, J. de A. N.; SANTOS, J. W. dos; OLIVEIRA, S. R. de M. Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma. Brasília: Embrapa SPI, p. 115, 1994.

NOGUEIRA, M. A.; DIAZ, G.; SAKUMO, L. Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 273 - 278, 2007. Disponível em: <file:///C:/Users/Lu/Downloads/234.pdf> Acesso em: 05 jun.2014.

OLIVEIRA, D. R., G. G. LEITÃO, S. S. SANTOS, H. R. BIZZO, D. LOPES, C. S. ALVIANO, D. S. ALVIANO, S. G. LEITÃO, J. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. **Ethnopharmacol.** p. 103-108. 2006. Disponível em: ftp://www.ufv.br/DBG/Filogenia_molecular/usuarios/karla/Lyderson/2010/artigos/quimica/Oliveira2006.pdf Acesso em:23/06/14.

O'LEARY N, S.S.; DENHAM, F. SALIMENA; M.E., MÚLGURA. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbanaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of Linnean Society**, v.170, p. 197-219, 2012. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2012.01291.x/abstract> Acesso em: 02 fev. 2015.

OLIVEIRA, D.R.; LEITÃO, G.G.; BIZZO, H.R.; LOPES, D.; ALVIANO, D.S.; ALVIANO, C.S.; LEITÃO, S.G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K. **Food Chem.** 101. p.236-240. 2007. Disponível em: ftp://www.ufv.br/DBG/Filogenia_molecular/usuarios/karla/Lyderson/2010/artigos/quimica/Oliveira2007.pdf Acesso em:12 nov. 2014.

OLIVEIRA, D.R. Levantamento Etnobotânico das Plantas Medicinais Utilizadas pela Comunidade de Oriximina´ (Pará) com enfoque etnofarmacológico para o Gênero *Lippia*. Master Thesis. Rio de Janeiro: UFRJ/NPPN, p. 111. 2004. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106002236> Acesso em:02 dez.2014.

PICHERSKY, E.; GANG, D. R. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, Maryland Heights, v. 5, no. 10, p. 439-445, 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11044721>> Acesso em: 05 out. 2014.

PAVAN-FRUEHAUF, S. **Plantas medicinais de Mata Atlântica: manejo sustentado e amostragem**. 1ªed. São Paulo: Annablume. 2000. 216p.

PARRA, E.T.; RODRIGUEZ, N.L. Plasticidad fenotípica de *Lippia alba* y *Lippia organoides* (Verbenaceae) em respuesta a la disponibilidad de luz. **Acta Biologica Colombiana**. V.12p.91-102. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v12s1/v12s1a7.pdf> Acesso em: 07 jun.2014.

PASCUAL, M. E.; K. SLOWING, E. CARRETERO, D. SÁNCHEZ MATA, A. VILLAR, J. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **J. Ethnopharmacol.** v.76, n.3, p. 201-14. 2001. Disponível em: https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CDYQFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fprofile%2FkArla_Slowing%2Fpublication%2F11892179_Lippia_traditional_uses_chemistry_and_pharmacology_a_review%2Flinks%2F02bfe5112987c27768000000.pdf&ei=by7GVKD0HoHugwSI9IGQAg&usq=AFQjCNEyzB3J6PI-DY-nLjakl3XtDtrBNQ&bvm=bv.84349003.d.eXY&cad=rjt Acesso em: 09 jun. 2014.

RAMIREZ, L. S.; ISAZA, J. H.; VELOZA, L. Á.; STASHENKO, E.; MARIN, D. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Lippia organoides* de diferentes orígenes de Colombia. **Ciencia.**, vol.17, n.4, 2009. Disponível em: http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-20762009000400006&lng=es&nrm=i Acesso em: 03 set. 2014.

RIBEIRO, A. F.; ANDRADE, E. H. A.; SALIMENA, F. R. G; MAIA, J. G.S. Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia organoides* Kunth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.55, p. 249-259. 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197814001008> Acesso em: 05 jan.2015.

ROSA, C.; CAMARA, S. G.; BERIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciênc. saúde coletiva**. v. 16, n.1, p. 311-318, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232011000100033 Acesso em: 30 set.2014.

RODRIGUES, A.G.; SANTOS, M.G.; AMARAL A.C.F. **Políticas públicas em plantas medicinais e fitoterápicos**. In: Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da central de medicamentos. Brasília: (DF); p.9 – 28, 2006.

ROJAS, J.; MORALES, A.; PASQUALE, S.; MÁRQUEZ, A.; RONDÓN, M.; IMRÉ, M.; VERES, K. Comparative study of the chemical composition o the essential oil of *Lippia origanoides* collected in two different seasons. **Natural Products communication**. v.1, n.3, p. 205-207. 2006.

DOS SANTOS, F.J.B.; LOPES, J.A.D.; CITO, A.M.G.L.; DE OLIVEIRA, E.H., DE LIMA, S.G.; REIS, F.D.E.A.M. Composition and biological activity of essential oils from *Lippia origanoides* H.B.K. **J. Essent. Oil Res.** v.16, p.504–506. 2004. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2004.9698782> Acesso em: 25 nov.2014.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANT, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v. p. 621–632, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604005096> Acesso em: 05 jan.2015.

SCHERER R, GODOY HT. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chem.** v.112, p.654–658. 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608007218> Acesso em: 06 mai.2014.

SARRAZIN, S.L.; DA SILVA, L.A.; DE ASSUNÇÃO, A.P.; OLIVEIRA, R.B.; CALAO, V.Y.; DA SILVA, R.; STASHENKO, E.E.; MAIA, J.G.; MOURÃO, R.H. Antimicrobial and seasonal evaluation of the carvacrol-chemotype oil from *Lippia origanoides* Kunth. **Molecules**. v.2, p.1860-71. 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25625681> Acesso em: 29 jan. 2015.

SIVIRA, A.; SANABRIA, M.E.; VALERA, N.; VÁSQUEZ, C. Toxicity of ethanolic extracts from *Lippia origanoides* and *Gliricidia sepium* to *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical**

Entomology, v.3, p. 375-9. 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21710033> Acesso em: 03 nov. 2014.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A.M.S.; BIZZO, H.R. ; D'AVILA, L.A. ; SOUZA-SANTOS, L.C. ; SOUZA, R.C. Analysis of uses of essential oils and terpenics/terpenoids compounds by pharmaceutical industry through USPTO granted patents. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.10, n.1, p.8-15, 2008. Disponível em: http://s3.amazonaws.com/zanran_storage/www.ibb.unesp.br/ContentPages/16257261.pdf Acesso em: 10 jan. 2015.

SILVA, F.S. **Estudo fitoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* mart. & schauer (Verbenaceae)**. 2012.172 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2012. Disponível em: http://www2.uefs.br/ppgbiotec/portugues/arquivos/corpo%20discente/doutorado/2008/fabricio_souza_silva-tese.pdf Acesso em:05 jan.2015.

SILVA, N. A.; OLIVEIRA, F. F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, R. A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006. Disponível em: http://www.sbpmed.org.br/download/issn_06_2/artigo8_v8_n3.pdf Acesso em: 23 jun. 2014.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003.

SIMÕES, C.M.O. GUERRA, M.P. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/Editora UFSC, 2007. p.467-496.

STASHENKO, E.E.; MARTÍNEZ, J.R.; RUÍZ, C.A.; ARIAS G.; DURÁN, C.; SALGAR, W.; CALA, M. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. **J.Sep. Sci.**, v.33, n.1, p.93-103, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19950347> Acesso em: 12 ago.2014.

STASHENKO, E. E.; JARAMILLO, B. E.; MARTINEZ, J. R. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. **Journal of Chromatography A**, v.1025, p. 93–103. 2004. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072009000300002 Acesso em: 23 jan.2015.

SOUZA, C.M.M., SILVA, H.R.S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quím. Nova**, v. 30, n.2, p. 351-355. 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0100-40422007000200021&script=sci_arttext Acesso em: 23 jul.2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TANGARIFE-CASTAÑO, V.; CORREA-ROYERO, J.; ZAPATA-LONDOÑO, B.; DURÁN, C. STANSHENKO, E.; MESA-ARANGO, A. C.. Actividad contra *Candida albicans*, citotoxicidad e interacción con antifúngicos de aceites esenciales y extractos de plantas medicinales y aromáticas. **Infectio**. v.15,n.3, p.160-167. 2011. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922011000300004 Acesso em: 05 set. 2014.

TEIXEIRA, M.L.; CARDOSO, M.G.; FIGUEIREDO, A. C.S.; MORAES, J. C.; ASSIS, F.A.; ANDRADE, J.; NELSON, D. L.; GOMES, M. S.; SOUZA, ALBUQUERQUE, L.R.M. Essential Oils from *Lippia organoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. **Scientific Research**, v. 5, n.9, 2014. Disponível em: <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=44519> Acesso em: 16 jan. 2015,

TELES, S. **Avaliação do teor e da composição química das folhas de *Lippia alba* (mill) n.e.br. e *Mentha piperita* L. cultivadas em Cruz das Almas, Santo Antônio de Jesus e Amargosa, submetidas às diferentes épocas de colheita e processos de secagem.** 2010, 93 p. Dissertação (Mestrado). Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia.

TELES, S.; PEREIRA, J.A.; OLIVEIRA, L. M.; MALHEIRO, R.; MACHADO, S.S.; LUCHESE, A.M.; SILVA, F. Organic and mineral fertilization influence on biomass and essential oil production, composition and antioxidant activity of *Lippia organoides* H.B.K. **Industrial Crops and Products**. v. 59, p. 169–176, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014002751> Acesso em 03 jan. 2015.

TIRILLINI, B.; VELASQUEZ, E. R.; PELLEGRINO, R. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. **Planta Med.** v.62, n.4, p.372-3.1996. Disponível em: [372http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8792674](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8792674) Acesso em: 13 dez. 2014.

WILMSEN, P.K., SPADA, D.S., SALVADOR, M. Antioxidant activity of the flavonoid Hesperidin in chemical and biological systems. **J. Agric. Food Chem.** v.53, n.12, p.4754-4761. 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15941311> Acesso em: 15 abr.2014.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D.J. 1963. A generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J Chromatography**. v. 11, p. 463-467. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196730180947X>
Acesso em: 21 jan. 2015.

VEIGA-JUNIOR, V.F.; MELLO, J.C.P. As monografias sobre plantas medicinais. **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, p. 464-471, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102695X2008000300022> Acesso em: 22 ago.2013.

VEGA-VELA, N. E.; DELGADO-AVILA, W. A., CHACON SANCHEZ, M. I. Genetic structure and essential oil diversity of the aromatic shrub *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) in two populations from northern Colombia. **Agron. Colomb**, vol.31, n.1, p. 517, 2013. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99652013000100002&script=sci_arttext Acesso em: 22 nov.2014.

VICUÑA, G.C.; STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. **Fitoterapia**, v. 81, p. 343–349. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19874875> Acesso em: 13 jan. 2015.

YAMAMOTO, P.Y. **Interação genótipo x ambiente na produção e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (mill.)**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical, Área de Concentração de Melhoramento Genético Vegetal) - Instituto Agronômico, Campinas, SP, 2006. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/dissertacoes/pb1805104.pdf> Acesso: 16 out. 2014.

ZAPATA, B.; DURÁN, C.; STASHENKO, E.; CORREA-ROYERO, J.; BETANCUR-GALVIS, L. Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. **Rev. Univ. Ind. Santander**. v. 41, n.3. 2009. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072009000300002 Acesso em: 26 nov. 2014.