

## Óleo essencial dos pecíolos de *Protium ovatum* Engl. (Burseraceae) apresenta atividade bioativa e antifúngica?

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho<sup>1</sup>, Marcela Cristofoli<sup>2</sup>, Matheus Vinicius Abadia Ventura<sup>1</sup>, Aparecida Sofia Taques<sup>3</sup>, Ivan Alves<sup>4</sup> & Carlos Frederico de Souza Castro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal Goiano, Rio Verde, Estado de Goiás, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Estado de Goiás, Brasil

<sup>3</sup> Instituto Federal do Mato Grosso, São Vicente, Estado de Mato Grosso, Brasil

<sup>4</sup> Instituto Federal Goiano, Ipameri, Estado de Goiás, Brasil

Correspondência: Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho, Laboratórios de Química Tecnológica e de Hidráulica e Irrigação, Instituto Federal Goiano, Rio Verde, Estado de Goiás, Brasil. E-mail: astronomoamadorgoias@gmail.com

Recebido: Abril 25, 2022

Aceito: Junho 16, 2022

Publicado: Julho 01, 2022

### Resumo

*Protium ovatum* é uma espécie vegetal presente nos mais variados tipos de Cerrado do Brasil, reconhecida como planta fitoterápica. O objetivo desse estudo, foi avaliar as características físico-químicas e biológicas dos óleos essenciais extraídos do pecíolos de *Protium ovatum* coletados em três áreas do Cerrado no Estado de Goiás, Brasil. Pecíolos foram coletados, o óleo essencial extraído por sistema tipo Clevenger, sendo o rendimento determinado em porcentagem (%). As análises físico-químicas foram realizadas quanto as características organolépticas, densidade relativa, solubilidade, índice de refração e rotação óptica. Para determinar a atividade antioxidante, foi utilizado o radical livre DPPH, e a capacidade inibitória 50% determinada. A atividade antifúngica foi realizada em diferentes concentrações através da diluição do óleo essencial pelo método de difusão em disco de papel. Os óleos essenciais apresentaram rendimento de 0,35; 0,44 e 0,29%, densidade 0,905; 0,907 e 0,912 g mL<sup>-1</sup>, solubilidade positiva, índice de refração de 1,3881; 1,3853 e 1,3799, rotação óptica de +40,6; +40,9 e +39,8  $\alpha_D$  e CI<sub>50</sub> de 1,67; 1,57 e 2,19  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , para Cerradão, Cerrado rupestre e Campo sujo, respectivamente. As características físico-químicas são semelhantes às de outros óleos essenciais da literatura. Os óleos essenciais apresentaram alto potencial como futuras fontes antioxidantes. Excepcional capacidade antifúngica sobre as cepas de *Candida* também foi observado. As características fitofisiológicas devem ser avaliadas futuramente por análise genética entre os grupos de indivíduos nas três áreas de estudo, bem como, o perfil químico.

**Palavras-chave:** *Protium ovatum*; *Candida albicans*; Atividade antioxidante; *Candida krusei*.

### Abstract

*Protium ovatum* is a plant species present in the most varied types of Cerrado in Brazil, recognized as a phytotherapeutic plant. The objective of this study was to evaluate the physicochemical and biological characteristics of essential oils extracted from the petioles of *Protium ovatum* collected in three areas of the Cerrado in the Goiás State, Brasil. Petioles were collected, the essential oil was extracted by Clevenger-type system, and the yield was determined in percentage (%). Physicochemical analyzes were performed regarding organoleptic characteristics, relative density, solubility, refractive index and optical rotation. To determine the antioxidant activity, the free radical DPPH was used, and the inhibitory capacity 50% was determined. The antifungal activity was performed at different concentrations through the dilution of the essential oil by the paper disc diffusion method. Essential oils showed a yield of 0.35; 0.44 and 0.29%, density 0.905; 0.907 and 0.912 g mL<sup>-1</sup>, positive solubility, refractive index 1.3881; 1.3853 and 1.3799, optical rotation of +40.6; +40.9 and +39.8  $\alpha_D$  and IC<sub>50</sub> of 1.67; 1.57 and 2.19  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , for Cerradão, Cerrado rupestre and Campo sujo, respectively. The physicochemical characteristics are similar to other essential oils in the literature. Essential oils showed high potential as future sources of antioxidants. Exceptional antifungal capacity against *Candida* strains was also observed. The phytophysiological characteristics should be evaluated in the future by genetic analysis between the groups of individuals in the three study areas, as well as the chemical profile.

**Keywords:** *Protium ovatum*; *Candida albicans*; Antioxidant activity; *Candida krusei*.

## Resumen

*Protium ovatum* es una especie vegetal presente en los más variados tipos de Cerrado en Brasil, reconocida como planta fitoterapéutica. El objetivo de este estudio fue evaluar las características fisicoquímicas y biológicas de los aceites esenciales extraídos de los pecíolos de *Protium ovatum* recolectados en tres áreas del Cerrado en el Estado de Goiás, Brasil. Se recolectaron los pecíolos, se extrajo el aceite esencial por sistema tipo Clevenger y se determinó el rendimiento en porcentaje (%). Se realizaron análisis fisicoquímicos en cuanto a características organolépticas, densidad relativa, solubilidad, índice de refracción y rotación óptica. Para determinar la actividad antioxidante se utilizó el radical libre DPPH y se determinó la capacidad inhibitoria 50%. La actividad antifúngica se realizó a diferentes concentraciones mediante la dilución del aceite esencial por el método de difusión en disco de papel. Los aceites esenciales mostraron un rendimiento de 0,35; 0,44 y 0,29%, densidad 0,905; 0,907 y 0,912 g mL<sup>-1</sup>, solubilidad positiva, índice de refracción 1,3881; 1,3853 y 1,3799, rotación óptica de +40,6; +40,9 y +39,8 α<sub>D</sub> e IC50 de 1,67; 1,57 y 2,19 μL mL<sup>-1</sup>, para Cerradão, Cerrado rupestre y Campo sujo, respectivamente. Las características fisicoquímicas son similares a otros aceites esenciales de la literatura. Los aceites esenciales mostraron un alto potencial como futuras fuentes de antioxidantes. También se observó una capacidad antifúngica excepcional contra las cepas de *Candida*. Las características fitofisionómicas deberán ser evaluadas a futuro mediante análisis genéticos entre los grupos de individuos en las tres áreas de estudio, así como el perfil químico.

**Palabras clave:** *Protium ovatum*; *Candida albicans*; Actividad antioxidante; *Candida krusei*.

## 1. Introdução

O domínio Cerrado apresenta exuberante quantidade de espécies vegetais, sendo esse ambiente, rico em fitofisionomias, onde diversos grupos de vegetais fazem parte de duas classes endêmicas e compartilhadas com outros biomas brasileiros, como Amazônico, Pantanal, Caatinga, entre outros (Moura et al., 2022). Nesse ambiente natural de pluralidades com clima seco e chuvoso bem definido, diversos tipos de solos e alta diversidade genética, são encontradas nas formações vegetais que vão desde bosques, savanas até zonas antropomorfizadas (Teixeira et al., 2016; Da Silva et al., 2019).

O Cerrado é o segundo maior ecossistema, estando atrás apenas do bioma Amazônico, e é nesse exuberante ecológico que são descritas diversas espécies circunscritas em uma das famílias de vegetais superiores mais importantes Burseraceae, composta por arbustos perenes e árvores com ductos resiníferos (Fagundes et al., 2021; Daly et al., 2022).

Burseraceae é composta por 21 gêneros e ~700 espécies classificadas e divididas em três tribos: *Protieae*, *Canarieae* e *Bursereae*. Apresenta espécies com limbo foliar geralmente alterno e composto de margem inteira ou serrada, folíolos com pulvínulo, as inflorescências ocorrem como racemos, panículas ou pseudo-espigas, sendo as flores unisexuadas e frutos deupáceos, às vezes capsulares, muitas vezes oblíquos (DeCarlo et al., 2019; Santana et al., 2020).

O gênero *Protium* Burm. F. (tribo *Protieae*), pertence a Burseraceae, onde apresenta ~150 espécies, sendo este, o maior e principal gênero com representatividade para o Brasil, África, Nordeste da Ásia, México e América Central, com alta densidade populacional no Hemisfério Sul (Marques et al., 2021). A espécie *Protium ovatum* é endêmica de áreas naturais do Brasil, sendo encontrada em diferentes biomas (Pantanal e Amazônico) e domínio Cerrado (Moraes et al., 2013; Cabral et al., 2018; Estevam et al., 2018; Nicolai; Rodrigues, 2022).

Espécies em *Protium* são conhecidas popularmente pelo exsudado resinoso, e as inúmeras espécies que incluem esse gênero, apresentam notável número de nomes populares como, breu-branco, breu, almecega, resina mesca, goma-limão, almíscar ou guapoi (Daly; Fine, 2018; Damasco et al., 2019). *Protium ovatum* Engl. é um arbusto de porte médio com até 4 m de alt., florescendo entre os meses de Abril a Setembro, e frutificação entre os meses de Setembro a Novembro. Os galhos, folhas, flores, pecíolos e frutos, são aromáticos, isso, devido a presença de óleo essencial (OE) e/ou óleo-resina (OR) (Estevam et al., 2018; Palermo et al., 2018).

A espécie apresenta reconhecimento na área de fitomedicina devido à presença de compostos naturais inclusos na resina que apresentam diversos efeitos na promoção e manutenção biológica de órgãos, tecidos e células, como verificado em diversos estudos. São descritos também, diversas ações sobre modelos biológicos para os óleos essenciais extraídos da resina de *P. giganteum*, *P. aracouchine*, *P. grandifolium*, *P. hebetatum*, *P.*

*paniculatum*, *P. heptaphyllum* e *P. subserratum* conforme aborda nos estudos de Díaz et al. (2011), Freitas et al. (2011), Merali et al. (2018), Piva et al. (2019), Nogueira et al. (2019), Figueiredo et al. (2019), Kozin et al. (2019), Silva et al. (2020), Barata et al. (2020) e Mannino et al. (2021). Os efeitos positivos sobre os mecanismos biológicos não se limitam apenas aos óleos essenciais e óleos-resinas, os extratos vegetais extraídos a partir dos principais solventes etanol, água ou metanol demonstram incríveis atividades biológicas, que estão envolvidas pela presença de fitomoléculas distribuídas entre diversos grupos de cumarinas, esteroides, flavonoides, lignanas dentre outros derivados produzidos a partir do metabolismo especial desses vegetais (Ahujaa et al., 2019; Neves et al., 2020; Barata et al., 2020; Alves et al., 2020; Amparo et al., 2022).

Estudos descrevem para *P. ovatum* ações biológicas para resina e óleo essencial como, antiinflamatória, imunoestimulante, repelente para insetos, antinociceptivo e antineoplásico (Castelo; Menezzi, 2010; Dias et al., 2011; Estevam et al., 2015). No trabalho realizado por Estevam e colaboradores (2015), os pesquisadores observaram importante ação antiparasitária sobre *Trypanosoma cruzi*, e para a forma tripomastigota de *Leishmania amazonensis* avaliando o OE das folhas de *P. ovatum*.

O OE é naturalmente produzido nos diversos órgãos vegetais desse grupo de plantas. Estes OEs apresentam estruturas químicas voláteis, lipofílicas complexas, geralmente odoríferas, sendo a maioria líquidas e oleosas ao tato com uma ampla aplicação nas indústrias farmacêutica, de cosmética, de biotecnologia e agrícola (Santos et al., 2013; Cabral et al., 2018; Menezes Filho; Castro, 2020). Vários estudos demonstraram que os OEs apresentam importantes atividades biológicas contra numerosas formas de microorganismos patogênicos e fitopatogênicos como vírus, bactérias, fungos, leveduras, protozoários, bem como, também apresentam ação larvicida, molusquicida e importantes resultados como agente antioxidante para Burseraceae conforme relatado por Carneiro et al. (2017).

Com isso, é importante a investigação de novas atividades biológicas com diferentes modelos biológicos para determinação de possíveis ações de inibição a partir do óleo essencial de *P. ovatum*. O objetivo desse estudo, foi avaliar a atividade bioativa e antifúngica do óleo essencial dos pecíolos de *Protium ovatum* coletados em três fitofisiognomias do Cerrado no Estado de Goiás, Brasil.

## 2. Material e Métodos

### *Coleta e identificação do material vegetal*

Durante o período entre os meses de Junho a Julho de 2017 foram coletados pecíolos de *P. ovatum* em três regiões de domínio Cerrado no Estado de Goiás, Brasil, com as seguintes referências geográficas: Cerradão: (17°27'27.1''S 51°10'13.5''W), altura de 896 m; Cerrado rupestre: (16°24'14.9''S 51°06'40.0''W), altura de 707 m; e Campo sujo: (16°59'07.0''S 50°25'50.2''W), altura de 777 m. A espécie do gênero *Protium* foi identificada pela Bióloga Erika Virgínia Estefâne de Jesus Amaral, e uma exsicata foi herborizada e depositada no Herbário do Instituto Federal Goiano, Rio Verde, Estado de Goiás, Brasil. Voucher (HRV: 628).

### *Extração do óleo essencial*

Para extração do OE, alíquotas contendo 100 g (*m/m*) de pecíolos, tiveram suas massas determinadas em balança analítica em triplicata. Em seguida, o material foi triturado em procesador para alimentos contendo 500 mL de água destilada. O processo de extração foi realizado em equipamento tipo *Clevenger* durante 3,5 horas. O hidrolato foi lavado 3 vezes com 30 mL de diclorometano (Alphatec, P.A – ACS). Em seguida, as frações foram combinadas e secas com sulfato de sódio anidro (Neon, P.A – ACS). O sobrenadante foi transferido para um béquer protegido com papel de alumínio com pequenos furos até completa evaporação do solvente. Após esse período, o OE foi coletado e a massa determinada em porcentagem (*m/v*).

### *Propriedades físico-químicas*

A característica organoléptica para cor, aroma e tato, foram determinadas conforme descrito por Castro et al. (2016). A densidade relativa foi realizada em picnômetro (Color Glass) de 1 mL. O picnômetro teve sua massa inicial determinada em balança analítica (Marte, Mod. AW 220). Em seguida, o OE foi adicionado, depois da limpeza, o picnômetro com amostra teve sua massa determinada, e a densidade relativa do OE, foi expressa em g mL<sup>-1</sup> 25 °C.

A solubilidade do OE foi determinada através de uma solução hidroetanólica (LS Chemicals, P.A – ACS) 70% (*v/v*) conforme descrito por Alarcón et al. (2019). Em tubo cônico (*Eppendorf*, Gene) de 1,5 mL, foi adicionada uma alíquota de 100 µL da solução hidroetanólica 70% contendo 2 µL de OE. O tubo foi homogeneizado em equipamento tipo Vortex (Warmnest, Mod. VX 28) a 170 rpm durante 5 min.

O índice de refração foi determinado em refratômetro digital (Hanna Instruments, Mod. HI96800) com faixa entre 1,3330 a 1,5080, resolução de 0,0001 a 20 °C, conforme descrito por Alarcón et al. (2019). A rotação óptica (ou giro óptico) foi determinada em polarímetro com célula de 10 mL em temperatura de 20 °C com luz  $\alpha_D$  de Sódio com faixa de 589,3 nm (Novainstruments, Mod. WYG-4), com medida entre -180° a +180° na escala Vernier. Uma solução a 10% (p/v) do OE em etanol 96% (LS Chemicals, P.A – ACS) foi utilizado na análise, conforme descrito por Alarcón et al. (2019).

#### Ensaio de atividade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando o método de redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). O método de redução do DPPH foi realizado em microdiluição em microplacas de 96 poços (Global Plast) proposto por Mezza et al. (2018). Em cada poço, foi adicionado 100  $\mu$ L de uma solução de metanol com DPPH na concentração de 0,06 mMol mL<sup>-1</sup> e 100  $\mu$ L de uma solução de metanol e OE em diferentes concentrações.

A microplaca foi mantida em local protegido da luz e calor por 1 h. Em seguida, a leitura em absorbância, foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis de microplacas (Hexis Científica, SpectraMax Plus, Mod. 384), em 517 nm. A porcentagem da capacidade antioxidante foi determinada conforme equação 1. A concentração de inibição (CI<sub>50</sub>) foi determinada em ( $\mu$ L mL<sup>-1</sup>) capaz de reduzir 50% da concentração inicial da solução padrão de DPPH 0,06 mMol mL<sup>-1</sup>.

$$\%Red = \left( \frac{Abscon - Abssol}{Abscon} \right) * 100$$

Eq. [1]

ONDE: AC, absorção da solução controle e AS absorção da solução de OE que contém o radical DPPH.

#### Atividade antifúngica pelo método de difusão em discos

Para avaliação da atividade antifúngica de fungos do gênero *Candida*, o método adotado foi o de difusão em disco descrito por Rivera et al. (2017), adaptado. Foram utilizadas cepas do gênero *Candida* pela *American Type Culture Collection* (ATCC) adquiridas comercialmente: *Candida albicans* (ATCC 10231), *C. guilliermondi* (ATCC 90877), *C. krusei* (ATCC 34135) e *C. tropicalis* (ATCC 4563).

O ensaio foi realizado em diferentes concentrações, sendo 100  $\mu$ L mL<sup>-1</sup> (OE puro) e diluições respectivas em dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec, P.A – ACS, pureza de 98,9%) nas concentrações 50; 25; 12,5 e 6,25  $\mu$ L mL<sup>-1</sup>. Como controle negativo, foi utilizado DMSO e água destilada, e como controle positivo, Ketoconazol® (Medley, comprimido de 200 mg), em uma solução aquosa estéril com a concentração de 50  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>.

As cepas foram resuspendidas em 20 mL de meio estéril Caldo Sabouraud Dextrose (Kasvi – CSD). A suspensão foi incubada sob agitação constante em mesa de incubação (Solab, Mod. Shaker SL-222) durante 24 h a 36 °C. Partindo desse cultivo, foi preparado inóculos contendo aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC mL<sup>-1</sup> padronizado conforme a turbidez em cubeta de Quartzo de campo único (1 cm) na escala 0,5 McFarland, em espectrofotômetro UV-Vis/NIR (PerkinElmer – Mod. Lambda 850) em 530 nm.

O ensaio antifúngico foi realizado em meio sólido (ASD) usando discos de papel de filtro estéril com diâmetro de 7 mm. O meio estéril ASD, foi vertido em placas de Petri com diâmetro de 10 cm, e após a solidificação, foi acrescido 1 mL da suspensão fúngica homogeneizada com uma alça de *Drigalski*. Em seguida, foram depositados 5 discos contendo 50  $\mu$ L mL<sup>-1</sup> de cada solução em diferentes concentrações (100, 50, 25; 12,5 e 6,25  $\mu$ L mL<sup>-1</sup>) do OE.

As placas foram transferidas para incubadora bacteriológica (SolidSteel, Mod. SSB40L) durante 24-46 h a 35 °C. Após este período, foi considerado halos de inibição com 8 mm de diâmetro utilizando paquímetro digital (Digimess, Mod.100.174BL) de 150 mm e resolução de 0,01mm/.0005” e erro de aferição igual a (0,01 mm).

#### Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata seguido de  $\pm$  erro padrão. O teste de *Duncan* com 5% de probabilidade, foi utilizado observando a diferença significativa com houve-se entre as parcelas. O programa utilizado foi o *Statistical Analysis Software* (SPSS).

### 3. Resultados

Os OEs coletados em três fitofisionomias exibiram as características organolépticas: líquido, incolor, transparente, homogêneo, cristalino, levemente aromático e oleoso ao tato. Na Tabela 1 estão apresentados os resultados dos parâmetros físico-químicos e bioativo dos OEs dos pecíolos de *P. ovatum*.

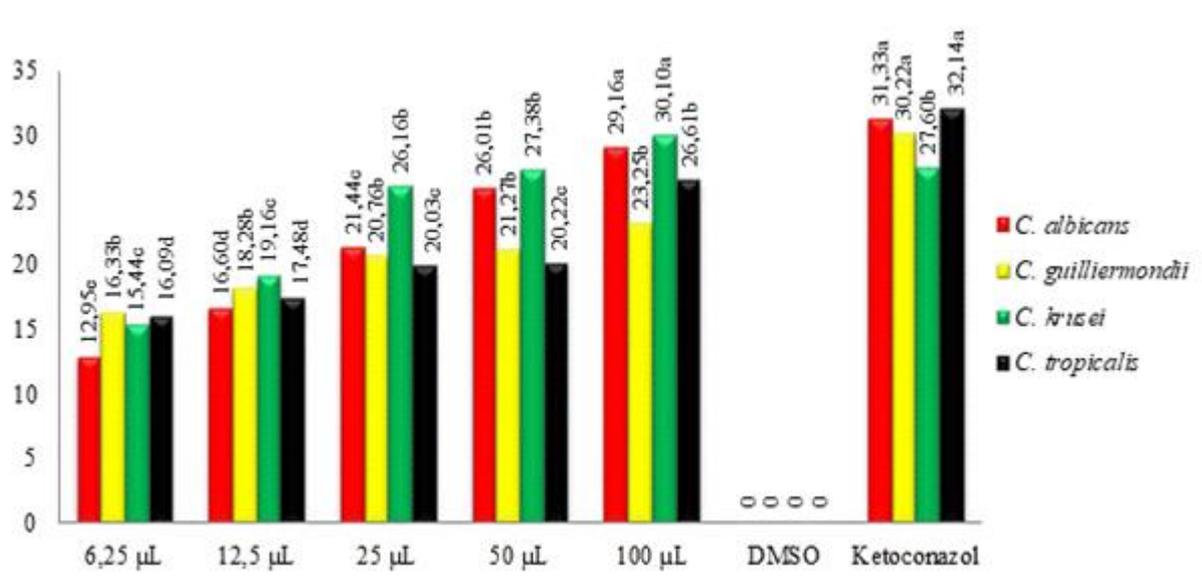
**Tabela 1.** Parâmetros físico-químicos e bioativo do óleo essencial dos pecíolos de *P. ovatum*, coletados em três fitofisionomias de Cerrado no Estado de Goiás, Brasil.

Parâmetros	Cerradão	Cerrado rupestre	Campo sujo
Rendimento %	0,35 ± 0,11	0,44 ± 0,01	0,29 ± 0,01
Densidade relativa g mL <sup>-1</sup> 25 °C	0,905b	0,907b	0,912a
Solubilidade 70% (v/v)	Positivo	Positivo	Positivo
Índice de refração	1,3881a	1,3853a	1,3799b
Rotação óptica α <sub>D</sub>	+40,6a	+40,9a	+39,8a
DPPH CI <sub>50</sub> (μL mL <sup>-1</sup> )	1,67 ± 0,33b	1,57 ± 0,15a	2,19 ± 0,64c

**Nota:** Letra igual na mesma linha, não diferem entre si, pelo teste de Duncan com 5% de probabilidade.

Em todas as concentrações foi observada atividade de inibição de crescimento micelial sobre as espécies de *Candida*. O OE na maior concentração para *C. albicans* e *C. krusei* não diferiram estatisticamente quando comparado ao antifúngico comercial Ketoconazol 50 μg mL<sup>-1</sup>.

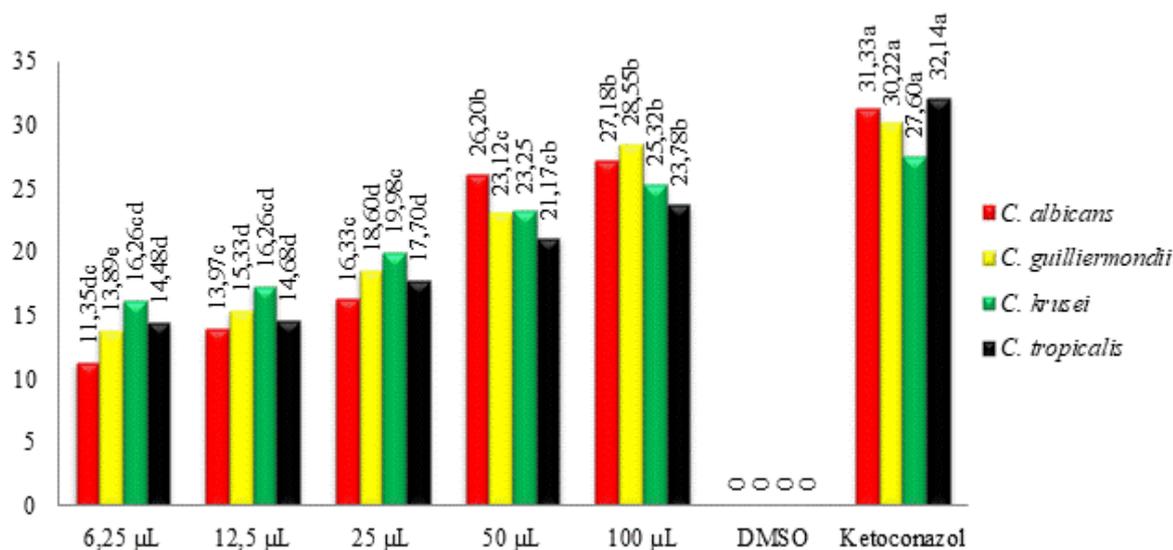
A concentração de 100 μL do OE, demonstrou maior eficiência de inibição quando comparado ao Ketoconazol segundo o teste de *Duncan* com nível de significância de 5% (Figura 1). As quatro espécies de *Candida* demonstraram ser sensíveis ao OE fitofisionomia Cerradão, mesmo nas concentrações mais baixas 6,25 e 12,5 μL mL<sup>-1</sup>. Nossos achados ainda sobre esses resultados, observados que a cepa de *C. tropicalis* apresentou resistência entre demais cepas de *Candida*.



**Figura 1.** Atividade antifúngica do óleo essencial dos pecíolos de *Protium ovatum* coletados na fitofisionomia Cerradão, Estado de Goiás, Brasil. Letras iguais não mostram diferenças significativas para cada cepa pelo teste de *Duncan* com 5% de significância. Fonte: Autores, 2022.

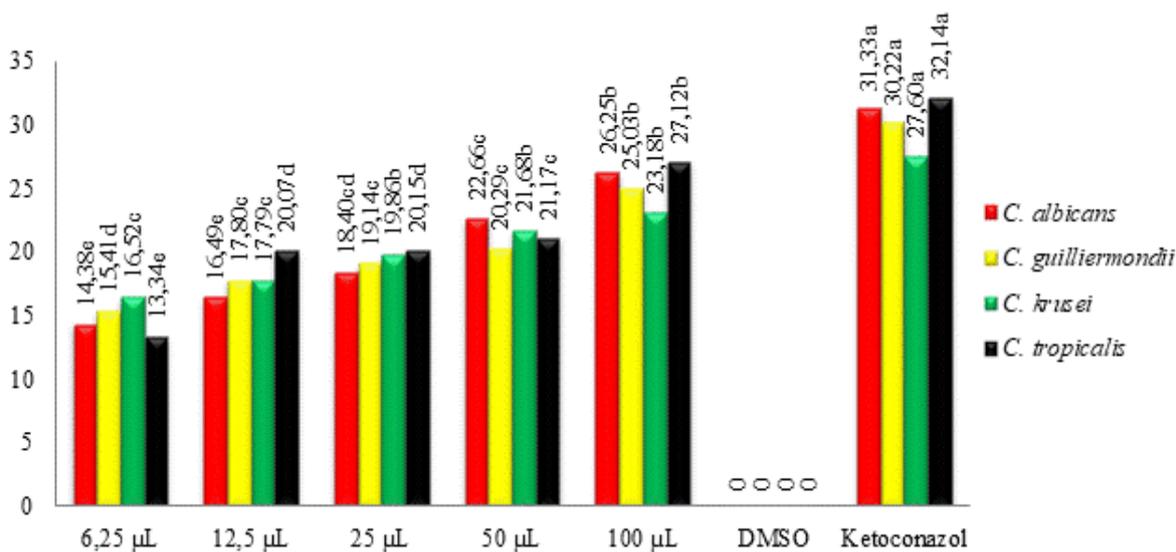
Na Figura 2 foi obtido alta eficiência na inibição para todas as cepas de *Candida*, especialmente para as concentrações 50 e 100 μL mL<sup>-1</sup>. O mesmo foi observado para as quatro cepas de *Candida* pelo OE dos pecíolos coletados no tipo de fitofisionomia Cerrado rupestre, incluindo as concentrações mais baixas 6,25 e 12,5 μL mL<sup>-1</sup>. Neste ensaio é possível demonstrar que, as espécies de *Candida* utilizadas, são sensíveis a constituição química e as diferentes doses de OE, principalmente para *C. albicans*, *C. guilliermondii* e *C. krusei*. A espécie *C.*

*tropicalis* demonstrou resistência como pode ser observado na (Figura 2).



**Figura 2.** Atividade antifúngica do óleo essencial dos pecíolos de *Protium ovatum* coletados na fitofisionomia Cerrado rupestre, Estado de Goiás, Brasil. Letras iguais para mesma cepa fúngica, não diferem entre si pelo teste de *Duncan* com 5% de diferença. Fonte: Autores, 2022.

Na Figura 3 observa-se também, importante atividade de inibição de crescimento sobre as cepas de *Candida*. Nesse estudo, as maiores concentrações 50 e 100 µL mL<sup>-1</sup>, demonstraram os melhores resultados de atividade antifúngica. No entanto, são inferiores quando comparadas a concentração do antifúngico comercial. Como observado nos OEs anteriores, os resultados foram próximos aos observados, comparados aos obtidos pelo OE extraído dos pecíolos da área de Cerrado Campo sujo, Estado de Goiás, Brasil. Novamente, para a cepa de *C. tropicalis* foi observada resistência sobre as concentrações de OE.



**Figura 3.** Atividade antifúngica do óleo essencial dos pecíolos de *Protium ovatum* coletados em Cerrado Campo sujo, Estado de Goiás, Brasil. Letras iguais para mesma cepa fúngica, não apresenta diferença significativa pelo teste de *Duncan* com 5% de significância. Fonte: Autores, 2022.

#### 4. Discussão

Os pecíolos de *P. ovatum* exibiram rendimento satisfatório de OE, sendo este o primeiro relato para esta espécie, e para o gênero *Protium* em que se avaliam pecíolos.

Pode-se sugerir que os diferentes ambientes de área de Cerrado e os tipos variados de solos podem ser os fatores extrínsecos capazes de causar a diferença entre o rendimento observada, bem como, quimiotipos vegetais na espécie também devem ser avaliados.

Outro ponto importante, seria a genética dos grupos de indivíduos dentro de cada área (fitofisionomia) coletadas, sendo necessário, uma investigação com base molecular, para complementação dos resultados obtidos neste estudo. Em comparação com outros órgãos vegetais da mesma espécie, Estevam e colaboradores (2018), encontraram rendimento de 0,5% de OE para os frutos de *P. ovatum*, e  $\beta$ -mirreno como composto majoritário. Estes pesquisadores ainda são citados em um estudo realizado em 2015 onde encontraram rendimento de 0,30% para OE extraído das folhas de *P. ovatum* (Estevam et al., 2015).

Como não há estudos que avaliem as características físico-químicas dos OEs de *Protium*, este trabalho, comparou com outros estudos, em diversos vegetais para atividade antioxidante. Os resultados obtidos são similares aos estudos realizados por Santos et al. (2012), Torrenegra-Alarcón et al. (2016), Alarcón et al. (2019) onde avaliaram essa ação sobre diferentes OEs. A redução do radical livre DPPH demonstrou ser um excelente agente antioxidante para os OEs obtidos para Campo rupestre e Cerradão, e moderado para Campo sujo. Alarcón e colaboradores (2019), encontraram efetiva atividade antioxidante com  $CI_{50}$  de 505,0 e 480,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para o OE de *Eucalyptus globulus*, e Mezza e colaboradores (2018), para as frações do OE de *Rosmarinus officinalis* com  $CI_{50}$  entre 4,39 a 1,82  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

A atividade de inibição de crescimento para as cepas de *Candida* foram satisfatórias para os OEs coletados nas três fitofisionomias. Onde as cepas de *C. albicans*, *C. guilliermondii* e *C. krusei* foram mais sensíveis aos OEs em todas as concentrações. Embora para *C. tropicalis* tenha demonstrado ser resistente as concentrações, os OEs apresentam excepcional atividade antifúngica. Nas Figuras 1, 2 e 3 apresentadas nos resultados, não é possível sugerir que as amostras de OEs coletados em diferentes regiões dentro do Estado de Goiás, Brasil, apresentem diferenças significativas para a atividade antifúngica, sendo necessários estudos fitomoleculares e de perfil químico posteriormente.

Oliveira e colaboradores (2016) observaram importante atividade antifúngica de 75,5; 70,1; 72 e 80,8% para isolados de *C. albicans* (ATCC 10231 e 64124), *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* usando OE das folhas de *Ocimum gratissimum*. Oliveira e colaboradores (2015) avaliaram o OE de *Baccharis dracunculifolia* onde obtiveram halo de antibiose maior que 10 mm na concentração de 10  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , onde *C. albicans* demonstrou ser sensível. Já nas concentrações mais baixas, o isolado demonstrou ser resistente. Alta resistência ao perfil químico de OE foi descrita por Pimenta e colaboradores (2019) onde avaliaram quatro isolados de *C. glabrata*, onde apenas um, apresentou inibição de crescimento com o OE de *Pogostemon cablin*.

No estudo de Oliveira Lima e colaboradores (2006) os pesquisadores observaram a susceptibilidade de isolados de *C. krusei* e *C. tropicalis* avaliando o OE de *Peumus boldus*. No entanto, neste estudo, os pesquisadores encontraram apenas certa sensibilidade sobre o crescimento de *C. krusei* a partir do OE de *Rosmarinus officinalis*. He e colaboradores (2017) encontraram bons resultados de inibição para três cepas de *C. albicans* com halos de antibiose de 29,5; 21,8 e de 19,4 mm. Para as cepas de *C. glabrata*, os pesquisadores observaram inibição de crescimento de 29,6 e 31,0 mm, para duas cepas de *C. krusei* inibição de 32,9 e 14,2 mm, em *C. parapsilosis* com inibição de 33,2 mm, e para duas cepas de *C. tropicalis* com 27,2 e 21,8 mm de inibição, avaliando o OE da semente de *Carica papaya*. Ainda, Tahvilian e colaboradores (2016), encontraram excelente atividade inibitória do OE em diferentes partes aéreas de *Pistacia khinjuk* para o isolado de *C. albicans* com inibição de 64 mm, com uma concentração de 1 g  $\text{mL}^{-1}$ .

#### 5. Conclusões

Conclui-se que os óleos essenciais dos pecíolos de *Protium ovatum* são promissores agentes com atividade antioxidante e antifúngicos sobre cepas do gênero de leveduras *Candida*.

Trabalho futuros deverão ser realizados avaliando a genética dos grupos de indivíduos de *P. ovatum* onde foram coletadas amostras, para que se possa obter um conjunto maior de dados sobre a espécie e os diferentes sítios de coletas, na verificação e discussão dos fatores extrínsecos e intrínsecos, bem como sua constituição química por cromatografia gasosa.

## 6. Agradecimentos

Ao Instituto Federal Goiano, Rio Verde, Goiás, Brasil; a Universidade do Estado de Goiás, Santa Helena, Goiás, Brasil; a Universidade Federal de Jataí, Jataí, Goiás, Brasil; aos laboratórios de Química Geral, Química Tecnológica, Bioensaios e Biomoléculas, Sistemática Vegetal e Fisiologia Vegetal; e por fim ao Herbário do Instituto Federal Goiano, Rio Verde, Goiás, Brasil.

## 7. Referências

- Adams, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4<sup>th</sup> Edition. Allured Publishing Corporation, Illinois.
- Ahujaa, A., Kim, M-Y. & Cho, J. Y. (2019). *Protium javanicum* Burm. methanol extract attenuates LPS-induced inflammatory activities in macrophage-like RAW264.7 cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Alarcón, M. E. T., Conde, C. G. & Méndez, G. L. (2019). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. *Revista Cubana de Farmacia*, 52(1), e266.
- Alves, C. C. F., Oliveira, J. D., Estevam, E. B. B., Xavier, M. N., Nicolella, H. D., Furtado, R. A., Tavares, D. C. & Miranda, M. L. D. (2020). Antiproliferative activity of essential oils from three plants of the Brazilian Cerrado: *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), *Protium ovatum* (Byrseraceae) and *Cardiopetalum calophyllum* (Annonaceae). *Brazilian Journal of Biology*, 80(2), 290-294.
- Amparo, T. R., Silva, A. C. P., Seibert, J. B., Silva, D. S., Santos, V. M. R., Vieira, P. M. A., Brandão, G. C., Souza, G. H. B. & Santos, B. A. M. C. (2022). In vitro and in silico investigation of the photoprotective and antioxidant potential of *Protium spruceanum* leaves and its main flavonoids. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 431, 114037.
- Barata, A. C., Antunes, N. T. B., Paiva, R. C., Nogueira, S. R. P., Nunes, J. S. & Freitas, O. S. p. (2020). Análise fitoquímica e potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Protium calendulinum* (Burseraceae) na germinação de *Lactuca sativa*. *Diversitas Journal*, 5(4), 2660-2675.
- Cabral, R. S. C., Alves, C. C. F., Batista, H. R. F., Sousa, W. C., Abrahão, I. S., Crotti, A. E. M., Santiago, M. B., Martins, C. H. G. & Miranda, M. L. D. (2018). Chemical composition of essential oils from different parts of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand and their *in vitro* antibacterial activity. *Natural Product Research*, 34(16), 2378-2383.
- Carneiro, N. S., Alves, J. M., Alves, C. C. F., Esperandim, V. R. & Miranda, M. L. D. (2017). Óleo essencial das flores de *Eugenia klotzschiana* (Myrtaceae): composição química e atividades tripanocida e citotóxica in vitro. *Revista Virtual de Química*, 9(3), 1381-1392.
- Castro, N. P. P., Méndez, G. L., Fortich, M. D. R. O., Alarcón, M. E. T. & Milano, Y. G. (2016). Evaluación de indicadores físicos y químicos de una emulsión con aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(3).
- Castelo, A. V. M., Menezzi, C. H. S. D. & Resck, I. S. (2010). Rendimento e análises espectroscópicas (RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV) da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do Cerrado. *Cerne*, 16, 573-584.
- Daly, D. C., Perdiz, R. O., Fine, P. V. A., Damasco, G., Martínez-Habibe, M. C. & Calvillo-Canadell, L. (2022). A review of neotropical Burseraceae. *Brazilian Journal of Botany* 45, 103-137.
- Daly, D. C. & Fine, P. V. A. (2018). Generic limits re-visited and an updated sectional classification for *Protium* (tribe Protieae). *Studies in neotropical Burseraceae XXV. Brittonia*, 70, 418-426.
- Damasco, G., Daly, D. C., Vicentini, A. & Fine, P. V. A. (2019). Reestablishment of *Protium cordatum* (Burseraceae) based on integrative taxonomy. *Taxon, The Journal of the International Association for Plant Taxonomy*, 68(1), 34-46.
- Da Silva, F. C. S., Duarte, V. B. R., Neto, E. G., Sousa, I. V., Silva, M. V. C., Santos, M. M., Portella, A. C. F. & Giongo, M. (2019). Inflamabilidade de espécies vegetais do cerrado *stricto sensu*. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 79(2), 315-319.
- DeCarlo, A., Dosoky, N. S., Satyal, P., Sorensen, A. & Setzer, W. N. (2019). In: Malik, S. (eds) *Essential Oil Research*, Springer, Cham, 61-145 p.

- Dias, M. O., Hamerski, L. & Pinto, A. C. (2011). Separação semipreparativa de  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina por cromatografia líquida de alta eficiência. *Química Nova*, 34, 704-706.
- Estevam, E. B. B., Alves, C. C. F., Esperandim, V. R., Cazal, C. M., Souza, A. F. & Miranda, M. L. D. (2018). Chemical composition, anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of the essential oil from green fruits of *Protium ovatum* (Burseraceae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(1), e-794.
- Estevam, E. B. B., Deus, I. P. B., Silva, V. P., Silva, E. A. J., Alves, C. C. F., Alves, J. M., Cazal, C. M., Magalhães, L. G., Pagotti, M. C., Esperandim, V. R., Souza, A. F. & Miranda, M. L. D. (2017). *In vitro* antiparasitic and chemical composition of the essential oil from *Protium ovatum* leaves (Burseraceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(4), 3005-3015.
- Fagundes, S. T. S., Scoti, M. S. V. & Brito Junior, J. F. (2021). Dinâmica de espécies da família Burseraceae em área de exploração florestal, Flona do Jamari, RO. *Revista Brasileira de Ciências da Amazônia*, 10, 2.
- Figueiredo, J. C. G., Nunes, Y. R. F., Vasconcelos, V. O., Arruda, S. R., Morais-Costa, F., Santos, G. S. C., Alvez, F. S. & Duarte, E. R. (2019). Effects of leaf extracts of *Protium spruceanum* against adult and larval *Rhipicephalus microplus*. *Experimental and Applied Acarology*, 79, 447-458.
- He, X., Ma, Y., Yi, G., Wu, J., Zhou, L. & Guo, H. (2017). Chemical composition and antifungal activity of *Carica papaya* Linn. seed essential oil against *Candida* spp. *Letters in Applied Microbiology*, 64(5), 350-354.
- Kozin, S. V., Kravtsov, A. A., Elkina, A. A., Zlishcheva, E. I., Barysheva, E. V., Shurygina, L. V., Moiseev, A. V. & Baryshev, M. G. (2019). Isotope Exchange of deuterium for *Protium* in rat brain tissues changes brains tolerance to hypoxia. *Biophysics*, 64, 272-278.
- Mannino, G., Iovino, P., Lauria, A., Genova, T., Asteggiano, A., Notarbartolo, M., Porcu, A., Serio, G., Chinigò, G., Occhipinti, A., Capuzzo, A., Medana, C., Munaron, L. & Gentile, C. (2021). Bioactive triterpenes of *Protium heptaphyllum* gum resin extract display cholesterol-lowering potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2664.
- Marques, D. D., De Carvalho, C. E. G., Sartori, R. A., De Lemos, T. L. G. & Monte, F. J. Q. (2021). Composição química da cera cuticular das folhas de *Protium hebetatum* Daly (Burseraceae). *Holos*, 37(5), e9826.
- Menezes Filho, A. C. P. & Castro, C. F. S. (2020). Avaliação físico-química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Myrcarpus fastigiatus* e óleo-resina de *Copaifera multijuga*. *Arquivos Científicos*, 3(1), 117-123.
- Merali, Z., Cayer, C., Kent, P., Liu, R., Cal, V., Harris, C. S. & Arnason, J. T. (2018). Sacred maya incense, copal (*Protium* copal-Burseraceae), has antianxiety effects in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 216, 63-70.
- Mezza, G. N., Borgarello, A. V., Grosso, N. R., Fernandez, H., Pramparo, M. C. & Gayol, M. F. (2018). Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. *Food Chemistry*, 242, 9-15.
- Moraes, M. M., Camara, C. A. G. & Ramos, C. S. (2013). Seasonal variation in the essential oil of *Protium bahianum* Daly (Burseraceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16, 300-307.
- Moura, A. S., Machado, F. S., Cortez, E. A., Leite, L. H., Mariano, R. F. & Fontes, M. A. L. (2022). Localidades de Ocorrência do globalmente ameaçado de extinção galito, *Alectrurus tricolor* (Passeriformes: Tyrannidae), em regiões de ecótono Cerrado/florestas Atlântica do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Regellea Scientia*, 8(1), 14-22.
- Neves, G. P., Nakamura, M. J., Ramos, M. F. S., Siani, A. C. & Mazzei, J. L. (2020). Development of a gas chromatography method for quantification of triterpenes in the comercial oleoresins from *Protium* species. *Rodriguesia*, 71, e00702019.
- Nicolai, J. & Rodrigues, T. M. (2022). Cell wall thickenings and tylosoid: developmental morphology reveals novelties for secretory canals in *Protium ovatum* (Burseraceae). *Journal of Plant Research*, 135, 247-257.
- Nogueira, A. O., Oliveira, Y. I. S., Adjafre, B. L., De Moraes, M. E. A. & Aragão, G. F. (2019). Pharmacological Effects of the isomeric mixture of alpha and beta amyrrin from *Protium heptaphyllum*: a literature review. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 33(1), 4-12.
- Oliveira, L. B. S.; Batista, A. H. M.; Fernandes, F. C.; Sales, G. W. P. & Nogueira, N. A. P. (2016). Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre

- espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18(2), 511-523.
- Oliveira, C. F., Bobek, V. B., Pietruchinski, E. & Cardozo, A. G. L. (2015). Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. frente à levedura da espécie *Candida albicans*. *Visão Acadêmica*, 16(4), 4-11.
- Oliveira Lima, I., Oliveira, R., Oliveira Lima, E., Farias, N. M. P. & Souza, E. L. (2006). Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 16(2), 197-201.
- Palermo, F. H., Rodrigues, M. I. A., Nicolai, J., Machado, S. R. & Rodrigues, T. M. (2018). Resin secretory canals in *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand. (Burseraceae): a tridimensional branched and anastomosed system. *Protoplasma*, 255, 899-910.
- Pimenta, E. S., Da Cruz, R. M. C., Diniz Neto, H., Silva, D. F., Oliveira, H. M. B. F., Buccini, D. F., Lima, E. O., Oliveira Filho, A. A. (2019). Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Lamiaceae) contra cepas de *Candida glabrata*. *Scientia Plena*, 15(6), 1-5.
- Piva, L. R. O., Jardine, K. J., Gimenez, B. O., Perdiz, R. O., Menezes, V. S., Durgante, F. M., Cobello, L. O., Higuchi, N. & Chambers, J. Q. (2019). Volatile monoterpene 'fingerprints' of resinous *Protium* tree species in the Amazon rainforest. *Phytochemistry*, 160, 61-70.
- Rivera, P. N., Paredes, E. A., Gómez, E. D., Lueckhoff, A., Almeida, G. A. & Suarez, S. E. (2017). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de los rizomas de *Renealmia thyrsoides* (Ruiz & Pav) Poepp. & Eddl. (shiwanku myyu). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(2).
- Santana, R. C., Rosa, A. S., Mateus, M. H. S., Soares, D. C., Atella, G., Guimarães, A. C., Siani, A. C., Ramos, M. F. S., Saraiva, E. M. & Pinto-da-Silva, L. H. (2020). *In vitro* leishmanicidal activity of monoterpenes present in two species of *Protium* (Byrseraceae) on *Leishmania amazonenses*. *Journal of Ethnopharmacology*, 259, 112981.
- Santos, M. R. A., Lima, R. A., Silva, A. G., Lima, D. K. S., Sallet, L. A. P., Teixeira, C. A. D. & Facundo, V. A. (2013). (Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(4), 757-762.
- Santos, T. G., Rebelo, R. A., Dalmarco, E. M., Guedes, A., De Gasper, A. L., Cruz, A. B., Schmit, A. P., Cruz, R. C. B., Steindel, M. & Nunes, R. K. (2012). Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. Presl.) C. DC. *Revista Química Nova*, 35(3), 477-481.
- Silva, H. N. P., Machado, S. D. S., Siqueira, A. M. A., Silva, E. C. C., Canto, M. Â. O., Jensen, L., Da Silva, L. V. F., Fugimura, M. M. S., Barroso, A. S., Mourão, R. H. V. & Baldisserotto, B. (2020). Sedative and anesthetic potential of the essential oil and hydrolate from the fruit of *Portium heptaphyllum* and their isolated compounds in *Colossoma macropomum* juveniles. *Aquaculture*, 529, 735629.
- Silva, K. L., Cezarotto, G. S., Souza, R. R., Carvalho, C. E. G., Oliveira, J. R., Carvalho, C. M. & Marques, D. D. (2021). Composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial da resina de *Protium hebetatum* Daly (Burseraceae). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 8(2), 245-253.
- Tahvilian, R., Moradi, R., Zhale, H., Zangeneh, M. M., Zangeneh, A., Yazdani, H. & Hajjaliani, M. (2016). Ethnomedicinal Plants: Study on antifungal activity of essential oil of *Pistacia khinjuk* (combined with the dominance  $\gamma$ -terpinene) against *Candida albicans*. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(10), 1369-1373.
- Teixeira, P. R.; Ferreira, R. Q. S.; Camargo, M. O.; Silva, R. R. & Souza, P. B. (2016). Produção de serapilheira de duas fisionomias do domínio Cerrado, Gurupi, Tocantins. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 11(5), 45-50.
- Torreñegra-Alarcón, M.; Granados-Conde, C.; Durán-Lengua, M.; León-Méndez, G.; Yáñez-Rueda, X.; Martínez, C. & Pájaro-Castro, N. (2016). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia*, 20(1), 69-74.

## Copyrights

Copyright for this article is retained by the author(s), with first publication rights granted to the journal.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).