



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO CENTRO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE COORDENADORIA DO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (Modalidade: Licenciatura)**

RAYSSA DE QUEIROZ ARAÚJO

**Associação de óleos essenciais com levamisol: avaliação do potencial anti-
helmíntico sobre linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensível e resistente a
levamisol.**

SÃO LUÍS -MA

2022

RAYSSA DE QUEIROZ ARAÚJO

Associação de óleos essenciais com levamisol: avaliação do potencial anti-helmíntico sobre linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensível e resistente a levamisol

Monografia apresentada à
Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da
Universidade Federal do
Maranhão para obtenção do grau
de Licenciatura em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Lívio Martins Costa Junior

SÃO LUÍS - MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Araújo, Rayssa de Queiroz.

Associação de óleos essenciais com levamisol: avaliação do potencial anti-helmíntico sobre linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensível e resistente a levamisol / Rayssa de Queiroz Araújo. - 2022.

34 f.

Orientador(a): Lívio Martins Costa Junior.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2022.

1. Antiparasitários. 2. Parasitos gastrointestinais. 3. Resistência. I. Costa Junior, Lívio Martins. II. Título.

RAYSSA DE QUEIROZ ARAÚJO

Associação de óleos essenciais com levamisol: avaliação do potencial anti-helmíntico sobre linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensível e resistente a levamisol

Monografia apresentada à
Universidade Federal do
Maranhão, como requisito parcial
para a obtenção do título de
Licenciatura em Ciências
Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Lívio Martins Costa Junior – (Orientador)

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Dr^a. Naylene Carvalho Sales da Silva – (Titular)

Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Msc. Dauana Mesquita Sousa – (Titular)

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, por ter tido paciência e entendido os meus momentos de reclusão e introspectividade. Ao meu orientador, Lívio Martins, que entendeu meus interesses e possibilitou a criação deste trabalho. A minha coorientadora de coração, Dauana Mesquita, sem a orientação direta dela, eu não teria conseguido. Agradeço a sua paciência, amizade, confiança e as puxadas de orelha, é claro. As minhas amigas, Ruth e Juliana, que estiveram comigo em todo o processo. Sem elas, sem a amizade delas, eu não teria conseguido suportar os grandes surtos que a graduação proporcionou. Obrigada, meninas, vocês são incríveis. Espero que nosso trio viva por muito mais tempo. Agradeço imensamente, ao Laboratório de Controle de Parasitos (LCP), que me acolheu carinhosamente em 2019 e vem me ensinando de tudo um pouco nesses últimos anos. Um agradecimento especial para Caio, Isabella, Ellen, Carol, Matheus e Geovane, vocês não imaginam o quão importante foram para o meu crescimento científico e pessoal, muito obrigada. Meu profundo obrigado aos meus amigos, a minha turma de 2018.2, meus pais, meus irmãos e todos que ouviram as minhas reclamações intermináveis, vocês foram incríveis.

“Não se pode aprender nada de uma lição que não seja acompanhada por dor, já que não se pode conseguir nada sem um sacrifício. Mas quando você aguenta essa dor e a supera, as pessoas conseguem um coração forte que não perde para nada. Sim, um coração de aço.”

(Edward Elric – FullMetal Alchemist)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. METODOLOGIA	6
2.1 Manutenção das linhagens de <i>C. elegans</i>	6
2.2 Óleos essenciais e análise química	6
2.3 Isolamento de adultos de <i>C. elegans</i>	7
2.4 Teste de mortalidade de adultos	7
2.5 Combinação de anti-helmínticos sintéticos com óleos essenciais e majoritários	7
2.6 Análise estatística	8
3. RESULTADOS	8
3.1 Principais componentes encontrados nos óleos essenciais	8
3.2 Mortalidade de Bristol N2	8
3.3 Mortalidade de <i>C. elegans</i> resistente a levamisol	9
3.4 Associação do levamisol com os óleos essenciais e majoritários sobre <i>C. elegans</i> sensível	9
3.5 Associação do levamisol com os óleos essenciais e majoritários sobre <i>C. elegans</i> resistente	10
4. DISCUSSÃO	10
5. CONCLUSÃO	12
6. REFERÊNCIAS	14
7. MATERIAL COMPLEMENTAR	29

ARTIGO

Associação de óleos essenciais com levamisol: avaliação do potencial anti-helmíntico sobre linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensível e resistente à levamisol

Rayssa de Q. Araújo^a; Juliana Rivas F. Pereira ^a; Ruth Myrian de M. Silva^a; Dauana Mesquita Sousa^b; Cláudia Quintino da Rocha^c; Rodrigo Rodrigues Cambraia de Miranda^d; Lívio Martins Costa Junior^e

a – Graduanda em Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão (rayssa_queiroz@live.com);

b – Doutoranda pela Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Maranhão;

c – Doutora, Professora do Departamento de Química, Universidade Federal do Maranhão;

d –Doutor, Professor do Departamento de Patologia do Instituto de Ciências Biomédicas Universidade Federal de Uberlândia;

e – Orientador, Professor adjunto do Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão (livioslz@yahoo.com).

RESUMO

Os endoparasitas são uma preocupação para a saúde pública em todo o mundo. Por essa razão, pesquisadores estão em busca de alternativas naturais que visem minimizar esses problemas. O nematódeo *Caenorhabditis elegans* é um modelo experimental utilizado para avaliar a toxicidade de compostos bioativos e substâncias que possuem efeitos tóxicos em mamíferos. Logo, é possível examinar efeito de compostos no nematódeo. Portanto, a associação de moléculas de compostos bioativos e sintéticos, a fim de potencializar a atividade dos medicamentos comercializados, se torna promissor, visto que a sua comercialização ainda é uma alternativa de baixo custo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de óleos essenciais e seus majoritários, ambos isolados associados a levamisol sobre linhagens de *C. elegans* sensível (N2) e resistente a levamisol (CB330). Para isso, o teste de mortalidade *C. elegans* nas linhagens nas linhagens N2 e CB330 foram realizados usando os OE *Cinnamomum camphora*, *Cinnamomum cassia*, *Eugenia caryophyllus* e *Litsea cubeba* isolados e associados a levamisol. Os compostos majoritários dos OE eucaliptol, cinamaldeído, eugenol e citral também foram testados isolados e em associação ao levamisol sobre *C. elegans*. Os testes de mortalidade foram incubados a 24 °C por 24 horas e os nematoides vivos e mortos foram contados com o auxílio do microscópio invertido. Os resultados foram analisados para calcular a concentração inibitória de 50% (IC50) e o índice de sinergismo (SS) das composições. O OE de *C. cassia* apresentou a menor IC50 nas duas linhagens de *C. elegans* (N2: 0,049 mg/mL; CB330: 0,048 mg/mL), assim comoseu composto majoritario, cinamaldeído, (N2: 0,041 mg/mL; CB330: 0,051 mg/mL). Em associação, na linhagem N2, os únicos compostos que tiveram altas respostas sinérgicas foram o OE de *C. camphora* (SS: 0,91; CSS: 77%) e o monoterpene, eucaliptol (SS: 4,04; CSS: 81%). Na linhagem resistente (CB330), a maioria dos óleos e majoritários demonstraram atividade sinérgica. Entretanto, o OE de *E. caryophyllus* (SS: - 12,5; CSS: 36%) e seu majoritário, cinamaldeído (SS: - 22,66; CSS: 61,1%) apresentaram alta atividade antagônica. As atividades dos óleos essenciais em associação a levamisol tiveram resultados promissores, podendo tornar uma alternativa eficaz e de baixo custo para o controle de endoparasitas. Contudo, mais pesquisas devem ser feitas para melhor compreender a atividade dessas composições.

Palavras-Chave: Antiparasitários; Parasitos gastrointestinais; Resistência.

1 1. INTRODUÇÃO

2 Os endoparasitas são uma preocupação para a saúde pública em todo o mundo. Infecções
3 causadas por estes parasitos acometem cerca de 3,5 bilhões de pessoas em todas as faixas
4 etárias, principalmente crianças na fase escolar (Correa, 2019). Nos ruminantes provocam a
5 perda de 30 a 40% dos animais jovens, prejudicando em torno de 60% os valores econômicos
6 (Lino et al., 2016). A contribuição para a proliferação dos parasitos, ocorre devido ao sistema
7 precário de saneamento básico, o nível socioeconômico da população e o hábito de higiene de
8 cada indivíduo. Em ovinos, a pastagem é a primeira fonte utilizada para alimentação, no
9 entanto, o pastejo contribui para a proliferação de nematoides (Da Silva Roberto, 2018).

10 Assim, o controle destas parasitoses é realizado, principalmente, pelo uso de anti-
11 helmínticos sintéticos (Osório, 2020). As principais classes de anti-helmínticos são os
12 benzimidazóis, imidotiazóis e as lactonas macrocíclicas. Dentre os imidotiazóis, destacamos o
13 levamisol. Este possui baixo peso molecular e age inibindo a atividade enzimática na
14 musculatura, o que impede a conversão de fumarato em succinato, levando o nematoide a
15 paralisia (Silva, 2020).

16 Na tentativa de obter o controle da alta carga parasitaria, ocorre o uso utilização frequente
17 e desordenado de anti-helmínticos. Isto ocasiona a seleção acelerada de nematódeos capazes de
18 resistir a estes compostos (Osório, 2020). Novas alternativas de controle estão sendo avaliadas
19 para lidar com os organismos resistentes, como a utilização de compostos naturais (Camargo,
20 2020; Fagundes, 2019).

21 O uso de óleos essenciais é comumente utilizado na indústria de alimentos, cosmético e
22 fármacos. Recentemente, houve o aumento da sua utilização na agricultura, saúde humana e
23 animal (Andre, 2018). Os compostos terpênicos mais encontrados são os monoterpenos (C10)
24 e sequisiterpenos (C15) que segundo a literatura apresentam atividade carrapaticida (Tabari et
25 al., 2017; Costa-Junior et al, 2017). A ação anti-helmíntica dos óleos essenciais está relacionada
26 aos seus compostos majoritários ou ao sinergismo que alguns compostos possuem (Andre,
27 2018).

28 Para a seleção de novas moléculas com possível atividade anti-helmíntica são necessários
29 vários testes *in vitro*, o nematódeo de solo *Caenorhabditis elegans* ganha importância para os
30 estudos dos efeitos dos óleos essenciais, por se tratar um modelo experimental eficiente para
31 examinar a toxicidade de substâncias que possuem efeitos tóxicos. Possui fácil manutenção em
32 laboratório, tem um extenso banco de dados e é morfofisiologicamente semelhante aos

33 nematódeos parasitos (Dos Santos et al., 2019; Piao, X., Sun, M., Yi, F., 2020; Sterken et al.,
34 2015).

35 Em razão da resistência aos produtos sintéticos, algumas pesquisas vêm apresentando
36 novas alternativas para minimizar esse desafio. A associação de compostos moléculas de
37 compostos bioativos e sintéticos, a fim de potencializar a atividade dos medicamentos
38 comercializados. Contudo, é necessário que haja sinergismo entre os compostos, apresentando
39 mecanismo de ação divergentes e agindo em locais diferentes no parasito (Lanusse et al., 2018;
40 Lanusse, Alvarez e Lifschitz, 2014; Silva, 2020).

41 Diante do exposto, o presente projeto objetivou analisar a atividade dos óleos essenciais
42 *Cinnamomum camphora*, *Cinnamomum cassia*, *Eugenia caryophyllus*, *Litsea cubeba* e seus
43 componentes majoritários associados a levamisol em linhagens sensível e resistente de *C.*
44 *elegans*, como alternativa de utilização de produtos naturais para potencialização de
45 vermífugos.

46

47 **2. MATERIAIS E METODOS**

48 **2.1 Óleos essenciais e análise química**

49 Os óleos essenciais foram adquiridos da Ferquima Indústria e Comércio LTDA
50 (Vargem Grande Paulista – SP, BRA), o *Tween* 80 e os majoritários foram obtidos da Sigma-
51 Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). A composição química foi analisada por
52 Cromatografia de fase gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) em sistema
53 Shimadzu QP 2010 ultra e coluna capilar de sílica Rtx-5MS (Restek, EUA) revestido com 5%-
54 difenil/95%-dimetil-polisiloxano. A temperatura do forno do CG foi programa de 60°C a 240°C
55 (10 min) a 3°C/min, as temperaturas do injetor (split 1:20), linha de transferência e câmara de
56 ionização foram de 250, 250 e 200°C, respectivamente. Hélio foi usado como gás de arraste a
57 com fluxo de 1mL/min. Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV
58 com *scans* automáticos (varredura) na faixa de 35 a 400 Daltons a 0,30 *scans/s*. A identificação
59 dos componentes foi baseada no tempo e índice de retenção linear (série de n-alcenos C8-C40).

60 **2.2 Manutenção das linhagens de *C. elegans***

61 A linhagem de *C. elegans* sensível (N2) e resistente (CB330) são mantidas em placas
62 de Petri com meio NGM (*Nematode Growth Medium*) rico em nutrientes (KH₂PO₄ 1M pH 6,

63 CaCl₂ 1M, MgSO₄ 1M), semeado com bactéria, *Escherichia coli* NA22, para alimentação dos
64 nematoides em BOD a 19°C. A linhagem sensível foi obtida pelo Centro de Ciências Agrárias
65 e Biológicas da Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA), Ceará, Brasil. E a linhagem
66 resistente a levamisol foi adquirida do CGC (*Caenorhabditis Genetics Center*), da Universidade
67 de Minnesota, sob a referência CB330

68 **2.3 Isolamento de adultos de *C. elegans***

69 As placas de cultura de *C. elegans* com quatro a cinco dias de idade foram isoladas
70 conforme descrito por Katiki et al. (2011), a fim de obter apenas nematoides adultos e jovens
71 adultos. Para isso, foi adicionada a solução tampão M9 (KH₂PO₄ 0,01 M, Na₂HPO₄ 0,02 M,
72 NaCl 0,04 M, MgSO₄ 1 M) nas placas de Petri com a cultura de *C. elegans* para permitir a
73 suspensão e retirada dos nematoides (Brenner, 1974). Os nematódeos adultos foram
74 recuperados por peneiras de 32 e 53 µm, para separação de adultos de outros estágios larvas e
75 nematódeos vivos de mortos, respectivamente. A visualização para a confirmação do
76 isolamento foi realizada no microscópio óptico invertido (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha).

77

78 **2.4 Teste de mortalidade de adultos**

79 Os testes de mortalidade foram realizados com a população de *C. elegans* Bristol N2
80 (sensível) e CB330 (resistente). Cada óleo essencial e majoritário foi pesado para obter 20
81 mg/mL e logo, diluídos em *Tween* 80 a 3%. Em seguida, distribuídos em 12 concentrações de
82 100 µL/poço, que variaram de 10 a 0,005 mg/ml em placas de 96 poços. Após a diluição das
83 concentrações foram adicionados 100 µL/poço de M9 contendo, aproximadamente, 100
84 nematoides. Todos os testes foram realizados em triplicata, com três repetições. As placas foram
85 embaladas em papel filme para não haver a volatilização dos compostos, em seguida foram
86 incubadas a 24 °C por 24 horas. Os nematoides vivos e mortos foram contados no microscópio
87 invertido. Os nematoides sem movimento durante cinco segundos de observação foram
88 considerados mortos. O controle negativo foi realizado em *Tween* 80 a 3% diluído em M9.

89

90 **2.5 Combinação de anti-helmínticos sintéticos com óleos essenciais e majoritários**

91 Todos os compostos foram testados em triplicata para calcular a concentração
92 inibitória média (IC50). O desenho experimental e o índice de combinação foram baseados nos

93 métodos de Fu et al, (2016), onde a razão proporcional foi de 1:1, com 12 diluições seriadas a
94 partir da IC50 dos OE e levamisol.

95

96 **2.6 Análise estatística**

97 Os resultados foram analisados para calcular a concentração inibitória média a 50%
98 (IC50) dos compostos utilizados sobre as linhagens de *C. elegans* sensível e resistente a
99 levamisol. Os dados foram calculados por meio do programa GraphPad Prism 8.0, com
100 intervalo de confiança de 95% ($P < 0,05$), para o cálculo da concentração letal a 50% (CL50) de
101 todos os óleos estudados e seus compostos majoritários (Roditakis, E.; Roditakis, N. E.;
102 Tsagkarakou, 2005).

103 Para análise de variância do gráfico de superfície de resposta em função das associações
104 óleo/sintético, majoritário/sintético, foi utilizado o software SynergyFinder Plus (Zheng et al.,
105 2022) para avaliar o aumento da eficiência em detrimento da potencialização do sintético.

106

107 **3. RESULTADOS**

108 **3.1 Principais componentes encontrados nos óleos essenciais**

109 Os principais componentes dos óleos identificados por análise CG-SM foram listados
110 na Tabela 1. *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum camphora*, *Litsea cubeba*, *Eugenia*
111 *caryophyllus*, tiveram como compostos majoritários cinamaldeído (57,02%), Eucaliptol
112 (37,66%), Citral (Geranial) (19,48%) e Eugenol (82,94%), respectivamente.

113 **3.2 Mortalidade de Bristol N2**

114 Os resultados dos testes de eficácia dos OE nas linhagens de *C. elegans* foram
115 representados na Tabela 2. Na linhagem sensível (N2), o OE de *C. cassia* apresentou a menor
116 IC50 (0,049 mg/mL; IC95% = 0,04-0,05 mg/mL; $R^2 = 0,95$), seguido pelo OE de *C. camphora*
117 (IC50 0,078 mg/mL; IC95% = 0,15-0,13 mg/mL; $R^2 = 0,74$). A IC50 dos OE de *L. cubeba* e *E.*
118 *caryophyllus*, foram de 0,206 mg/mL (IC95% = 0,14-0,27 mg/mL; $R^2 = 0,91$) e 0,204 mg/mL
119 (IC95% = 0,17-0,24 mg/mL; $R^2 = 0,97$), respectivamente.

120 Os compostos isolados dos OE na N2, cinamaldeído (IC50 0,041 mg/mL; IC95% =
121 0,03-0,04 mg/mL; $R^2 = 0,92$), eucaliptol (IC50 0,384 mg/mL; IC95% = 0,21-0,69 mg/mL; $R^2 =$
122 = 0,75), citral (IC50 0,065 mg/mL; IC95% = 0,05-0,08 mg/mL; $R^2 = 0,95$) e eugenol (IC50
123 0,0,060 mg/mL; IC95% = 0,05-0,07 mg/mL; $R^2 = 0,95$), também apresentaram eficácia, com o
124 majoritário do OE de *C. cassia* demonstrando a menor IC50 (Tabela 3)

125 3.3 Mortalidade de *C. elegans* resistente a levamisol

126 Para os testes de eficácia dos OE na linhagem resistente à levamisol (CB330), o óleo de
127 *C. cassia* também apresentou a menor IC50 (0,048 mg/mL; IC95% = 0,03-0,06 mg/mL; $R^2 =$
128 0,94) entre os demais OE. Seguido pelo óleo de *L. cubeba* (IC50 0,086 mg/mL; IC95% = 0,02-
129 0,10 mg/mL; $R^2 = 0,96$), *C. camphora* (IC50 = 0,107 mg/mL; IC95% = 0,06-0,17 mg/mL; $R^2 =$
130 = 0,78) e *E. caryophyllus* (IC50 0,208 mg/mL; IC95% = 0,17-0,24 mg/mL; $R^2 = 0,93$), com o
131 último apresentando a maior concentração inibitória na linhagem CB330. A IC50 do levamisol
132 foi de 1,520 mg/mL (IC95% = 0,87-2,47 mg/mL; $R^2 = 0,74$) na linhagem N2 e 2,146 mg/mL
133 (IC95% = 1,18-4,22 mg/mL; $R^2 = 0,77$) na CB330 (Tabela 2).

134 O resultado dos compostos isolados na CB330, ressalta o cinamaldeído como, o
135 majoritário que obteve a menor IC50 (0,051 mg/mL; IC95% = 0,04-0,06 mg/mL; $R^2 = 0,94$),
136 seguido por eugenol (0,086 mg/mL; IC95% = 0,06-0,11 mg/mL; $R^2 = 0,88$), citral (0,107
137 mg/mL; IC95% = 0,08-0,13 mg/mL; $R^2 = 0,91$) e eucaliptol (0,537 mg/mL; IC95% = 0,31-0,93
138 mg/mL; $R^2 = 0,71$) (Tabela 3).

139 3.4 Associação do levamisol com os óleos essenciais e majoritários sobre *C. elegans* sensível

140 Os OE e majoritários foram combinados com o sintético levamisol, para avaliar a
141 sinergia das composições (Figura 1), as doses combinadas que obtiveram valor positivo nos
142 gráficos por vermelho e valores negativo por verde. O modelo Loewe foi utilizado para a
143 derivação dos dados. Na N2, apenas o OE de *C. camphora*, demonstrou sinergismo (SS; 0,91;
144 CSS: 77%) (Figura S1). *C. cassia* (SS: - 2,2; CSS: 62,1%) e *E. caryophyllus* (SS: - 1,29; CSS:
145 81,5%) tiveram sinergismo parcial. O OE de *L. cubeba* (SS: - 9,22; CSS: 83,5%) foi o único a
146 apresentar antagonismo sob a N2.

147 Os compostos isolados na cinamaldeído (SS: - 35,5; CSS: 36%), citral (SS: - 8, 95; CSS:
148 41,4%) e eugenol (SS: - 9,14; CSS: 50,2%) foram considerados altamente antagonicos (Figura

149 S1). Em exceção ao majoritário associado à levamisol, eucaliptol foi o único composto isolado,
150 na N2, que apresentou efeito sinérgico (SS: 4,04; CSS: 81,7%).

151 **3.5 Associação do levamisol com os óleos essenciais e majoritários sobre *C. elegans*** 152 **resistente**

153 Todos os óleos essenciais em associação à levamisol *C. camphora* (SS: 16,1; CSS:
154 77,7%), *C. cassia* (SS: 9,6; CSS: 56%) e *E. caryophyllus* (SS: 7,5; CSS: 36%) apresentaram
155 alto sinergismo na cepa CB330 quando associados (Figura S2). Com *L. cubeba* (SS: 0,6; CSS:
156 55,8%) demonstrando baixos índices de sinergia.(Figura 2).

157 Os compostos majoritários em associação, eucaliptol (SS: 18,7; CSS: 71,2%), citral (SS:
158 17,17; CSS: 58,4%) e eugenol (SS: 20,23; CSS: 63,4%), apresentaram efeito altamente
159 sinérgico e score de sensibilidade superior a 50% (Figura S2). Diferente do exposto, o isolado
160 cinamaldeído apresentou uma alta atividade antagônica (SS: - 22,66; CSS: 61,1%).

161

162 **4. DISCUSSÃO**

163 A atividade antiparasitária dos OE pode ser resultante dos seus compostos majoritários
164 (Andre, 2018). Logo, estudos com o objetivo de testar a bioatividade desses compostos são
165 necessários. O nematoide *Caenorhabditis elegans* é o organismo modelo escolhido para testar
166 drogas e compostos bioativos, por apresentar os efeitos das toxinas em seu organismo (Souza,
167 2021). Testes sinérgicos de compostos naturais com produtos sintéticos já apresentaram
168 resultados com o objetivo de potencializar o efeito de medicamentos (Zago, 2009). Logo,
169 evidenciando a eficácia de alternativas para o uso de sintéticos em combinações com compostos
170 naturais contra a resistência múltipla aos anti-helmínticos.

171 O OE de *C. cassia* testado isoladamente, apresentou a melhor IC50 na linhagem e
172 sensível (IC50 0,049 mg/mL) e resistente (IC50 0,048 mg/mL). O majoritário do OE de *C.*
173 *cassia*, cinnamaldeído, também demonstrou a melhor IC50 dos compostos isolados (N2: IC50
174 0,041 mg/mL; CB330: IC50 0,051 mg/mL). *C. cassia*, pertencente à família Lauraceae, tem
175 sido amplamente utilizado na medicina. Estudos já relataram o potencial do cinnamaldeído
176 como antiparasitários (Katiki et al., 2017; Williams et al, 2015).

177 O OE de *C. camphora* testado isoladamente demonstrou eficácia maior na cepa N2
178 (IC50 0,078 mg/mL), quando comparado a linhagem CB330 (IC50 0,107 mg/mL). O mesmo
179 ocorreu com eucaliptol, com a IC50 0,384 mg/ml (N2) e IC50 0,537 mg/mL (CB330). O
180 eucaliptol, possui atividade inibitória dos nociceptores e uma redução da atividade
181 gastrointestinal sugerindo ação depressora do sistema nervoso central (Oliveira, 2021). A
182 resistência a esses agonistas colinérgicos do levamisol, ocorre por mudanças nas propriedades
183 da população de receptores nicotínicos, e por uma alteração na ligação dessas drogas com seus
184 receptores (Mayoral Peña, 2017). Logo, podendo sugerir similaridade nos mecanismos de ação
185 de uma linhagem resistente a levamisol à compostos com ações similares ao sintético. Porém,
186 mais estudos devem ser feitos para melhor compreensão desses fatores.

187 O OE de *Litsea cubeba* e seu composto majoritário foram eficientes em linhagens
188 diferentes, o OE na cepa resistente (IC50 0,086 mg/mL) e o citral na sensível (IC50 0,065
189 mg/mL) de *C. elegans* (Tabela 2). Alguns mecanismos de resistências consistem em
190 modificação da ação da molécula alvo, aumentando o número de receptores alvos, que
191 permitem aumento na taxa de excreção de um determinado composto (Lins, 2018). O OE de *L.*
192 *cubeba* apresentou maior atividade na cepa resistente, sugerindo que o local de ação dos
193 componentes ativos do OE, é diferente do local que é impactado pela droga. Os efeitos do óleo
194 contra *E. coli* O157:H7 demonstram a atividades como inibição da permeabilidade da membrana
195 celular e inibição do metabolismo respiratório, o que impede a função do ácido nucléico (Dai
196 et al., 2021)

197 O óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* possui diferentes efeitos farmacológico como
198 antioxidante e anti-helmíntica devido a presença de grupos fenólicos na sua composição. Entre
199 seus constituintes químicos, destaca-se o composto isolado eugenol (Sary, 2019; De Figueiredo,
200 2021). O OE de *E. caryophyllus* na N2 (IC50 0,204 mg/mL) e CB330 (IC50 0,208 mg/mL)
201 tiveram eficácias similares. O composto isolado eugenol, teve maior eficácia na N2 (IC50 0,060
202 mg/mL). O mecanismo antibacteriano do eugenol ocorre por meio da indução da lise celular
203 das bactérias, danificando a parede celular da membrana, causando vazamento proteico e
204 lipídico. Como atividade antiparasitária, o eugenol mostrou eficácia inibindo o crescimento de
205 *Leishmania amazonensis*, danificando morfológicamente, colapsando a membrana interna (Raja,
206 et al 2015; De Santana, 2021)

207 A combinação de compostos químicos e óleos essenciais já apresentam resultados
208 promissores. Os efeitos sinérgicos de terpenos com larvicidas também já apresentaram

209 atividade sobre o inseto *Aedes aegypti* (Dhinakaran, Mathew e Munusamy, 2019). A capacidade
210 dos OEs de interagir com os lipídeos da membrana, perturbando a estrutura celular, facilita a
211 entrada e ação dos sintéticos (Sharma et al., 2020). Este trabalho estudou a interação dos OEs
212 já apresentados e seus respectivos compostos majoritários combinados ao composto químico
213 levamisol. Na linhagem sensível, os únicos compostos que tiveram altas respostas sinérgicas
214 foram o OE de *C. camphora* (SS: 0,91; CSS: 77%) e o monoterpene, eucaliptol (SS: 4,04; CSS:
215 81%). Combinações de substâncias com efeito sinérgico podem aumentar a biodisponibilidade
216 das substâncias ativas e/ou reduzir sua dosagem. Como resultado, a toxicidade e as reações
217 adversas são reduzidas, contribuindo assim para uma melhor eficácia (Casanova, 2017). *C.*
218 *cassia* (SS: - 2,2; CSS: 62,1%) e *E. caryophyllus* (SS: - 1,29; CSS: 81,5%) tiveram sinergismo
219 parcial. Com o OE de *L. cubeba* (SS: - 9,22; CSS: 83,5%) apresentando antagonismo.
220 Cinamaldeído (SS: - 35,5; CSS: 36%), citral (SS: - 8, 95; CSS: 41,4%) e eugenol (SS: - 9,14;
221 CSS: 50,2%) foram altamente antagônicos. O antagonismo pode ser observado quando dois ou
222 mais compostos não possuem o seu efeito melhorado do que quando usadas individualmente
223 (Hyldgaard et al 2012) Os mecanismos que são responsáveis pelo antagonismo de alguns
224 metabólicos secundários, necessitam de mais investigações (Katiki et al, 2017).

225 Na linhagem resistente, *C. camphora* (SS: 19,7; CSS: 77,7%), *C. cassia* (SS: 9,6; CSS:
226 56%) e *L. cubeba* (SS: 0,6; CSS: 55,8%) foram os óleos que apresentaram efeito sinérgico. Os
227 compostos isolados eucaliptol (SS: 18,7; CSS: 71,2%), citral (SS: 17,17; CSS: 58,4%) e
228 eugenol (SS: 20,23; CSS: 63,4%), também apresentaram efeito altamente sinérgico. A maioria
229 dos OE que tiveram efeitos sinérgicos ou antagônicos tiveram resultados semelhantes em
230 atividade com seus compostos isolados. Com exceção do *E. caryophyllus* na cepa CB330, que
231 teve índice de sinergia de -12,5 e score de sensibilidade de 36%, com o seu composto
232 majoritário, eugenol, tendo índice de sinergia de 20,23 e score de sensibilidade <60%. E
233 cinamaldeído com alta atividade antagônica (SS: - 22,66; CSS: 61,1%), enquanto o OE de *C.*
234 *cassia* apresentou atividade para sinergia em combinação com levamisol (SS: 9,6; CSS: 56%).
235 O sítio de ação dos compostos que obtiveram sinergismo e eficácia na linhagem resistente à
236 levamisol, possivelmente possuem locais de ação diferentes das subunidades proteicas que
237 formam os canais iônicos nicotínicos do *C. elegans* (Piña Vázquez, 2014). Já os resultados para
238 combinações com efeito antagônico, sugerem que a atividade biológica de um dos
239 componentes, pode reduzir a eficácia geral dos compostos em combinação (Caesar et al 2019).

240 5. CONCLUSÃO

241 O OE de *Cinnamomum cassia* e seu majoritário, cinamaldeído, apresentaram as
242 melhoras eficácias sobre as linhagens sensíveis e resistentes de *C. elegans*, mostrando a
243 importância do uso desses compostos principalmente sobre a linhagem resistente. Na
244 associação, verificou-se que a maioria das combinações evidenciaram efeito do sintético na
245 linhagem resistente, indicando que a associação pode ser uma possível alternativa na resistência
246 ao levamisol. A combinação de substâncias com efeito sinérgico pode aumentar a
247 biodisponibilidade de substâncias ativas potencializando o seu sinergismo. Mais testes devem
248 ser feitos analisando concentrações com efeitos sinérgico e aditivos para a validação em testes
249 *in vivo* possibilitando o controle de nematoides gastrointestinais com resistência anti-
250 helmíntica.

251 **6. REFERÊNCIAS**

- 252 André, W. P. P., Ribeiro, W. L. C., Oliveira, L. M. B., Macedo, I. T. F., Rondon, F. C. M., &
253 Bevilaqua, C. M. L. (2018). Óleos essenciais e seus compostos bioativos no controle de
254 nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. *Acta Sci Vet*, 46, 1522.
255 <https://doi.org/10.22456/1679-9216.81804>.
- 256 Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77(1), 71-94.
257 <https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>
- 258 Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2019). Synergy and antagonism in natural product extracts:
259 when 1+ 1 does not equal 2. *Natural product reports*, 36(6), 869-888.
260 <https://doi.org/10.1039/C9NP00011A>
- 261 Casanova, L. M., & Costa, S. S. (2017). Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial
262 terapêutico e desafios. *Revista virtual de química*, 9(2), 575-595.
263 <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170034>
- 264 Camargo, F. N. P. (2019). Uma proposta de metodologia de ensino interativa para construção
265 do conhecimento sobre manejo de pastagens.
266 <https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/riu/4760>
- 267 Correa, V. (2019). Presença de helmintos nas áreas de lazer e recreação no município de
268 Ituiutaba-Minas Gerais. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/27703>
- 269 Costa-Júnior, L. M., Miller, R. J., Alves, P. B., Blank, A. F., Li, A. Y., & de Leon, A. A. P.
270 (2016). Acaricidal efficacies of *Lippia gracilis* essential oil and its phytochemicals
271 against organophosphate-resistant and susceptible strains of *Rhipicephalus* (*Boophilus*)
272 *microplus*. *Veterinary parasitology*, 228, 60-64.
273 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.028>
- 274 Dai, J., Li, C., Cui, H., & Lin, L. (2021). Unraveling the anti-bacterial mechanism of *Litsea*
275 *cubeba* essential oil against *E. coli* O157: H7 and its application in vegetable
276 juices. *International Journal of Food Microbiology*, 338, 108989.
277 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108989>

278 Da Silva Roberto, F. F., dos Santos Difante, G., Zaros, L. G., & Gurgel, A. L. C. (2018).
279 Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo. *Pubvet*, 12,
280 147. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n4a65.1-12> PUBVET v.12, n.4, a65, pa1-12

281 De Figueiredo, A. R., da Silva, L. R., & de Moraes, L. A. S. (2021). Bioatividade do óleo
282 essencial de *Eugenia caryophyllus* sobre *Cladosporium herbarum*, agente etiológico da
283 verrugose em maracujá. *Scientia Plena*, 17(2).
284 <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2021.020201>

285 De Santana, M. S., de Lima Machado, E. C., Stamford, T. C. M., & Stamford, T. L. M.
286 Propriedades funcionais do eugenol e sua aplicação em alimentos.
287 <https://doi.org/10.37885/210303527>

288 Dos Santos, C. H. C., de Carvalho, M. G., Franke, K., & Wessjohann, L. (2019). Dammarane-
289 type triterpenoids from the stem of *Ziziphus glaziovii* Warm.
290 (Rhamnaceae). *Phytochemistry*, 162, 250-259.
291 <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.03.010>

292 Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode
293 of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in*
294 *microbiology*, 3, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>

295 Jacinto, A. H. V. L. (2019). Desenvolvimento e avaliação da atividade antifúngica de
296 formulação microemulsionada para o tratamento de onicomicoses contendo óleos
297 essenciais de *Melissa officinalis* L. E *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.
298 <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/7000>

299 Fagundes, N. B. M. (2019). Avaliação do efeito anti-helmíntico do extrato bruto e metabólito
300 elatol obtidos da alga *Laurencia dendroidea* no modelo experimental *Caenorhabditis*
301 *elegans*.

302 Fu, J., Zhang, N., Chou, J. H., Dong, H. J., Lin, S. F., Ulrich-Merzenich, G. S., & Chou, T. C.
303 (2016). Drug combination in vivo using combination index method: Taxotere and T607
304 against colon carcinoma HCT-116 xenograft tumor in nude mice. *Synergy*, 3(3), 15-30.
305 <https://doi.org/10.1016/j.synres.2016.06.001>

- 306 Ji, H., Kim, H., Beuchat, L. R., & Ryu, J. H. (2019). Synergistic antimicrobial activities of
307 essential oil vapours against *Penicillium corylophilum* on a laboratory medium and beef
308 jerky. *International journal of food microbiology*, 291, 104-110.
309 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.023>
- 310 Katiki, L. M., Ferreira, J. F., Zajac, A. M., Masler, C., Lindsay, D. S., Chagas, A. C. S., &
311 Amarante, A. F. (2011). *Caenorhabditis elegans* as a model to screen plant extracts and
312 compounds as natural anthelmintics for veterinary use. *Veterinary Parasitology*, 182(2-4),
313 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.020>
- 314 Katiki, L. M., Barbieri, A. M. E., Araujo, R. C., Veríssimo, C. J., Louvandini, H., & Ferreira,
315 J. F. S. (2017). Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus*
316 in vitro. *Veterinary Parasitology*, 243, 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.008>
- 317 Lanusse, C., Alvarez, L., & Lifschitz, A. (2014). Pharmacological knowledge and sustainable
318 anthelmintic therapy in ruminants. *Veterinary parasitology*, 204(1-2), 18-33.
319 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.003>
- 320 Lanusse, C., Canton, C., Virkel, G., Alvarez, L., Costa-Junior, L., & Lifschitz, A. (2018).
321 Strategies to optimize the efficacy of anthelmintic drugs in ruminants. *Trends in*
322 *parasitology*, 34(8), 664-682. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.05.005>
- 323 Liang, D., Feng, B., Li, N., Su, L., Wang, Z., Kong, F., & Bi, Y. (2022). Preparation,
324 characterization, and biological activity of *Cinnamomum cassia* essential oil nano-
325 emulsion. *Ultrasonics Sonochemistry*, 86, 106009.
326 <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106009>
- 327 Lino, D. M., Pinheiro, R. S. B., & Ortunho, V. V. (2016). Benefícios do bem-estar animal na
328 produtividade e na sanidade de ovinos. *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta*
329 *Paulista*, 12(5). <https://doi.org/10.17271/1980082712520161506>
- 330 Lins, J. G. G., Duarte, A. L. L., Ferreira, T. L. A., do Nascimento, A. C., Pedrosa, P. N., & da
331 Silva, W. I. (2018). Eficácia de anti-helmínticos no controle de parasitas gastrintestinais
332 de ovinos no Alto Sertão da Paraíba, Brasil. *Principia*, 1(43), 128-139.
333 <http://dx.doi.org/10.18265/1517-03062015v1n43p128-139>
- 334 Mayoral Peña, Z., Piña Vazquez, D. M., Gómez Sánchez, M., Salazar Olivo, L. A., Aguilar
335 Tipacamú, G., & Arellano Carbajal, F. (2017). El nematodo *Caenorhabditis elegans* como

336 modelo para evaluar el potencial antihelmíntico de extractos de plantas. Revista mexicana
337 de ciencias pecuarias, 8(3), 279-289. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4504>

338 Oliveira, S., D., R., C.; Gadelha, C., J., M., U.; Mesquita, D., D., S., Atividades
339 farmacológicas do 1,8-cineol (eucaliptol): Uma revisão de literatura. in: Congresso
340 Internacional Online de Fitoterapia - interphyto - Evento Online, organizado pelo
341 Instituto ISA, com sede em Juína-MT, Brasil - ISBN: 978-65-00-25933-9 , 2021.
342 Disponível em: <<https://www.doity.com.br/anais/interphyto/trabalho/178741>>. Acesso
343 em: 26/11/2022 às 06:06

344 Osório, T. M., de Melo Menezes, L., da Rosa, K. B., Escobar, R. F., Lencina, R. M., de Mello
345 Maydana, G., & de Souza, V. Q. (2020). Resistência anti-helmíntica em nematódeos
346 gastrointestinais na ovinocultura: uma revisão. Brazilian Journal of Development, 6(11),
347 89194-89205. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-368>

348 Piao, X., Sun, M., & Yi, F. (2020). Evaluation of nematocidal action against *Caenorhabditis*
349 *elegans* of essential oil of flesh fingered citron and its mechanism. Journal of
350 Chemistry, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1740938>

351 Vazquez, D. M. P. (2018). Potencial antihelmíntico de extractos de plantas silvestres y
352 cultivadas mediante el uso del nematodo modelo *Caenorhabditis elegans*. [http://ri-](http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/903)
353 [ng.uaq.mx/handle/123456789/903](http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/903)

354 Raja, M. C., Srinivasan, V., Selvaraj, S., & Mahapatra, S. K. (2015). Versatile and synergistic
355 potential of eugenol: a review. Pharm. Anal. Acta, 6(5), 1-6.

356 Roiditakis, E., Roiditakis, N. E., & Tsagkarakou, A. (2005). Insecticide resistance in *Bemisia*
357 *tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. Pest Management Science:
358 Formerly Pesticide Science, 61(6), 577-582. <https://doi.org/10.1002/ps.1029>

359 Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Maggi, F., & Benelli, G. (2017). Toxic and repellent activity
360 of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick,
361 *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). Veterinary parasitology, 245, 86-91.
362 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.012>

363 Treméa, C. M. (2015). Atividade dos óleos essenciais de *Litsea cubeba* e *Cymbopogon*
364 *martini* sobre isolados do complexo *Cryptococcus neoformans*.
365 <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/5748>

- 366 Sary, C. (2018). Óleos essenciais de cravo (*Eugenia caryophyllus*) e canela (*Cinnamomum*
367 *zeylanicum*) em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). [http://id.org/vtt-](http://id.org/vtt-215367)
368 [215367](http://id.org/vtt-215367)
- 369 Scherner, M. *Cinnamomum verum* e *Cinnamomum cassia*: a diferenças no teor de curamina
370 das canelas e sua influência. <http://e-ISSN 2594-6781>
- 371 Sharma, M., Grewal, K., Jandrotia, R., Batish, D. R., Singh, H. P., & Kohli, R. K. (2022).
372 Essential oils as anticancer agents: Potential role in malignancies, drug delivery
373 mechanisms, and immune system enhancement. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146,
374 112514. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112514>
- 375 Silva, C. R. (2020). Associação de anti-helmínticos sintéticos e monoterpenos no controle de
376 *Haemonchus contortus*. <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/tede/3311>
- 377 Silva, R. A. D. (2022). Combinação de óleos essenciais entre si e com clotrimazol na inibição
378 e erradicação de biofilmes formados por espécies de *Candida*.
379 <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/36231>
- 380 Souza, D. C. D. (2021). *Caenorhabditis elegans* como bioindicador do potencial nematicida
381 do leite caprino. <https://locus.ufv.br/handle/123456789/28053>
- 382 Sterken, M. G., Snoek, L. B., Kammenga, J. E., & Andersen, E. C. (2015). The laboratory
383 domestication of *Caenorhabditis elegans*. *Trends in Genetics*, 31(5), 224-231.
384 <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.02.009>.
- 385 Thielmann, J., & Muranyi, P. (2019). Review on the chemical composition of *Litsea cubeba*
386 essential oils and the bioactivity of its major constituents citral and limonene. *Journal of*
387 *essential oil research*, 31(5), 361-378. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1611671>
- 388 Williams, A. R., Ramsay, A., Hansen, T. V., Ropiak, H. M., Mejer, H., Nejsum, P., ... &
389 Thamsborg, S. M. (2015). Anthelmintic activity of trans-cinnamaldehyde and A-and B-
390 type proanthocyanidins derived from cinnamon (*Cinnamomum verum*). *Scientific*
391 *Reports*, 5(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/srep14791>
- 392 Zago, J. A., Ushimaru, P. I., Barbosa, L. N., & Fernandes Junior, A. (2009). Sinergismo entre
393 óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e

394 Escherichia coli isoladas de casos clínicos humanos. Revista Brasileira de
395 Farmacognosia, 19, 828-833. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600005>

396 Zheng, S., Wang, W., Aldahdooh, J., Malyutina, A., Shadbahr, T., Tanoli, Z., ... & Tang, J.
397 (2022). SynergyFinder plus: toward better interpretation and annotation of drug
398 combination screening datasets. Genomics, Proteomics & Bioinformatics.
399 <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.01.004>.

400 **Tabela 1.** Componentes encontrados nos óleos e suas porcentagens observadas no GC-MS.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
1,4 cineol	-	-	0.44	8.17	-	-	-	-
2-Hexanol	-	-	-	-	0.02	3.18	-	-
2-Hexonona	0.04	3.06	-	-	-	-	-	-
3-Hexanol	0.02	3.12	-	-	0.02	3.13	-	-
4- terpineol	-	-	-	-	-	-	0.11	14.44
4-Isopropil-2-ciclohexenona	-	-	0.55	14.76	-	-	-	-
5-Isopropilbicyclo (3.1.0) hexan-2-ona	-	-	0.05	13.57	-	-	-	-
Acetato de cinamil	8.37	25.68	-	-	-	-	-	-
Acetato de feniletil	0.19	17.78	-	-	-	-	-	-
Acetofenona	0.62	10.14	-	-	-	-	-	-
Ácido cinâmico	7.57	25.99	-	-	-	-	-	-
Ácido fenilacético	0.13	17.73	-	-	-	-	-	-
Ácido gerânico	-	-	-	-	-	-	7.18	22.24
Ácido nerólico	-	-	-	-	-	-	0.57	20.69
Ácido propanoico, 2-metil-, 3-metil-2-butenil éster	-	-	0.03	9.47	-	-	-	-

401

Tabela 01 Cont.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
Álcool fenetílico	0.11	11.75	-	-	-	-	-	-
Alo-aromadendreno	-	-	-	-	0.12	26.24	-	-
Ascaridol glicol<trans->	-	-	0.20	18.29	-	-	-	-
Benzaldeído	7.47	6.49	-	-	-	-	-	-
Benzoato <feniletil>	0.09	40.87	-	-	-	-	-	-
Benzoato de benzila	0.16	37.78	-	-	-	-	-	-
Benzoato de etila	0.71	14.24	-	-	-	-	-	-
Canfeno	-	-	0.96	6.22	-	-	0.68	6.23
Careno<delta-2->	-	-	0.05	7.72	-	-	-	-
Carveol <cis>	-	-	0.09	16.67	-	-	-	-
Carveol <trans>	-	-	0.35	16.17	-	-	-	-
Carvona	-	-	0.63	17.22	-	-	0.58	17.24
Chavicol	-	-	-	-	0.11	17.69	-	-
Ciclosativeno	0.03	22.46	-	-	-	-	-	-
Cinamaldeído	57.02	18.54	-	-	-	-	-	-
Cinamato <feniletil>	0.36	51.04	-	-	-	-	-	-
Citronelal	-	-	-	-	-	-	0.16	13.40

Tabela 01 Cont.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
Citronelol	-	-	-	-	-	-	0.29	16.58
Cumarina	4.79	25.274	-	-	-	-	-	-
Cuminaldeído	-	-	0.13	17.05	-	-	-	-
Decano<n->	0.02	7.63	0.02	7.64	-	-	0.07	7.64
Dihidro-eugenol	-	-	-	-	0.04	22.63	-	-
Epóxido de humuleno II	-	-	-	-	0.18	32.23	-	-
Epoximirceno <6,7->	-	-	0.03	10.97	-	-	-	-
Eucaliptol	-	-	37.66	8.80	-	-	4.16	8.744
Eugenol	-	-	-	-	82,94	22.426	-	-
Fenchona	-	-	0.03	10.82	-	-	-	-
Formato de citronelita	-	-	-	-	-	-	0.11	18.61
Formato de feniletíl	0.74	14.32	-	-	-	-	-	-
Geranial	-	-	-	-	-	-	19.48	18.40
He pt-5-en-2-ona <6-metil->	-	-	0.10	7.22	-	-	3.04	7.22
Heptan-2-ol<6-metil-	-	-	0.21	6.30	-	-	-	-
Hexona	-	-	-	-	0.03	3.07	-	-
Hidrocinamaldeído	0.16	13.76	-	-	-	-	-	-

Tabela 01 Cont.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
Limoneno	-	-	19.79	8.71	-	-	12..11	8.65
Linalol	-	-	-	-	-	-	1.48	11.23
Menta-1(7),8-dieno<para->	-	-	0.03	7.82	-	-	-	-
Metanoato de benzila	0.05	10.36	-	-	-	-	-	-
Metanoato de isobornila	0.11	16.57	-	-	-	-	-	-
Metil-chavicol	-	-	-	-	0.04	15.32	-	-
Metil-eugenol	-	-	-	-	0.08	24.104	-	-
Mirceno	-	-	0.95	7.37	-	-	-	-
Mirtenal	-	-	0.28	15.22	-	-	-	-
Neral	-	-	-	-	-	-	12.75	17.12
<i>o</i> -Acetilanisol	0.04	19.33	-	-	-	-	-	-
<i>o</i> -Ácido anísico	0.06	27.14	-	-	-	-	-	-
<i>o</i> -Anisaldeído	1.77	17.14	-	-	-	-	-	-
<i>o</i> -Guaiacol	0.38	10.82	-	-	-	-	-	-
<i>o</i> -Metoxi cinamadeído <E>	4.78	29.12	-	-	-	-	-	-
Óxido de cariofileno	-	-	-	-	1.37	31.23	1.49	31.22
Óxido de limoneno, cis- (-)-	-	-	0.76	12.59	-	-	-	-

Tabela 01 Cont.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
Óxido de Linalol <cis->	-	-	-	-	-	-	1.25	10.21
Óxido de Linalol <cis-> (piranóide)	-	-	-	-	-	-	0.22	14.07
Óxido de Linalol <trans->	-	-	-	-	-	-	1.17	10.807
Óxido de Linalol <trans-> (piranóide)	-	-	-	-	-	-	0.20	14.27
Óxido de trans-d-limoneno	-	-	0.46	12.78	-	-	-	-
Óxido de α -pineno	-	-	0.22	11.22	-	-	-	-
p-cimen-7-ol	-	-	0.09	19.23	-	-	-	-
p-cimeno	0.03	8.492	12.88	8.52	-	-	0.74	8.50
Perileno	-	-	0.04	11.30	-	-	-	-
Pinano<cis->	-	-	0.02	7.11	-	-	-	-
Pinocarvona	-	-	0.14	13.80	-	-	-	-
Piperitona	-	-	-	-	-	-	0.92	17.67
Piruvato de isoamila	-	-	-	-	-	-	0.14	9.46
p-mentha-2,8-dien-1-ol <cis->	-	-	-	-	-	-	0.11	12.65
Sabineno	0.05	6.90	4.85	6.90	0.04	6.91	0.27	6.91
Trans-p-mentha-2,8-dien-1-ol	-	-	0.17	12.07	-	-	-	-
Trans-sobrerol	-	-	0.12	22.90	-	-	0.22	12.07

Tabela 01 Cont.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
Triciclono	-	-	0,02	5.54	-	-	0.12	5.54
Vanilina	-	-	-	-	0.15	23.77	-	-
Verbenol<trans->	-	-	0.17	13.06	-	-	--	-
Verbenona	-	-	0.14	15.75	-	-	-	-
α -campholenal	-	-	0.10	12.30	-	-	0.11	12.31
α -copaene	-	-	-	-	0.08	22.97	-	-
α -fenchone	-	-	0.11	6.19	-	-	-	-
α -guaieno	-	-	-	-	0.09	25.64	-	-
α -humuleno	-	-	-	-	2.25	26.14	-	-
α -muuroleno	-	-	-	-	0.05	28.02	-	-
α -pineno	-	-	8,54	5,83	-	-	0.85	5.83
α -terpineol	-	-	-	-	-	-	0.30	14.99
α -tujeno	-	-	0.21	5.62	-	-	-	-
β -cariofileno	-	-	-	-	9.63	24.79	-	-
β -isocomeno	-	-	-	-	0.40	24.48	-	-
β -longipineno	-	-	-	-	0.08	24.24	-	-
β -pineno	-	-	2.19	7.02	-	-	1.16	7.02

Tabela 01 Cont.

Compostos	<i>C. cássia</i>		<i>C. camphora</i>		<i>E. caryophyllus</i>		<i>L. cubeba</i>	
	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a	%	RI ^a
β-terpineol <cis>	-	-	-	-	-	-	0.14	13.06
γ - elemento	-	-	-	-	0.49	25.23	-	-
NI*	4.12	-	6.19	-	1.79	-	27.81	-
	100		100		100		100	

402 ^a Índice de retenção linear; NI*: Não identificado

Tabela 2. Atividade dos óleos essenciais sobre *C. elegans* sensível (N2) e resistente (CB330)

Compostos	IC50 N2 (mg/mL)	IC95%	R ²	IC50 CB330 (mg/mL)	IC95%	R ²
Levamisol	1,520±1,022	0,87-2,47	0,74	2,146±2,323	1,18-4,22	0,77
<i>C. cassia</i>	0,049±0,017	0,04-0,05	0,95	0,048±0,027	0,03-0,06	0,94
<i>C. camphora</i>	0,078±0,055	0,15-0,13	0,74	0,107±0,029	0,06-0,17	0,78
<i>L. cubeba</i>	0,206±0,040	0,14-0,27	0,91	0,086±0,018	0,02-0,10	0,96
<i>E. caryophyllus</i>	0,204±0,183	0,17-0,24	0,97	0,208±0,158	0,17-0,24	0,93

*IC50: concentração inibitória de 50%; ± média e desvio padrão; IC95%: intervalo de confiança de 95%; R²: coeficiente de determinação.

Tabela 3. Atividade dos compostos isolados sobre as linhagens de *C. elegans* sensível (N2) e resistente (CB330)

Compostos	IC50 N2 (mg/mL)	IC95%	R ²	IC50 CB330 (mg/mL)	IC95%	R ²
Cinamaldeído	0,041±0,014	0,03-0,04	0,92	0,051±0,002	0,04-0,06	0,94
Eucaliptol	0,384±0,144	0,21-0,69	0,75	0,537±0,290	0,31-0,93	0,71
Citral	0,065±0,007	0,05-0,08	0,95	0,107±0,015	0,08-0,13	0,91
Eugenol	0,060±0,108	0,05-0,07	0,95	0,086±0,005	0,06-0,11	0,88

*IC50: concentração inibitória de 50%; ± média e desvio padrão; IC95%: intervalo de confiança de 95%; R²: coeficiente de determinação.

Figura 1. Índice de sensibilidade da associação dos OE e majoritários na N2.

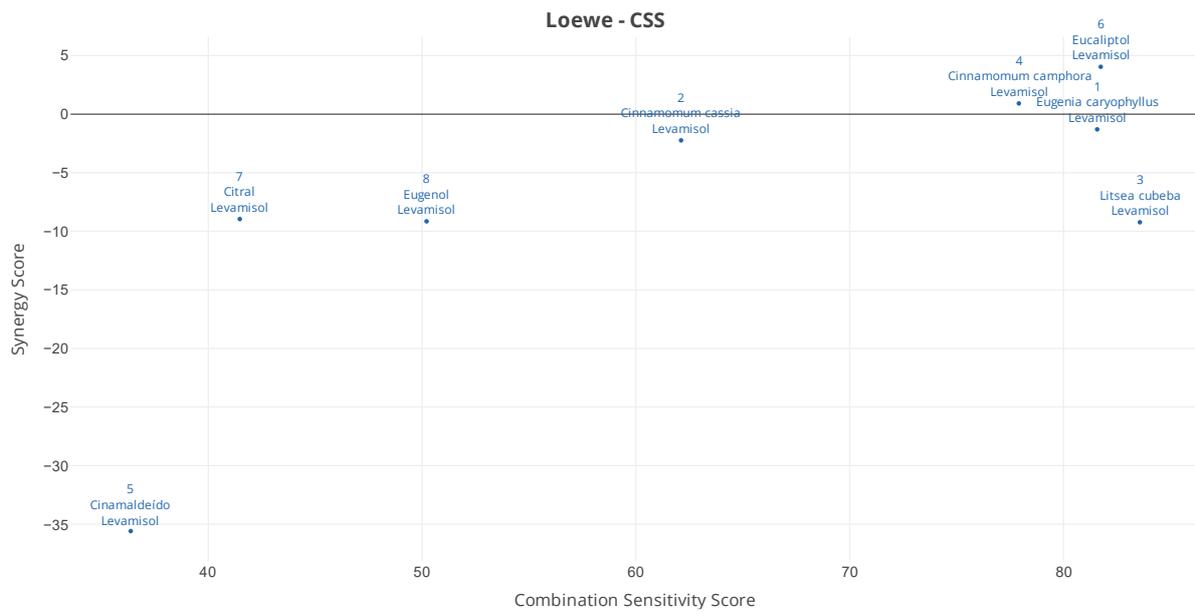
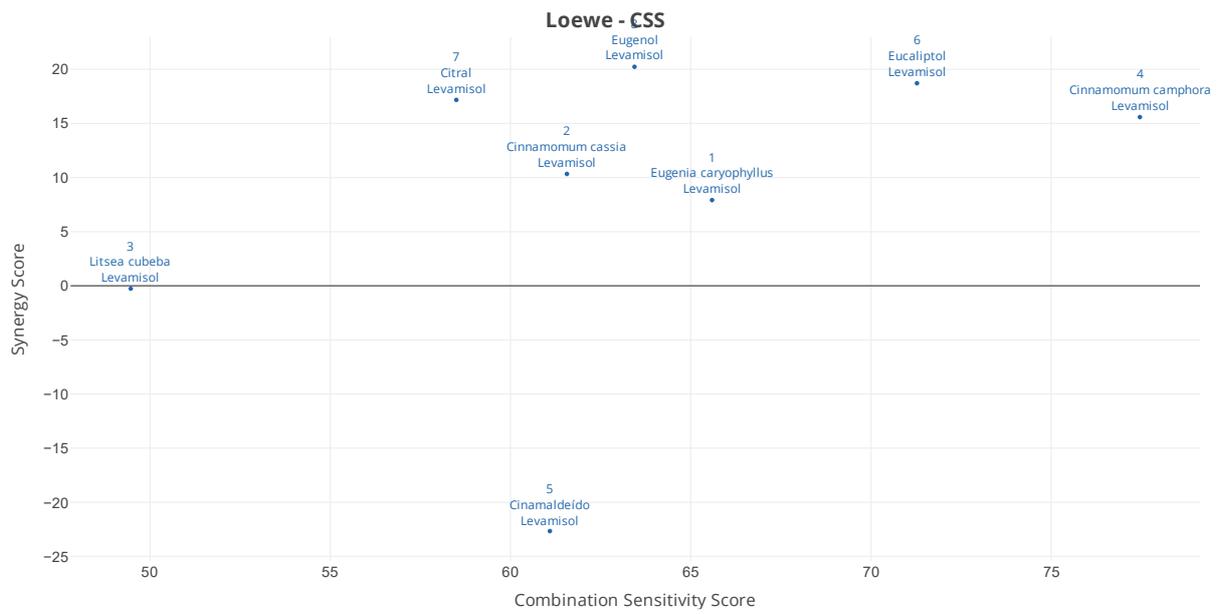


Figura 2. Índice de sensibilidade da associação dos OE e majoritários na CB330.



Material Suplementar

Figura S1. Superfície 2D de Synergy Scores para combinação dos óleos essenciais com levamisol na N2. O valor médio de Synergy é indicado na superfície (valor p comparado a 0% d inibição).

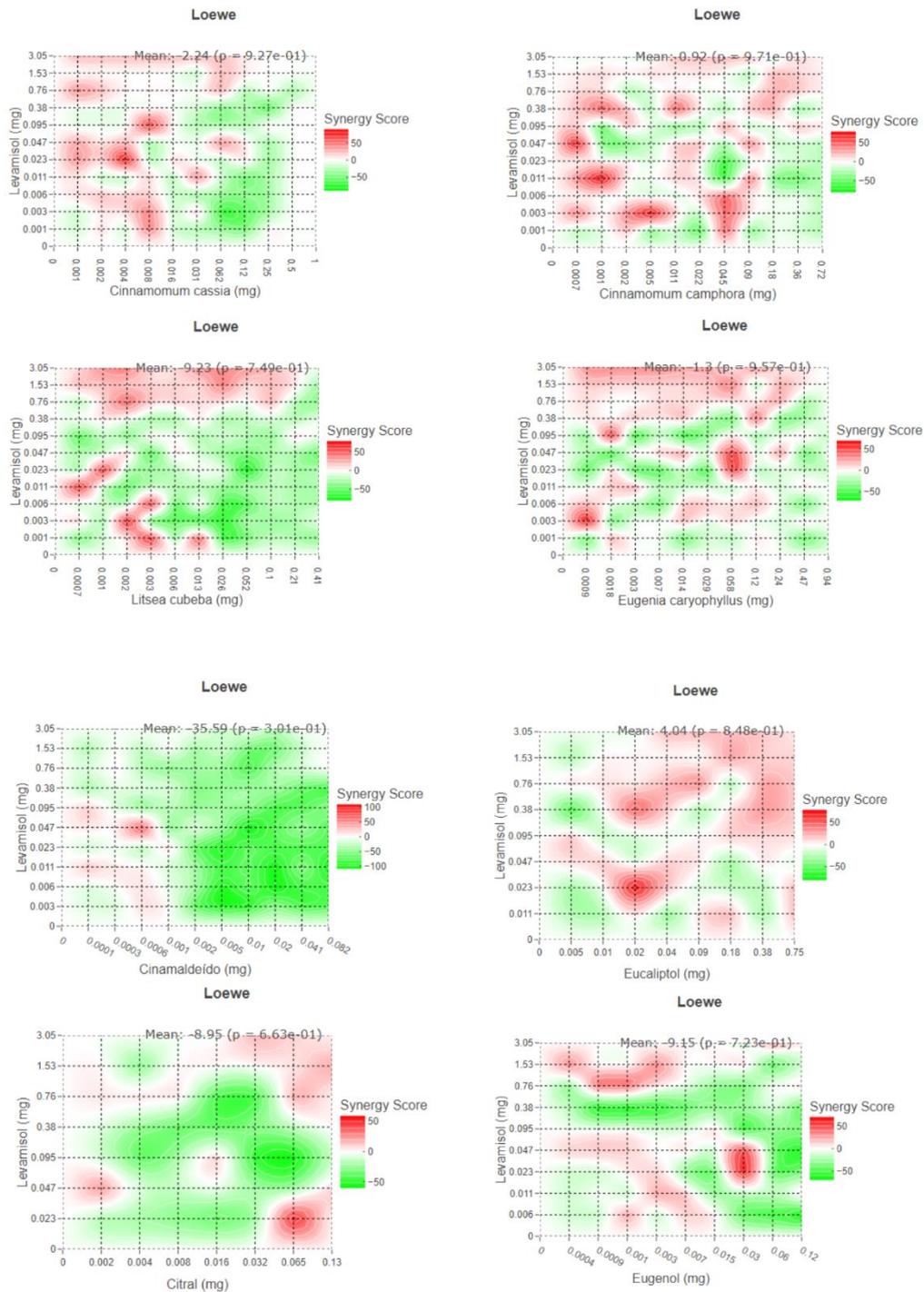


Figura S2. Superfície 2D de Synergy Scores para combinação dos óleos essenciais e majoritários com levamisol na CB330.

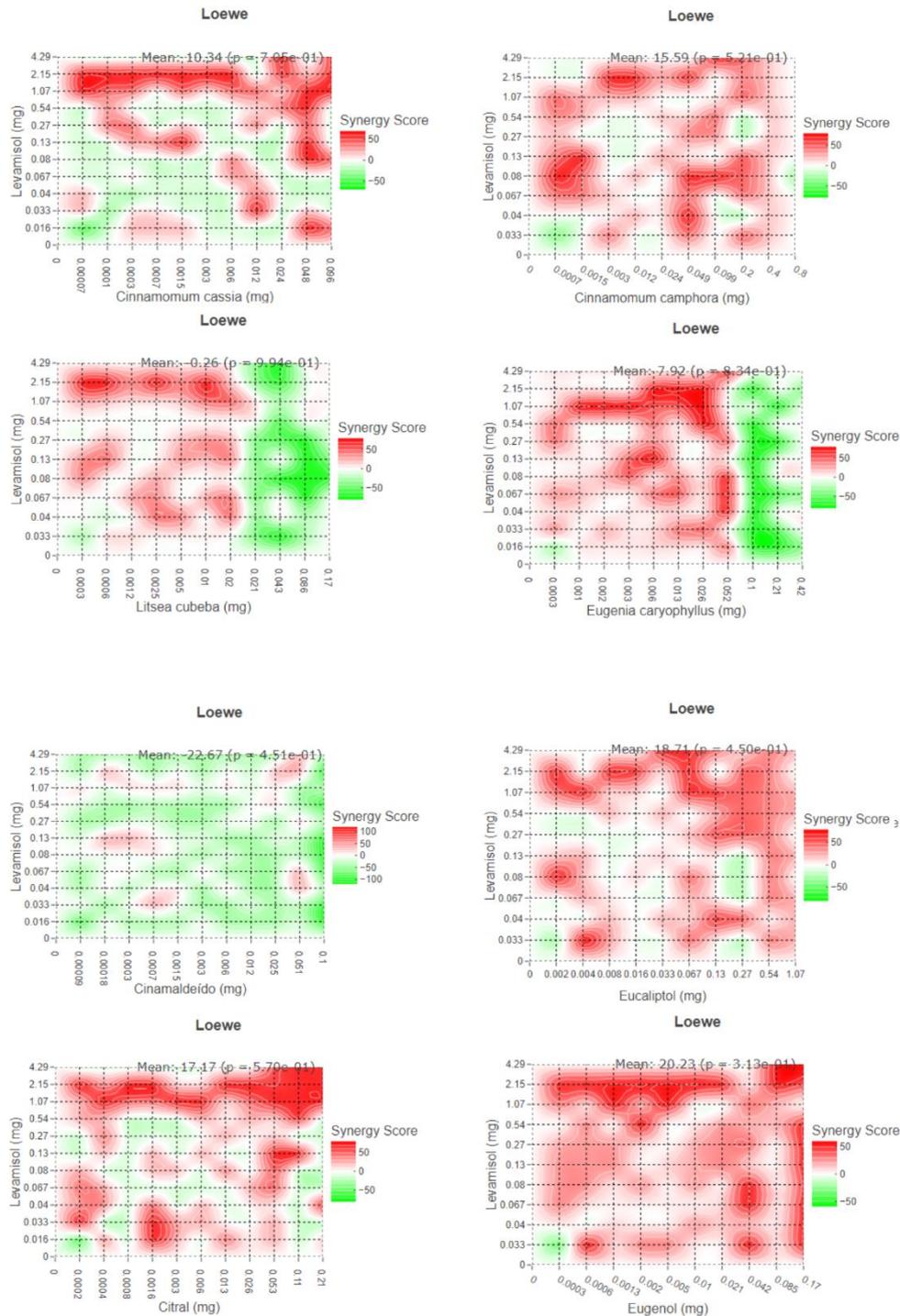


Figura S3. Superfície 2D de Synergy Scores e mapa de calor para combinação dos melhores OE e majoritários na N2.

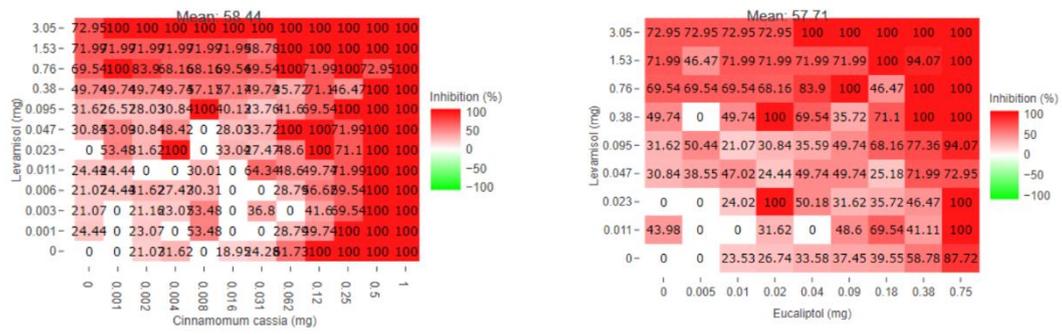


Figura S4. Superfície 2D de Synergy Scores e mapa de calor para combinação dos melhores OE e majoritários na CB330.

