

Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade

Priscila Pereira Botrel¹, José Eduardo Brasil Pereira Pinto^{1*}, Vany Ferraz², Suzan Kelly Vilela Bertolucci¹ e Felipe Campos Figueiredo³

¹Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Mediciniais, Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Cx. Postal 3037, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. ²Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. ³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Muzambinho, Minas Gerais, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: jeduardo@ufla.br

RESUMO. Os óleos essenciais são princípios odoríferos armazenados em células especiais da planta. O óleo essencial no gênero *Hyptis* é usado como anestésico, antiespasmódico, anti-inflamatório e pode induzir aborto em doses elevadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da sazonalidade no teor e composição do óleo essencial de *Hyptis marruboides*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (inverno, primavera, verão e outono) e seis repetições, totalizando 60 plantas. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, em aparelho de Clevenger. A análise qualitativa do óleo essencial foi por cromatografia em fase gasosa (CG/EM). Na estação do verão, as folhas das plantas de *H. marruboides* apresentaram os maiores teores de óleo essencial. Nas demais estações, os teores de óleo essencial obtidos foram semelhantes entre si. Os componentes majoritários no óleo essencial foram os monoterpenoides α -tujona e β -tujona. As concentrações relativas dos picos correspondentes à β -tujona não apresentaram diferenças consideráveis nas quatro estações. Os sesquiterpenoides oxigenados (cedrol e cariofilenol) e não-oxigenados (α -copaeno, α -cariofileno, germacreno D e cadaleno) foram encontrados em menores quantidades no óleo essencial, entretanto observam-se diferenças quantitativas ao longo das estações.

Palavras-chave: óleo essencial, avaliação sazonal, CG-EM.

ABSTRACT. Content and chemical composition of *Hyptis marruboides* essential oil in function of seasons. Essential oils are odorous principles stored in special plant cells. The essential oil in the *Hyptis* genus is traditionally used as an anesthetic, antispasmodic, anti-inflammatory, and can induce abortion in high doses. The purpose of this work was to evaluate the influence of seasons in essential oil content and chemical composition of species *H. marruboides*. A completely randomized complete design was used with four treatments (winter, spring, summer and autumn) and six replications, totaling 60 plants. The essential oil was obtained by hydrodistillation with a Clevenger apparatus. The qualitative analysis of the essential oil was performed by gas chromatography (GC/MS). In summer, plant leaves showed higher essential oil content. In the other seasons, essential oil content was similar. The major compounds in the essential oil were monoterpene α -thujone and β -thujone. The peak relative concentrations of β -thujone did not show considerable difference among the seasons. The oxygenate sesquiterpenoids (cedrol and caryophyllenol) and not oxygenate (α -copaene, α -caryophyllene, germacrene D and cadalene), were found in lower quantity in the essential oil; however, quantitative differences were observed over the seasons.

Key words: essential oils, seasonal evaluation, GC/MS.

Introdução

O gênero *Hyptis* Jacq. (Lamiaceae) inclui cerca de 300 espécies, de ampla ocorrência na América tropical. Estas espécies são bastante aromáticas e frequentemente são usadas no tratamento de infecções gastrintestinais, câibras e dores, bem como no tratamento de infecções de pele (HARLEY, 1988). Estudos recentes têm mostrado atividades biológicas importantes relacionadas ao gênero *Hyptis*, tais como atividades antifúngica (OLIVEIRA et al.,

2004) e antibacteriana (SOUZA et al., 2003), dentre outras.

Os óleos essenciais secretados neste gênero têm importante ação farmacológica, como anestésico, antiespasmódico, anti-inflamatório, além de abortivo em doses elevadas.

A composição dos metabólitos secundários nas plantas é resultado do balanço entre sua formação e sua transformação, que ocorrem durante o crescimento, em decorrência principalmente de três

fatores: genéticos, ambientais e técnicas de cultivo (CASTRO et al., 2002).

A época em que uma droga é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Dentro dos parâmetros climáticos, temperatura atmosférica e precipitação têm sido apontadas como fatores que influenciam a composição e conteúdo de óleo essencial em várias plantas aromáticas. De acordo com Taveira et al. (2003) os principais compostos identificados no óleo essencial de folhas e caules de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) foram 2-tridecanona, β -cariofileno, 2-pentadecanona, óxido de cariofileno e germacreno D e seus teores percentuais variaram com a estação, onde os maiores valores foram detectados principalmente na estação chuvosa.

Os principais constituintes químicos encontrados por Sales et al. (2007) em *H. marruboides*, ao estudar a variabilidade química presente no óleo essencial desta espécie em duas localidades da região do cerrado brasileiro, foram: cariofila-4(14), 8(15)-dien-5 β -ol, eudesma-4(15), 7-dien-1 β -ol, óxido de cariofileno e (β)-cariofileno.

Poucas são as informações encontradas relatando estudos fitotécnicos com esta espécie, e determinar a época de colheita em função da produção de princípios ativos é fundamental no manejo de plantas medicinais. Assim, este trabalho tem como objetivo estudar a variação sazonal no teor e composição do óleo essencial em folhas de *Hyptis marruboides*.

Material e métodos

Local e condições climáticas do experimento

O presente trabalho foi conduzido em Lavras, Estado de Minas Gerais, no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura/UFLA.

A extração do óleo foi feita no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais/UFLA; a análise da composição química, no Laboratório de cromatografia gasosa do Departamento de Química da UFMG.

O município de Lavras localiza-se na Região Sul do Estado de Minas Gerais. Situa-se a 21°14' de latitude Sul e 45°00' de longitude Oeste de Greenwich, a uma altitude de 918 m. Segundo a classificação de Köppen,

o clima enquadra-se no tipo Cwa, temperado úmido, com verão quente e inverno seco (Tabela 1).

Propagação e cultivo

A propagação de *Hyptis marruboides* foi feita por sementes e realizou-se a seleção das mudas mais vigorosas e uniformes antes do transplante para o campo, em 24 de março de 2004, quando as plantas tinham 60 dias de idade. As parcelas experimentais foram constituídas de 15 plantas úteis, com seis repetições oriundas da amostragem composta dessas plantas. As quatro estações do ano constituíram as épocas correspondentes aos tratamentos. Utilizaram-se 36 plantas de bordadura e 60 plantas de área útil, totalizando 96 mudas de *H. marruboides*. Após o plantio, foram sorteadas as 15 mudas que representariam cada época constituindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Os dados do teor de óleo essencial foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Coleta e preparo das amostras

A colheita de folhas frescas foi realizada na metade do período de cada estação, iniciada 220 dias após transplante, na estação da primavera, por volta das 10h da manhã. Foram coletadas folhas das porções médias dos ramos não-floridos das plantas, situados nas direções cardeais: N, S, L e O. As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 40°C. Para cada repetição, utilizaram-se 25 g de massa seca de folhas inteiras.

Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação em aparelho de Clevenger, por um período de duas horas a partir da ebulição.

Para a purificação do óleo essencial, o hidrolato foi submetido à partição líquido-líquido em funil de separação, realizando-se três lavagens do hidrolato com três porções de 20 mL de diclorometano por meia hora cada. As frações orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de magnésio anidro, deixando-o agir por 4h; posteriormente, o sal foi removido por filtração simples, e o solvente foi evaporado à temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases.

Tabela 1. Dados climatológicos das estações do ano para Lavras - Sul do Estado de Minas Gerais, 2004-2005.

Estação	Período	Temperatura (°C)			Precipitação total (mm)	UR (%)	Insolação (horas)	CLA* (mm)
		Max.	Mín.	Méd.				
Primavera	23/9/04 a 21/12/04	27,9	16,9	21,3	693,1	72,4	6,0	5,3
Verão	22/12/04 a 19/3/05	28,7	18,1	22,3	882,1	78,5	6,0	4,9
Outono	20/3/05 a 20/6/05	26,8	15,8	20,2	279,8	75,7	7,0	3,8
Inverno	21/6/05 a 22/9/05	26,1	13,0	18,5	131,6	68,5	7,3	4,0

*CLA: tanque Classe A.

Diante da massa obtida, determinou-se o teor percentual do óleo essencial pela fórmula: $T\% = \text{Massa do óleo (g)} / 25 \text{ g} \times 100$.

Composição química do óleo essencial

A composição química dos óleos essenciais não pôde ser comparada estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, pois foi analisada somente uma amostra composta, formada pelo agrupamento das repetições de cada tratamento.

As amostras foram analisadas por cromatografia em fase gasosa (Varian CP-3380), equipada com detector de ionização de chamas, coluna capilar SE-54, 30 m x 0,32 mm (Alltech, Deerfield, TI, USA) e hidrogênio como gás de arraste (2 mL min^{-1}). A temperatura da coluna foi programada na faixa de 40°C até 180°C , com variação de 5°C min^{-1} . As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 250°C . Foi injetado $1 \mu\text{L}$ de amostra no modo *split* ($1:100$). As concentrações relativas (%) correspondentes aos componentes do óleo essencial foram calculadas utilizando o *software* Varian Star 5.52. A identificação dos picos foi realizada por comparação dos índices de retenção, calculados a partir de uma série n-alcenos (C9 a C17), com dados de literatura (DAVIES, 1990).

A identificação dos componentes foi posteriormente confirmada utilizando cromatografia em fase gasosa Hewlett-Packard 6890, acoplada a um espectrômetro de massas Hewlett-Packard 5989A e programa MS Chemstation (HP), coluna capilar SE-54, 30 m x 0,32 mm (Alltech, Deerfield, TI, USA) e hélio como gás de arraste (2 mL min^{-1}).

A temperatura da coluna foi programada para 40°C (3 min.) até 180°C , 5°C min^{-1} . A temperatura do injetor, interface e a fonte de íons foram mantidas a 250°C . Os espectros foram obtidos por impacto eletrônico (IE) a 70 eV. Os componentes foram identificados por comparação dos espectros de massa, obtidos com os espectros do banco de dados Wiley 138 e pelo site webbook.nist.gov.

Resultados e discussão

Teor de óleo essencial em folhas de *Hyptis marruboides*

Houve diferença significativa nos teores de óleo essencial nas diferentes estações do ano.

O inverno foi a estação em que se obtiveram os menores teores de óleo, com uma redução equivalente a 36% em relação ao teor observado na estação do verão. No outono, a queda foi de 21,4% e, na primavera, de 16,6%. Apesar destas diferentes reduções nos teores de óleo, as estações do inverno, primavera e outono não diferenciaram estatisticamente entre si, em

nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott (Figura 1).

O início do florescimento da *H. marruboides* se deu na estação da primavera e atingiu seu auge no verão. Na estação de outono, as folhas das plantas estavam entrando em senescência, fato que se agravou no inverno, quando a maioria das plantas estava praticamente sem folhas. Esta observação pode ajudar a explicar os resultados, visto que no inverno houve o menor teor de óleo essencial, pois quase não havia mais folhas na planta.

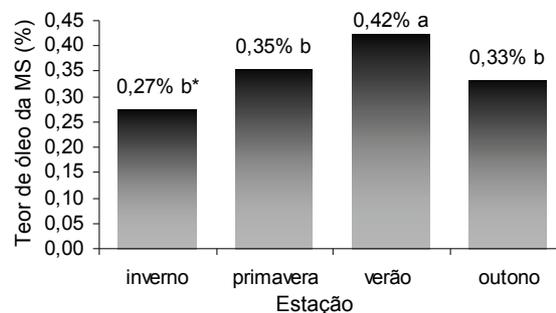


Figura 1. Teores médios de óleo essencial (%) na biomassa seca de folhas de *Hyptis marruboides*, em função de diferentes estações do ano. *As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

No verão, foi obtido o maior teor de óleo essencial, período em que as plantas se encontravam em pleno florescimento e com os ramos cheios de folhas. Acredita-se que este resultado pode estar sendo influenciado pelo maior comprimento dos dias de verão, que, conseqüentemente, traz melhores condições para o desenvolvimento vegetativo das plantas.

A redução dos teores de óleo, principalmente no inverno e outono, pode ser explicada pelo acionamento do mecanismo natural de fonte-dreno, que degrada metabólitos secundários e direciona seus compostos químicos para a manutenção do metabolismo primário (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Segundo Reis et al. (2010), no verão, ocorreu menor produção de óleo essencial (0,29%) de arnica (*Lychnophora pinaster*), considerando que a região onde foi realizado o experimento foi a mesma deste trabalho, sendo caracterizada por verão quente. Isso mostra que o teor de óleo essencial em função da sazonalidade é bastante variável entre as espécies de plantas medicinais cultivadas sob o mesmo ambiente de cultivo.

Akrout et al. (2003), estudando a variação sazonal do óleo essencial de partes aéreas de *Artemisia campestris* L., concluíram que o rendimento de óleo essencial foi maior em agosto (1,2%) e menor em novembro (0,65%).

Análise da composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides*

Na Figura 2, estão representados os cromatogramas do óleo essencial de *Hyptis marruboides* referentes às quatro estações do ano, indicando apenas os componentes majoritários identificados.

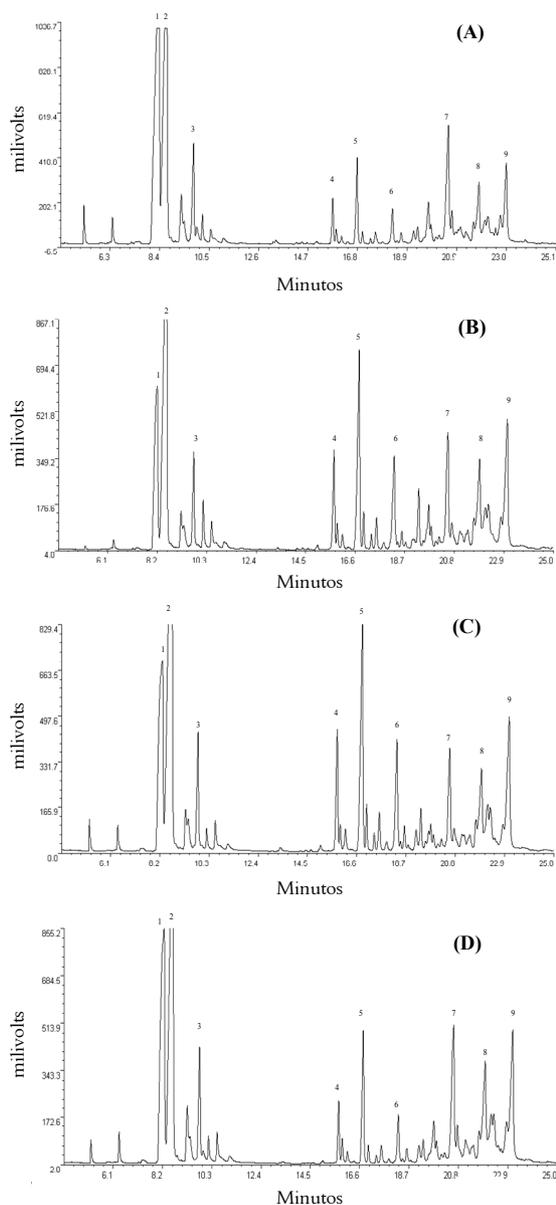


Figura 2. Cromatogramas obtidos por CG-EM para análise da composição química do óleo essencial de *H. marruboides*. (A) inverno; (B) primavera; (C) verão e (D) outono. Picos: (1) α -tujona; (2) β -tujona; (3) linalol; (4) α -copaeno; (5) α -cariofileno; (6) germacreno D; (7) cariofilenol; (8) cedrol; e (9) cadaleno.

Os dados obtidos das determinações qualitativas e quantitativas dos componentes principais presentes no óleo essencial de *H. marruboides* estão apresentados na Tabela 2. Esses componentes

representaram cerca de 75% da composição química do óleo nas estações. Não foi observada variação qualitativa na composição do óleo essencial de *H. marruboides* ao longo das estações. Os componentes majoritários do óleo essencial de *H. marruboides*, nas quatro estações, foram os monoterpênicos α -tujona e β -tujona. Os picos correspondentes à β -tujona não apresentaram diferenças consideráveis nas concentrações relativas (%) durante as estações do ano, ao contrário do que foi observado para os picos correspondentes à α -tujona, que apresentou concentração relativa de 26,7% no inverno e 11,1% na primavera, representando queda superior a 50% do componente nestas estações.

BLANK et al. (2007), estudando diferentes horários e épocas de colheita em folhas de citronela de java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), concluíram que a época seca reduziu o conteúdo de limoneno, citronelol, geraniol, e farnesol e aumentou o conteúdo de citronelal e o neral. Para esta espécie, a sazonalidade afetou significativamente a qualidade do óleo essencial.

Ao contrário de *H. marruboides*, sesquiterpenos oxigenados foram os constituintes majoritários encontrados na maioria das populações de plantas de *Hyptis suaveolens* do Cerrado brasileiro, em estudos realizados por Azevedo et al. (2002).

Já o estudo de folhas de espinheira-santa (*Maytenus aquifolium*) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) demonstrou a presença de diversos triterpenos no óleo essencial (CORDEIRO et al., 1999). A friedelina e o friedelan-3-ol foram os triterpenos majoritários identificados.

Sales et al. (2007), estudando o óleo essencial de *Hyptis marruboides* de caules e folhas (frescos, secos e inteiros ou em pedaços) coletados em duas localidades do Cerrado brasileiro, identificaram 26 compostos que representaram 96-99% dos constituintes voláteis. Sesquiterpenos oxigenados foram os principais grupos de constituintes na maioria das populações (52,9-93,2%).

A presença de sesquiterpenos oxigenados (cedrol e cariofilenol) e não-oxigenados (α -copaeno, α -cariofileno, germacreno D e cadaleno) também foi identificada no óleo essencial de *H. marruboides*, que apresentou diferenças nas concentrações relativas durante as épocas avaliadas, com valores entre 1,6 a 9,8%.

Com exceção do cadaleno, os teores dos principais sesquiterpenos não-oxigenados identificados no óleo de *H. marruboides* no presente trabalho apresentaram maiores concentrações relativas nas estações de verão e primavera. Destacam-se os valores de 9,8 e 9,2% obtidos para o α -cariofileno, respectivamente, no verão e na primavera.

Tabela 2. Porcentagem dos componentes do óleo essencial de folhas de *H. marruboides* nas quatro estações do ano.

Nº Pico	IR'	Componente	Classe	Concentrações relativas (%)			
				Inverno	Primavera	Verão	Outono
1	1077	α -tujona	monoterpeno	26,7	11,1	14,5	18,3
2	1090	β -tujona	monoterpeno	23,1	23,7	25,9	24,4
3	1138	linalool	monoterpeno	4,3	3,04	3,31	3,61
4	1369	α -copaeno	sesquiterpeno	1,6	3,46	3,87	1,83
5	1409	α -cariofileno	sesquiterpeno	3,6	9,21	9,76	4,67
6	1467	germacreno D	sesquiterpeno	1,6	4,63	4,67	1,82
7	1560	cariofilenol	sesquiterpeno	6,9	5,14	3,82	6,79
8	1610	cedrol	sesquiterpeno	3,8	5,16	4,16	5,76
9	1655	cadaleno	sesquiterpeno	4,7	7,68	6,93	7,23
Total dos picos dos monoterpenos (%)				54,1	37,8	43,7	46,3
Total dos picos dos sesquiterpenos (%)				22,2	35,3	33,2	28,1
Total dos picos majoritários (%)				76,3	73,12	76,92	74,41

*IR: Índice de retenção.

Na estação da primavera, os teores de monoterpenos e sesquiterpenos apresentaram valores bastante próximos, no entanto, no inverno, o teor de monoterpenos dobrou em relação aos sesquiterpenos.

Experimentos com *H. suaveolens* em diferentes condições nutricionais, fotoperíodo e épocas de colheita indicaram interferências de fatores ambientais na composição química do óleo essencial desta planta (MARTINS et al., 2006). Já em *H. marruboides*, pelo fato de haver apenas variações nas concentrações relativas (%) dos fitoconstituintes presentes no óleo, parece que as variações ambientais ocorridas durante as estações do ano são pouco expressivas para provocar variações qualitativas na composição do óleo.

Tais variações provavelmente estejam relacionadas ao ciclo fisiológico da planta, pois no inverno, período de baixa atividade biossintética, os sesquiterpenos totais (compostos de síntese mais complexa) apresentaram teor cerca de 22%, contra o valor de 54% de monoterpenos totais no mesmo período. Essa diferença estreitou durante as demais estações e, na primavera, a relação de monoterpenos e sesquiterpenos totais foi quase de 1:1.

Para atestar as hipóteses sobre os parâmetros que interferem na variabilidade da composição química do óleo essencial de *H. marruboides*, sugere-se a realização de novos trabalhos levando-se em consideração os aspectos genéticos, fisiológicos e edafoclimáticos.

Conclusão

Não foram observadas diferenças qualitativas no óleo essencial de *H. marruboides* ao longo das estações. Porém, diferenças nas concentrações relativas (%) foram observadas. O verão apresentou o maior teor de óleo; o inverno, no entanto, apresentou a maior concentração relativa (%) dos componentes majoritários α e β -tujona.

Agradecimentos

A Capes, CNPq e Fapemig, pelo fornecimento da bolsa e apoio financeiro.

Referências

- AKROUT, A.; CHEMLI, R.; SIMMONDS, M.; KITE, G.; HAMMAMI, M.; CHREIF, I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, n. 5, p. 333-336, 2003.
- AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; REALINO DE PAULA, J.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 3, p. 205-216, 2002.
- BLANK, A. F.; COSTA, A. G.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; CAVALCANTI, S. C. H.; ALVES, P. B.; INNECCO, R.; EHLERT, P. A. D.; SOUSA, I. F. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 557-564, 2007.
- CASTRO, D. M.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas da *Lippia alba* (Mill). N.E.Br em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 2, p. 75-79, 2002.
- CORDEIRO, P. J. M.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. HRGC-MS analysis of terpenoids from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium* ("espinheira santa"). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 6, p. 523-526, 1999.
- DAVIES, N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. **Journal of Chromatography**, v. 503, n. 1, p. 1-24, 1990.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- HARLEY, R. M. Evolution and distribution of *Eriope* (Labiatae) and its relatives in Brasil. In: VANZOLINI, P. Acta Scientiarum. Agronomy Maringá, v. 32, n. 3, p. 533-538, 2010

- E.; HEYER, W. R. (Ed.). **Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988. p. 71-80.
- MARTINS, F. T.; MARCELO DOS SANTOS, H.; POLO, M.; BARBOSA, L. C. A. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) POIT. sob condições de cultivo. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1203-1209, 2006.
- OLIVEIRA, C. M. A.; SILVA, M. R. R.; KATO, L.; SILVA, C. C.; FERREIRA, H. D.; SOUZA, L. K. H. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 756-759, 2004.
- REIS, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CORRÊA, R. M.; PAULA, J. R.; ANDRADE, S. T.; FERRI, P. H. Seasonal variation in essential oils of *Lychnophora pinaster* Mart. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 2, p. 147-149, 2010.
- SALES, J. F.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; OLIVEIRA, C. B. A.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; SERAPHIN, J. C. Composition and chemical variability in the essential oil of *Hyptis marruboides* Epl. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 6, p. 552-556, 2007.
- SOUZA, L. K. H.; OLIVEIRA, C. M. A.; FERRI, P. H.; OLIVEIRA JÚNIOR, J. G.; SOUZA JÚNIOR, A. H.; FERNANDES, O. F. L.; SILVA, M. R. R. Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards dermatophytes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 7, p. 963-965, 2003.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TAVEIRA, F. S. N.; ANDRADE, E. H. A.; LIMA, W. N.; MAIA, J. G. S. Seasonal variation in the essential oil of *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 1, p. 27-31, 2003.

Received on May 15, 2008.

Accepted on July 22, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.