



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

YURI DE MEDEIROS SOUZA LIMA

**IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E ANÁLISE DA ATIVIDADE LARVICIDA E DE
REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Siparuma guianensis*
Aublet FRENTE A *Aedes aegypti* Linnaeus**

**MACAPÁ
2018**

YURI DE MEDEIROS SOUZA LIMA

**IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E ANÁLISE DA ATIVIDADE LARVICIDA E DE
REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Siparuma guianensis*
Aublet FRENTE A *Aedes aegypti* Linnaeus**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaio Biológicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof Dr Fernando Antônio de Medeiros

**MACAPÁ
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá
Elaborada por Cristina Fernandes – CRB-2/1569

Lima, Yuri de Medeiros Souza.

Identificação química e análise da atividade larvicida e de repelência do óleo essencial das folhas de *Siparuma guianensis* Aublet frente a *Aedes aegypti* Linnaeus. / Yuri de Medeiros Souza Lima ; orientador, Fernando Antônio de Medeiros . – Macapá, 2019.
76 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Arboviroses. 2. Bioinseticida. 3. Capitiú. 4. Cromatografia gasosa. 5. Terpinoleno. I. Medeiros, Fernando Antônio de, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

632.9517 L732i
CDD. 22 ed.

YURI DE MEDEIROS SOUZA LIMA

IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E ANÁLISE DA ATIVIDADE LARVICIDA E DE REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Siparuma guianensis* Aublet FRENTE A *Aedes aegypti* Linnaeus

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaio Biológicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof Dr Fernando Antônio de Medeiros

DATA DE APROVAÇÃO: ____/____/____

Examinador: Prof. Dr. Marcos Antônio Alves de Medeiros
Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

Examinadora: Profa. Dra. Raquel Rodrigues Amaral
Universidade Federal Do Amapá – UNIFAP

Examinadora: Prof. Dra. Alessandra Azevedo Nascimento de Medeiros
Universidade Federal Do Amapá – UNIFAP

Orientador (a): Fernando Antônio de Medeiros
Universidade Federal Do Amapá – UNIFAP

**MACAPÁ
2018**

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Ivam de Souza Lima e Ângela Maria de Medeiros Souza Lima.

As minhas irmãs Yana de Medeiros Souza Lima e Yara de Medeiros Souza Lima.

A minha companheira Carolina Almeida de Oliveira e ao meu orientador Prof^o Dr. Fernando Antônio de Medeiros.

Aos meus familiares e amigos (a).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por sempre ter me erguido nos momentos mais necessitados, e ter me guiado nas sábias escolhas que fiz durante toda a jornada que foi enfrentada ao decorrer do mestrado.

Aos meus queridos pais, José Ivam de Souza Lima e Ângela Maria de Medeiros Souza Lima, pelos esforços, dedicações e confiança depositado em mim, para fazer com que eu chegasse até este momento.

As minhas irmãs Yana de Medeiros Souza Lima e Yara de Medeiros Souza Lima que sempre me apoiaram.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Fernando Antônio de Medeiros, pela oportunidade e confiança depositada em mim durante todo esse árduo percurso.

À minha Namorada e companheira, Carolina Almeida de Oliveira que foi uma pessoa bastante compreensiva e de grande ajuda para a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra, que cedeu o espaço do laboratório de Absorção Atômica para que pudesse desenvolver esse trabalho, bem como contribuiu com orientações e amizade.

Aos meus familiares e amigos (a), que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste sonho. Em especial a Edla Lúcia de Vasques de Souza dos Santos, Helison de Oliveira Carvalho.

A toda a equipe do Laboratório de Arthropoda, em especial a Karen pela sua dedicação e paciência em transmitir seus conhecimentos.

À Universidade Federal do Amapá-UNIFAP, que ao longo da execução dessa dissertação, passou a ser minha segunda casa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde e toda sua equipe de coordenação. Agradecer também à minha excelente turma de mestrado, onde vivi bons momentos e fiz ótimas amizades. Minha eterna gratidão a todos que tornaram possível a conclusão deste trabalho.

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.

(Paulo Beleki)

RESUMO

Desde os primórdios as plantas medicinais são utilizadas para os mais diversos fins na medicina popular, que vão do tratamento de uma diversidade de doenças a utilização como repelentes e inseticidas, como por exemplo: o eucalipto e a citronela. Os compostos originados desta espécie podem atuar contra vetores como o *Aedes aegypti*, que são capazes de transmitir arboviroses como: Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela, que no cenário atual se caracterizam como um grave problema de saúde pública. O objetivo deste trabalho foi obter e caracterizar quimicamente o óleo essencial da *Siparuna guianensis* e avaliar sua atividade larvicida e de repelência frente ao *Aedes aegypti*. Para tanto foram utilizadas as partes aéreas da planta *S. guianensis* para a extração do óleo essencial. O material vegetal foi obtido no município de Macapá, Amapá e as partes aéreas da espécie foram utilizadas para a extração do óleo essencial. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e as identificações dos constituintes químicos foram realizadas por cromatografia gasosa e espectroscopia de massa (CG-EM). Através do CG-EM, foram identificados 78 compostos presentes no óleo essencial, entre eles o Terpinoleno (68,27%) e o α -Murolool (10,61%) são majoritários. O rendimento do óleo essencial foi de 0,83%. O resultado dos bioensaios larvicidas apontaram índices de mortalidade de 68.66%, 76.66%, 77.33%, 78.66%, 85.33% nas concentrações de 40, 80, 120, 160 e 200 mg/L, respectivamente durante as 48 horas. Para os bioensaios de repelência obteve-se uma média de pousos de 5.00, 4.00, 4.33, 4.00, 3.66 e 2.33 nos respectivos tempos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos para a concentração de 1000 mg/L. De acordo com os resultados, o óleo essencial de *S. guianensis* apresenta ação larvicida e uma forte ação repelente para a maior concentração estudada.

Palavras-chave: Arboviroses. Bioinseticida. Capitiú. Cromatografia Gasosa. Terpinoleno.

ABSTRACT

From the earliest times medicinal plants are used for a wide variety of purposes in folk medicine, ranging from the treatment of a variety of diseases to use as repellents and insecticides, such as eucalyptus and citronella. Compounds from this species can act against vectors such as *Aedes aegypti*, which are capable of transmitting arboviruses such as: Dengue, Zika, Chikungunya and Febre Amarela, which in the current scenario are characterized as a serious public health problem. The objective of this work was to obtain and characterize the essential oil of *Siparuna guianensis* and to evaluate its larvicidal and repellent activity against *Aedes aegypti*. The aerial parts of the *S. guianensis* plant were used to extract the essential oil. The plant material was obtained in the municipality of Macapá, Amapá and the aerial parts of the species were used for the extraction of the essential oil. The essential oil was extracted by hydrodistillation and the chemical constituents identifications were performed by gas chromatography and mass spectroscopy (GC-EM). Through the GC-EM, 78 compounds were identified in the essential oil, among them Terpinolene (68.27%) and α -Muurolol (10.61%) are the majority. The yield of essential oil was 0.83%. The results of the larvicidal bioassays indicated a mortality rate of 68.66%, 76.66%, 77.33%, 78.66%, and 85.33% at the concentrations of 40, 80, 120, 160 and 200 mg / L, respectively, during 48 hours. For the repellency bioassays an average of 5.00, 4.00, 4.33, 4.00, 3.66 and 2.33 landings was obtained in the respective times of 30, 60, 90, 120, 150 and 180 minutes for the concentration of 1000 mg / L. According to the results, the essential oil of *S. guianensis* presents larvicidal action and a strong repellent action for the highest concentration studied.

Keywords: Arboviroses. Bioinseticida. Capitiú. Gas Chromatography. Terpinolene.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 - | Distribuição da Família Siparunaceae (A.DC.) Schodde no Brasil | 24 |
| Quadro 1 - | Estudos de atividades biológicas do gênero Siparuna, tipo de extrato e partes da planta utilizada | 27 |
| Figura 2 - | Folhas de <i>Siparuna guianensis</i> | 28 |
| Figura 3 - | Fruto da <i>Siparuna guianensis</i> | 29 |
| Figura 4 - | Frutos Maduros de <i>S. guianensis</i> | 30 |
| Quadro 2 - | Distribuição geográfica de registros de ocorrência espacial do <i>Ae. aegypti</i> no mundo em 2014 | 32 |
| Figura 5 - | Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i> | 35 |
| Mapa 1 - | Georeferenciamento da área onde foi coletado o material vegetal | 42 |
| Figura 6 - | Teste Larvicida | 44 |
| Gráfico 1 - | Comparação da concentração de 250 mg/L do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> com o controle negativo em função do tempo de aplicação do produto | 56 |
| Gráfico 2 - | Comparação da concentração de 500 mg/L do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> com o controle negativo em função do tempo de aplicação | 57 |
| Gráfico 3- | Comparação da concentração de 1000 mg/L do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> com o controle negativo em função do tempo de aplicação do produto | 58 |
| Gráfico 4- | Comparação da concentração de 1000 mg/L do óleo essencial de <i>S. guianensis</i> com o controle negativo em função do tempo de aplicação do produto | 59 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Compostos fitoquímicos, números de picos, tempo de retenção e estrutura química de cada composto presente no óleo essencial de <i>Siparuna guianensis</i> | 50 |
| Tabela 2 - | Mortalidade em percentual de larvas de <i>Ae. aegypti</i> em bioensaio com óleo essencial de <i>S. guianensis</i> entre 1 e 48 horas. | 54 |
| Tabela 3- | Teste de repelência mostrado através do número de picadas nos tempos de 30 à 180min logrados com o óleo essencial das folhas de <i>S. guianensis</i> , nas concentrações de 250 à 1000 mg/L e solução controle para fêmeas adultas de <i>Ae. Aegypti</i> | 56 |
| Tabela 4 - | Potencial médio de proteção em percentual do teste de repelência com óleo essencial das folhas de <i>S. guianensis</i> | 59 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------|---|
| ARTHROLAB | Laboratório de Arthropoda |
| CG-EM | Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa |
| CHIKV | Chikungunya |
| DEET | Dietil Toluamida |
| DMSO | Dimetilsufóxido |
| FHD | Febre Hemorrágica da Dengue |
| HAMAB | Herbário Amapaense |
| IEPA | Instituto de Pesquisa Científicas e Tecnológicas do Amapá |
| LAAB | Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção |
| OE | Óleo Essencial |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre Esclarecido |
| UNIFAP | Universidade Federal do Amapá |
| UFPB | Universidade Federal da Paraíba |
| ZIKV | Zika Vírus |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 GERAL | 17 |
| 2.2 ESPECÍFICOS | 17 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 18 |
| 3.1 PLANTAS MEDICINAIS | 18 |
| 3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS..... | 18 |
| 3.3 ATIVIDADE REPELENTE E LARVICIDA..... | 20 |
| 3.4 FAMÍLIA SIPARUNACEAE (A. DC.) SCHODDE..... | 23 |
| 3.4.1 Características botânicas da família Siparunaceae | 24 |
| 3.5 GÊNERO SIPARUNA AUBLET..... | 25 |
| 3.5.1 Estudos Etnobotânicos do Gênero <i>Siparuna</i> Aublet | 25 |
| 3.5.2 Atividade Biológica do Gênero <i>Siparuna</i> | 26 |
| 3.6 ESPÉCIE <i>Siparuna guianensis</i> Aublet | 27 |
| 3.6.1 Características Botânicas da espécie <i>Siparuna guianensis</i> Aublet | 28 |
| 3.6.2 Composição Química da Espécie <i>Siparuna guianensis</i> | 30 |
| 3.7 ESPÉCIE <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) | 31 |
| 3.7.1 Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i> | 34 |
| 3.8 ARBOVIROSES TRANSMITIDAS PELO <i>Aedes aegypti</i> : DENGUE, CHIKUNGUNYA, ZIKA VÍRUS E FEBRE AMARELA | 35 |
| 3.8.1 Dengue | 35 |
| 3.8.2 Chikungunya | 37 |
| 3.8.3 Zika Vírus | 39 |
| 3.8.4 Febre Amarela | 40 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 42 |
| 4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL..... | 42 |
| 4.2 EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL..... | 43 |
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL..... | 43 |
| 4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA | 43 |
| 4.4.1 Obtenção das Larvas | 43 |
| 4.4.2 Ensaios Biológicos da Atividade Larvicida | 44 |
| 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE REPELÊNCIA..... | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 4.5.1 Obtenção dos mosquitos <i>Aedes Aegypti</i> | 45 |
| 4.5.2 Teste de Atividade de Repelência | 45 |
| 4.6 ANÁLISES DE DADOS | 47 |
| 4.7 ASPECTOS ÉTICOS | 47 |
| 4.7.1. Riscos | 47 |
| 4.7.2 Benefícios | 48 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 49 |
| 5.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL | 49 |
| 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>SIPARUNA GUIANENSIS</i> | 49 |
| 5.3 ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE AO MOSQUITO <i>Aedes aegypti</i> | 53 |
| 5.4 ATIVIDADE REPELENTE FRENTE A MOSQUITOS <i>Ae. aegypti</i> | 55 |
| 6 CONCLUSÃO | 61 |
| REFERÊNCIAS | 62 |
| ANEXO A - Perfil Cromatográfico do Óleo Essencial de <i>Siparuna guianensis</i> | 71 |
| ANEXO B - Espectro de Massa dos Principais Compostos presentes no Óleo Essencial de <i>Siparuna guianensis</i> | 72 |
| ANEXO C – Certificado Comitê de Ética em Pesquisa | 73 |
| APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 74 |

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* tornou-se importante e popular no cenário da Saúde Pública no Brasil por ser o vetor de diversas doenças como a Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela. Isso associou-se à falta de cuidados de prevenção sob os focos de reprodução do mosquito e o que se tem atualmente são números expressivos de casos das dessas doenças.

Sobre as Arboviroses que são causadas pelo *Ae. aegypti*, elas ocorrem de forma epidêmica e tem sintomatologia semelhante, sendo consideradas síndromes que podem apresentar-se de forma febril, como a dengue e a Chikungunya, ou exantemica como a Zika, podendo apresentar também dor de cabeça, dores musculares, manifestações nas articulações, como artralgia (dengue) e artrite (Chikungunya) ou ambos (Zika), edema nos membros (Zika e Chikungunya) e conjuntivite não purulenta (Zika) (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2017).

O monitoramento do *Ae. aegypti*, tem formado um importante desafio, em especial, nos países em desenvolvimento. Mesmo considerando-se circunstâncias em que os insumos destinados ao monitoramento do vetor sejam adequados para a efetivação de programas, diversas vezes não se tem conseguido sucesso. Particularidades concernentes a problemas de infraestrutura das cidades tais como baixas coberturas na coleta de lixo e intermitência no abastecimento de água, são aspectos que comprometem a eficácia dos meios tradicionais de monitoramento do *Aedes aegypti* (ZARA *et al.*, 2016).

Segundo a Pan American Health Organization (2017) o número de casos registrado elevou passando de 2,2 milhões em 2010 para 3,2 milhões em 2015. O impacto global da doença ainda é incerto, mas o que se sabe é que parte do aumento dos casos se deu pelo registro de todos casos possíveis melhorando o banco de informações.

No cenário nacional no primeiro mês de 2018 já foram levantados 22.586 novos casos de dengue prováveis no país, sendo a taxa de incidência de 10,9 casos/100 mil hab., para a febre Chikungunya foram registrados 4.844 casos prováveis com taxa de incidência de 2,3 casos/100 mil hab., já sobre o Zika vírus foram encontrados 93 gestantes com prováveis infecções pelo vírus (BRASIL, 2018a).

A nível de regiões, o Sudeste lidera os casos de dengue com 9.526 casos (42,2%), seguido das regiões Centro-Oeste com 6.697 casos (29,7%), Norte com

2.316 casos (10,3%), Nordeste com 2.315 casos (10,2%) e Sul com 1.732 (7,7%) (BRASIL, 2018a).

No Estado do Amapá em 2017 foram 191 casos de dengue com incidência de 23,9 casos/100 mil hab., e em janeiro de 2018 já foram registrados 47 com incidência de 5,9 casos/100mil hab., e da febre Chikungunya em 2017 foram 14 casos com incidência de 1,8 casos/100mil habitantes e 2018 só no primeiro mês foram 17 com incidência de 2,1 casos/100 mil hab. (BRASIL, 2018a).

Atualmente existem diversas campanhas nacionais e em todos os tipos de mídias para o combate ao mosquito transmissor dessas doenças, assim como um esforço muito grande da sociedade científica mundial para encontrar formas eficazes de combater o mosquito vetor e as próprias doenças transmitidas por ele. Esta necessidade de encontrar formas de combater ao mosquito em suas diversas fases ou estágios de vida levou a proposta do estudo aqui apresentado, o qual busca obter óleo essencial da *Siparuna guianeses* ou substâncias isoladas destes que possam agir tanto nas fases de larvas do *Ae. aegypti*, como também na sua forma adulta, seja como substâncias repelentes ou larvicida.

Esse trabalho foi desenvolvido com o intuito de encontrar novas substâncias para esse fim e de baixa toxicidade, tendo em vista que nos últimos anos várias pesquisas vêm sendo feitas sobre o uso de óleos essenciais como repelentes. Os resultados obtidos têm sido satisfatórios e já existem produtos comerciais com algumas dessas bases que são bem aceitos pelo público. Além de testar sua capacidade larvicida no *Ae. aegypti*.

As campanhas de prevenção e combate ao mosquito se intensificaram nos últimos anos, porém não foram suficientes para evitar a sua proliferação, não é somente com campanhas que se pode combater ao mosquito e evitar a infecção por essas arboviroses, mas também com a utilização de repelentes para evitar a picada dos mosquitos.

A utilização de plantas medicinais para esse fim viabiliza alternativas acessíveis a população em geral como ferramenta de combate ao mosquito de forma prática, com baixo custo, segura e que as pessoas já estão familiarizadas no seu dia-a-dia.

A *Siparuna guianensis* é uma dessas plantas que podem ser utilizadas como alternativas no combate ao mosquito *Ae. aegypti*. Ela é encontrada em diversas regiões do país e conhecida por diversos nomes como “negramina”, “folha-santa”,

“marinheiro”, “capitiú”, “mata-cachorro”, “catingoso”, “limão-bravo”, “cicatrizante-das-guianas”, “erva-santa” e “amescla-de-cheiro” (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

Assim sendo, dentro desse contexto para ajudar a melhorar essa problemática levantou-se o seguinte questionamento. O óleo essencial de resina da *S. guianensis* é eficaz na atividade larvicida e de repelência da espécie *Ae. aegypti*?

E para responder a esse problema hipotetizou-se: O óleo essencial da resina de *Siparuna guianensis* não é eficaz no combate as larvas do *Ae. aegypti*, assim como não apresenta atividade repelente frente aos mosquitos do *Ae. aegypti* vetor de diversas doenças; O óleo essencial da resina de *Siparuna guianensis* é eficaz no combate as larvas do *Ae. aegypti*, assim como apresenta atividade repelente frente aos mosquitos do *Ae. aegypti*, vetor de diversas doenças.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Realizar a caracterização química do óleo essencial das folhas de *Siparuna guianensis* e avaliar a atividade larvicida e repelente frente a *Aedes aegypti*.

2.2 ESPECÍFICOS

- Calcular o rendimento do óleo essencial a partir das folhas da *S. guianensis*
- Determinar a composição química do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* (por cromatografia gasosa acoplada em espectrometria de massas);
- Analisar a ação larvicida do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* frente ao *Ae. aegypti*;
- Investigar a ação de repelência do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* frente ao mosquito do *Ae. aegypti* em humanos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

O Brasil é um dos países mais rico do mundo em espécies, com 46.550 espécies catalogadas em mais de nove distintos ecossistemas, o que representa um gigantesco potencial de uso dessas (FLORA DO BRASIL, 2015; CARVALHO *et al.*, 2018).

Os mais importantes alvos de estudos nas plantas medicinais são seus metabolitos secundários, os quais são responsáveis em parte pela defesa das plantas, atrativos para os polinizadores. Envolvendo também outras atividades, os metabolitos secundários são de ampla importância na indústria, a título de exemplo, a indústria de cosméticos e perfumes que os usam como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrância, e também na indústria farmacêutica por terem ação antibacteriana, atividades antifúngica e inseticida (RAYBAUDI-MASSILIA; MOSQUEDA-MELGAR; MARTI, 2006).

Sendo assim, a política pública em saúde vigente no Brasil possui como objetivo promover a popularização da utilização de plantas medicinais e de fitoterápicos no campo da atenção primária, porém, resguardando premissas como: eficiência e segurança; fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos regionais; a utilização sustentável da biodiversidade nacional e por fim desenvolvimento do complexo de produção da saúde. Isto pode refletir em processos de desenvolvimento rural no intuito de melhora da qualidade de vida sobretudo, para populações de baixa renda. A garantia quanto a utilização passa pela triagem fitoquímica, sendo este um procedimento essencial para bioprospecção das espécies vegetais de importância farmacológica e/ou toxicológica. Deste modo, o conhecimento científico relacionado à valiosa contribuição popular resulta em método importante nesse processo de validação ou mesmo geração de novos produtos e/ou processos a partir das plantas (BESSA *et al.*, 2011).

3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essenciais estão presentes nas plantas como material natural e englobam compostos

aromáticos voláteis originados do metabolismo secundário das plantas (SIMÕES *et al.*, 2001). Estes são extraídos das plantas na maior parte das vezes através do método de arraste à vapor, mas pode ser feito também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

A International Standart Organization (ISO) define da mesma forma os óleos voláteis como os produtos adquiridos de partes de planta mediante destilação por arraste com vapor d'água. As substâncias repelentes ou atraentes das plantas são sobretudo de natureza terpênica e se mostram como moléculas de pequeno peso molecular e voláteis. Essas substâncias, comumente, são conhecidas como aromáticas ou denominadas óleos essenciais, os quais se acumulam em vários órgãos vegetais. Os gêneros botânicos que elaboram os compostos que formam os óleos essenciais são distribuídos em um contingente limitado de famílias (KNAAK; FIUZA, 2010).

Raybaudi-Massilia, Mosqueda-Melgar e Marti (2006) colaboram com esta ideia afirmando que as plantas podem fabricar óleos essenciais por diversas partes a partir de as flores, até botões, folhas, ramos, casca, semente, frutas, lenho, raízes e rizomas. Embora seja comum das plantas acumularem óleo em vários os órgãos, os mesmos podem alternar na sua composição química e percentual dos elementos conforme com a localização geográfica.

As características terapêuticas e organolépticas dos óleos essenciais em geral, se devem a presenças de monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides entre outros compostos voláteis. São muito relevantes para a indústria farmacêutica, agrônômica, itens alimentícios, produtos sanitários, indústrias de cosméticos e perfumes. Nessas ultimas usados especialmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrância. Já na indústria farmacêuticas por sua ação antibacteriana, atividades antifúngica e inseticida (RAYBAUDI-MASSILIA; MOSQUEDA-MELGAR; MARTI, 2006).

Para Portella *et al.* (2014) os óleos essenciais são comercialmente relevantes devido à presença de terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos em grandes quantidades e as suas utilizações em indústrias de condimentos, perfumes, drogas e outros. Há em torno de 55 mil terpenóides já isolados fazendo parte seja do metabolismo primário ou secundário de tal gênero de planta com, cerca de 12 mil alcalóides e 8 mil compostos fenólicos já identificados.

Knaak e Fiuza (2010) colocam que alguns óleos essenciais têm alta toxicidade, ação repelente, inibidores da alimentação, além de exercerem influência no desenvolvimento de organismos vivos, como os insetos.

O Brasil está dentre os maiores produtores de óleos essenciais, ocupando a 3º posição, estando atrás apenas dos EUA e França, e teve uma arrecadação estimada em US\$ 147 milhões no ano de 2007. Entretanto desse volume, 91% consiste em óleo essencial de cítricos, especialmente laranja (80%), subprodutos da indústria de sucos e de baixo preço (US\$ 2,18/kg). O Brasil gera e exporta por ordem de importância óleos de laranja, limão, eucalipto, pau-rosa, lima e capim-limão entre outros (FERRAZ *et al.*, 2009).

3.3 ATIVIDADE REPELENTE E LARVICIDA

Os primeiros relatos de repelentes foram constatados na literatura greco-romana, tendo como principais formuladores Plínio (23-75 d.C.) e Dioscorides (60 d.C.), que desenvolveram o a utilização de suco de madeira quente (*Artemisia absinthium*) e fruta cítrica, empregados nas vestimentas para repelir insetos (RIBAS; CARREÑO, 2010).

Bueno e Andrade (2010) afirmam que a partir do início do século XX, diversos produtos naturais foram usados como repelentes de insetos. Nos dias de hoje dentre os repelentes botânicos mais avaliados estão o piretro, a citronela e a andiroba.

O uso de substâncias provenientes de plantas medicinais e aromáticas no controle de insetos-praga tem sido amplamente pesquisada. Diversas plantas nativas e exóticas detêm de metabólitos secundários capazes de monitorar diversas espécies de organismos. As plantas inseticidas podem ser utilizadas na forma de pós, extratos e óleo (PEDOTTI-STRIQUER; BAUNGAERTNER; FAVERO, 2006).

A definição da palavra repelente é bastante discutida pelo meio científico, onde Schreck (1977) define repelente como um químico que atua sobre insetos provocando um estímulo de fuga desses para longe de superfícies previamente tratadas. Já McMahon, Krobe e Guerim (2003) falam que repelentes são compostos que atuam em fase de vapor inibindo a resposta de artrópodes a atraentes.

Ribas e Carreño (2010) complementam este conceito afirmando que repelentes são substâncias aplicadas sobre a pele, roupas e superfícies que afastam a aproximação de insetos. Sua utilização diminui o risco de transmissão de diversas

doenças infecciosas e reações imunoalérgicas resultado da picada de tais artrópodes. Os repelentes químicos tópicos são os mais utilizados ao redor do mundo, porém, seu uso, até mesmo em áreas endêmicas, acontece de maneira inapropriada, não assegurando uma proteção adequada.

O repelente ideal precisa conter as seguintes características: apresentar eficiência prolongada contra uma vasta variedade de artrópodes; não irritar a pele rapidamente após sua aplicação sobre ela ou sobre vestimentas; não afetar a roupa manchando-a, branqueando-a ou enfraquecendo o tecido, permanecendo na roupa depois lavagens repetidas; ser inerte para plásticos de uso rotineiro possuir resistência à água e ao suor e não deixar resíduos oleosos na pele; não ser tóxico; ter efeito com duração prolongada; ter custo viável que possibilite seu uso frequente; e não ser agressivo ao meio ambiente (RIBAS; CARREÑO, 2010).

Para Knaak e Fiuza (2010) as substâncias repelentes ou atraentes das plantas são, sobretudo de natureza terpênica e se demonstram como moléculas de baixo peso molecular e volátil. Estas substâncias, normalmente, são conhecidas como aromáticas e se denominam óleos essenciais, os quais se acumulam em todos os órgãos vegetais. Nos vegetais, os óleos essenciais desenvolvem atividades em relação com sua volatilidade, agindo na atração de polinizadores, na proteção contra predadores, nos patógenos, na perda de água, na elevação de temperatura e também desempenhando atividades ecológicas, inclusive como inibidoras de germinação.

Essas particularidades tornam as plantas que os geram importantes fontes de agentes biocidas, o que é amplamente estudada nos agroecossistemas, especialmente no que concerne às atividades bactericida, fungicida e inseticida. Os óleos essenciais têm como importantes constituintes os monoterpenos, seguidos pelos sesquiterpenos, além de compostos aromáticos de baixo peso molecular (KNAAK; FIUZA, 2010).

Os repelentes, para serem apontados como de alta eficiência precisam exercer efeito de proteção prolongada, por oito horas ou mais, contra todos os artrópodes: mosquitos voadores (*Aedes* e *Anopheles*), carrapatos, barbeiro, pulga, ácaros, entre outros (RIBAS; CARREÑO, 2010).

De acordo com Correa e Salgado (2011) as principais famílias de plantas promissoras, com óleos essenciais empregados para repelir insetos são *Cymbopogon* spp., *Ocimum* spp. e *Eucalyptus* spp. Mesmo que, financeiramente, os produtos sintéticos ainda sejam vantajosos e extensamente empregues os produtos naturais

têm o potencial de propiciar repelência eficaz e mais segura ao homem e ao meio ambiente.

De uma maneira geral, a ação larvicida seria a habilidade de uma substância de eliminar larvas, podendo a mesma serem de origem biológica ou químicas, onde a primeira haveria de ser através micro-organismos e a segunda através de substâncias sintetizadas ou extraídas de plantas. A redução dos movimentos larvais é o passo inicial sinal de um produto com atividade larvicida (TORRES *et al.*, 2014). A eliminação de larvas é mais importante, especialmente em pontos estratégicos e no bloqueio de transmissão (BOTTI, 2010).

De acordo com Zara *et al.* (2016) o monitoramento químico consiste na utilização de produtos químicos, que podem ser neurotóxicos para matar larvas e insetos adultos é um o modelo de controle indicado mediante a utilização racional e seguro para o meio ambiente e para a população, é complementar às atuações de vigilância e manejo ambiental, devido à possibilidade de seleção de vetores resistentes aos produtos e da geração de impactos ambientais.

Como uma opção de controle químico, determinados compostos naturais, como óleos essenciais de plantas, têm sido investigados para confirmação de atividade larvicida contra o *Ae. aegypti*. As peculiaridades de alguns grupamentos químicos estruturais desses compostos ou a combinação entre eles podem atribuir aumento ou diminuição da atividade larvicida (ZARA *et al.*, 2016).

A utilização de inseticidas para restrição de populações de mosquitos adultos (adulticidas) e na sua forma larvária (larvicidas) pode ser feito por através do tratamento focal e perifocal nos depósitos de formas imaturas de mosquitos que não tenham a possibilidade de ser eliminados mecanicamente. O tratamento perifocal consiste na colocação de uma camada de adulticida de ação residual nas paredes externas dos criadouros situados em pontos estratégicos, através de aspersion manual, e está recomendado para localidades recém-infestadas como ação complementar ao tratamento focal em pontos estratégicos (ZARA *et al.*, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu diversas estratégias para a restrição de populações de *Ae. aegypti*, em especial a utilização de produtos químicos e biológicos integrados a programas de manejo ambiental capazes de eliminar formas larvais e insetos adultos (TORRES *et al.*, 2014).

Constatando a vasta flora do Brasil surgem vários estudos a partir de extratos vegetais no intuito de descobrir outras substâncias com ação repelente e larvicida.

Diversos estudos já comprovam a ação de extratos para essa atividade incluindo alguns óleos essenciais.

3.4 FAMÍLIA SIPARUNACEAE (A. DC.) SCHODDE

A família Siparunaceae (A. DC.) Schodde são plantas neotropicais pertencente ao grupo principal *Angiospermas* (plantas florescentes). É composta de dois gêneros o *Glossocalyx* Benth e o *Siparuna* Aublet. O *Glossocalyx* Benth consiste em um gênero mono-específico da África Ocidental, já o gênero *Siparuna* Aublet consiste em um gênero com cerca de 60 espécies distribuídas mundialmente (THE PLANT..., 2013).

No Brasil, a Família Siparunaceae (A.DC.) Schodde tem 20 espécies registradas, com distribuição em todos os estados da região Norte, é encontrada também em todos os estados da região Nordeste, no Distrito federal e em todos os estados da região Centro-Oeste, se faz presente também em todos os estados do Sudeste e na região Sul, apenas no estado do Paraná como pode ser observado nos Estados destacados na figura 1 (FLORA DO BRASIL, 2015).

As especeis da família Siparunaceae estão distribuídas em todas as regiões da Amazônia que são planícies, avançando em áreas das Guianas que são protegidas, levando a concluir que essa família criou uma adaptação em lugares com altitudes como a região dos Andes (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

Segundo Silva e Silva (2008) em sua forma vegetativa de vida a família pode ser facilmente conhecida pelo hábito arbóreo ou arbustivo, assim como pela combinação das seguintes características: odor cítrico desagradável ou fétido de toda a planta (daí o codinome indígena caá-pitiú = planta de cheiro ruim), devido à ampla concentração de óleos essenciais.

Estudos fitoquímicos acerca da composição química de espécies da família Siparunaceae, a literatura relata a existência de terpenos, alcaloides e flavonoides, além da riqueza em óleos essenciais (FISCHER *et al.*, 1999).

Figura 1 - Distribuição da Família Siparunaceae (A.DC.) Schodde no Brasil indicado pelas regiões coloridas



Fonte: Flora do Brasil (2015)

3.4.1 Características botânicas da família Siparunaceae

Em geral possuem folhas simples, elípticas, decussadas, verticiladas ou opostas, de margens inteiras a denteadas ou serradas, sem estípulas; pecíolo de tamanhos variável; ramos cilíndricos com nós achatados; certas espécies são totalmente glabras à medida que a outras demonstram diversos tipos de indumento de pêlos nas folhas ou nos ramos; pêlos simples, estrelados ou escamosos (HALL; MEIRELES, 2017).

As inflorescências são cimosas, agregando flores não vistosas, actinomorfas ou assimétricas, monoclamídeas, com receptáculo floral bastante desenvolvido, cercado totalmente os estames ou carpelos, exceto por um poro central, anteras com deiscência valvar (abertura única), gineceu apocárpico, carpelos imersos no receptáculo, óvulos unitegmentados. Os frutos múltiplos são compostos por unidades drupáceas que se desenvolvem dentro do hipanto. No Brasil encontram-se

em diversos os estados, exceto Rio Grande do Sul e Santa Catarina (HALL; MEIRELES, 2017).

3.5 GÊNERO SIPARUNA AUBLET

O gênero *Siparuna* Aublet tem como sinônimas *Bracteanthus* Ducke, *Citriosma* Ruiz & Pav. e *Conuleum* Richard ex. A. Richard, é constituído de 74 espécies de árvore, arbustos e arvoretas, sendo que as árvores podem alcançar 20 a 40 metros de altura, com troncos de diâmetros maiores que 120 cm, que se encontram em geral na Amazônia (RENNER; HAUSNER, 2005). No Brasil, de acordo com a lista de Espécies da Flora do Brasil (2015), foi catalogada 20 espécies, com distribuição no Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), no Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte), no Centro Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso), no Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, rio de Janeiro e São Paulo), e no Sul (Paraná).

3.5.1 Estudos Etnobotânicos do Gênero *Siparuna* Aublet

De acordo com Rover (2006) o gênero *Siparuna* possui diversas aplicações na medicina tradicional, dentre eles, podemos mencionar a utilização para o combate a dores reumáticas, ao beri-beri, contusões, dor de cabeça, gripe, dor de garganta, febre, como estimulante, diurético, estomático e emenagogo.

Em diversos países da América, a decocção de folhas da *S. guianensis* é utilizada como bebida contra as desordens estomacais. As folhas são utilizadas para compressas ou cataplasmas contra dor de cabeça e reumatismo. No Panamá e Guiana, extratos são utilizados para matar insetos daninhos ou como inseticidas. Na Guiana, as folhas são também utilizadas para preparar armadilhas para peixes devido ao típico odor da espécie que disfarça o cheiro do homem. Nas vizinhanças do Suriname, a decocção realizada das folhas é utilizada como bebida ou para banho após o parto, usadas como remédio anti-malária. (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

Diversas tribos indígenas atribuem utilidades a *Siparuma guianensis*. A exemplo, os índios Tikuna que habitam próximo ao rio Amazonas, entre os países do Peru, Colômbia e Brasil, usam os frutos para dispepsia e indigestão, outra tribo

conhecida como Kubeo, que está localizada próxima ao rio Negro, usam as folhas para mordedura de cobras e produzem chá dos frutos para aliviar congestão nasal, a tribo dos Waorani, do Equador, trituram os frutos e folhas para fazer composto pungente que usada no rosto e cabeça para tratar febre e dores de cabeça e a infusão das folhas é aplicada como febrífugo (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

Segundo Valentini *et al.* (2011) no Estado do Mato Grosso, suas folhas são usadas em banhos para sinusite, no Vale do Aricá, cidade de Cuiabá, as folhas são usadas na forma de chá e banhos para fraqueza e malina e, na Aldeia Pakueran, em Paranatinga, as folhas fervidas são usadas em banho para febre e “quentura” na cabeça, tipo de enxaqueca. Em Nova Xavantina, o sumo de suas folhas com mastruz é relatado como medicinal para pós-operatório. Pelas recomendações de raizeiros, a folha na forma de decocto e infuso é recomendada para malina, resfriado, banho de descarrego para mau olhado, sendo para isso ser associada à quina, assim como para hipertermia e hemoptise.

No Equador, os Quechuas tratam herpes utilizando a casca aquecida nas áreas infeccionadas, à medida que as folhas aromáticas são esfregadas na testa e extremamente inaladas para tratar dor de cabeça. Os brasileiros utilizam decocto das folhas como carminativo e estimulante, enquanto pessoas no Panamá utilizam decocto de folha para frios, gás intestinal e mordedura de serpente. O Surinamês se utiliza de decocto das folhas como banho antes do parto (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

3.5.2 Atividade Biológica do Gênero Siparuna

Os odores e sabores característicos dos óleos essenciais são os responsáveis pelas suas aplicações, assim como pelas suas variadas atividades biológicas, como antibacteriana, antifúngica, antioxidante e outras. Essas atividades, atribuídas a esses compostos, representam, de certo modo, uma extensão do papel ecológico que eles exercem nas plantas, fazendo proteção contra bactérias, vírus e fungos fitopatogênicos (BAKKALI *et al.*, 2018).

De acordo com o descrito no Quadro 1 é possível visualizar algumas atividades biológicas no gênero Siparuna.

Quadro 1 - Estudos de atividades biológicas do gênero *Siparuna*, tipo de extrato e partes da planta utilizada.

| Parte da Planta | Extrato | Atividades Biológicas | Fonte |
|-----------------|-------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Ramos e folhas | Extrato etanólico | <i>Streptococcus sp</i> | Rover (2006) |
| Ramos e folhas | Extrato etanólico | <i>S. aureus</i> | Bessa <i>et al.</i> (2015) |
| Folhas | Extrato etanólico | <i>Strongyloides venezuelensis</i> | Carvalho (2017) |
| Folhas | Óleo essencial | <i>Strongyloides venezuelensis</i> | Carvalho (2017) |

Fonte: Autor (2018)

No estudo de Carvalho (2017) sobre a atividade antiparasitária a *Siparuna guianensis* demonstrou in vitro através do óleo essencial e do extrato etanólico e suas frações potencial antiparasitário para as variadas formas de *S. venezuelensis*.

Bessa *et al.* (2015) revelam o potencial antibacteriano do óleo essencial de *S. guianensis* contra o *S. aureus* nas concentrações de óleo bruto (380 µg. ml⁻¹), óleo diluído a metade (190µg.mL⁻¹) e óleo diluído para um quarto (95 µg ml⁻¹), e zonas de inibição do crescimento medindo 12 mm, 11 mm e 10 mm. Para outros tipos de microrganismo não obtiveram êxito.

3.6 ESPÉCIE *Siparuna guianensis* Aublet

De acordo com Renner e Hausner (2005) a *S. guianensis* dentre as espécies do gênero *Siparuna* uma das primeiras a serem citadas por Aublet na *Histoire des plantes de La Guiana Française* (1775). Podem ser encontradas do norte da América do Sul ao Paraguai em regiões de planícies florestais primárias e em secundárias altas que vão até 1200 metros, podendo ultrapassar esse tamanho e chegar em 1400 metros.

A espécie *Siparuna guianensis* há muito tem sido descrita por diferentes taxonomistas como pertencente à família Monimiaceae e citadas sob essa classificação em diversos textos em conformidade com o sistema APG II (Grupo para a Filogenia das Angiospermas) que classificou em 2003 o gênero *Siparuna* Aublet como pertencente à família Siparunaceae (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

A *S. guianensis* Aublet pertencente à família Siparunaceae é uma espécie neotrópica usada para recomendações etnobotânicas e para manutenção de biomas.

No Brasil, localiza-se, especialmente no Cerrado, no qual essas plantas são nativas e abundantes. Contudo, as suas reservas encontram-se ameaçadas por não estarem legalmente protegidas (PORTELLA *et al.*, 2014).

A *S. guianensis* é um arbusto podendo chegar até 3 metros de altura, possui folhas simples, membranáceas, de margens lisas e aromáticas. Se desenvolve bem à sombra, o que auxilia a germinação e estabelecimento da planta, comum em florestas chuvosas, inclusive ao longo dos rios, e em savanas (JAVAÉ, 2014; PEIXOTO, 2015).

3.6.1 Características Botânicas da espécie *Siparuna guianensis* Aublet

De acordo com Fonseca e Miranda (2017) a *Siparuna guianensis* é uma árvore monoica de baixo/médio porte com altura entre 3,5 e 9 metros, sempre-verde, polinizada por abelhas e outros pequenos insetos, dispersa por aves. É uma espécie que se encontra em ambientes disjuntas de cerrado no domínio da Amazônia.

Segundo Renner e Hausner (2005) possuem também casca cinza e lisa, baixos ramos jovens cilíndricos, mais achatados nos nós, com insignificantes pelos estrelados. As são folhas simples, membranáceas, de margens lisas, opostas; pecíolos de 0,5-1,5 cm de tamanhos são alongadas a elípticas ou lanceoladas, com 10-22x4-10 cm, a base obtusa, o ápice acuminado, inclinado 0,5-1 cm de comprimento, a superfície inferior com 9-11 pares de nervuras secundárias levemente salientes em cima como podem ser observadas na figura 2.

Figura 2 - Folhas de *S. Guianensis*



Fonte: Autor (2016).

O receptáculo frutífero (frutos ou pseudofrutos, dependendo da preferência de terminologia) é múltiplo cupuliforme, globoso, densamente coberto com pelos estrelados, desprovidos de cobertura estilar, com 0,68-1,32 cm de comprimento 0,67-1,37 cm de diâmetro, cúpula receptacular siconiforme (RENNER; HAUSNER, 2005).

Os receptáculos novos e maduros exalam odor extremamente desagradável, constantemente cítricos; são vermelho-esverdeados e racham para abrir e apresentar o interior amarelado e revelar as sementes (4-10 sementes). Abrem-se irregularmente formando câmaras com frutíolos drupóides elipsóides, papilosos, recobertos por excrescência carnosa branca, com 4,2-5,8 mm de comprimento 3,6-4,5 mm de diâmetro. Há uma semente por frutíolo, elipsóide, bege, 4,2-5,8 mm 2,5-3 mm de diâmetro testa lisa (APPROBATO; GODOY, 2006).

Segundo Magalhães (2016) a floração em *S. guianensis* acontece na transição do período seco para chuvoso entre agosto e outubro, e a frutificação ocorre apenas no período chuvoso nos meses de dezembro a março. O fruto é múltiplo envolto por um receptáculo carnoso e coberto por pelos estrelados podendo ser visualizados na figura 3. Quando maduros, os frutos se abrem e têm uma superfície carnosa na qual se acham os frutíolos drupóides. O fruto pode ter um total de dois a doze frutíolos, onde cada frutíolo tem uma semente em média com 3-4 mm de diâmetro cada como pode ser visualizado na figura 3 e 4.

Figura 3 - Fruto da *S. guianensis*



Fonte: Autor (2017).

A *S. guianensis* é polinizada no decorrer a noite por mosquitos como Cecidomyiidae pertencentes aos gêneros *Asynapta*, *Clinodiplosis* e *Dasineura*. Os Mosquitos fêmeas pousam sobre as flores e inserem o abdômen na abertura do botão floral e, então, movem-se ritmicamente por sobre ele um ou dois minutos durante o qual elas depositam os ovos nas flores (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010).

Figura 4- Frutos Maduros de *S. guianensis*



Fonte: Autor (2016).

3.6.2 Composição Química da Espécie *Siparuna guianensis*

Valentini, Rodríguez-ortíz e Coelho (2010) afirmam que a integração dos óleos de folhas frescas e secas, bem como, do caule e frutos, altera entre países, bem como entre distintas regiões geográficas no mesmo país, e dentro da mesma região em conformidade com as estações do ano (VALENTINI; RODRÍGUEZ-ORTÍZ; COELHO, 2010). Corroborando com isto, Valentini *et al.* (2010) afirmam que há variação nos componentes voláteis da planta influenciada pelas condições climáticas. Uma maior composição volátil da *S. guianensis* é encontrada no período reprodutivo da planta, de floração e frutificação e menor em períodos vegetativos.

Bessa *et al.* (2011) relatam a existência de distintos grupos de metabólitos nas folhas, sendo verificada a presença de saponinas, fenóis e taninos, catequinas,

esteroides e triterpenos, depsídeos e depsinonas, azuleno, cumarinas, alcaloides e flavonoides.

Valentini *et al.* (2010) descreve uma composição do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* de sesquiterpenos, os monoterpenos oxigenados mais presentes em períodos chuvosos e de brotação da espécie, os sesquiterpenos hidrocarbonetos predominaram na fase de transição de chuvoso para seco no final da frutificação e início da brotação, os sesquiterpenos oxigenados na transição do período chuvoso para seco e com intensa brotação. Os não terpênicos mostraram-se predominantes quando ocorreu a diminuição dos compostos sesquiterpenos oxigenados, período de seca e com a planta apresentando botões florais e flores. A siparunona também foi o componente majoritário.

3.7 ESPÉCIE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

De acordo com Ribas e Carreño (2010) no Brasil, doenças causadas por picadas de mosquitos são recorrentes causando surtos e epidemias em centros urbanos avançados técnico e economicamente no qual teoricamente, deveria existir saneamento básico e desenvolvimento ordenado que facilitassem o monitoramento dos vetores. A Amazônia é um ambiente infestado por diversos insetos vetores de doenças endêmicas transmitidas por picadas e, desse modo é também uma região na qual não há a possibilidade de controle, a prevenção primária.

O *Ae. aegypti* é um mosquito que veio de origem africana, onde há grupos selvagens e domésticos. Foi primeiramente descrito no Egito, o que lhe deu seu nome *Ae. aegypti*, esse mosquito tem se deslocado junto com a espécie humana na sua constante migração e se espalhando para outros continentes (BRAGA; VALLE, 2007a).

Em 1881 Carlos J. Finlay identificou *Ae. aegypti* como agente transmissor da febre amarela. Bancroft em 1906 relatou que a espécie também transmitia o vírus da dengue, que posteriormente foi afirmado por Agramonte e Simmons em 1906 e 1931 respectivamente (BRAGA; VALLE, 2007a).

Tanto o *Ae. aegypti* quanto o *Ae. albopictus* são significativos vetores de arbovírus para a espécie humana. Todas são espécies vieram do continente africano. Normalmente a ocorrência de epidemias de dengue está de forma direta associada com a existência de seus vetores. Certamente o mosquito chegou no continente

americano pelos navios que vieram da Europa, pelo Oceano Atlântico no decorrer das iniciais explorações e colonizações europeias nos continentes do Novo Mundo. O primeiro registro de identificação do mosquito no Brasil foi feito em 1898, por Lutz, e em 1899, por Ribas (BRAGA; VALLE, 2007a)

Segundo Spenassatto *et al.* (2011) esse mosquito é pertencente à ordem Díptera, subordem Nematóceras, família Culicidae, e subfamília Culicinae, evidencia-se por ser o principal vetor da febre amarela urbana, dos vírus dengue sorotipos 1 a 4 em seres humanos, do vírus Chikungunya e o Zika vírus. Apresenta-se na coloração escura, saindo do castanho pálido para o escuro, com manchas branco-prateada no tórax e nas pernas, e um desenho de “lira” no mesonoto, detém como particularidade ecológica uma boa adaptabilidade ao ambiente urbano e doméstico.

Segundo Braga e Valle (2007b) a espécie *Ae. aegypti* tem distribuição global e mostra-se em geral, dentre as latitudes 35° Norte e 35° Sul o quadro 3 traz a distribuição do *Ae. aegypti* nos continentes e os principais países ocorrentes. O mosquito também restringe sua atuação em altitudes. Geralmente não é encontrado em locais com mais 1.000 metros de altitude, porém sua presença já foi encontrada a alturas maiores de 2.000 metros, na Índia e na Colômbia. No quadro 2 é possível observar a distribuição geográfica do *Ae. aegypti*.

Nos dias atuais, o vetor é achado em uma grande região do continente americano, que se abrange do Uruguai até o sul dos Estados Unidos, e em muitos países como o Brasil, Venezuela, Paraguai e Cuba esse vetor apresenta surtos de arboviroses (BRAGA; VALLE, 2007a).

Quadro 2 - Distribuição geográfica de registros de ocorrência espacial do *Ae. aegypti* no mundo em 2014.

(Continua)

| <i>Aedes aegypti</i> | | | | | | | | |
|----------------------|--------|------|----------------------|----------|-----|---------------------|-----------|------|
| | País | N | | País | N | | País | N |
| Américas | Brasil | 5044 | Europa/África | Senegal | 112 | Ásia/Oceania | Taiwan | 9490 |
| | EUA | 436 | | Camarões | 55 | | Indonésia | 603 |
| | México | 411 | | Quênia | 52 | | Tailândia | 495 |

Quadro 2 - Distribuição geográfica de registros de ocorrência espacial do *Ae. aegypti* no mundo em 2014.

(Conclusão)

| <i>Aedes aegypti</i> | | | | | | | | |
|----------------------|-------------------|-----|----------------------|-----------------|----|---------------------|-----------|-----|
| | País | N | | País | N | | País | N |
| Américas | Cuba | 177 | Europa/África | Tanzânia | 44 | Ásia/Oceania | Índia | 423 |
| | Argentina | 170 | | Costa do Marfim | 40 | | Austrália | 282 |
| | Trinidad e Tobago | 152 | | Nigéria | 35 | | Vietnam | 223 |
| | Venezuela | 130 | | Madagascar | 28 | | Malásia | 112 |
| | Colômbia | 128 | | Gabão | 27 | | Singapura | 44 |
| | Porto Rico | 120 | | Mayotte | 20 | | Filipinas | 36 |
| | Peru | 89 | | Serra Leoa | 20 | | Camboja | 39 |

Fonte: Kraemer *et al.* (2015)

O *Ae. aegypti* foi apontado como uma espécie erradicada no Brasil em 1955. Contudo, no fim dos anos 1960 registra-se sua reintrodução no Brasil facilitada através das fronteiras existentes entre os estados da Região Norte e países como a Venezuela e as Guianas, nos quais essa espécie ainda não tinha se tornado erradicada (MARTINS *et al.*, 2010).

Nos dias atuais, a dispersão do *Ae. aegypti* atinge as 27 Unidades da Federação, com mais de 3.587 cidades infestadas pelo vetor. A dengue, por exemplo, representa nas últimas décadas como importante causa de morbidade e mortalidade (VIANA; IGNOTI, 2013).

O impacto da dengue e da Chikungunya sobre a saúde pública aumentou rapidamente nos últimos 50 anos, com ambas as doenças se espalhando para novas localizações geográficas e expandindo a ocorrência dentro de sua faixa (KRAEMER *et al.*, 2015).

3.7.1 Ciclo de vida do *Ae. aegypti*

Segundo Viana e Ignoti (2013) a dinâmica sazonal do vetor da dengue está frequentemente correlacionada às alterações e flutuações climáticas, que incluem: elevação da temperatura, mudanças na pluviosidade e umidade relativa do ar, situações que favorecem maior contingente de criadouros disponíveis e em consequência o desenvolvimento do vetor. Este último mostra duas fases diferentes: a aquática, com as etapas de desenvolvimento de ovo, larva e pupa, e a terrestre, que condiz ao mosquito na forma adulta, estando ambas as fases sujeitas às mudanças ambientais e meteorológicas.

De acordo com Brasil (2001) os mosquitos passam por um processo de mudanças no seu desenvolvimento sendo o ciclo de vida dividido em quatro fases: ovo, larva (L1, L2, L3 e L4), pupa e mosquito adulto (Figura 5). Este ciclo normalmente se manifesta em um reduzido intervalo de tempo, sendo capaz de variar entre 10 e 15 dias, o qual está intimamente relacionado a temperatura, oferta de alimento e densidade populacional do criadouro (HONORIO, 1999).

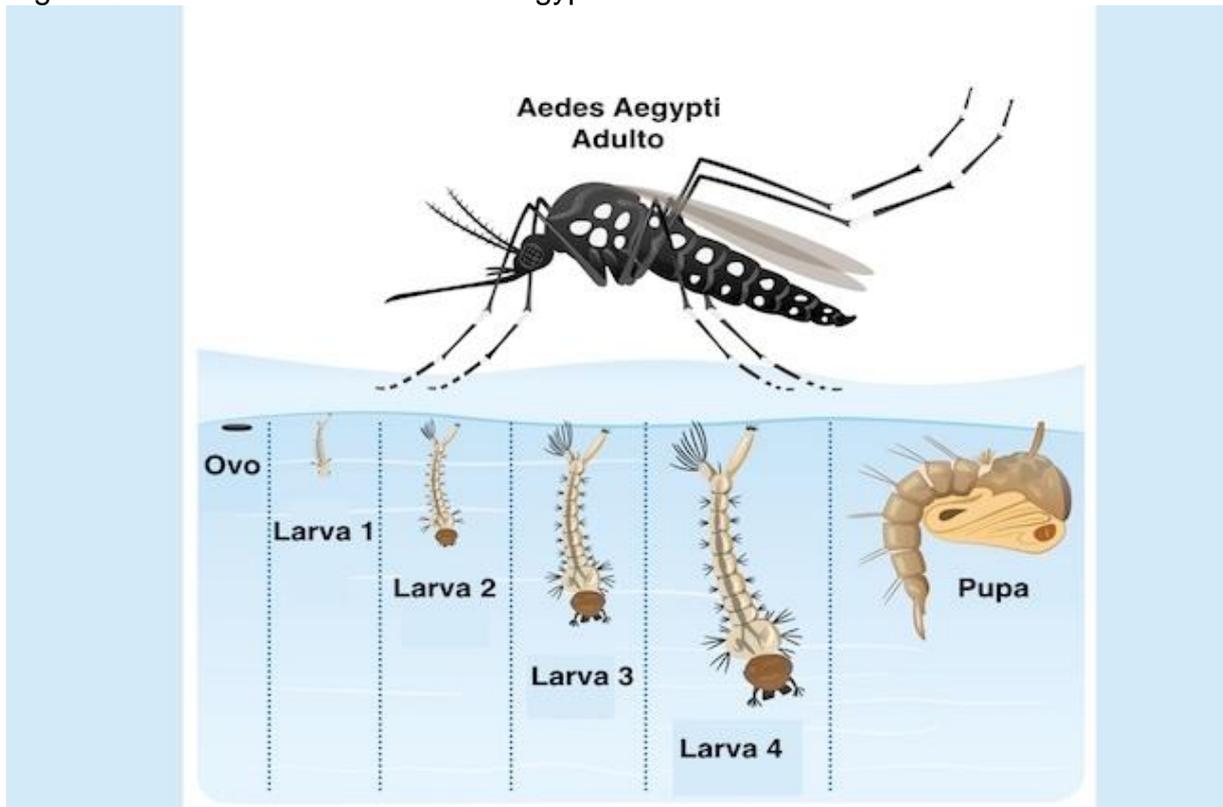
Os ovos têm tamanho de 1mm de comprimento, são colocados pelas fêmeas nas paredes dos criadouros perto da superfície da água, depois que completam o desenvolvimento esses ovos podem resistir a dissecação por mais de um ano podendo eclodir novamente em contato com a água (BRASIL, 2001).

A segunda fase é a larvária que serve para alimentação e crescimento, utilizando o material orgânico do criadouro, sendo esse processo em quatro fases. Essa fase vai depender das condições do ambiente podendo durar de cinco dias a semanas (BRASIL, 2001).

Segundo Brasil (2001) na terceira fase que é a de pupa, elas não se alimentam, pois nesse período vão fazer a metamorfose, saindo da fase larvária para a adulta. Elas se mantem flutuando na superfície de forma a facilitar a saída do mosquito da água.

A fase adulta do mosquito é a reprodutora, ele apresenta-se na cor escura com faixas brancas, a diferença do macho para a fêmea é que eles apresentam antenas plumosas e palpos mais longos. Quando se reproduzem, apenas uma fecundação já oferta a fêmea inseminação para ela produzir pela vida inteira. Por se alimentarem de sangue, são as fêmeas que transmitem o vírus da dengue no ciclo da doença (BRASIL, 2001).

Figura 5 – Ciclo de vida do *Aedes aegypti*



Fonte: <https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/>

De acordo com Braga e Valle (2007b) o *Ae. aegypti* é um mosquito que já se adaptou ao ambiente urbano e usa os recipientes presentes no domicílio ou nos arredores como tanques de água e vasilha, potes, barris, pneus velhos, garrafas, vasinho de plantas, calhas de telhado, folhas, troncos para depositarem suas larvas e ali completarem seu desenvolvimento larvário. O *Ae. aegypti* usa o período diurno para alimentação e ovoposição, principalmente no amanhecer e no crepúsculo.

3.8 ARBOVIROSES TRANSMITIDAS PELO *Aedes aegypti*: DENGUE, CHIKUNGUNYA, ZIKA VÍRUS E FEBRE AMARELA

3.8.1 Dengue

Dengue, febre de Chikungunya, febre pelo vírus Zika e febre amarela são doenças de notificação compulsória, e estão presentes na Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública (BRASIL, 2017a).

A dengue é uma patologia viral sistêmica aguda que se instituiu globalmente nos ciclos de transmissão endêmica e epidêmica (BHATT *et al.*, 2013). Segundo Braga e Valle (2007b) a ocorrência de dengue tem crescido nas últimas décadas. A patologia encontra-se em mais de 100 países e revela mais de 2,5 bilhões de pessoas ao risco de contraí-la nas regiões urbanas, periurbanas e rurais dos trópicos e subtropicais.

A dengue é endêmica na África, nas Américas, no Leste do Mediterrâneo, no Sudeste Asiático e no Oeste do Pacífico. Embora a maior parte dos casos aconteça no Sudeste Asiático e no Oeste do Pacífico, há um sucessivo crescimento na ocorrência de dengue e dengue hemorrágica nas Américas. Até a década de 70, apenas nove países registraram epidemias de Febre Hemorrágica da Dengue (FHD). Em 1995, esse contingente tinha ampliado mais de quatro vezes. Se em 1950, eram notificados, em média, 900 casos de FHD por ano, no período de 1990 a 1998, eles eram mais de 500 mil. Em 1998, um total de 1,2 milhões de casos de dengue e FHD foram comunicados à OMS, com 15.000 mortes (BRAGA; VALLE, 2007b).

Bhatt *et al.* (2013) estimam que houveram 96 milhões de infecções aparentes em dengue mundialmente em 2010. Em 2016, foram constatados 1.483.623 casos prováveis de dengue, e em 2015, 1.688.688 no Brasil. Em 2017, foram registrados 214.990 casos prováveis de dengue no país, com uma ocorrência de 104,3 casos/100 mil hab., e outros 175.990 casos suspeitos se tornaram descartados. Em 2017 a região Nordeste mostrou o maior contingente de casos prováveis sendo 80.447 casos (37,4%) em relação ao total do país. Em sequência, surgem as regiões Centro-Oeste com 64.370 casos (29,9%), Sudeste com 47.290 casos (22,0%), Norte com 20.428 casos (9,5%) e Sul com 2.455 casos (1,1%) (BRASIL, 2017a).

Constatou-se 83 óbitos por dengue até julho de 2017. No mesmo período de 2016, foram confirmados 675 óbitos. Existem ainda, em 2017, 209 casos de dengue grave ou dengue com sinais de alarme e 222 óbitos em verificação que podem ser confirmados ou descartados (BRASIL, 2017a).

De acordo com Guzman *et al.* (2010) a febre da dengue e a dengue hemorrágica são patologias virais transmitidas por artrópodes notáveis. Todos os anos, existem 50 milhões de infecções por dengue e 500.000 indivíduos são hospitalizados com dengue hemorrágica especialmente, no Sudeste Asiático, Pacífico e Américas. A enfermidade é estabelecida por qualquer um dos quatro sorotipos do vírus da dengue. Uma metodologia global destinada a estender a eficiência de vigilância e resposta a

surtos, a alteração de comportamentos e a diminuição da carga de doenças utilizando o gerenciamento integrado de vetores em parceria com o diagnóstico adiantado e assertivo foi adotada. Os fármacos antivirais e as vacinas que estão nos dias de hoje em desenvolvimento também podem cooperar de maneira importante para o monitoramento da dengue no futuro.

Bhatt *et al.* (2013) afirmam que há empenhos atuais para diminuir o foco da transmissão da dengue no vetor que envolvem combinações de focagem química e biológica dos mosquitos *Ae. aegypti* e manejo de lugares de reprodução.

A reemergência de epidemias de dengue clássica e a emergência da febre hemorrágica de dengue são alguns dos maiores problemas de Saúde Pública da segunda metade do século XX. Para isso, têm concorrido as transformações demográficas e o ativo fluxo migratório rural-urbano, que geraram um desenvolvimento desordenado nas cidades, inexistência de boas condições de saneamento básico e, como resultado a multiplicação do vetor. Inúmeros surtos têm sido informados, em todos os cinco continentes. A distribuição geográfica da febre de dengue é global e envolve países tropicais e subtropicais (BRAGA; VALLE, 2007b).

3.8.2 Chikungunya

O Chikungunya vírus (CHIKV) é um alfavírus originário da África, o qual circula em complexos ciclos silvestres na África envolvendo vetores do gênero *Aedes* e primatas não humanos, com 3 genótipos: África Ocidental, Leste/Central/Sul da África e Ásia. Depois de ser isolado em 1952, na Tanzânia, a primeira emergência documentada do CHIKV ocorreu com sua entrada no sudeste asiático e na Índia, instalando-se em um ciclo circunstancial de transmissão urbana que permanece até agora no qual o *Ae. aegypti* é o principal vetor. A segunda emergência do CHIKV ocorreu no Quênia, em 2004, se disseminando pelos anos seguintes por várias ilhas do Oceano Índico, compreendendo a Índia e sudeste asiático. Em 2006, nas Ilhas da Reunião localizada no Oceano Índico próximo da Madagascar, uma epidemia foi decorrência de mutações virais levando a uma transmissibilidade mais eficiente pelo *Aedes albopictus* (HONORIO *et al.*, 2015).

Segundo Honório *et al.* (2015) transmissão autóctone também foi encontrada na Itália e França, onde o *Ae. albopictus* atuou como vetor. Em outubro de 2013, o CHIKV chegou às Américas pelo Caribe, resultando em milhares de infecções. No

Brasil, a transmissão autóctone foi encontrada em setembro de 2014, na cidade de Oiapoque no Estado do Amapá. Ao longo de 2014 constatou-se 2.772 casos de CHIKV, distribuídos em seis Unidades Federativas: Amapá com 1.554 casos, Bahia com 1.214, Distrito Federal com 2, Mato Grosso do Sul com 1, Roraima com 1 e Goiás com 1. Em 2015 até março foram confirmados 1.513 casos autóctones sendo esses 735 no Amapá, onde foi reconhecido o genótipo asiático e 778 casos na Bahia, onde foi reconhecido o genótipo africano.

Segundo Brasil (2017a) em 2016 foram constatados 277.882 casos prováveis de febre de Chikungunya, e em 2015, 20.901 casos no Brasil. Em 2017 até setembro foram constatados 171.930 casos prováveis de febre de Chikungunya no país, com uma incidência de 83,4 casos/100 mil hab., destes, 121.734 (70,8%) foram confirmados e outros 36.334 casos suspeitos foram descartados.

Ainda em 2017 a região Nordeste mostrou o maior contingente de casos prováveis com 130.910 casos (76,1%) em relação ao total do Brasil. Em sequência, surgem as regiões Sudeste com 22.789 casos (13,3%), Norte com 14.888 casos (8,7%), Centro-Oeste com 3.081 casos (1,8%) e Sul com 262 casos (0,2%). Foram confirmados laboratorialmente 99 óbitos por Chikungunya, sendo que o maior número destes ocorreu nos meses de abril (n=25; 25,3%) e maio (n=34; 34,3%). No mesmo período de 2016, foram confirmados 204 óbitos (BRASIL, 2017a).

De acordo com Honório *et al.* (2015) a infecção por CHIKV ocasiona uma síndrome febril de início súbito e debilitante que, em virtude da intensidade dos sintomas articulares, deram origem ao nome Chikungunya, que, no idioma africano Makonde, quer dizer “andar curvado”. A artralgia pode afetar até 80% dos pacientes e persiste no decorrer de meses e até mesmo anos. O espectro das manifestações reumáticas e musculoesqueléticas pós-Chikungunya envolvem persistência da dor, até artrite reumatoide, que se manifesta em cerca de 5% dos pacientes. O quadro articular crônico interfere na qualidade de vida do indivíduo com impactos econômicos importantes devido à diminuição da produtividade.

O espectro clínico da patologia pode alternar com casos graves e possivelmente óbitos ocorrendo em pacientes com comorbidades, idosos e crianças. O CHIKV provoca doença neurológica em idosos e recém-nascidos, podendo ser fatal. A transmissão vertical foi relatada pela primeira vez no decorrer a epidemia nas Ilhas da Reunião localizada no Oceano Índico próximo da Madagascar e ocorreu em 50% das mulheres com infecção viral no parto. A transmissão de mãe para filho é incomum,

mas todos os recém-nascidos infectados no período do trabalho de parto apresentaram enfermidade sintomática com manifestações graves (50%), havendo a inclusão de encefalopatia em 90% dos casos. A gravidade do Chikungunya em recém-nascidos e o encargo da paralisia cerebral necessitam de medidas preventivas e terapêuticas, que precisam ser precedidas de constatação da infecção materna (HONORIO *et al.*, 2015).

A dengue e o Chikungunya tornaram-se crescentes problemas de saúde pública nos últimos cinquenta anos. Atualmente, cerca de meia parte da população global corre o risco de adquirir uma infecção por dengue, à medida que os surtos de Chikungunya, precedentemente restritos a África e Ásia, foram há pouco tempo relatados no Caribe, América do Sul e Europa (KRAEMER *et al.*, 2015).

3.8.3 Zika Vírus

De acordo com Chouin-Carneiro *et al.* (2016) o vírus Zika (ZIKV) da família Flaviviridae e gênero Flavivirus foi inicialmente isolado de um macaco rhesus na floresta Zika de Uganda em 1947. A partir de então, manifestou-se fora de sua faixa de distribuição natural, África e Ásia, ou seja, na Micronésia em 2007, Polinésia Francesa em 2013, Nova Caledônia em 2014, Ilha de Páscoa em 2014, as Ilhas Cook em 2014 e há pouco tempo no nordeste do Brasil em maio de 2015, o momento de partida de uma pandemia nas Américas com 26 países americanos que declararam transmissão ZIKV ativa.

Apesar de os relatórios indiquem que a maior parte das infecções geram sinais e sintomas leves de erupções cutâneas, febre, artrite ou artralgia e conjuntivite, infecções novas foram associadas a efeitos de doenças mais graves com complicações neurológicas ou auto-imunes como a síndrome de Guillain-Barré e microcefalia. Este vírus tem um elevado potencial de crescimento geográfico em países onde os mosquitos *Aedes spp* estão presentes (CHOUIN-CARNEIRO *et al.*, 2016).

Em 2016, foram constatados 216.207 casos prováveis de febre pelo vírus Zika no Brasil, foram constatados confirmados laboratorialmente 8 óbitos por vírus Zika, sendo no Rio de Janeiro 4 óbitos, no Espírito Santo 2 óbitos, no Maranhão 1 óbito e na Paraíba 1 óbito (BRASIL, 2017a).

Em 2017 até julho foram constatados 15.586 casos prováveis de febre pelo vírus Zika no país, com taxa de ocorrência de 7,6 casos/100 mil hab, destes, 6.679 (42,9%) foram confirmados. A análise da taxa de ocorrência de quadros prováveis de Zika de acordo com regiões geográficas, mostra que as regiões Centro-Oeste e Norte exibem as maiores taxas de incidência com 35,9 casos/100 mil hab. e 13,9 casos/100 mil hab.,. Entre as Unidades da Federação, destacam-se Tocantins com 62,0 casos/100 mil hab., Mato Grosso com 59,4 casos/100 mil hab. e Goiás com 53,3 casos/100 mil hab. Em relação às gestantes, foram constatados 2.105 casos prováveis, sendo 728 confirmados por critério clínico-epidemiológico ou laboratorial (BRASIL, 2017a).

3.8.4 Febre Amarela

A Febre Amarela causou um número considerado de mortes ainda no século XVIII e século XX, com várias epidemias na América do Sul, África, América do Norte, Europa e caribe (BRASIL, 2017b). De acordo com Franco (1969) em seu livro a História da Febre Amarela no Brasil a primeira ocorrência de epidemia da Febre Amarela no Brasil começou em Pernambuco, na sua capital Recife em 1685, o vírus teria vindo de uma embarcação oriunda de São Tomé na África que fez uma escala na cidade de Santo Domingo onde a doença já estava dizimando à população local.

A Febre amarela é transmitida aos humanos pelos mosquitos *Ae. Aegypti*, *Sabethes* e *Haemagogus*. Sendo que há um ciclo de transmissão silvestre e urbana, porém a doença se manifesta da mesma forma nos dois ciclos (TAUIL, 2010). Segundo Brasil (2017b) a Febre Amarela é uma doença infecciosa causada pelo vírus do Gênero *Flavivirus*.

As manifestações clínicas da doença podem se dar de três formas com diferentes sintomas sendo elas: Leve ou moderada – onde ocorre o quadro de febre, cefaleia, mialgia, náuseas, icterícia ausente ou leve; Grave – onde ocorrem todos os citados anteriormente mais icterícia intensa, hemorragias, oligúria, diminuição da consciência; Maligna – todos os sintomas da forma grave de forma intensificada (BRASIL, 2017b). A vacinação contra a febre amarela é o meio mais eficaz atualmente de prevenção contra a doença, a dose é de 0,5ml (BRASIL, 2018b).

Segundo Brasil (2018b) em outubro de 2017 no estado de São Paulo ocorreu a morte de cinco macacos no Parque Horto Florestal com o vírus da Febre amarela o

que levou a um estado de alerta, entre os meses de julho de 2017 e junho de 2018 foram notificados 1.080 casos suspeitos de Febre amarela no Brasil, deste 213 já foram confirmados e 81 evoluíram a óbito.

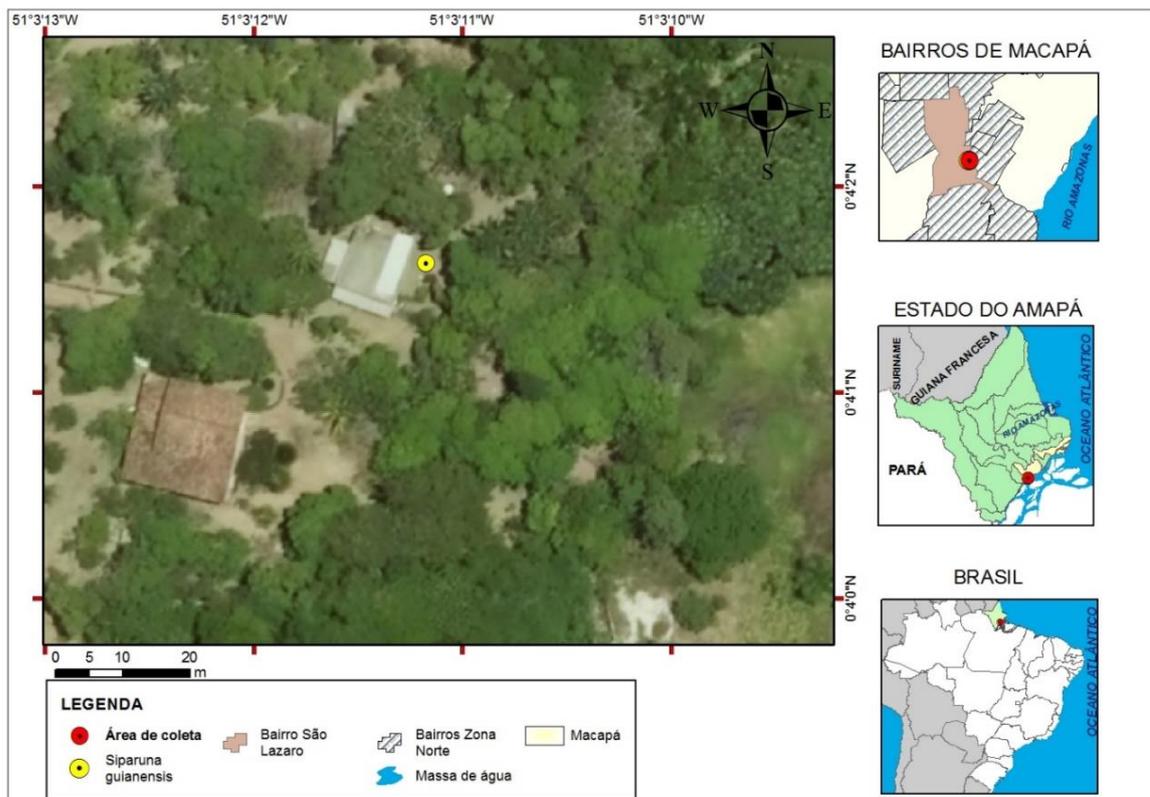
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *Siparuna guianensis* foram coletadas na cidade de Macapá (figura 6), Coord.: Lat. 00o 4' 6,26052" N Long.: 51o 2' 57,43356" W, no estado do Amapá, Brasil no mês de setembro de 2016 período de verão e baixa precipitação – Mapa 1.

O material botânico coletado para a confecção de exsicatas, foi processado conforme as técnicas usuais para coleta e de acordo com Fildalgo e Bononi (1984), sendo posteriormente encaminhado ao Herbário Amapaense HAMAB, localizado no IEPA para identificação e depósito, o qual recebeu o n° 001, LIMA, Y. M. S., 13/09/2016. O HAMAB participa da Rede Brasileira de Herbários, e dispõe de Biólogos, credenciados ao Conselho de gestão do Patrimônio genético (CGEN), órgão ligado ao Ministério do Meio Ambiente (MMA), como fiel depositaria para o Amapá.

Mapa 1 - Georreferenciamento da área onde foi coletado o material vegetal



Fonte: IEPA, IMAP e IBGE 2017
Elaborador: Rosiney Ferreira

4.2 EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *S. guianensis* foram processadas no Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção (LAAB) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), onde foram lavadas com água corrente para a remoção de sujidade, sendo posteriormente trituradas. Foi pesado uma mostra fresca de 200g do material triturado e colocado em Erlenmeyer de 1000 mL, onde foi adicionado água destilada até imersão. A extração do óleo essencial foi feita através da técnica hidrodestilação por meio de aparelho do tipo Clevenger por um período aproximado de 3 horas, contando a partir da formação da primeira gotícula de óleo no condensador. O óleo obtido foi armazenado em tubo de ensaio (vidro), tampado e refrigerado a 7° C.

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo obtido a partir das folhas de *S. guianensis* foi analisado através da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM) no Laboratório Multiusuário de Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). A cromatografia foi realizada usando um instrumento Shimadzu modelo GCMS-QP2010 Ultra. Foi utilizado uma coluna capilar RTX-5MS (5% Difenyli / 95% Dimetil polissiloxano) com 30 cm (comprimento) / 0.25 mm de Diâmetro Interno / 0.25 um df. O hélio foi usado como gás transportador a uma taxa de fluxo de 3,0 mL / min e pressão de entrada de 57,0 kPa. A temperatura do forno da coluna GC passou de 60 ° C a 250 ° C a uma taxa de 3° C / min, com um tempo de equilíbrio de 3 min. Os constituintes do óleo foram identificados usando compostos de referência padrão e combinando o padrão de fragmentação de espectro de massa com a Biblioteca de Espectro de Massa NIST armazenada no banco de dados CG-MS.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA

4.4.1 Obtenção das Larvas

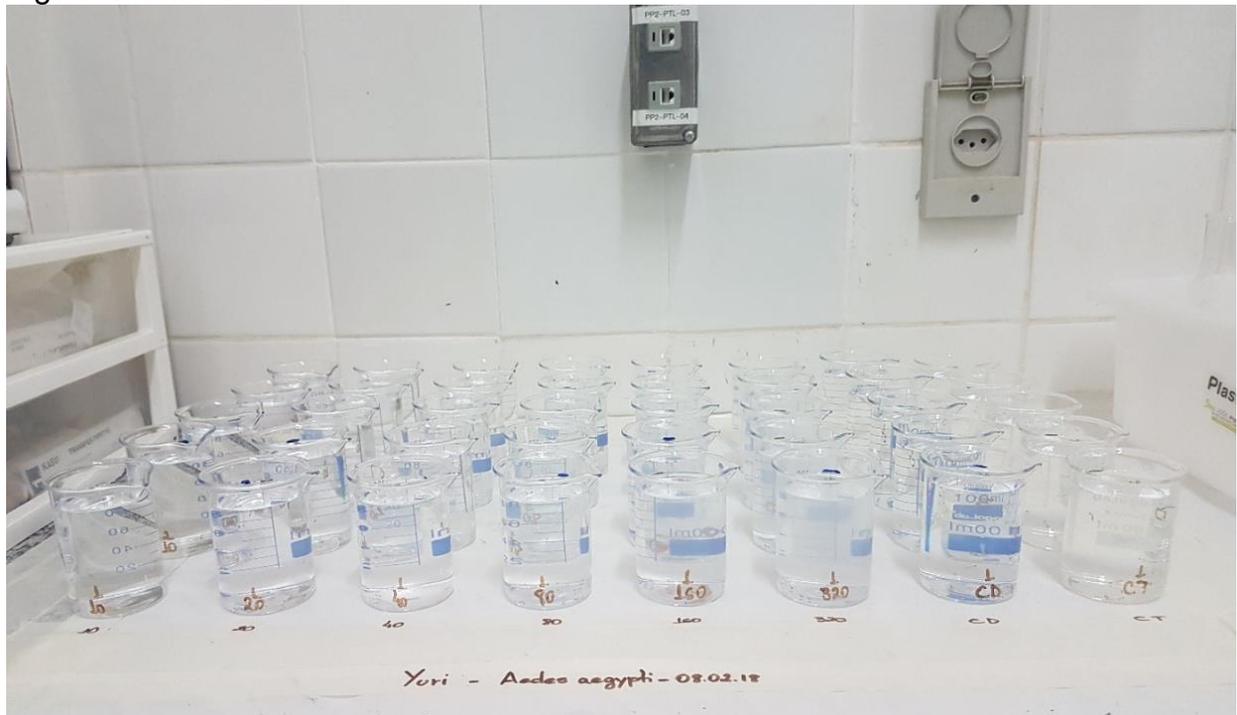
As larvas do *Ae. aegypti* foram obtidas no Laboratório de Arthropoda (ARTHROLAB) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Iniciando o processo com ovos para gerar larvas, sendo utilizadas todas em 4° estágio de desenvolvimento,

no sentido de evitar que durante os experimentos atingissem o estágio de pupa. Foram mantidas em condições climáticas padronizadas em uma sala medindo 12 m² (3m x 4m), com temperatura e umidade controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75\pm 5\%$ respectivamente) e fotoperíodo de 12 horas como preconiza a World Health Organization (2009).

4.4.2 Ensaios Biológicos da Atividade Larvicida

Para a realização dos ensaios biológicos da atividade larvicida para *Ae. aegypti* foram testadas concentrações de óleo essencial equivalentes a 10, 20, 40, 80, 160 e 320 mg/L. O teste foi feito em quintuplicata, com dois grupos controle, água destilada e o tensoativo (DMSO) utilizado para solubilização do óleo. Para cada tratamento utilizou-se um Becker com 100 mL de água destilada, onde adicionou-se 80 mL de água destilada e em seguida adicionados as concentrações do óleo a ser utilizado, e posteriormente as larvas de *Ae. aegypti*. Após isso foi completado o volume até 100 mL. Ao total, foram utilizados 40 beakers de 100 mL e um total de 400 larvas, 10 para cada becker. A técnica utilizada foi adaptada de World Health Organization (2005) vista na figura 6.

Figura 6 - Teste Larvicida



Fonte: Autor (2018)

Foram utilizadas 10 larvas por grupos testes, sendo a leitura da mortalidade realizada nos períodos de 4h, 8h, 12h, 24h e 48h horas após as larvas serem expostas às soluções. As larvas foram consideradas mortas quando for observado ausência total de movimentos voluntário ou por estimulação exaustiva externa do recipiente com pipetas Pasteur.

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE REPELÊNCIA

4.5.1 Obtenção dos mosquitos *Aedes Aegypti*

Para a realização do ensaio foi utilizado o protocolo padrão de avaliação de repelentes em humanos, recomendado pela World Health Organization (WHO, 2009). Utilizou-se fêmeas adultas, cepa Rockefeller, pertencentes a espécie *Ae. aegypti* provenientes da colônia mantida no insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá.

4.5.2 Teste de Atividade de Repelência

Foram feitas três concentrações: 250, 500 e 1000 mg/L, para cada realizou-se quatro repetições. Os mosquitos utilizados no ensaio de repelência foram fêmeas de *Ae. aegypti* adultas com idade variando entre 4 a 15 dias obtidas. A dieta dos indivíduos adultos foi constituída de solução açucarada a 10% para machos e fêmeas e sangue de codorna (*Coturnix coturnix*) procedimento padrão do laboratório.

Para participação do experimento foram selecionados 20 voluntários com idades entre 18 e 45 anos, sem antecedentes de reações alérgicas a picada de mosquitos e sem enfermidades dermatológicas aparentes. Foram excluídos da pesquisa os participantes que apresentarem reações alérgicas a picadas de mosquitos e enfermidades dermatológicas. Todos os voluntários que participaram foram informados sobre os objetivos da pesquisa a metodologia e os possíveis efeitos adversos dos produtos antes de assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (APENDICE A).

Antes da realização dos bioensaios de repelência foi solicitado a cada participante a abstinência de produtos hidratantes no corpo por 12 horas antes do ensaio. No dia do experimento cada participante procedeu com lavagem dos

antebraços e mãos com água e sabão neutro. Posteriormente, os antebraços foram higienizados com álcool 70% e deixado secar completamente.

O bioensaio foi realizado entre 10:00 às 16:00 horas, em uma sala com temperatura de 28 a 30°C e umidade relativa de 70 a 80 %. Para a realização do experimento, 50 mosquitos fêmeas foram acondicionados em gaiola de tamanho 40cm³ e mantidos em jejum por 24 horas. Uma área de 3x10cm foi marcada no antebraço direito de cada voluntário, região destinada à aplicação de até 1 mL de cada produto em estudo, incluindo os controles negativo (veículo) e positivo, neste caso foi usado um repelente comercial (OFF®) a base DEET (Dietil Toluamida) equivalente a 15%, sendo o restante da área do braço protegida com plástico filme para evitar o contato com os mosquitos e as mãos com luvas de procedimento. Antes do início dos ensaios o braço controle negativo foi introduzido na gaiola até a confirmação de pelo menos 10 pousos ou picadas, que usualmente ocorre em 15 segundos.

Para dar início aos ensaios os produtos testes e controles foram aplicados 30 minutos antes, posteriormente o braço foi introduzido na gaiola com a presença dos mosquitos, deixando a área do antebraço exposta por um período de 3 minutos, sendo contado o número de pousos e permanência do mosquito e/ou picadas. Todos os testes foram realizados em quatroplacata para cada concentração e controles com intervalos de 30 min.

Para calcular o tempo de proteção, expresso em minutos, para cada teste foi aquele transcorrido entre o tempo de aplicação da substância na pele do voluntário e a confirmação da primeira picada e/ou pouso do mosquito por um período de 15 segundos. O percentual de proteção contra picadas foi determinado através da formula proposta por Rutledge *et al.* (1985):

$$(\%) \text{ de proteção} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de picadas no controle negativo} - \text{N}^{\circ} \text{ picadas no óleo}}{\text{N}^{\circ} \text{ de picadas no controle negativo}} \times 100$$

As proporções de inibição de picar determinadas foram transformadas em média e desvio padrão em conjunto e separadamente por espécie de mosquito. As comparações entre médias dos tratamentos foram feitas pelos Teste de Anova e Tukey P <0,05 analisadas no programa Prisma 5.03

4.6 ANÁLISES DE DADOS

Para se estimar os valores de CL50 (concentração letal) e da CL90 da atividade larvicida de *S. guianensis* frente às larvas de *Ae. aegypti*, foi utilizada a análise Probit levando em consideração os tempos 24 e 48 horas. Foi utilizado o software StatGraphic Centurium XXV.1 (StatEase Co. MA. USA).

A CL e TL (tempo letal) foram determinados pela análise probit. Os dados de mortalidade foram corrigidos usando a fórmula de Abbott. As diferenças significativas entre os valores foram determinadas pelo uso de análise de variância seguida do teste de Tukey ($P < 0,01$ e $P < 0,05$). A análise estatística foi realizada utilizando o SISVAR 4.6, e os gráficos foram produzidos usando SIGMA PLOT 11.0 (Systat Software, Inc. San Jose, EUA).

Os dados de eficácia do óleo essencial das folhas de *S. guianensis* foram expressos por meio da estatística descritiva de tendência de centralidade e dispersão (média e desvio padrão). Foi utilizado o teste ANOVA two way seguido pelo pós-teste de Bonferrone, a fim de analisar a significância entre os resultados em comparação com o grupo controle. O programa computacional GraphPad Prism 5.03 foi utilizado para tais análises com nível de significância de 0,05, 0.001 e 0,0001

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

Conforme o que trata a Resolução 466/2012 sobre as pesquisas envolvendo seres humanos, esta foi submetida para avaliação e apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal respeitando os preceitos éticos e legais. Sendo aprovada através do parecer com o número 2.4230.779 no dia 12 de dezembro de 2017 (ANEXO C).

4.7.1. Riscos

Os riscos antecipáveis em decorrência da participação na pesquisa restringem-se ao aparecimento de vermelhidão no local da aplicação e eventuais reações alérgicas devido à sensibilidade ao óleo ou a picada. Neste caso o voluntário que apresentou reações de sensibilidade foi afastado do ensaio.

4.7.2 Benefícios

A pesquisa teve como benefício descobrir se as amostras com os óleos de *S. guianensis* possuem ação larvicida e repelente frente a *Ae. aegypti*, o mosquito transmissor da dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela, possibilitando o uso das amostras desenvolvidas como medida auxiliar na prevenção destas doenças.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

O rendimento obtido foi de 0,83% de óleo essencial (OE) de *S. guianensis*, partindo de 200g de folhas, que renderam 1,47 mL de OE. Ferreira *et al.* (2017) em estudo sobre a sazonalidade e composição química do óleo essencial da *Siparuna guianensis* tiveram como rendimento 0,33% e 0,29% no outono e inverno respectivamente, e nas estações de verão e primavera foram 0,22% e 0,18, mostrando que nestas estações os rendimentos são inferiores e em todas as estações os rendimentos foram menores que no presente estudo. No bioma Cerrado onde ocorreu o estudo as estações de outono e inverno caracterizam-se por fases de seca e variação de temperaturas no dia e a noite, na primavera e verão as precipitações são maiores e as variações de temperatura durante o dia são menores. Acreditando a diferença de rendimento está relacionada a alta precipitação do período, porém é na primavera que ocorre a frutificação e brotação da planta.

Para o cálculo do rendimento foi utilizado a formula abaixo:

$$\% \text{ de óleo essencial} = \frac{\text{Volume do óleo essencial obtido (mL)}}{\text{Massa de material vegetal (g)}} \times 100$$

Silva, Valentini e Barros (2015) demonstram um cenário diferente de variação sazonal da espécie que uma maior quantidade do óleo de *Siparuna guianenses* é obtido em fases reprodutivas da planta, quando está ocorrendo a emissão de botões florais, flores e frutos, sendo o período vegetativo o de menor rendimento de óleo desta forma deve-se evitar a extração neste período.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *SIPARUNA GUIANENSIS*

O óleo essencial de *Siparuna guianensis* passou por Cromatografia Gasosa. Foram identificados 78 compostos, entre eles os majoritários foram: Terpinoleno (68,27%) e α -Muurolol (10,61%) dispostos integralmente na Tabela 1 e Anexos A e B.

Tabela 1 - Compostos fitoquímicos, números de picos, tempo de retenção e estrutura química de cada composto presente no óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

(Continua)

| PICO | COMPOSTO | TEOR % |
|------|--|--------|
| 22 | Terpinolene | 68.27 |
| 76 | α -Muurolol | 10.61 |
| 14 | α -Phellandrene | 2.24 |
| 63 | γ -Cadinene | 2.19 |
| 16 | α -Terpinene | 1.58 |
| 15 | 3- δ -Carene | 1.34 |
| 18 | Limonene | 1.31 |
| 13 | Myrcene | 1.31 |
| 64 | δ -Cadinene | 1.11 |
| 45 | Methyleugenol | 1.04 |
| 60 | Bicyclogermacrene | 0.49 |
| 32 | p-8-Cymenol | 0.43 |
| 44 | β -Elemene | 0.42 |
| 40 | 2-Undecanone | 0.39 |
| 36 | 3-Isopropylidene-5-methyl-hex-4-en-2-one | 0.37 |
| 73 | Ledol | 0.37 |
| 75 | Epicubenol | 0.34 |
| 31 | 7-octatriene-2-ol | 0.33 |
| 59 | Cubebol | 0.31 |
| 17 | p-Cymene | 0.29 |
| 67 | α -Cadinene | 0.29 |
| 78 | α -Cadinol | 0.28 |
| 54 | Cadina-1(6),4-diene | 0.25 |
| 56 | D-Germacrene | 0.25 |
| 39 | Safrene/Safrol | 0.25 |
| 6 | α -Pinene | 0.25 |
| 21 | γ -Terpinene | 0.24 |
| 48 | β -Gurjunene/Aristolene/Calarene | 0.22 |
| 27 | Oxirane, 2-(hexyn-1-yl)-3-methoxymethylene-/cis-Myroxide | 0.19 |
| 47 | cis- β -Caryophyllene | 0.17 |
| 70 | Spathulenol | 0.17 |
| 69 | Palustrol | 0.16 |
| 19 | trans- β -Ocimene | 0.16 |
| 20 | β -Ocimene | 0.16 |
| 58 | γ -Amorphene | 0.13 |
| 66 | 1,4-Cadinadiene | 0.12 |
| 26 | p-1,3,8-Menthatriene | 0.12 |
| 52 | Alloaromadendrene | 0.11 |
| 25 | Cosmene | 0.11 |
| 3 | Cis-3-Hexenol | 0.10 |
| 53 | Cis-Muurolo-4(14),5-diene | 0.09 |
| 46 | α -Gurjunene | 0.09 |
| 11 | β -Pinene | 0.08 |

Tabela 1 - Compostos fitoquímicos, números de picos, tempo de retenção e estrutura química de cada composto presente no óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

| (Conclusão) | | |
|-------------|---|--------|
| PICO | COMPOSTO | TEOR % |
| 34 | 3,5-Nonadien-7-yn-2-ol, (E,E)- | 0.07 |
| 50 | Cadina-3,5-diene | 0.07 |
| 51 | α -Caryophyllene | 0.07 |
| 43 | α -Copaene | 0.07 |
| 49 | Cadina-3,5-diene | 0.06 |
| 65 | Isoledene | 0.06 |
| 24 | Unidentified | 0.06 |
| 38 | 3-Tetradecyn-1-ol | 0.05 |
| 4 | N-Hexanol | 0.05 |
| 61 | α -Amorphene | 0.05 |
| 29 | 1,2-Dimethyl-3-vinyl-1,4-cyclohexadiene | 0.04 |
| 41 | Bicyclogermacrene | 0.04 |
| 71 | Cubebol | 0.04 |
| 35 | Unidentified | 0.04 |
| 42 | α -Cubebene | 0.04 |
| 57 | β -Eudesmene/ β -Selinene | 0.04 |
| 55 | γ -Muurolene | 0.04 |
| 2 | 2-Hexanol | 0.03 |
| 7 | 2-Nitrohexane | 0.03 |
| 12 | 3-Methylcyclohex-3-en-1-one | 0.03 |
| 68 | Elemicin | 0.03 |
| 74 | Epicubenol | 0.03 |
| 72 | Ledol | 0.03 |
| 33 | Unidentified | 0.03 |
| 37 | Unidentified | 0.03 |
| 30 | 1-Nonanol | 0.02 |
| 23 | Linalool | 0.02 |
| 10 | Methyl 2-methoxypropenoate | 0.02 |
| 28 | Methyl phenylacetate | 0.02 |
| 62 | α -Guaiene | 0.02 |
| 5 | α -Thujene | 0.02 |
| 77 | δ -Cadinol | 0.02 |
| 1 | 3-Hexanol | 0.01 |
| 9 | Camphene | 0.01 |
| 8 | Unidentified | 0.01 |

Fonte: Autor (2017)

O composto majoritário dessa espécie é o Terpinoleno (68,27%), que é pertencente à família dos terpenos, classe dos monoterpenos, encontrada principalmente em frutas cítricas como a manga. Este composto é conhecido essencialmente pela ação anti-inflamatória (FRANCO; RODRIGUEZ-AMAYA; LANÇAS, 2004). Seguido do α -Muurolol (10,61), α -Phellandrene (2,24%), γ -Cadinene

(2,19%), α -Terpinene (1,58%), 3- δ -Carene (1,34%), Limonene (1,31%), Myrcene (1,31%), δ -Cadinene (1,11%), Methyl Eugenol (1,04%).

No presente estudo foi realizada a análise apenas dos componentes das folhas tendo assim um resultado diferente do encontrado por Aguiar *et al.* (2015) em estudo com as folhas, caule e frutos da *Siparuna guianensis* obteve na análise dos componentes químicos das folhas o β -mirceno com 79,71% e 2-undecanona com 14,58%. Do caule foi obtido β -myrcene com 26,91%, δ -elemene com 20,92%, germacrene D com 9,42%, α -limoneno com 7,91% e bicyclo-germacrene com 7,79%). E da fruta foram obtidos a 2-tridecanona com 38,75%, 2-undecanona com 26,5% e β -mirceno com 16,42%.

Ferreira *et al.* (2017) estudaram a composição química do óleo da *Siparuna guianensis*, quando extraído no outono e inverno obteve como compostos principais β -mirceno (48,59%), epicurzerenona (19,31%), germacrene D (9,93%), γ -elemeno (7,39%) e 2-undecanona (5,43%). Sendo que o β -mirceno foi o componente que mais contribuiu na produção do óleo e concentração do óleo foi proporcional a concentração deste componente. Na extração realizada na primavera os compostos que se apresentam em maioria foram o β -mirceno (34,67%), germacrene D (14,34%), epicurzerenona (18,16%), 2-undecanona (6,09%), curzereno (5,91%) e γ -elemeno (5,05%). E no verão os mesmos componentes alguns em concentração menores β -mirceno (24,20%), germacrene D (13,50%), epicurzerenona (27,24%), 2-undecanona (7,26%), curzereno (7,17%) e γ -elemeno (5,94%),

Andrade *et al.* (2012) em estudo com o óleo das folhas frescas de *S. guianensis* identificou 41 constituintes que tinham principalmente como composição hidrocarbonetos sesquiterpenos (41,50%), sesquiterpenos oxigenados (19,40%) e hidrocarbonetos monoterpênicos (17,90%), respectivamente. Como compostos majoritários, foram identificados monoterpene acíclico, β -mirreno (13,14%) e sesquiterpenos germacrene-D (8,68%) e bicyclo-mecanicereno (16,71%).

Silva, Valentini e Barros (2015) tiveram como componentes em amostras de óleo de *Siparuna guianensis* a siparunona como majoritário com variações de composição chegando no valor máximo de 89%, seguidos do espatulenol (22%); 2-undecanona, ácido decanóico e seus derivados (3,93%), ledol (2,54%) e elemol (1,14%).

Diferenças ambientais, de cunho climático, sazonal e geográfico pode inferir diretamente em mudanças na composição química da espécie, como por exemplo,

quando comparados os materiais coletados na região do cerrado brasileiro que tem características de savana aos materiais coletados na Amazônia (AGUIAR *et al.*, 2015).

Ainda sobre os compostos, pode-se observar que os outros dois principais compostos são 1-Naftol (10,61%) e α -felandreno (2,24%). Deve-se destacar a importância na ação inseticida do 1-Naftol, um derivado desse composto associado a quinolina, são usados na fabricação da Naftalina, muito conhecido para afastar pragas domésticas. O 1-Naftol é precursor de um inseticida muito utilizado: Carbacol e é um metabólito que constitui o Carbaryl e o Naftaleno (MEEKER *et al.*, 2006; BOOTH, 2000).

O composto α -felandeno presente no óleo é um monoterpeno cíclico, uma das características dos monoterpenos relacionado a ação inseticida é a inibição da acetilcolinesterase (MARTINS, 2016; MOURA, 2015).

O Limoneno presente no óleo essencial de *Siparuna guianensis*, apesar de em pouca quantidade, precisa ser evidenciado devido sua forte ação larvicida já ter sido descrita por diversos autores, podendo atuar nesse caso em sinergismo com composto majoritário (AGUIAR-MENEZES, 2005).

5.3 ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE AO MOSQUITO *Aedes aegypti*

O bioensaio foi realizado com as concentrações de 10, 20, 40, 80, 160 e 320 mg/L de óleo essencial das folhas de *S. guianensis* em larvas em 4^o estágio de *Ae. aegypti*.

De acordo com a tabela 2, as concentrações de 10 mg/L e 20 mg/ do óleo essencial foram as que apresentaram a menor atividade larvicida, em média 2% e 4% após 48 horas respectivamente. Na concentração de 40 mg/L já apresentou uma média de mortalidade significativa, partindo de 40% na primeira hora, chegando a 86% após as 48 horas de exposição. Já para a concentração de 80 mg/L, obteve-se uma média de mortalidade de 96% na primeira hora e atingindo os 100% em 2 horas de exposição. A partir da concentração de 160 mg/L obteve-se a média 100% da mortalidade já na primeira hora. A eficiência do teste está relacionada com mecanismo de dose-resposta, ou seja, quanto maior a concentração, melhor o resultado.

Tabela 2 - Mortalidade em percentual de larvas de *Ae. aegypti* em bioensaio com óleo essencial de *S. guianensis* entre 1 e 48 horas.

| Tempo (horas) | Concentração | | | | | | |
|---------------|-------------------------|----------|----------|--------------|--------------|----------|---------------|
| | ^a Controle - | 10 mg/L | 20 mg/L | 40 mg/L | 80 mg/L | 160 mg/L | 320 mg/L |
| 1 | 0 ± 0,00 | 2 ± 0.44 | 0 ± 0,00 | 40 ± 0.70*** | 96 ± 0,54*** | 100 ± | 100 ± 0.00*** |
| 2 | 0 ± 0,00 | 2 ± 0.44 | 0 ± 0,00 | 50 ± 0.70*** | 100 ± | 100 ± | 100 ± 0.00*** |
| 4 | 0 ± 0.00 | 2 ± 0.44 | 0 ± 0.00 | 58 ± 1.09*** | 0,00*** | 100 ± | 100 ± 0.00*** |
| 8 | 0 ± 0.00 | 2 ± 0.44 | 0 ± 0.00 | 66 ± 0.89*** | 0,00*** | 100 ± | 100 ± 0.00*** |
| 12 | 0 ± 0.00 | 2 ± 0.44 | 0 ± 0.00 | 68 ± 0.83*** | 0,00*** | 100 ± | 100 ± 0.00*** |
| 24 | 0 ± 0,00 | 2 ± 0.44 | 2 ± 0,44 | 82 ± 0.83*** | 0,00*** | 100 ± | 100 ± 0.00*** |
| 48 | 0 ± 0,00 | 2 ± 0.44 | 4 ± 0,54 | 86 ± 1.14*** | 0,00*** | 100 ± | 100 ± 0.00*** |

* p < 0,05 segundo teste ANOVA two way com pós teste de Bonferrone.

** p < 0,001 segundo teste ANOVA two way com pós teste de Bonferrone.

*** p < 0,0001 segundo teste ANOVA two way com pós teste de Bonferrone.

^a Controle negativo com DMSO

Fonte: Autor (2017)

Os cálculos da CL₅₀ e CL₉₀ foram estimados através de uma análise Probit. Obtendo o valor de 32,9 mg/L na CL₅₀ e 43,47 mg/L na CL 90 em 24 h. E o valor CL₅₀ de 31,6 mg/L e o valor de 42,1 mg/L para a CL₉₀ em 48h. Quando um teste larvicida feito com óleos essenciais obtém valores de CL₅₀ >100 mg/L eles são considerados ineficientes, para ser considerado eficiente os valores têm que ser <100 mg/L, quando esse valor chega a <50 mg/L eles são considerados altamente eficiente (CHENG *et al.*, 2003). Quando os valores das CL₅₀ deste estudo são convertidas os valores de 24 e 48h mostram-se altamente eficientes.

Aguiar *et al.* (2015) realizou estudo similar a esse utilizando o óleo essencial da *Siparuna guianensis*, no qual o óleo essencial retirado do caule, folhas e frutos demonstrou alta toxicidade contra larvas do *Aedes aegypti* e do *Culex quinquefasciatus*, onde os valores da CL₅₀ foram 1,76 mg/L do caule, 0,96 mg/L da folha e 2,46 mg/L dos frutos, e a CL₉₅ 2,44 mg/L do caule, 1,46 mg/L das folhas e 3,76 mg/L dos frutos.

Vivekanandhan *et al.* (2018) em estudo com óleo essencial da semente da *Acacia nilótica* obteve eficácia larvicida contra o *Aedes aegypti* com valores de CL₅₀ de 3,17 mg/L e CL₉₀ de 11,7 mg/L. Diferente disso, Oliveira *et al.* (2013) em estudo com o óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* obteve o valor em 24h de CL₅₀ de

289,9 mg/L e CL₉₀ de 654,9 mg/L, em 48h esse valor diminuiu para CL₅₀ de 134,1 mg/L e CL₉₀ 527,1 mg/L.

Dias e Moraes (2014) fizeram um estudo de revisão sobre os óleos essenciais e compostos larvicidas contra o *Aedes aegypti* e concluíram que uma gama de óleos já foram testados para atividade larvicida, cerca de 361 de 269 espécies de plantas, destes 60% foram considerados eficientes (CL₅₀ < 10 mg/L), sendo a maioria derivados de espécies de Myrtaceae, Lamiaceae e Rutaceae, , destas espécies 27% foram coletadas no Brasil, sendo assim os óleos essenciais são alternativas eficazes na produção de larvicidas contra o *Aedes aegypti*.

No estudo de Oliveira *et al.* (2013) o óleo essencial das folhas de *Piper aduncum* mostraram atividade larvicida com mortalidade em 24h de 100% das larvas nas concentrações de 500 e 1000 mg/L, e de 40% para 250 mg/L, 30% para 100 mg/L, 20% para 50 mg/L e 10% para 10 mg/L, nas concentrações de 500 e 100 mg/L a mortalidade de 100% foi registrada em 10min de teste.

Contribuindo com isso Garcez *et al.* (2013) afirma que a diversidade de espécies vegetais disponíveis nos biomas brasileiros proporciona uma fonte de potenciais agentes eficientes para controle do *Aedes aegypti* como vetor da dengue, sendo de baixa toxicidade para o homem e outros seres vivos, tudo isso baseado em diversos estudos com resultados promissores na busca por substâncias com atividade larvicida e de origem vegetal.

5.4 ATIVIDADE REPELENTE FRENTE A MOSQUITOS *Ae. aegypti*

No ensaio biológico de repelência, o óleo essencial das folhas de *S. guianensis* se mostrou efetivo, protegendo contra boa parte das picadas, por até 180 minutos em comparação com a solução controle (Tabela 3).

No estudo semelhante a este realizado por Aguiar *et al.* (2015) o óleo essencial da *Siparuna guianensis* se mostrou altamente tóxico contra o *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* em todos os estágios de desenvolvimento larval e repelente em mosquitos adultos, sendo assim, mostra um potencial para produção de inseticida natural contra estas espécies.

Tabela 3 - Teste de repelência mostrado através do número de picadas nos tempos de 30 à 180min logrados com o óleo essencial das folhas de *S. guianensis*, nas concentrações de 250 à 1000 mg/L e solução controle para fêmeas adultas de *A. aegypti*.

| Tempo | ^a Controle | 250 mg/L | 500 mg/L | 1000 mg/L |
|-------|-----------------------|----------------|---------------|--------------|
| 30 | 57.33±12.34 | 43.00±11.00*** | 23.66±8.62*** | 5.00±2.64*** |
| 60 | 43.00±6.08 | 31.00±7.00*** | 15.33±7.76*** | 4.00±3.46*** |
| 90 | 38.66±11.01 | 19.00±9.16*** | 17.00±8.18*** | 4.33±2.08*** |
| 120 | 33.33±12.01 | 16.33±4.93*** | 12.66±3.78*** | 4.00±1.73*** |
| 150 | 33.00±10.14 | 17.66±2.08*** | 13.00±2.64*** | 3.66±3.78*** |
| 180 | 39.33±7.81 | 21.00±9.64*** | 12.33±7.76*** | 2.33±0.57*** |

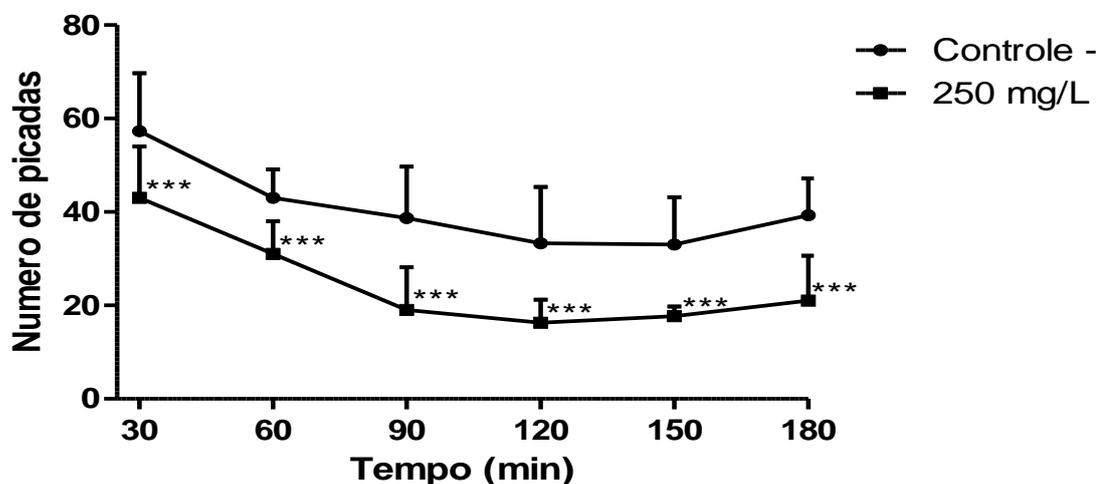
*** p < 0,0001 segundo teste ANOVA com pós teste de Tukey.

^a Controle negativo com DMSO

Fonte: Autor (2017).

Em uma análise comparativa entre as concentrações e o grupo controle, constatou-se que a concentração de 250 mg/L (gráfico 1) possui uma curva semelhante ao controle, tendo como destaque, o tempo de 120 minutos onde ressalta-se o ponto com a menor média de picadas (16,33). No entanto, apesar da diferença entre grupo controle e a concentração, ela não se mostra linear na totalidade., No entanto, como pode ser observado no gráfico abaixo, foi possível perceber que nos tempos de 30, 60 e 90 minutos após aplicação do óleo essencial houve uma diminuição significativa no número de picadas, o qual manteve-se relativamente estável para os demais tempos, com uma ligeira tendência de aumento no número de picadas à medida que o tempo de aplicação do óleo essencial aumentou.

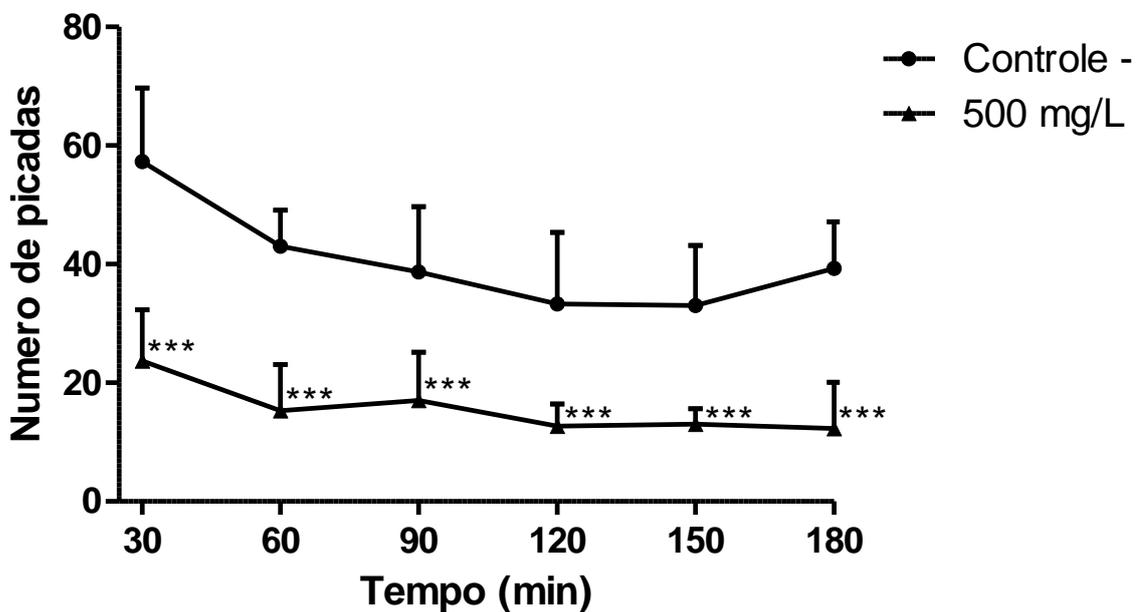
Gráfico 1 - Comparação da concentração de 250 mg/L do óleo essencial de *S. guianensis* com o controle negativo em função do tempo de aplicação do produto.



Fonte: Autor (2017)

Na concentração de 500 mg/L (gráfico 2) verificou-se uma linearidade da curva de resposta em função do tempo, principalmente a partir do tempo de 120 minutos, onde observou-se uma média de picadas de 12,66, permanecendo desta forma até o tempo de 180 minutos. Este resultado demonstra que na concentração de 500 mg/L o tempo de aplicação do produto não influenciou na resposta de repelência do produto testado.

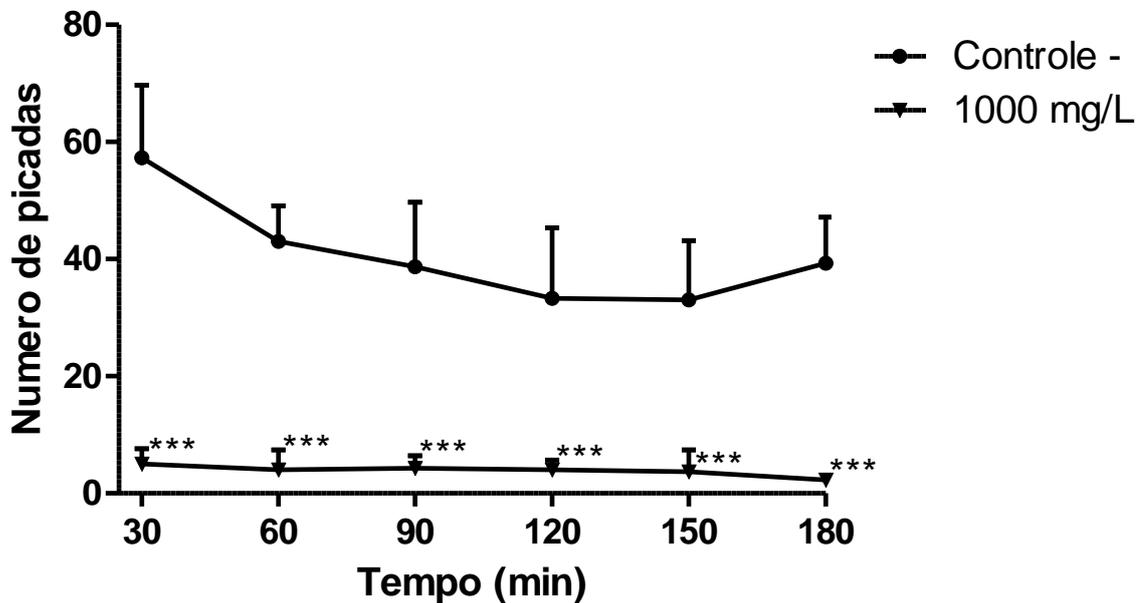
Gráfico 2 - Comparação da concentração de 500 mg/L do óleo essencial de *S. guianensis* com o controle negativo em função do tempo de aplicação.



Fonte: Autor (2017).

A melhor taxa de proteção de repelência ocorreu na concentração de 1000 mg/L (gráfico 3), não havendo diferença entre os tempos de 30 à 180 minutos após aplicação do produto, tendo o valor apenas 2,33 pousos e/ou picadas para o tempo de 180 minutos. Este resultado mostra que o tempo não influenciou no número de pousos e/ou picadas, além de demonstrar um excelente resultado quanto a ação duradoura do produto.

Gráfico 3 - Comparação da concentração de 1000 mg/L do óleo essencial de *S. guianensis* com o controle negativo em função do tempo de aplicação do produto

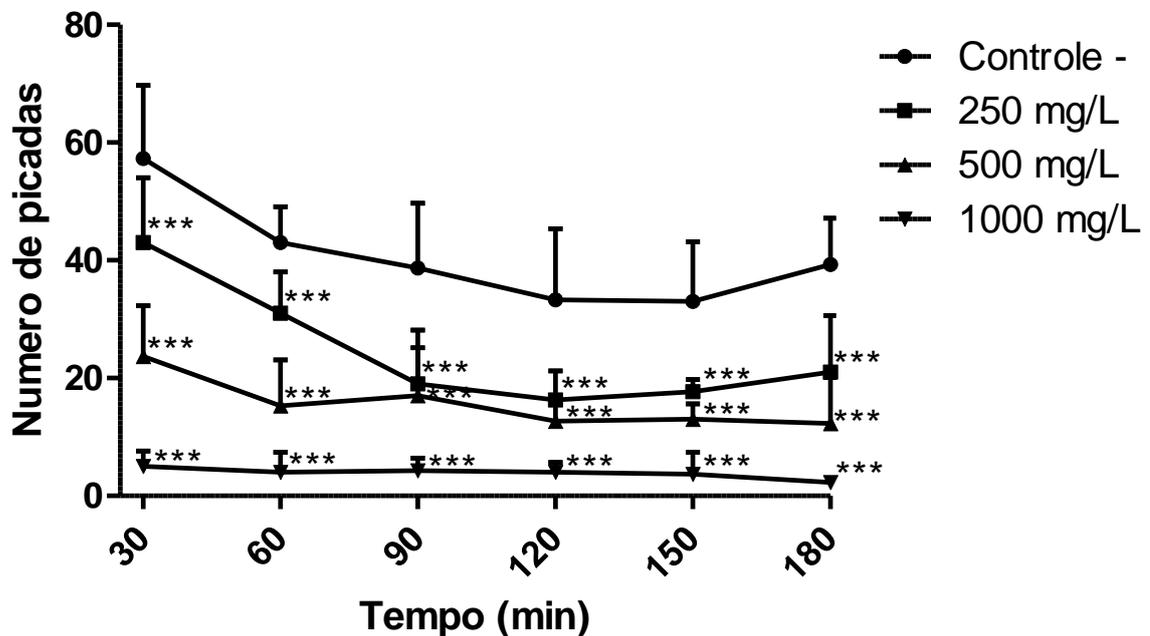


Fonte: Autor (2017)

Ao comparar todas as concentrações com o controle negativo através do teste ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey mostrou uma excelente significância para todas as concentrações (gráfico 4). A taxa de sucesso do bioensaio se mostra crescente e dose-dependente até se tornar estável. Demonstrando a eficácia na proteção contra o pouso e/ou picadas para o repasto de fêmeas de *Ae. aegypti*.

Se utilizar em preparo de uma formulação para utilização como repelente natural, fica evidente a escolha da concentração de 1000 mg/L, pois dentre todas as três concentrações testadas, esta foi a mais linear, demonstrando ter uma boa estabilidade e eficiência mesmo após as 3 horas (180 minutos) da aplicação do produto, podendo esta ação perdurar por tempo superior ao de 180 minutos, porém são necessários outros ensaios complementares para confirmar essa hipótese.

Gráfico 4 - Comparação da concentração de 1000 mg/L do óleo essencial de *S. guianensis* com o controle negativo em função do tempo de aplicação do produto



Fonte: Autor (2017)

A Tabela 4 abaixo apresenta o potencial de proteção de picadas (P) em função do tempo nas diferentes concentrações testadas. Os dados mostram que a melhor proteção ocorreu na concentração de 1000 mg/L, com valores próximos e superiores a 90%, conforme já demonstrado no gráfico acima. Este resultado mostra que o óleo essencial de *S. guianensis* apresenta-se como potente agente repelente, com um bom potencial para o desenvolvimento de um produto com ação repente.

Tabela 4 - Potencial médio de proteção em percentual do teste de repelência com óleo essencial das folhas de *S. guianensis*.

| Concentração | Tempo (Minuto) | | | | | |
|--------------|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 |
| 250 mg/L | 24,99% | 27,90% | 50,85% | 51,00% | 46,48% | 46,70% |
| 500 mg/L | 58,73% | 64,34% | 56,02% | 62,01% | 60,60% | 68,64% |
| 1000 mg/L | 91,27% | 90,69% | 88,79% | 87,99% | 88,90% | 94,07% |

Fonte: Autor (2017)

Aguiar *et al.* (2015) afirma que o óleo de *S. guianensis* tem potencial para ser um excelente componente de formulação de repelente para mosquitos, principalmente contra o *Aedes aegypti*, em seu estudo ele constatou que a concentração acima de

0.438 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ tem mais potencial repelente que de um produto comercializado no Brasil que tem como base o DEET. Para repelir 50% da população de mosquito a concentração foi de 0.438 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 0,450 para repelir 100% em um tempo de 120 min.

Quando comparado a atuação repelente de outros óleos essenciais de plantas o óleo de citronela a 5 e 10 % mostra uma ação de 98,1% e 99%, o óleo de alecrim-de-cheiro tem uma ação de 84,1%, o óleo de eucalipto 72,7%, o de manjerição 68,5%, o óleo de poejo 66,4% com uma repelência intermediária, o óleo de erva-Santa-Maria 52,9% (BUENO; ANDRADE, 2010).

No estudo de Silva (2014), onde foi realizada a avaliação repelente de componentes de óleos essenciais que são encontrados em uma variedade de plantas contra o *Aedes aegypti* α -humuleno apresentou potencial decrescente com o tempo começando com 98,60% chegando ao final do tempo de 2h a 35,15%, o β -cariofileno iniciou com potencial de 100% apresentando queda chegando no final do teste com potencial nulo, o 1,8-cineol partiu com 92,57% de repelência decrescendo ao valor de 14,28%. Ou seja, mesmo que as substâncias iniciem com um considerável potencial de repelência elas não conseguem manter esta atividade ao longo do tempo, desta forma apresentam potencial baixo de repelência.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho atenderam os objetivos propostos e a hipótese aceita neste caso é a hipótese afirmativa de que o óleo essencial da resina de *S. guianensis* é eficaz no combate as larvas do *Ae. aegypti*, assim como apresenta atividade repelente frente aos mosquitos do *Ae. aegypti*. É possível concluir que o óleo essencial das folhas de *S. guianensis*, possui ação larvicida e forte ação repelente para *Ae. aegypti*.

- O óleo essencial obtido através das folhas teve um rendimento de 1,47 mL com 0,83% de massa/volume. E como compostos majoritários se teve o Terpinoleno 68.27% e α -Muurolol 10.61% que juntos representam 78,88% do óleo essencial.

- Com relação aos bioensaios a avaliação da atividade larvicida obteve um valor de CL₅₀ de 32,9 mg/L e CL 90 de 43,47 mg/L em 24 h, em 48h CL₅₀ de 31,6 mg/L e CL₉₀ 42,1 mg/L, sendo assim considerados eficientes para a atividade.

- Na avaliação da atividade de repelência, o óleo essencial das folhas de *S. guianensis* se mostrou efetivo, protegendo contra boa parte das picadas, por até 180 minutos em comparação com a solução controle. A melhor proteção ocorreu na concentração de 1000 mg/L, com valores próximos e superiores a 90%.

A partir desses resultados, acredita-se que deve ser melhor explorado o potencial repelente proveniente do óleo essencial das folhas de *S. guianensis*, como o desenvolvimento de formulações, seja para a atividade larvicida, bem como para a atividade repente. Contudo, testes futuros deverão ser aplicados para melhor elucidar a ação larvicida e repelente desses compostos, bem como o seu potencial toxicológico.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Raimundo Wagner Souza *et al.* Insecticidal and Repellent Activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLoS one**, San Francisco, v. 10, n.2, fev. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4315403/>. Acesso em: 20 mar. 2018.
- AGUIAR-MENEZES, Elen de Lima. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 32p. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/doc205ID-E5DFp9Pf68.pdf>. Acesso em: 07 set. 2016.
- ANDRADE, Milene Aparecida *et al.* Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidants**, Basel, v. 2, n. 4, p. 384-397, 2012. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2076-3921/2/4/384>. Acesso em: 13 jan. 2018.
- APPROBATO, Andressa Uehara; GODOY, Silvana Aparecida Pires de. Levantamento de diásporos em áreas de Cerrado no Município de Luiz Antônio. **Hoehnea**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 385-401, 2006. Disponível em: http://bdpi.usp.br/single.php?_id=001737537. Acesso em: 03 mar. 2017.
- BAKKALI, Fadil *et al.* Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, [s.l.], v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869150700454>. Acesso em: 04 jan. 2018.
- BESSA, Nelita Gonçalves Faria *et al.* 11451-Prospecção fitoquímica das folhas de *Siparuna guianensis* Aublet. (siparunaceae) de uso popular medicinal em reassentamento rural, Tocantins. **Cadernos de Agroecologia**, Recife, v. 6, n. 2, p. 10-15, 2011. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/11451>. Acesso em: 05 jan. 2018.
- _____. Antimicrobial activity and medicinal biomass of *Siparuna guianensis* in Brazilian Cerrado forest, a global hotspot. **Journal of Medicinal Plants Research**, Nairobi, v. 9, n. 37, p. 968-980, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/289694103_Antimicrobial_activity_and_medicinal_biomass_of_Siparuna_guianensis_in_Brazilian_Cerrado_forest_a_global_hot_spo. Acesso em: 23 jan. 2018.
- BHATT, Samir *et al.* The global distribution and burden of dengue. **Nature**, Londres, v. 496, n. 7446, p. 504-507, 2013. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature12060>. Acesso em: 20 ago. 2017.
- BIZZO, Humberto R.; HOVELL, Ana Maria C.; REZENDE, Claudia M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a05v32n3>. Acesso em 10 set. 2016.

BOOTH, Gerald. Naphthalene Derivatives. *In*: FRITZ, Ullmann. **Encyclopedia of Industrial Chemistry**. [s.l.], 2000. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/229681100_Naphthalene_Derivatives. Acesso em 24 ago. 2017.

BOTTI, Maurício Vladimir. **Controle de *Aedes aegypti***: período residual de temefós na água em recipientes de plástico, vidro e borracha, ação larvicida residual em recipientes de borracha e segurança das condições de trabalho na nebulização de malathion. 2010. 110f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jabotocá, 2010. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/102320/botti_mv_dr_jabo.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 24 jun. 2016.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 113-118, 2007a. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?pid=S1679-49742007000200006&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 14 dez. 2017.

_____. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, n. 4, p. 179-293, 2007b. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/ess/v16n4/v16n4a06.pdf>. Acesso em: 14 dez. 2017.

BRASIL. **Dengue – Instruções de pessoal para combate ao vetor**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2001. 75p. Disponível em: bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengueFUNASA. Acesso em: 22 abr. 2018.

_____. **Dengue**: diagnóstico e manejo clínico. Brasília: Secretária de Vigilância em Saúde. 2017a. 60p. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_diagnostico_manejo_adulto_crianca_3ed.pdf. Acesso em 18 nov. 2017.

_____. **Febre Amarela**: Guia para profissionais de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2017b. 72p. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/febre_amarela_guiaprofissionais_saude.pdf. Acesso em: 28 jun. 2018.

_____. **Boletim Epidemiológico 13**: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 9 de 2018. Brasília: Ministério da Saúde, 2018a. 13p. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/abril/06/2018-011.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2018.

_____. **Boletim Epidemiológico dos casos de Febre Amarela**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018b. 8p. Disponível em: https://fs.unb.br/articles/0000/3030/Boletim_Febre_Amarela_Volume_1_N.1.pdf. Acesso em: 28 jun. 2018.

BUENO, Virginia S.; ANDRADE, Carlos Fernando S. Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 12, n. 2, p. 215-219. 2010. Disponível em:

<http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/38348/1/S1516-05722010000200014.pdf>. Acesso em 20 nov. 2017.

CARVALHO, Vanessa Fernandes. **Atividade Antiparasitária in Vitro do Extrato e Óleo Extraídos da *Siparuna Guianensis* e do Alfa Bisabolol Isolado contra *Strongyloides venezuelensis***. 2017. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) – Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2017. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7552>. Acesso em: 12 jan. 2018.

CARVALHO, Ana Cecília Bezerra *et al.* O mercado brasileiro de medicamentos à base de plantas e os impactos da nova legislação sobre medicamentos tradicionais. **Journal of ethnopharmacology**, [s.l.], v. 212, p. 29-35, 2018. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?as_ylo=2018&q=plantas+mediciniais&hl=pt-BR&as_sdt=0,5. Acesso em: 20 nov. 2016.

CHENG, S. S *et al.* Bioactivity of selected plant essential oil against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, Amesterdã, v. 89, n. 01, p. 99-102, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12676507>. Acesso em: 20 abr. 2018.

CHOUIN-CARNEIRO, Thais *et al.* Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. **PLoS neglected tropical diseases**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. e0004543, 2016. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004543>. Acesso em: 20 dez. 2017.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, Hérica Regina Nunes. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151605722011000400016&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 21 nov. 2017.

DIAS, Clarice Noleto; MORAES, Denise Fernandes Coutinho. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides. **Parasitology research**, [s.l.], v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-013-3687-6>. Acesso em 13 fev. 2018.

FERRAZ, João *et al.* Perfumes da floresta Amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 61, n. 3, p. 40-43, 2009. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252009000300015&script=sci_arttext&tlng=es. Acesso em: 20 nov. 2017.

FERREIRA, Taciano Peres *et al.* Influência da sazonalidade no rendimento e composição do óleo essencial de *Siparuna guianensis* Aublet. **Revista Africana de Biotecnologia**, [s.l.], v. 16, n. 29, p. 1611-1618, 2017. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/journal/AJB/article-full-text/1BFCA0F65266>. Acesso em 15 mar. 2018.

FIDALGO, Oswaldo; BONONI, Vera Lúcia. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1984.

FISCHER, D. C. H. *et al.* Constituents from *Siparuna apiosyce*. **Fitoterapia**, Amsterdã, v. 70, n. 3, p. 322-323, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S03673226X99000210>. Acesso em: 04 maio 2016.

FLORA DO BRASIL. **Siparunaceae**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14543>. Acesso em: 03 mai. 2018.

FONSECA, Kharen Santana; MIRANDA, Sabrina do Couto. Atributos funcionais associados às espécies de cerradão. *In: Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG*, 2017. Goiânia. **Anais [...]**. Goiânia: CEPE, 2017. Disponível em: <http://www.anais.ueg.br/index.php/cepe/article/view/8588>. Acesso em: 20 ago. 2017.

FRANCO, M. R. B; RODRIGUEZ-AMAYA, D; LANÇAS, F. M. Compostos Voláteis de Três Cultivares de Manga (*Mangifera indica* L.). Campinas: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.2, p. 165-169, abr.-jun. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v24n2/v24n2a02>. Acesso em: 24 ago 2017.

FRANCO, Odair. **A história da febre amarela no Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1969. 212p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/0110historia_febre.pdf. Acesso em: 28 jun. 2018.

GARCEZ, Walmir Silva *et al.* Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013. Disponível em: <http://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/269>. Acesso em 30 mar. 2018.

GUZMAN, Maria G. *et al.* Dengue: a continuing global threat. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 8, .12, p. 7-16, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21079655>. Acesso em: 19 dez. 2017.

HALL, Climbiê Ferreira; MEIRELLES, Julia. Flora of the cangas of Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Siparunaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 68, n. especial, p. 1151-1153, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2175-78602017000501151&script=sci_arttext&tIng=pt. Acesso em: 20 ago. 2016.

HONORIO, Nildimar Alves. **Estudos de aspectos da biologia do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1984), em área endêmica de dengue, no estado do Rio de Janeiro**. 1999. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitaria) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1999.

HONÓRIO, Nildimar Alves *et al.* Chikungunya: an arbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, p. 906-908, 2015. Disponível em: https://scielosp.org/scielo.php?pid=S0102-311X2015000500003&script=sci_arttext. Acesso em: 18 dez. 2017.

JVAÉ, Nahuria Rosa Karajá. **Toxicidade subcrônica e reprodutiva do extrato bruto das folhas de *Siparuna guianensis* em ratos Wistar**. 64 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) - Universidade Federal do Tocantins. Araguaína, 2013. Disponível em: <https://docs.uft.edu.br/share/s/qvtkO2gKQ3a7D2J9IAEqpA>. Acesso em: 10 dez. 2017.

KNAAK, Neiva; FIUZA, Lidia Mariana. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. São Leopoldo: **Neotropical Biology & Conservation**, v. 5, n. 2, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/229151135_Potencial_dos_oleos_essenciais_de_plantas_no_controlede_insetos_e_microrganismos. Acesso em: 09 dez. 2017.

KRAEMER, Moritz UG *et al.* The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **Elife**, Cambridg, v. 4, [s.n], 2015. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/08347>. Acesso em: 05 nov. 2017.

MAGALHÃES, Verônica Bernardino de Souza. **Dispersão secundária de sementes de " *Siparuna guianensis*" (Siparunaceae) por formigas em vegetação de cerrado**. 67 f. 2016. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/321816/1/Magalhaes_VeronicaBernardinodeSouza_M.pdf. Acesso em: 05 dez. 2017.

MARTINS, Rafael Castro. **Óleo Essencial de *Ocimum basilicum* L. para Controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797)**. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/19008/1/%C3%93leoEssencialOcimum.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2017.

MARTINS, Victor Emanuel Pessoa *et al.* Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 1, p. 73-77, 2010. Disponível em: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42279007/Spatial_distribution_and_breeding_site_. Acesso em: 01 nov. 2017.

MCCMAHON, Conor; KROBER, Thomas; GUERIN, Patrick M. In vitro assays for repellents and deterrents for ticks: differing effects of products when tested with attractant or 30 arrestment stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**, Londres, v. 17, n. 4, p. 370-378, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2915.2003.00453.x>. Acesso em: 08 jun. 2016.

MEEKER, John D. *et al.* Exposure to Nonpersistent Insecticides and Male Reproductive Hormones. **Epidemiology**, Amsterdã, v.17, n. 1, p. 61– 68, 2006. Disponível em: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=16357596>. Acesso em: 24 ago. 2017.

MOURA, Eridiane Silva. **Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais de Manjeriço e Candeeiro e seus Componentes sobre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae)**. 2015. 59 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa Minas Gerais, Viçosa, 2015. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7270/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 24 jan. 2018.

OLIVEIRA, Gisele L. *et al.* Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L.(Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, p. 1227-1234, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0001-37652013000401227&script=sci_arttext&tlng=es. Acesso em: 06 fev. 2018.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Tool for the diagnosis and care of patients with suspected arboviral diseases**. Washington: World Health Organization, 2017. Disponível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=37524&Itemid=270&lang=en. Acesso em: 04 mar. 2018.

PEDOTTI-STRIQUER, Lara; BAUNGAERTNER, Cleberson Inacio Bervian; FAVERO, Silvio. Ação repelente de plantas medicinais e aromáticas sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Ensaio e Ciência: Biológicas, Agrárias e da Saúde**, [s.], v. 10, n. 1, 2006. Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/260/26012756006/>. Acesso em: 09 set. 2017.

PEIXOTO, A.L. **Siparunaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14543>. Acesso em: 04 maio 2018.

PORTELLA, Augustus Caesar Franke *et al.* Caracterização físico-química do óleo essencial da *Siparuna guianensis* Aublet. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 844-849, 2014. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/v37n5a15.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2016.

RAYBAUDI-MASSILIA, Rosa M.; MOSQUEDA-MELGAR, Jonathan.; MARTI, Olga. Antimicrobial Activity of Essential Oils on *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in Fruit Juices. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 69, n. 7, p. 1579–1586, 2006. Disponível em:

<http://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-69.7.1579?code=fopr-site>.

Acesso em: 20 set. 2016.

RENNER, Susanne S.; HAUSNER, Gerlinde. **Monograph of Siparunaceae**. New York: New York Botanical Garden, 2005. 256p. Disponível em:

[https://openlibrary.org/books/OL11302030M/Siparunaceae_\(Flora_Neotropica_Monograph_No._95\)](https://openlibrary.org/books/OL11302030M/Siparunaceae_(Flora_Neotropica_Monograph_No._95)). Acesso em: 05 maio 2016.

RIBAS, Jonas; CARREÑO, Ana Maria. Avaliação do uso de repelentes contra picada de mosquitos em militares na Bacia Amazônica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 1, p. 33-8, 2010. Disponível em:

https://www.researchgate.net/profile/Jonas_Ribas/publication/239491380_Avaliacao_do_uso_de_repelentes_contra_picada_de_mosquitos_em_militares_na_Bacia_Amazonica/links/0a85e537f9b6048c31000000.pdf. Acesso em: 20 jun. 2017.

ROVER, Marcia. **Estudo Fitoquímico e Avaliação da Atividade Antibacteriana de *Siparuna guianensis* Aubl.** 2006. 138 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) – Núcleo de Saúde, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2006. Disponível em:

[http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/5848_estudo_fitoquimico_e_avaliacao_da_atividade_antibacteriana_\(marcia_rover_&_mariangela_azevedo\).pdf](http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/5848_estudo_fitoquimico_e_avaliacao_da_atividade_antibacteriana_(marcia_rover_&_mariangela_azevedo).pdf). Acesso em: 16 jun. 2016.

RUTLEDGE, L. C. *et al.* Mathematical models of the effectiveness and persistence of mosquito repellents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 56-62, 1985. Disponível em:

https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/JAMCA_V01_N1_P056-062.pdf. Acesso em: 20 ago. 2016.

SCHRECK, C. E. Techniques for the evaluation of insect repellents: a critical review. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 22, p. 101-119, 1977. Disponível em:

<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.en.22.010177.000533>. Acesso em: 10 maio 2016.

SILVA, Flávia Benini da Rocha. **Avaliação dos componentes de óleos essenciais 1,8-cineol, β -cariofileno e α -humuleno como possíveis repelentes para *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae).** 2014. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Faculdade de Ciências

Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/124205>. Acesso em: 05 fev. 2018.

SILVA, José Augusto Coelho da; SILVA, Marlene Freitas da. Estudos florísticos no município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil-II: famílias Myristicaceae, Siparunaceae e Monimiaceae. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, p. 207-212, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672008000200003&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 06 nov. 2017.

SILVA, Luiz Everson; VALENTINI, Carla Maria Abido; BARROS, Wander Miguel. *Siparuna guianensis*: obtenção do óleo essencial e avaliação do potencial farmacológico. **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 2, p. 59-65, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/280625359_Siparuna_guianensis_obtencao_do_oleo_essencial_e_avaliacao_do_potencial_farmacologico. Acesso em: 12 dez. 2017.

SPENASSATTO, Carine *et al.* **Desenvolvimento de metodologia high-throughput para estudo populacional do mosquito *Aedes aegypti* e comparação de dados de genes nucleares com dados de genes mitocondriais**. 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2011. Disponível em: http://200.145.6.238/bitstream/handle/11449/92451/spenassatto_c_me_botib.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 03 set. 2017.

TAUIL, Pedro Luiz. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.44, n. 3, p. 555-558, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v44n3/1665.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2018.

THE PLANT list. [s.l.], 2013. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em: 03 jan. 2018.

TORRES, Sandra Maria *et al.* Mortalidade acumulativa de larvas de *Aedes aegypti* tratadas com compostos. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 3, 2014. Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/672/67237025008/>. Acesso em: 04 dez. 2017.

VALENTINI, Carla Maria Abido; RODRÍGUEZ-ORTÍZ, C. E.; COELHO, Maria Fatima Barbosa. *Siparuna guianensis* Aublet (negramina): Uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 12, n. 1, p. 96–104, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000100014. Acesso em: 06 set. 2016.

VALENTINI, Carla Maria Abido *et al.* Variação anual do rendimento e composição química dos componentes voláteis da *Siparuna guianensis* Aublet. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1506–1509, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010040422010000700015&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 05 maio 2016.

_____. Propagação de *Siparuna guianensis* Aublet (Siparunaceae) por estaquia caulinar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 3, 2011. Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/1190/119021236018/>. Acesso em: 20 jun. 2016.

VIANA, Dione Viero; IGNOTTI, Eliane. A ocorrência da dengue e variações meteorológicas no Brasil: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 240-256, 2013. Disponível em: https://scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2013000200240. Acesso em: 06 dez. 2017.

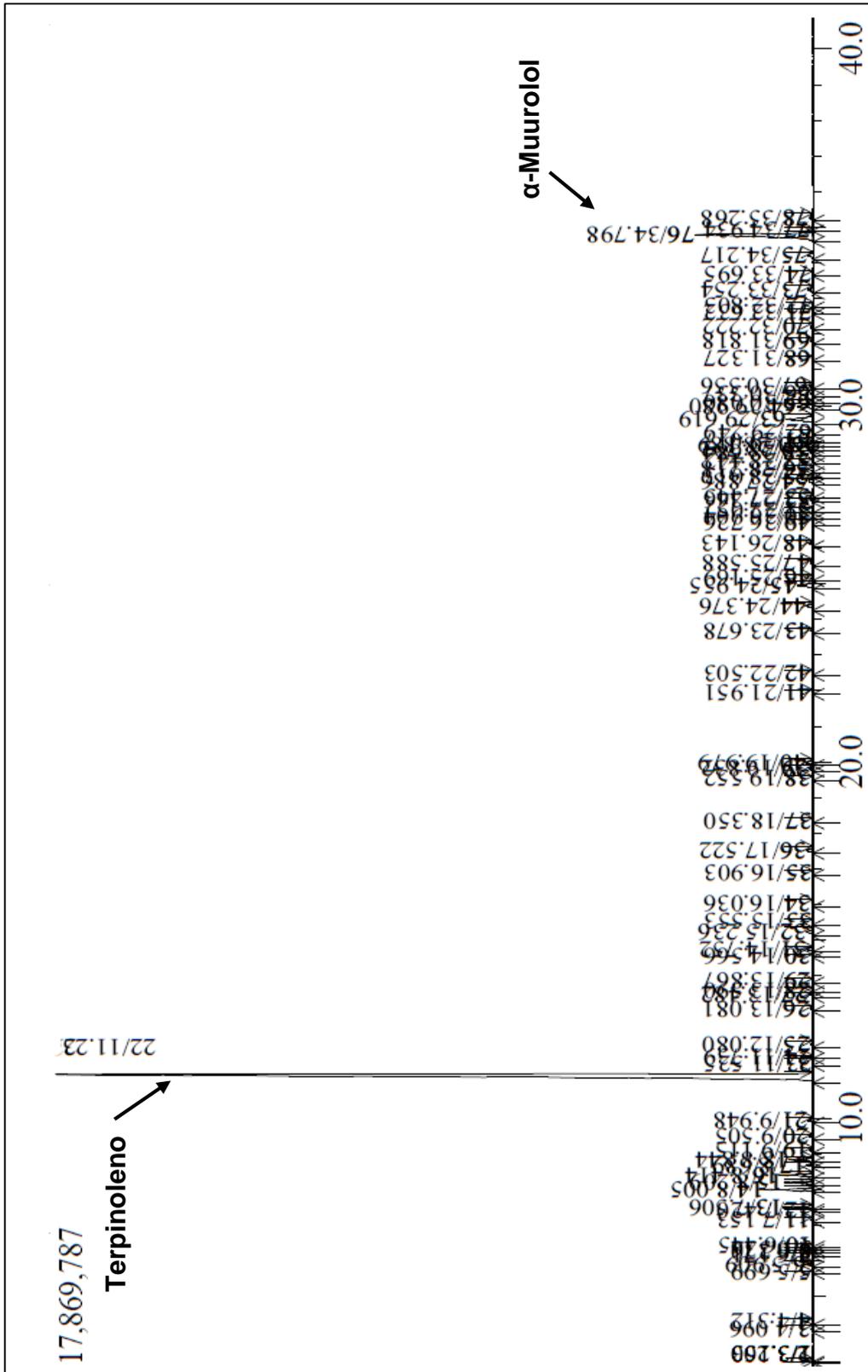
VIVEKANANDHAN, Perumal *et al.* Análise Comparativa da Resposta dos Principais Vetores de Mosquitos ao Óleo Essencial Derivado de Sementes e Extrato Derivado de Sementes de Acácia nilótica. **Revista Internacional de Pesquisa Ambiental e Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 2, p. 388, 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/15/2/388>. Acesso em: 20 mar. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicidas**. Geneva: World Health Organization, 2005. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69101/WHO_CDS_WHOPES_GCDP_P_2005.13.pdf;jsessionid=75CFD36C7E827AA1F729FC1F0499135D?sequence=1. Acesso em 06 jul. 2016.

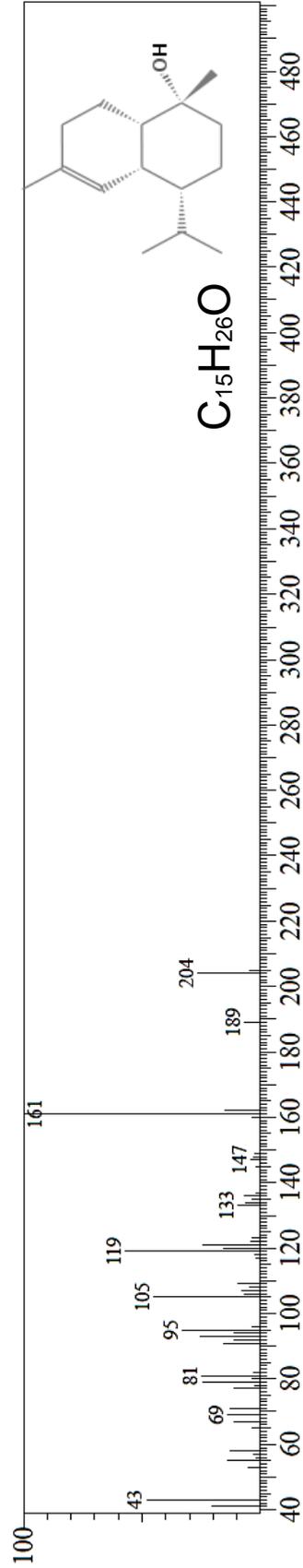
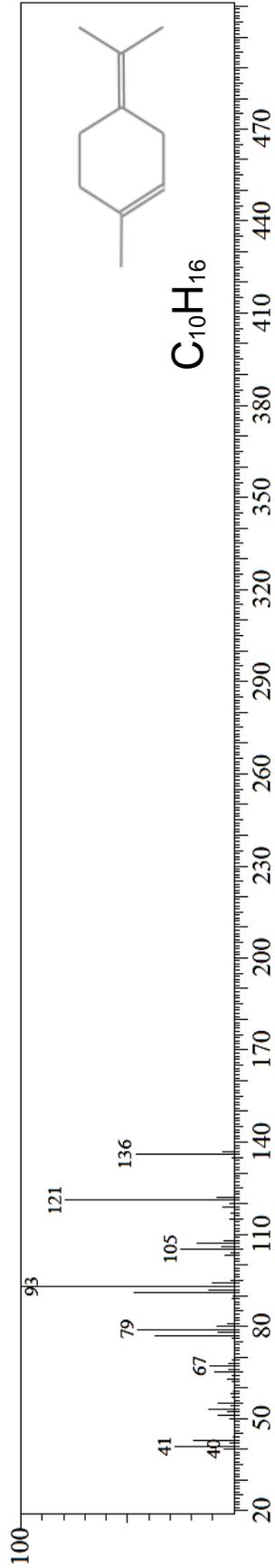
_____. **Guidelines for efficacy testing of mosquito repellents for human skins**. Geneva: World Health Organization, Geneva p. 4-18, 2009. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70072/WHO_HTM_NTD_WHOPES_2009.4_eng.pdf?sequence=1. Acesso em 06 jul. 2016.

ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. Brasília: **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?pid=S1679-49742016000200391&script=sci_arttext. Acesso em: 04 jan. 2018.

ANEXO A - Perfil Cromatográfico do Óleo Essencial de *Siparuna guianensis*.



ANEXO B - Espectro de Massa dos Principais Compostos presentes no Óleo Essencial de *Siparuna guianensis*



Fonte: Laboratório Multiusuário de Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba (2017)

ANEXO C – Certificado Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIFICADO

Título da Pesquisa: ESTUDO QUÍMICO E DA ATIVIDADE LARVICIDA E REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Siparuma guianensis* FRENTE AO *Aedes aegypti*
Pesquisador Responsável: YURI DE MEDEIROS SOUZA LIMA
CAAE: 76694117.1.0000.0003
Submetido em: 26/01/2018
Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
Situação da Versão do Projeto: Parecer Consubstanciado Emitido (Aprovado)
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Certificamos que o Projeto cadastrado está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Humana, adotados pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), em reunião realizada em 01/02/2018.

Macapá, 01 de fevereiro de 2018

Raphaelle Souza Borges
Comitê de Ética em Pesquisa
Portaria 051/2015

Raphaelle Souza Borges

Prof.^a. Msc. Raphaelle Sousa Borges
 Coordenadora - CEP-UNIFAP
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa/PROPESPG
 Portaria nº 051/2015

Universidade Federal do Amapá
 Comitê de Ética em Pesquisa – CEP - UNIFAP
 Rod. JK km 2, Marco Zero CEP 68908-130 – Macapá – AP - Brasil
 Email: cep@unifap.br

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Resolução nº 466/12 – Conselho Nacional de Saúde Sr (a) foi selecionado (a) e está sendo convidado (a) para participar da pesquisa **intitulada: estudo químico e atividade larvicida e repelente do óleo essencial de *Siparuna guianensis* frente ao *Aedes aegypti*. Objetivos:** Avaliar a atividade repelente das amostras contendo o óleo da resina de *Siparuna guianensis*, e comparar a ação de repelente com um repelente comercial contendo DEET. O óleo será extraído das partes aéreas da planta. Sua participação nesta etapa da pesquisa consistirá na aplicação das amostras em seu antebraço direito e exposição desta área tratada dentro de uma gaiola de tamanho 40 cm³ contendo 50 **fêmeas sadias** do mosquito *Aedes aegypti*, por no máximo 30 segundos. Antes de iniciar o experimento com o braço tratado, você deverá colocar o braço não tratado na caixa por 15 segundos ou até que os mosquitos pousem para iniciar a picada. Os mosquitos serão provenientes de uma colônia mantida no insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá, e são isentos de doenças, não havendo nenhum risco de transmissão de doenças. Os riscos antecipáveis em decorrência da participação na pesquisa restringem-se ao aparecimento de vermelhidão no local da aplicação e eventuais reações alérgicas devido à sensibilidade ao óleo ou a picada. Neste caso o voluntário que apresentar reações de sensibilidade será afastado do ensaio. A pesquisa terá como benefício descobrir se as amostras com os óleos de *Siparuna guianensis* possuem ação repelente frente a *Aedes aegypti*, o mosquito transmissor da dengue e febre amarela, possibilitando o uso das amostras desenvolvidas como medida auxiliar na prevenção destas doenças. Para participação nesta pesquisa os voluntários devem ser maiores de 18 anos, não possuírem histórico de alergia a picadas de insetos, ou a produtos repelentes, sem enfermidades dermatológicas aparentes. As informações obtidas através desta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Você receberá uma cópia deste termo onde constam os telefones do pesquisador, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação em qualquer momento. Os **dados coletados** serão utilizados apenas **NESTA** pesquisa e os resultados divulgados em eventos e/ou revistas científicas. Sua participação é **voluntária**, isto é, a qualquer momento você poderá **recusar-se** a responder qualquer pergunta ou desistir de participar e **retirar seu consentimento**. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o(s) pesquisador (a) ou com a instituição que forneceu os seus dados, como também na que trabalha. **Toda pesquisa possui riscos potenciais. Maiores ou menores, de acordo com o objeto de pesquisa, seus objetivos e a metodologia escolhida. O pesquisador deverá identificar os riscos, esclarecer e justificá-los aos sujeitos da pesquisa, bem como, as medidas para minimizá-los.**

Desde já agradecemos!

Nome do (a) Orientador (a): Prof. Dr. Fernando Antônio de Medeiros

Pesquisador Principal: Yuri de Medeiros Souza Lima. Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde PPGCS da Universidade Federal do Amapá UNIFAP

E-mail: yurimedeiros88@gmail.com Cel: (96) 99141-5019.

“O Comitê de Ética é o setor responsável pela permissão da pesquisa e avaliação dos seus aspectos éticos. Caso você tenha dificuldade em entrar em contato com o pesquisador responsável, comunique-se com o Comitê de Ética da Escola pelo telefone supracitado.”

Declaro estar ciente do inteiro teor deste TERMO DE CONSENTIMENTO e estou de acordo em participar do estudo proposto, sabendo que dele poderei desistir a qualquer momento, sem sofrer qualquer punição ou constrangimento. Recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

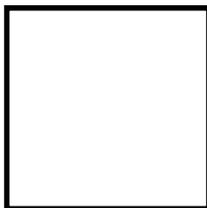
_____, ____ de _____ 2016.

Participante da Pesquisa: _____
(Assinatura)

Caso o paciente esteja impossibilitado de assinar:

Eu _____, abaixo assinado, confirmo a leitura do presente termo na íntegra para o(a) paciente _____,

o(a) qual declarou na minha presença a compreensão plena e aceitação em participar desta pesquisa, o qual utilizou a sua impressão digital (abaixo) para confirmar a participação.



Polegar direito (caso não assine).

Testemunha nº1: _____

Testemunha nº2: _____