



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

**DIANEL ALLIANCE**

**ESTUDO QUÍMICO, PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES ADME/TOX E  
ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DA RAIZ *Philodendron deflexum*  
Poepp. Ex Schott SOBRE *Aedes egypti* Linneu E *Anopheles albirtasis* s.l**

**MACAPÁ**

**2016**

**DIANEL ALLIANCE**

**ESTUDO QUÍMICO, PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES  
ADME/TOX E ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DA RAIZ  
*Philodendron deflexum* Poepp. Ex Schott SOBRE *Aedes aegypti* Linneu E  
*Anopheles albirtasis* s.l**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Ciências da Saúde, na área de concentração de ensaios biológicos.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato P. Souto.

Co-orientadores: Prof. Dr. Cleydson Breno R. Dos Santos

Prof. Dr. Jesus R. Amado

**MACAPÁ**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

614.4323

A436e Alliance, Dianel.

Estudo químico, predições *in silico* das propriedades adme/tox e atividade larvicida do óleo essencial da raiz *Philodendron deflexum* Poepp. Ex Schott sobre *Aedes egypti* Linneu e *Anopheles albirtasis* s.l / Dianel Alliance; orientador, Raimundo Nonato Picanço Souto; co-orientadores, Cleydson Breno R. dos Santos; Jesus R. Amado – Macapá, 2016.

51 f.

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

1. Análise química. 2. Mosquitos como transmissores de doenças. 3. Química vegetal. I. Souto, Raimundo Nonato Picanço, orientador. II. Santos, Cleydson Breno R. dos, co-orientador. III. Amado, Jesus R., co-orientador. IV. Fundação Universidade Federal do Amapá. V. Título.

DIANEL ALLIANCE

ESTUDO QUÍMICO, PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES  
ADME/TOX E ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAIZES  
*Philodendron deflexum* Poepp. Ex Schott SOBRE *Aedes egypti* Linneu E *Anopheles  
albirtasis* s.l

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa  
de Pós-graduação em Ciências da Saúde da  
Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, como  
requisito parcial à obtenção de título de Mestre em  
Ciências da Saúde, na área de concentração de  
ensaios biológicos.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato P. Souto.

Co-orientadores: Prof. Dr. Cleydson Breno R. Dos  
Santos

Prof. Dr. Jesus R. Amado

DATA DA APROVAÇÃO:

\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

#### **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto (Orientador – UNIFAP)

---

Prof. Dr. Fernando Antônio de Madeiros (Membro UNIFAP)

---

Prof. Dr. Raullyan Borja Lima e Silva (Membro - IEPA)

---

Prof. Dr. Darlan Coutinho dos Santos (Membro - UEAP)

**MACAPÁ**

**2016**

## AGRADECIMENTOS

Á Deus, que todos os dias me deu força pra não desistir.

Á minha família, meu Pai, minha Mãe, meus Irmãos especialmente Claude Phonse e minha querida Victoire Juliassaint Alliance que mesmo distante se mostrou presente, por todo amor, apoio e paciência, tudo isso foi primordial para essa caminhada.

Ao meu orientador, Professor Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto por seu apoio e amizade, além de sua dedicação, competência e atenção nas revisões e sugestões, fatores que foram fundamentais para conclusão deste trabalho.

Ao meu co-orientador Professor Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos e Dr. Jesus Rodrigues Amado que se mostrou sempre disposto a me ajudar, com sua paciência, e considerações que foram primordiais para finalizar essa etapa. Serei eternamente grato!

Aos meus amigos, Omar Landazuri, Victor Chuma, Zonia Reyes Cruz, Gaspard Octeus e Andrevil Isma, Joseph Henderson Diego Saimon. Meu muito obrigado!

Ás amigas Elis Perrone e Luciane Barros que se mostrou sempre disposta a ajudar, todo apoio foi essencial, meu muito obrigado.

Á minha querida Luana Gonçalves e Alessandra Mareco, que esteve sempre presente, me dando força e incentivo. Obrigada a todos que direta e indiretamente incentivaram e apoiaram nessa jornada.

Ao Departamento de Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - PPGCS, Universidade Federal do Amapá, Laboratório de Modelagem Química Computacional e ao Laboratório de Arthropoda, OEA-GCUB. Meu muito obrigado!

## RESUMO

Os mosquitos exercem um papel importante na transmissão de doenças como malária, dengue, chikungunya, zica e filariose que apresentam uma elevada taxa de morbidade e mortalidade em populações humanas em todo o mundo. Este estudo teve como objetivo realizar análise química e da atividade larvicida do óleo essencial da raiz *Philodendron deflexum* sobre *Aedes aegypti* e *Anopheles albirtasis* e predições *in silico* das propriedades ADME/Tox. As predições ADME/Tox foram feitas para os compostos majoritários identificados no óleo comparando com o composto comercial Temefós, tais predições foram: absorção intestinal humana, permeabilidade celular *in vitro* Caco-2, permeabilidade celular em *Maden Darby Canine Kidney* (MDCK), permeabilidade da pele, ligação das proteínas plasmática e penetração da barreira hematoencefálica e toxicológica como: mutagenicidade e carcinogenicidade usando o servidor online PreADMET. A extração do óleo *P. deflexum* foi realizado por meio da técnica de hidrodestilação em sistema Clevenger modificado. A identificação das substâncias presentes no óleo essencial foi feita por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa GC/MS. As larvas de *Ae. aegypti*, e de *Anopheles albitarsis* utilizadas nos experimentos, foram oriundas do Insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá. Os bioensaios da atividade larvicida seguiram o protocolo padrão preconizados pela Organização Mundial da Saúde. As concentrações testadas para ambas as espécies de mosquitos foram: 20, 40, 80, 100, 120 ppm. O controle foi constituído de água destilada e os experimentos foram realizados em triplicatas. O óleo essencial de *P. deflexum* permitiu identificar 41 constituintes na análise qualitativa e quantitativa do óleo, identificado como  $\beta$ -Bisaboleno, Limoneno, Undecanol, (-)-Isoledeno,  $\alpha$ -Copaeno, Acetato de butilo butirila,  $\beta$ -Cariofileno, m-Cimeno,  $\beta$ -Selineno. Os compostos 4, 5 e 6 apresentaram resultados satisfatórios em comparação com o temefós e demais, apresetaram bons resultados ADME/Tox, podendo ser utilizados com ação tópica. O óleo essencial de *P. deflexum* mostrou um potencial larvicida frente as espécies testadas para *An. albirtasis* essa sensibilidade foi de (CL<sub>50</sub> = 78,28 – CL<sub>90</sub> = 123,53) ppm em 24 h e (CL<sub>50</sub> = 75,37 – CL<sub>90</sub> = 115,10) ppm nas 48h, e para *Ae. aegypti* foi de (Cl<sub>50</sub> = 86,34 – CL<sub>90</sub> 130,55) ppm nas 24 h e Cl<sub>50</sub> = 80, 96 – Cl<sub>90</sub> = 121, 13) ppm nas 48 hs. Tais resultados sugere que a espécie estudada apresentou um bom potencial para o desenvolvimento de um novo agente para o control vectorial de mosquitos desses gêneros, no entanto mais estudos são necessários para confirmação de tal atividade.

**Palavras-chaves:** Febre Chikungunya. Dengue. Malária. Zika. Propriedades ADME/Tox.

## ABSTRACT

The Mosquitos play an important role in the transmission of diseases such as malaria, dengue, chikungunya, Zika virus and filarirose that cause a high rate of morbidity and mortality in human populations around the world, especially in subtropical countries. This study it had as objective to to perform chemical study, predictions *in silico* ADME/Tox properties and larvicide activity of the essential oil of root *philodendron deflexum* Poepp. Ex Shott on *Aedes aegypti* and *Anopheles albirtasis*. ADME/Tox predictions had been made for identified majority composites in the oil comparing with the commercial compositions Temefós, such predictions had been: human intestinal absorption, cellular permeability *in vitro* Caco-2, cellular permeability in *Maden Darby Canine Kidney (MDCK)*, skin permeability, plasma proteins linking and penetration of the blood brain barrier and toxicology as: mutagenicity and carcinogenicity using the server online PreADMET. The extration of oil *P. deflexum* was made by means of the technique of hydro distillation in modified Clevenger system. The identification of substances gifts in the essential oil was made by connected gaseous chromatography to the spectrometry of mass GC/MS The larvae of *Ae. aegypti*, and of used *Anopheles albirtasis* s.l in the experiments, had been deriving of the Insectariums of the Laboratory of Arthropoda of the Universidade Federal do Amapá.. The bioassays of the larvicida activity had followed the protocol standard praised by the World-wide Organization of the Health. The concentrations tested for both to the species of mosquitos had been: 20, 40, 80, 100, 120 ppm. The control was constituted of distilled water and s experiments had been carried through in third copies. Our results allowed identifying 41 constituent, being that majority composites had been the following ones:  $\beta$ -Bisabolene, Limonene, Undecanol, (-)-Isolatedene,  $\alpha$ -Copaene, butyl acetate butirila,  $\beta$ -Caryophilene, m-Cymene,  $\beta$ -Selinene. Composites 4, 5 and 6 had presented resulted satisfactory in comparison with temefós possessing good resulted ADME/Tox, being able to be used with action, however more studies need to be made to evaluate its action, toxicity and potential topical use. The bioassays of the larvicide activity had been carried through with concentrations 20, 40, 80,100 and 120 ppm for both to the species of mosquitos. The essential oil of *P. deflexum* showed a potential larvicide against the species tested for *An. Albirtasis* this sensitivity was ( $CL_{50}=78,28\text{ppm}$ ;  $CL_{90}=123,53\text{ppm}$ ) in 24 h and ( $CL_{50}=75,37\text{ppm}$ ;  $CL_{90}=115,10\text{ppm}$ ) in 48h, And for *Ae. Aegypti* was by ( $Cl_{50} = 86,34 - CL_{90} 130,55 \text{ ppm}$ ) in 24 h and  $Cl_{50} = 80, 96 - Cl_{90} = 121, 13 \text{ ppm}$ ) in 48 h. These results suggest that the species studied presented a good potential for the development of a new agent for vector control of mosquitoes of these genera, however more studies are needed to confirm this activity.

**Key-words:** Chikungunya fever. Dengue, Malaria. Zika. ADME/Tox properties.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Número casos prováveis anuais (NA) e percentagem (%) de Dengue no Brasil. 17
- Tabela 2** - Numero de casos de Óbitos de Dengue no Brasil nos últimos três anos. 17
- Tabela 3** - Rendimento médio das três extrações do óleo essencial de raízes adventícias e do material fresco de *Philodendron deflexum* quantidade de matéria vegetal (g) e óleo essencial (g) utilizados nas extrações. 28
- Tabela 4** - Constituintes químicos, tempo de retenção das substâncias (TRS), índice de retenção calculado (IRC) e percentagem da composição (%) do óleo essencial de *Philodendron deflexum* extraídos de raízes adventícias frescas. 29
- Tabela 5** - Valores de referências de Absorção Intestinal Humana. 33
- Tabela 6** - Propriedades da absorção dos compostos do óleo essencial de *P. deflexum* em relação absorção intestinal humana (AIH), permeabilidade celular *in vitro* Caco-2 ( $P_{Caco-2}$ ), permeabilidade celular em Maden Darby Canine Kidney ( $P_{MDCK}$ ) e permeabilidade da pele ( $P_{pele}$ ). 33
- Tabela 7** - Distribuição das propriedades ligação às proteínas da região plasmática (LPP) e de penetração da barreira hemato-encefálica ( $C_{Brain}/C_{Blood}$ ) dos compostos do óleo essencial de *Philodendron deflexum*. 35
- Tabela 8** - Percentual de mortalidade (média desvio padrão) de larvas de *Ae. aegypti* frente a diferentes concentrações do óleo essencial de *P. deflexum*, em 24 e 48h de exposição. 38
- Tabela 9** - Percentual de mortalidade (média±desvio padrão) de larvas de *An. albirtarsis* s.l frente a diferentes concentrações do óleo essencial de *P. deflexum*, 24 e 48h de exposição. 38
- Tabela 10** - Estimativas das concentrações letais ( $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ ) em ppm e seus respectivos intervalos de confiança (IC) com limite inferior (LI) e limite superior (LS) das concentrações do óleo essencial de *Philodendron deflexum* em larvas de *A. aegypti* e *A. albirtarsis* com 24 horas de exposição. 39
- Tabela 11** - Estimativas das concentrações letais ( $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ ) em ppm e seus respectivos intervalos de confiança (IC) com limite inferior (LI) e limite superior (LS) das concentrações do óleo essencial de *P. deflexum*, em larvas de *Ae aegypti* e *An. albirtarsis* com 48 horas de exposição. 39

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
2.1	GERAL.....	10
2.2	ESPECÍFICOS.....	10
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRAFICA</b> .....	<b>11</b>
3.1	PLANTAS DA FAMÍLIA ARACEAE.....	11
3.2	Gênero <i>Philodendron</i> Schott .....	12
3.3	DENGUE.....	16
3.4	ZIKA VIRUS .....	18
3.5	FEBRE CHIKUNGUNYA .....	18
3.6	MALÁRIA .....	19
<b>4</b>	<b>O USO DE PLANTAS NO CONTROLE VETORIAL</b> .....	<b>21</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>24</b>
5.1	MATERIAL VEGETAL.....	24
5.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....	24
5.3	CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO ÓLEO .....	24
5.4	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICA E TOXICOLÓGICA (ADME/Tox) DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL.....	25
5.5	ENSAIOS DA ATIVIDADE LARVICIDA.....	26
<b>5.5.1</b>	<b>Larvas</b> .....	<b>26</b>
<b>5.5.2</b>	<b>Procedimentos experimentais para os Ensaios da Atividade Larvicida</b> .....	<b>26</b>
5.6	Análises de dados .....	27
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
6.1	RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE RAÍZES ADVENTÍCIAS FRESCAS de <i>Philodendron deflexum</i> .....	28
6.2	IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS .....	28
6.3	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DAS PROPRIEDADES ADME/Tox DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL.....	31
6.4	ATIVIDADE LARVICIDA.....	37
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>41</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os insetos são, há muito tempo, um dos maiores problemas encontrados pelo homem, pois a competição por recursos tem levado a uma série de prejuízos nas atividades agropecuárias, devendo ser ainda incluídas as doenças que esses artrópodes transmitem ao homem e outros animais. Dentre os vetores, os dípteros da família Culicidae destacam-se pela importância na transmissão da malária e outras doenças típicas das regiões tropicais e subtropicais, como a dengue, febre chikungunya, febre amarela e filariose.

O uso de inseticidas sintéticos foi estimulado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) após as sucessivas epidemias, em especial de Dengue e Malária. Inicialmente foi proposto o uso do diclorodifeniltricloroetano (DDT) nas residências, através da técnica de borrifação. No entanto, a ação logo foi interrompida, em 1976, em função do surgimento de resistência ao produto em uma parcela significativa dos mosquitos vetores da família Culicidae. Os problemas de resistência continuaram sendo um dos principais entraves ao uso dos inseticidas contra os principais vetores das doenças, como o *Culex*, vetor da filariose e encefalite japonesa, o *Aedes* da dengue comum e hemorrágica e *Anopheles* da malária (BRADLEY, 1998).

A malária humana, também conhecida como maleita ou paludismo, é uma doença considerada um problema de saúde pública global, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em muitos países tropicais. Segundo a OMS, em 2013, foram registrados no mundo 198 milhões de casos e 584 mil óbitos. Cerca de 80% dos casos e 90% das mortes ocorrem na África, sendo as crianças menores de 5 anos as maiores vítimas, enquanto os demais casos e mortes ocorrem principalmente no sudeste Asiático e região leste do Mediterrâneo (WHO, 2014).

A dengue é considerada como a mais importante arbovirose que afeta o homem e constitui-se um sério problema de saúde pública no mundo, especialmente nos países tropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do *Aedes aegypti*, principal mosquito vetor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002, 2012). Essa patologia emerge rapidamente em muitas partes do mundo. Atualmente, o continente latino-americano, o Sudeste da Ásia e as regiões Ocidentais do pacífico são as mais afetadas. Sua incidência tem aumentado significativamente nos últimos 50 anos. A estimativa prevista é que entre 50 a 100 milhões de infecções aconteçam, anualmente, em mais de 100 países endêmicos colocando em risco quase metade da população do planeta (WHO, 2013).

No Brasil, com relação ao número de casos, retrospectivamente, no ano de 2011 foram notificados 344.715 casos. Em 2012 estes diminuíram para 190.294 registros, ambos no período de Janeiro a Março. Já em 2013, na mesma época, somente os Estados de Rondônia, Acre, Amazonas, Tocantins, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais e Goiás contabilizaram um índice que abrange de 304,9 a 3.105 casos da doença por 100 mil habitantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

No Brasil, o controle vetorial tem sido feito por meio de aplicações de inseticidas organofosforados e piretróides (BRASIL, 2009), no entanto, o uso frequente e em doses cada vez maiores desses produtos tem contribuído para o aparecimento de populações de mosquitos resistentes a eles alen de isso, danos ambientais (CARVALHO; SILVA, 2000; POLANCZYK et al., 2003; LUNA et al., 2004). O organofosforado Themephos tem sido usado ao longo de décadas, por mais de trinta anos, para o controle do *Aedes aegypti* (BARRETO, 2005), embora esteja sendo substituído gradativamente em razão dos mosquitos se adaptarem a ele.

As propriedades ADME/Tox obtidas foram: absorção intestinal humana (AIH), permeabilidade celular *in vitro* Caco-2 ( $P_{\text{Caco-2}}$ ), permeabilidade celular em Maden Darby Canine Kidney ( $P_{\text{MDCK}}$ ), permeabilidade da pele ( $P_{\text{pele}}$ ), ligação das proteínas plasmáticas e penetração da barreira hemato-encefálica e toxicológica (mutagenicidade e carcinogenicidade), bem como, a determinação da atividade larvicida do óleo essencial de *P. deflexum* sobre *Aedes aegypti* e *Anopheles albirsais* comparando a temefós e dos compostos majoritários identificados no óleo essencial via o servidor online PREADMET Yamashita et al (200), conforme estudos realizados por Cunha et al., (2015).

Desta forma, a pergunta norteadora desta investigação é: Qual a composição química e atividade larvicida do óleo essencial de *Philodendron deflexum* sobre larvas *Aedes aegypti* e *Anopheles albirsais*? Qual a concentração letal do óleo essencial de *P. deflexum* em larvas de *Ae. Aegypti* e *An. albirtasis*? Qual as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas dos compostos majoritários do óleo essencial de *P. deflexum*? Sendo assim, este estudo tem relevância com relação ao desenvolvimento de pesquisas sistemáticas para a obtenção de novas moléculas ativas. A partir de substâncias naturais com propriedades farmacológicas definidas, uma necessidade para qualquer sistema de saúde.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Realizar análise química e da atividade larvicida do óleo essencial de *Philodendron deflexum* sobre larvas *Aedes aegypti* e *Anopheles albirsis* s.l e predições *in silico* das propriedades ADME/Tox.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Obter e caracterizar o óleo essencial de *P. deflexum*;
- Avaliar a atividade larvicida do óleo essencial de *P. deflexum* frente as larvas *Ae. aegypti* e *An. albirtarsis* s.l;
- Estimar as CL<sub>50</sub> e a CL<sub>90</sub> do óleo essencial de *P. deflexum* em larvas de *Ae. aegypti* e *An. albitarsis* s.l;
- Realizar a avaliação *in silico* das propriedades farmacocinética e toxicológica dos compostos majoritários do óleo essencial de *P. deflexun*.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

#### 3.1 PLANTAS DA FAMÍLIA ARACEAE

A família Araceae encontra-se distribuída em regiões tropicais e subtropicais das Américas, África e sudoeste da Ásia, arquipélago Malaio, Madagascar e ilhas Seychelles. (SÍTIO, 2011; MAYO et al., 1997). São plantas de características dos trópicos, sendo espécies da família Araceae pouco frequentes em regiões frias, desenvolvendo-se melhor em temperaturas entre 16 e 30°C, à exceção da *Zantedeschia aethiopica* (ex-gênero *Calla*), que resiste a temperaturas inferiores a 0°C. Esta Família apresenta uma variedade de formas de vida que confere grande potencial de colonização de habitats diferentes, podendo ser encontrada desde os trópicos secos até as florestas pluviais, e do semiárido ao litoral, além de pântanos, brejos tropicais e manchas de florestas (PONTES et al., 2010).

A família Araceae Juss possui uma distribuição subcosmopolita, com 117 gêneros e 3.300 espécies (BOYCE; CROAT, 2012), sendo a maioria destas distribuídas na América do Sul. No Brasil, o conhecimento de *Araceae* encontra-se ainda bastante incompleto por falta de estudos botânicos intensivos (COELHO et al., 2014). Otoobelli et al., (2011) citam 36 gêneros e 476 espécies nativas do Brasil, sendo considerada uma alta diversidade de gêneros. Dentre os gêneros com maior número de espécies se destacam *Anthurium* e *Philodendron*, com muitos representantes nativos do Brasil.

Araceae Jussieu, nom. cons. é um exemplo de família que carece de estudos fitoquímicos, farmacológicos e toxicológicos (APGIII, 2009). Para tratar picadas de serpentes, algumas espécies dessa planta são de uso popular (OTTOBELLI et al., 2011), ou como vermífugas (NOELLI, 1998), entre outros usos terapêuticos.

De acordo com (APGIII, 2009), a classificação taxonômica de Araceae é a seguinte:

- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Liliopsida
- Ordem: Arales
- Família: Araceae

Dentre os gêneros com maior número de espécies destacam-se *Anthurium* e *Philodendron*, com muitos representantes nativos do Brasil. *Philodendron scabrum* K. Krause (Araceae) e conhecida popularmente como “cipó imbé”. O cipó é utilizado, principalmente, pela população da Região Norte do Brasil, no tratamento de mordida de serpente e a infusão dos talos é utilizada como analgésico (OTTOBELLI et al., 2011). As

propriedades irritantes e tóxicas da Araceae podem provocar intoxicações letais em crianças que comerem a espata e espádice da espécie cultivada *Aethiopicahave zantedeschia* como foi relatado por Ladeira et al., (1975).

### 3.2 Gênero *Philodendron* Schott

O gênero *Philodendron* é constituído pelos subgêneros *Meconostigma*, *Philodendron* e *Pteromischum*, e cada subgênero possui seu padrão morfológico, anatômico e distribuição geográfica. São descritas algumas aplicações na medicina popular para algumas espécies de *Philodendron*, dentre elas o uso como purgativo, diurético, bactericida, antiprotozoário, anti-hidrópico e adstringente, sendo útil no tratamento de bronquite crônica e aguda, reumatismo, úlceras, erisipela, otites, edemas e epidermites (COELHO; RODRIGUESIA, 2000; FEITOSA et al., 2007).

Frausin et al., (2015) realizaram uma revisão das espécies da família Aracea usadas para tratar malária e seus sintomas. Neste estudo foram identificadas as espécies da família usadas no mundo, assim como seu potencial com fontes de produtos naturais antimaláricos. Relataram que os gêneros neotropicais *Philodendrom* schott e *Anthurium* Schott foram os mais representados, e mais úteis para o tratamento da malária, febres, problemas hepáticos e dores cabeça.

Os compostos alquil e aquenil-resorcinois foram isolados das folhas e caules de *P. angustisectum*, *P. erubescens*, *P. radiatum* e *P. scandens* (REPPSTRUP; BOLL, 1985), sendo tais compostos os responsáveis por causarem dermatite alérgica (KNIGHT et al., 1996). Existem registros na literatura relatando que espécies do gênero *Philodendron* apresentam constituintes químicos possuidores contra *Trypanossoma cruzi* e *Trichomonas vaginalis*, dentre as quais se destaca *P. bipinnatifidum* Schott (MUELISSERRANO et al., 2000).

Santiago et al., (2014) realizaram a caracterização química do óleo essencial de *Philodendron bippinatifidum* Schott e observaram a inibição alimentar de besouros da espécie *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae), importante praga agrícola no Brasil e em outros países da América do Sul.

As raízes de *Philodendron bipinnatifidum* são utilizadas como vermífuga e também com ação hemostática (NOELLI, 1998b). Visando avaliar a potencial atividade do extrato de *Philodendron imbe* Schott contra a doença de Alzheimer, a enzima acetilcolinesterase foi

exposta in vitro a diferentes concentrações desse extrato. Nas concentrações utilizadas não foi observada inibição significativa dessa enzima (TREVISAN; MACEDO, 2003).

Haller (1940) constatou que extratos de *Philodendron amurense* Rupr. (Araceae), produziram uma ação larvicida contra mosquitos. Wilcoxon et. al (1940).

A espécie *P. deflexum*, nome comum "*Taracua*", apresenta as sinónímias *Philodendron megalophyllum* Schott; *Philodendron myrmecophyllum* Engl. É uma liana epífita; com nós de 4 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro, tornando-se marrom; com raízes de até 0,5 cm de diâmetro, lisa ou ligeiramente rugosa. As folhas são simples alternadas, sem estípulas, em forma de coração, 30-60 cm x 22-44 cm, ligeiramente bicolors, verde escuro pelo feixe, semilustrosas; pecíolos teretes, um pouco suculentos; venação secundária anódina na parte inferior. Espata variando de verde até branco-amarelada por fora, vermelho por dentro; Espádice branco-esverdeada com 14-18 cm de comprimento. Frequentemente associada a colônias de formigas (LÓPEZ et al., 2006).

**Figura 1** - Folha e raízes adventícias do maeteral fresco do *Philodendrom deflexum*



Fonte de: The plantist.org Autor: J. Solomon 2016.

**Figura 2** - *Philodendron deflexum* popularmente conhecida como " taracua".



**Fonte:** de google autor Tom Croat 2006.

As raízes adventícias do *P. deflexum* são usadas como cordas de amarração; o extrato das raízes é usado contra as picadas de insetos, e mordidas de cobra; No Peru a seiva do pecíolo é utilizada como condicionador de cabelo; em algumas partes da Amazônia colombiana é usado para aliviar dores de dente e preparados para aliviar a coceira do corpo (LÓPEZ et al., 2006).

Das espécies vegetais, *Philodendron deflexum* Poepp. (Araceae) e *Siparuma guianensis* Aubl. (Monimiaceae) foram extraídos óleos essenciais e em diferentes concentrações utilizados em bioensaios de laboratório frente a larvas de *Aedes aegypti*, apresentando significativa atividade tóxica, exibindo uma CL<sub>50</sub> de 85,31 ppm e 49,66 ppm, respectivamente (VIANA et al., 1999a e 1999b).

## CONTEXTUALIZAÇÃO SOBRE ARBOVIROSES e MALÁRIA

Os arbovírus (abreviação do termo em inglês *arthropod-borne virus*) são um grupo de vírus que se mantém na natureza principalmente através de ciclos que envolvem vetores artrópodes hematófagos e hospedeiros vertebrados suscetíveis (WHO, 1985; FIGUEIREDO, 2007).

As infecções causadas por estes vírus, assim como a maioria das doenças infecciosas emergentes, possuem caráter zoonótico. Dentre os hospedeiros vertebrados dos arbovírus, os primatas não humanos (PNH) desempenham papel de animais “sentinelas” na vigilância

epidemiológica, atuando como indicadores e alarmes da presença de arbovírus de interesse à saúde pública (SVOBODA, 2007).

Os arbovírus podem ser divididos em oito famílias e 14 gêneros, sendo que aqueles de interesse à saúde pública pertencentes a cinco famílias: *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Bunyaviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae* (WHO, 1985). Dentro da família *Flaviviridae*, o gênero *Flavivirus* é o mais representativo, incluindo 62 espécies de vírus reconhecidas pelo *International Committee on the Taxonomy of Viruses* (ICTV (FAUQUET et al., 2005)).

Os arbovírus têm uma distribuição geográfica bastante ampla abrangendo todos os continentes, tanto nas regiões temperadas como nas tropicais com predominância nestas últimas, certamente por oferecerem condições ecológicas mais favoráveis. Nos trópicos, os vetores coexistem com os hospedeiros vertebrados em todas as estações do ano, ao passo que, nos países de clima temperado, o ciclo de transmissão é interrompido durante o inverno, reiniciando-se na primavera ou verão (TRAVASSOS DA ROSA et al., 1997).

A floresta amazônica é uma das maiores reservas de arbovírus do planeta, não só devido às condições climáticas favoráveis, mas também à grande diversidade da fauna, com abundante variedade de artrópodes hematófagos e vertebrados silvestres, que constituem os elementos fundamentais para a manutenção desses vírus, conforme Travassos et al., (1997).

O desequilíbrio desse ecossistema pode levar ao surgimento de um maior número de doenças que estão relacionadas com o inadequado manejo dos ecossistemas naturais, contribuindo para o aparecimento de diversos arbovírus, alguns deles responsáveis por importantes problemas de saúde pública regional e nacional (VASCONCELOS PFC et al., 2001).

Entre as alterações ambientais introduzidas pelo homem, que têm sido associadas à emergência ou reemergência de arbovírus, destacam-se: o excessivo desmatamento, a exploração do subsolo, a colonização humana, a urbanização não planejada, a expansão agrícola e o ecoturismo (TRAVASSOS DA ROSA et al., 1997; VASCONCELOS et al., 2001; BATISTA et al., 2012).

Os *Flavivirus* podem causar encefalites, quadros hemorrágicos, doenças hepáticas e febris severas nos animais vertebrados, inclusive no homem, sendo responsáveis por elevadas taxas de morbidade e mortalidade em seres humanos (MONATH; HEINZ, 1996). Desta forma, neste gênero estão representados alguns dos principais arbovírus patogênicos humanos em todo o mundo (HEINZ; STIASNY, 2012).

### 3.3 DENGUE

O *Aedes aegypti* é originário da África e se espalhou para outros países através dos navios negreiros. Este mosquito, quando infectado por patógenos, pode transmitir doenças (FIOCRUZ, 2013). Nas últimas duas décadas, a incidência de dengue nas Américas tem apresentado uma tendência ascendente, com mais de 30 países informando casos da doença, a despeito dos numerosos programas de erradicação ou controle que foram implementados. (BRASIL, 2009)

A transmissão da dengue ocorre pelo mosquito *Aedes aegypti*, e possui cinco vírus distintos já identificados, sendo que os tipos virais DEN-1, DEN- 2, DEN-3 e DEN-4, já eram conhecidos e recentemente o DEN-5 foi identificado em uma epidemia na Malásia (MUSTAFA et al. 2015; FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2015). Apesar de serem vírus diferentes, estão estreitamente ligados entre si. Após uma infecção por determinado vírus, a imunidade é vitalícia contra esse sorotipo, oferecendo uma proteção parcial e transitória contra a infecção subsequente pelos outros sorotipos. Uma infecção sequencial aumenta o risco de doença mais grave, resultando na febre hemorrágica da dengue (FHD) (WHO, 2015b).

Os picos epidêmicos têm sido cada vez maiores, em períodos que se repetem a cada 3-5 anos, quase de maneira regular. Entre 2001 e 2005, foram notificados 2.879.926 casos de dengue na região, sendo 65.235 de dengue hemorrágica, com 789 óbitos. As maiores incidências nesse período foram reportadas pelo Brasil, Colômbia, Venezuela, Costa Rica e Honduras, correspondendo a 82% do total (BRASIL, 2009, p. 11).

É um inseto holometábolo, seu ciclo de vida consiste em quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto, sendo os três primeiros, aquáticos. Somente a fêmea realiza a hematofagia, necessária para maturação dos ovos (FORATTINI, 1996).

No mundo cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas onde os vírus da dengue podem ser transmitidos. Nos últimos 25 anos, tornou-se hiperendêmica em muitos centros urbanos de países tropicais. A dengue foi identificada pela primeira vez em 1950 na Tailândia e Filipinas, e em 1970 já tinha atingido nove países. Atualmente são mais de 100 países atingidos, prevalecendo os países da África, Ásia, Américas Central e do Sul, caracterizando-a como uma doença de países pobres e em desenvolvimento.

A dengue é atualmente a doença viral transmitida por mosquito de maior incidência e preocupação para saúde pública internacional (WHO, 2015). No Brasil, somente de Janeiro a Agosto de 2015, foram registrados mais de 1,35 milhão de casos (SVS, 2015).

Segundo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde, até o dia 30 em 2015, foram registrados 1.350.406 casos prováveis de dengue no País e casos óbitos. A região Sudeste foi a que mais registrou casos prováveis de dengue com 869.346 casos, seguida pela região Nordeste com 239.574 casos (SVS, 2015c) demonstrou – se no Quadro 1 e 2.

**Tabela 1** - Número casos prováveis anuais (NA) e percentagem (%) de Dengue no Brasil.

REGIÃO	2015		2016	
	NA	%	NA	%
<b>Sul</b>	52.703	3,90	83.559	6,5
<b>Sudeste</b>	869.346	64,38	772.842	59,7
<b>Centro - Oeste</b>	162.336	12,02	139.952	10,8
<b>Norte</b>	26.447	1,95	33.792	2,6
<b>Nodeste</b>	239.574	17,74	264.438	20,4
<b>Total</b>	1.350.406	100	1.294.583	100

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

**Tabela 2** - Número de casos de Óbitos de Dengue no Brasil nos últimos três anos.

Ano	N
<b>2014</b>	390
<b>2015</b>	614
<b>2016</b>	288

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

A princípio, reservatórios contendo água limpa eram considerados criadouros ideais para reprodução do mosquito, contudo há relatos da possível adaptação do vetor às condições ambientais adversas (VAREJÃO et al., 2005). Uma das justificativas para a atratividade observada pelos compostos orgânicos é a presença de bactérias associadas a eles, como evidenciado no estudo de folhas de bambu do gênero *Bambusa*, demonstraram maior atratividade na presença de bactérias na solução (ARBAOUI; CHUA, 2014).

O homem não é o único hospedeiro do vírus, mas outros primatas podem executar essa função. Entretanto, a manifestação clínica ocorre somente no ser humano, uma vez que trata-se de doença estritamente urbana, visto que o ciclo silvestre perdeu importância epidemiológica ao longo dos anos (BORGES, 2001).

O *Aedes aegypti* é também responsável pela transmissão de outros dois importantes arbovírus, recentemente introduzidos no Brasil: do vírus Chikungunya, que causa a febre Chikungunya (SCHILTE et al., 2013) e do vírus Zika, sendo que o primeiro pertence à

família *Togaviridae* (gênero *Alphavirus*) e, o segundo à família *Flaviviridae* (gênero *Flavivirus*) (DICK et al., 1952), respectivamente.

### 3.4 ZIKA VIRUS

O Zika vírus (ZIKV), foi identificado pela primeira vez em 20 de abril de 1947, na floresta Zika (daí o nome do vírus), localizada em Uganda, na África, em um macaco do gênero *Rhesus* (VASCONCELO; ZANLUCA et al., 2015). Em seres humanos, o vírus foi descoberto em 1952, em Uganda e na Tanzânia, e em 1968 foi confirmado em amostras biológicas de humanos na Nigéria. O ZIKV é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, pertencente à Família *Flaviviridae* (OEHLER et al., 2014).

Apesar do vírus existir por vários anos, somente no início do ano de 2015 foram registrados os primeiros casos confirmados de infecção do ZIKV no Brasil (VASCONCELOS, 2015b). O ZIKV em casos mais severos pode acometer o sistema nervoso central, sendo associada à Síndrome de Guillian-Barré (VASCONCELOS, 2015d).

Em uma epidemia ocorrida na Micronésia, foram registrados 40 casos dessa síndrome, sendo que em um período anterior de um ano, havia registro de apenas 5 casos na região (SVS, 2015e). O mesmo fato foi confirmado na Polinésia Francesa e no Brasil (SVS, 2015f; VASCONCELOS, 2015e). Isso mostra uma possível relação do desenvolvimento da patologia, após infecção pelo ZIKV (SVS, 2015)

Segundo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde foi confirmada transmissão autóctone de febre pelo vírus Zika no país a partir de abril de 2015 (SVS, 2016c). Além disso, também foram confirmados laboratorialmente 3 óbitos por vírus Zika no país. A média de idade dos óbitos por febre pelo vírus Zika foi de 20 anos.

Já em 2016, até a Semana Epidemiológica 21, foram registrados 161.241 casos prováveis de febre pelo vírus Zika no país, e foi confirmado laboratorialmente 1 óbito no Rio de Janeiro. Em relação às gestantes, foram notificados 13.538 casos prováveis, sendo 5.647 confirmados por critério clínico-epidemiológico ou laboratorial, segundo dados do Sinan-NET (SVS, 2016 d).

### 3.5 FEBRE CHIKUNGUNYA

A chikungunya ou febre chikungunya (CHIKV) é uma doença causada pelo vírus da família *Togaviridae*, do gênero *Alphavirus*, transmitida pela picada de fêmeas dos mosquitos

*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* infectadas pelo CHIKV (CDC, 2011). Foi relatada pela primeira vez em 1950 na região da Tanzânia (DONALISIO; FREITAS 2014). Atualmente é encontrada em regiões tropicais e subtropicais da África, no sul e sudeste da Ásia e em ilhas do Oceano Índico.

O significado de chikungunya vem da língua africana makonde que diz “aquele que é contorcido”, devido à forte dor nas articulações causada pela artrite que caracteriza a doença (TAUIL, 2014). No Brasil, a transmissão da chikungunya foi detectada em setembro de 2014, na cidade de Oiapoque (Amapá), atingindo posteriormente outros estados como Distrito Federal, Bahia, Mato Grosso do Sul, Roraima e Goiás (HONÓRIO et al., 2015).

De acordo com o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, no ano de 2014, foram notificados 3.657 casos autóctones do vírus da CHIKV. Um total de 2.772 casos foi confirmado, sendo 140 por exames laboratoriais e 2.632 por critério clínico-epidemiológico, onde foram avaliados os sinais e sintomas típicos da doença. Destes, 477 continuaram em investigação e 408 foram descartados.

Já em 2015, até a Semana Epidemiológica 30, foram notificados 9.084 casos autóctones suspeitos da CHIKV. Desses, 3.554 foram confirmados, sendo 123 por exames laboratoriais e 3.431 por critérios clínico-epidemiológicos. Há, ainda, 5.217 casos em investigação. As faixas etárias com maior risco de letalidade são os idosos e os recém-nascidos, que deverão ter uma maior atenção em caso de suspeita da doença por ter maior risco de morte. Apesar de ainda não existirem casos de morte causados pela chikungunya no Brasil, em alguns países da América Central, Caribe e países Andinos, já foram confirmados 63 óbitos (OPAS, 2015).

Já em 2016, até a semana epidemiológica 21, foram registrados 122.762 casos prováveis de febre de chikungunya no país. Foram confirmados laboratorialmente 17 óbitos por febre de chikungunya: em Pernambuco (7 óbitos), Parana (1 óbito), Rio de Janeiro (2 óbitos), Rio Grande do Norte (4 óbitos), Maranhão (1 óbito) e Ceará (2 óbitos). A média de idade dos óbitos foi de 69 anos (SVS, 2016d).

### 3.6 MALÁRIA

A malária é um problema de saúde pública mundial que afeta a população de diferenciadas regiões tropicais e subtropicais, sendo, portanto, uma das doenças parasitárias mais importantes do mundo (DE BARROS; HONORIO; ARRUDA, 2011; MARTINS-CAMPOS et al., 2012; VALLE; CLARK, 2013).

A malária acomete mais de 500 milhões de pessoas por ano no mundo inteiro, com 120 milhões de casos clínicos e de 1,5 a 2,7 milhões de óbitos. Dentre os países invadidos pela malária, 45 são da África, 21 nas Américas, 14 no Mediterrâneo, 8 no sudeste Asiático, 9 no oeste do Pacífico e 4 na Europa. Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela são responsáveis por 89% de todos os casos de malárias registrados nas Américas (TEFANI et al., 2013).

O agente etiológico da malária humana (assim como de aves e mamíferos) pertence à família Plasmodiidae e ao gênero *Plasmodium*. São quatro as espécies que habitualmente parasitam o homem: *Plasmodium falciparum* (responsável pela maioria dos casos fatais), *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malarie* e *Plasmodium ovale* (REY, 2002; BRASIL, 2005; BRASIL, 2009). É caracterizado pela tríade sintomática: febre, calafrio e cefaleia, além de outros sintomas.

A maioria dos de malária ocorrente no Brasil, entorno de 99,7 %, esta concentrado na Amazonia, cujo com aproximadamente 25 milhões de habitantes, o que corresponde a cerca de 10% de população Brasileira (WHO, 2014; IBGE, 2014). Enquanto a incidência de malária tenha apresentado uma redução nos últimos anos, reflexos dos altos investimentos no controle desta epidemia em 2013, ainda foram notificados 178.208 casos e 41 óbitos (SIVEP/MALÁRIA, 2014).

Na migração humana desordenada, o desmatamento, a resistência do parasita aos medicamentos antimaláricos e as mudanças no comportamento das espécies de anofelinos vetores, caracterizam a região amazônica como um *hot spot* da malária, ou seja, uma região de difícil controle (BOUSEMA et al., 2010).

Na Amazônia Brasileira em um estudo foi realizado no Estado do Amapá, que é uma região endêmica para a malária e múltiplos potenciais vetores da doença foram identificados (*Anopheles darlingi*, *Anopheles marajoara*, *Anopheles nuneztovari*, *Anopheles triannulatus* e *Anopheles intermedius*) e múltiplos parasitas da malária (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* VK210, *Plasmodium vivax* VK247, e *Plasmodium malariae*) (GALARDO et al., 2007).

O principal vetor de malária no Brasil e o Estado do Amapá é o *Anopheles darlingi*, cujo costume é extremamente antropofílico é a mais encontrada realizando repasto sanguíneo no interior e nas proximidades das residências. Esta espécie cria-se normalmente em águas de baixo fluxo, profundas, límpidas, sombreadas e com pouco aporte de matéria orgânica e sais (GALARDO et al., 2007; GALARDO; ZIMMERMAN; GALARDO, 2013).

#### 4 O USO DE PLANTAS NO CONTROLE VETORIAL

As plantas têm sido utilizadas como matérias-primas na fabricação de inseticidas e, com isto, várias delas entraram para a agricultura econômica no Brasil, principalmente na Amazônia. As primeiras referências sobre a aplicação destes inseticidas registram o uso de pó de raízes de *Derris elliptica*, conhecida por tuba ou toeba em Java, na Indonésia e na Índia oriental. Também foram citadas *Derris uliginosa* de Figi; *Derris. koolgibberali* e *Derris robusta* (galhos) na Índia. Entretanto, quando estas plantas foram submetidas a testes, somente *Derris elliptica* e *Derris uliginosa* se revelaram realmente ativas como inseticidas (PIRES, 1978).

Na região Amazônica, antes de 1945, os Estados do Amapá e do Pará eram produtores e exportadores do inseticida natural Timbó (*Derris*). Este foi introduzido na Europa e América do Norte na forma de um pó fino de casca de raiz e era usado em hortas. Havia outras formulações baseadas em formas emulsionáveis do extrato da casca da raiz. A indústria se baseava na plantação da espécie *Derris (Lonchocarpus) urucu* Lonchocarpus nas áreas de várzea em Mazagão (Amapá), de Almerim até Monte Alegre e próximo a Belterra (Pará).

Com o advento do DDT e benzaclorídeo de benzeno BHC, no período de 1945-1955, entretanto, o comércio do pó de Timbó entrou em colapso; os moinhos de raízes fecharam e a atividade de pesquisa com a cultura foi completamente desativada (PIRES, 1978). Outro inseticida da época pré-1945, e que agora volta a ganhar mercado, é o de *Quássia (Quassia amara)* de baixa toxidez.

O extrato da madeira é tóxico para insetos, mas não para o homem, podendo ser usado na confecção de papel pega-mosca ou em forma de inseticida, por sistema de spray, contra pragas de lavoura. Esta parece ter também atividade repelente aos insetos em baixas concentrações. Seu componente principal é a Quassina (RODRIGUES, 1989).

Os inseticidas e repelentes derivados de plantas constituíram uma das primeiras estratégias para controle dos mosquitos. Várias plantas têm sido investigadas em relação às suas propriedades inseticidas, tendo em vista o controle especificamente de mosquitos vetores, objetivando assim a redução de acúmulo de resíduos tóxicos no meio ambiente (SUKUMAR et al., 1991).

O primeiro registro do uso de extratos de plantas no controle de larvas de culicídeos foi feito por Campell et al., (1933). Os autores isolaram de uma erva da Rússia, *Anabasis aphylla* L. (Chenopodiaceae), alcalóides semelhantes à nicotina, com atividade letal em

larvas de *Culex pipens*, *Culex territans* Walker e *Culex quinquesfasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae). Ainda sobre o início da aplicação de inseticidas vegetais, registra-se o uso de pó das raízes de *Derris elliptica* Benth (Fabaceae) em Java na Indonésia e na Índia Oriental. Também foram citadas *Derris uliginosa* Willd; *Derris koolgibberali* F. M. Baley e *Derris robusta* (D.C) Benth (galhos) da Índia. Entretanto, quando estas plantas foram submetidas a testes, somente *D. elliptica* Benth e *D. uliginosa* Willd revelaram-se ativas como inseticidas (Pires, 1978).

Heal et al. (1950), relataram que 2.500 espécies de plantas de todo o mundo já foram testadas quanto às suas propriedades inseticidas. Em larvas de *Aedes aegypti*, compostos de plantas das famílias Annonaceae, Araceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Flacourtiaceae, Fabaceae, Liliaceae e Simaroubaceae apresentaram atividade letal na faixa de 50 ppm a 200 ppm.

Sukumar et al., (1991) apresentaram ampla revisão sobre a bioatividade de 344 espécies vegetais em mosquitos, em diferentes estágios biológicos. Os autores relatam alguns trabalhos importantes que mostram a atividade larvicida de óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas, frente a mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Stegomyia* e *Culex*.

Choochote et al., (2004) avaliaram “*in vitro*” o potencial de extrato bruto de *Apium graveoleus* L. (Apiaceae) quanto a atividade larvicida em *Aedes aegypti*. Em sucessivos experimentos foi constatada a atividade larvicida nas dosagens, (CL<sub>50</sub> = 81 ppm e CL<sub>95</sub> = 176,8 ppm). O óleo de *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) (óleo de hortelã) amplamente utilizado, foi avaliado quanto a sua atividade larvicida e repelente em diferentes espécies de mosquitos: *Ae. aegypti*, *Anopheles stephensi*, *Culex quinquesfasciatus*.

A aplicação de 3 mL/m<sup>2</sup> na superfície da água resultou em 100% de mortalidade das larvas dentro de 24 h para *Culex quinquesfasciatus*, 90% para *Aedes aegyptie* e 85% para *Anopheles stephensi*. As porcentagens de proteção obtidas contra *Anopheles annularis*, *Anopheles culifaciense* *Culex quiquesfasciatus* foram 100%, 92,3% e 84,5%, respectivamente (ANSARI et al., 2000a).

O óleo essencial de *Dalbergia sissoo* Roxb. (Fabaceae) se mostrou efetivo quanto as atividades larvicida, inibição de crescimento e repelente em *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, *Culex quinquesfasciatus* em condições de laboratório. A atividade larvicida observada em 24h, numa concentração de 4 mL/m<sup>2</sup>, provocou 100% de mortalidade em *Culex quinquesfasciatus*, 90 % em *Aedes Aegypti* e 60% em *Anopheles stephensi*. A pupação foi totalmente inibida nas espécies testadas. O óleo mostrou forte ação repelente quando 1

mL foi aplicado nos antebraço de voluntários humanos. A proteção ocorreu em um período de 8 a 11 horas (ANSARI et al., 2000b).

Carvalho et al., (2003) comprovaram a atividade larvicida do óleo essencial extraído de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) em larvas de *Aedes aegypti*. Os resultados obtidos mostraram que o óleo essencial de *Lippia sidoides* e seu hidrolato têm ação larvicida contra *Aedes aegypti*, causando uma mortalidade quase instantânea. Thymol, um composto fenólico foi o componente majoritário responsável por 100% de mortalidade, na baixa concentração testada de 0,01%. Os autores sugerem que esse óleo é um larvicida promissor contra *Aedes aegypti*.

Tare et al., (2004) avaliaram a atividade tóxica individual de onze óleos essenciais extraídos de plantas comuns da região do Himalaia em duas linhagens de larvas de *Ae. aegypti*, uma da Índia e outra de Liverpool. Na linhagem da Índia o melhor desempenho foi obtido com o óleo de *Daucus carota* L. (Apiaceae) com uma  $CL_{50}=37,95$  ppm, seguido por *Acorus calamus* L. (Araceae), *Angelica glauca* Baron (Apiaceae) e *Saussurea lappa* Baron (Asteraceae) com os valores da  $CL_{50} \leq 65$  ppm, *Valerian wallichii* D.C. (Valerianaceae)  $CL_{50} = 75,60$  ppm e *Trachyspermum* spp. (Apiaceae)  $CL_{50} = 93,19$  ppm). Na linhagem de Liverpool os maiores potenciais de atividade RD. *carota*, *S. lappa* e *V. wallichii* com  $CL_{50} \leq 38$  ppm e *A. graveolens* L.  $CL_{50} = 54,49$  ppm.

Cavalcanti et al., (2004), avaliaram em laboratório a atividade larvicida em *Ae. aegypti* de óleos essenciais extraídos de nove plantas comumente encontradas no nordeste do Brasil, *Alpinia zerumbet* (Pers) B. L. Burtte R.M (Zingiberaceae), *Citrus limonia* L. (Osbeck (Rutaceae), *C. sinensis* L., *Syzygium jambolana* L. Skeels (Myrtaceae), *Ocimum americanum* L. (Lamiaceae), *O. gratissimum* L. e *Hyptis suaveolens* L. (Poiat) (Lamiaceae), estudadas junto com *Cymbopogon citratus* (DC) Staf.e *Lippia sidoides*, utilizadas para comparação. Os óleos essenciais mais ativos em larvas de terceiro estágio de *Ae. aegypti* foram os de: *O. gratissimum* ( $CL_{50}=60$  ppm), *O. americanum* ( $CL_{50}= 67$ ppm), *L. sidoides* ( $CL_{50} =63$  ppm) e *C. citratus* ( $CL_{50}= 69$ ppm).

Pathak et al., (2000) analisaram em laboratório o efeito larvicida de óleos essenciais extraídos de folhas de quatro plantas *Tagetes erecta* L. (Asteraceae), *Ocimum sanctum*, *Mentha piperita* e *Murraya koenigii* L., (Rutaceae) em três espécies de mosquitos de importância vetorial (*Anopheles stephensis* Liston, *Culex quinquefasciatus* Say. e *Aedes aegyptis* L). O óleo de *Tagetes erecta* foi o mais efetivo em baixas concentrações ( $CL_{50}$  variou de 9.19 a 15.37 ppm) seguido por *O. sanctum*, *Mentha piperita* e *Mentha koenigi* que apresentou a menor toxicidade ( $CL_{50} = 29,96$  a 81,47 ppm).

## 5 MATERIAL E MÉTODO

### 5.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal da raiz *Philodendron deflexum* (3 kg) foi coletado em área de floresta de terra firme na localidade de Camaipi, município de Mazagão, Amapá. A parte dela utilizada para a extração das amostras do óleo essencial foi a raiz. A amostra foi armazenada em uma caixa de isopor de 50L, com uma camada de cinco centímetros de gelo picado no fundo, coberta por papel toalha. Existe uma exsicata foi depositada no Museu Paraense Emilio Goeldi sobre o No. 54574, pelo Botânico J.M. Pires.

### 5.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo *P.deflexum* foi feita por meio da técnica de hidrodestilação em sistema Clevenger modificado (SIMÕES et al., 2003). As raízes foram cortadas em pequenos pedaços e pesadas. Logo após, foram colocadas em balões de três litros e cobertas com água destilada. O processo extrativo foi realizado duante quatro horas. O óleo essencial extraído foi armazenado em frasco âmbar e depois refrigerado. O rendimento da extração do óleo foi estimado em porcentagem peso/peso (% R), utilizando a equação:

$$\% R = [(masa de \acute{o}leo extra\acute{i}da/masa de material vegetal)]*100$$

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO ÓLEO

A análise do óleo *P. deflexum* foi feita através de Cromatografia Gasosa interfaciada com um Detector de Ionização por Chama (CG-DIC) (Modelo: QP201, marca: Shimadzu, país: Japão) e a identificação das substâncias presentes foi feita através de Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massas (CG-EM) (Modelo: QP2010MS, marca: Shimadzu, país: Japão). As amostras foram injetadas na concentração de 1mg/mL utilizando-se hélio como gás de arraste nas mesmas condições nos dois equipamentos. Para o cálculo do índice de Kovats foi utilizado o padrão de hidrocarbonetos C7-C30 e os cromatogramas das amostras foram comparados aos da literatura especializada (ADAMS, 2001).

A análise de GC-MS foi realizada num cromatógrafo de gás Perkin Elmer Autosystem XL equipado com uma coluna de sílica fundida (30 m x 0,25 mm DI, DB-1 de espessura de filme, 0,25 mM; J & W Scientific Inc.) acoplada a um Perkin Elmer espectrômetro de massa

Turbo Mass (versão de software 4.1). A temperatura do forno foi programada a partir de 45 °C a 175°C, a uma taxa de 3°C/min e, subsequentemente, de 15°C/min a 300°C, onde a temperatura foi mantida constante durante 10 min. A temperatura da linha de transferência foi de 280°C, a temperatura da câmara de ionização foi de 220 °C, e o gás transportador foi hélio a uma velocidade linear de 30 cm/s. A razão de separação foi de 1:40.

As identificações dos compostos foram determinadas por comparação dos seus índices de retenção com os dos C9-C21 n-alcenos e por comparação dos espectros de massa com os de compostos comerciais e de referência padrão presentes em óleos existentes no laboratório, bem como pela comparação com uma biblioteca de espectro de massa (MENDES et al., 2012).

#### 5.4 PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICA E TOXICOLÓGICA (ADME/TOX) DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL.

Preadmet é um aplicativo baseado na web para a previsão de dados ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) e biblioteca de drogas, como a utilização do método *in silico*. Foi desenvolvido em resposta à necessidade de previsão rápida de drogas e semelhança de dados ADME/Tox.

- Preadmet consiste em quatro partes principais:

- Cálculo descritor molecular
- Previsão de drogas semelhantes
- Predição ADME
- Predição de toxicidade.

Os compostos foram selecionados em função dos valores de retenção e rendimentos. Posteriormente, realizou-se a determinação *in silico* das propriedades ADME/TOX, tais como: absorção intestinal humana (AIH), permeabilidade celular *in vitro* Caco-2 ( $P_{\text{Caco-2}}$ ), permeabilidade celular em *Maden Darby Canine Kidney* ( $P_{\text{MDCK}}$ ), permeabilidade da pele ( $P_{\text{pele}}$ ), ligação das proteínas plasmática (LPP%) e penetração da barreira hemato-encefálica ( $C_{\text{Brain}}/C_{\text{Blood}}$ ) e toxicológica como: mutagenicidade e carcinogenicidade usando o servidor online PreADMET (YAMASHITA et al., 2000).

Os resultados obtidos cujo os componentes majoritários do óleo essencial de *P. deflexum* foi comparado com Temefós, substância padrão recomendada pelo MS e OMS para tratamento da água contra larvas de *Aedes* e *Anopheles*.

## 5.5 ENSAIOS DA ATIVIDADE LARVICIDA

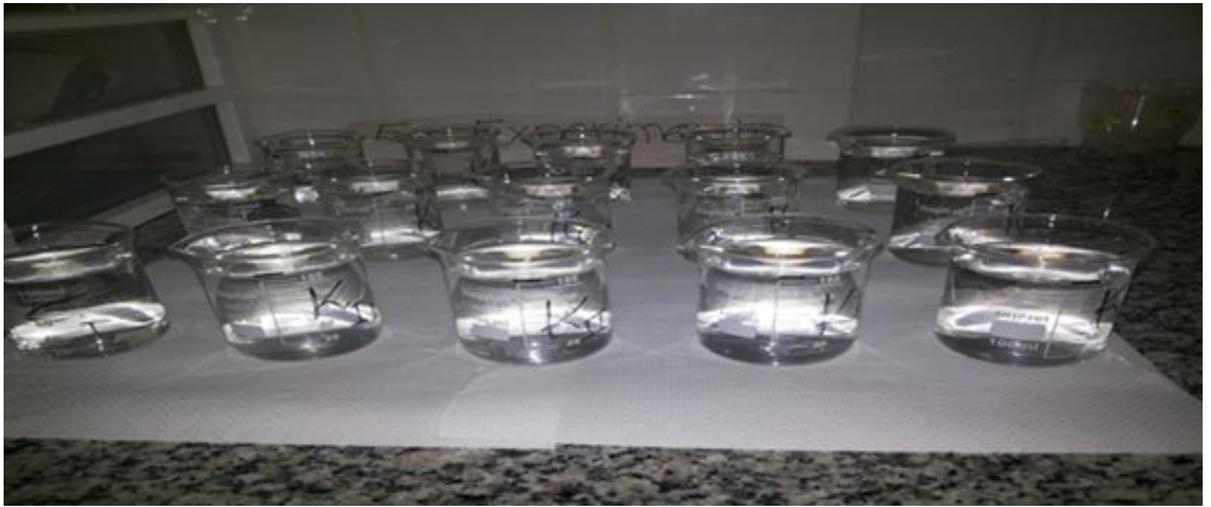
### 5.5.1 Larvas

As larvas de *A. aegypti*, da colônia Rockefeller e as larvas de *Anopheles albitarsis* s.l utilizadas, foram oriundas do Insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá (ARTHROLAB). O ensaio biológico foi realizado com 4º estagio jovem, para se evitar que durante os experimentos atingissem a fase de pupa. Estas foram mantidas em condições climáticas padronizadas, em uma sala (3m x 4m) com temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , com umidade relativa do ar de  $75\pm 5\%$  e fotoperíodo de 12 horas (OMS, 1970;1980;1984).

### 5.5.2 Procedimentos experimentais para os Ensaio da Atividade Larvicida

As concentrações de óleo essencial utilizadas para ambas espécies foram: 20, 40, 80, 100, 120 ppm. Os recipientes utilizados para os testes foram Beckeres de vidro com capacidade para 100 mL. Nestes, foram colocados 80 mL de água destilada e em seguida colocadas em cada Becker as quantidades adequadas de óleo essencial para cada concentração, dispersados com tween 80. A solução foi agitada para homogeneizar e em seguida foram inseridas as larvas em cada um dos grupos correspondentes. Depois dessa ação, o volume foi completado até atingir 100 ml. Em cada bioensaio utilizou-se um grupo de controle contendo água destilada e tween 80 (0,25g). Utilizou-se uma quantidade de 10 larvas por tratamento. Os bioensaios foram realizados em triplicatas.

**Figura 3** - Disposição das concentração do óleo essencial de *Philodendron deplexum* para os ensaios larvicida.



**Fonte:** Ferreira R. M. A

As leituras da mortalidade foram verificadas nos períodos de 24 e 48hs após a exposição das larvas às soluções. A mortandade foi observada devido à ausência total de movimentos. Seguindo a fórmula: % Mortalidade = (numero de mortes/total de larvas) /\*100.

## 5.6 ANÁLISES DE DADOS

Para estimar os valores de  $CL_{50}$  da atividade larvicida do óleo essencial de *Philodendrum deflexum* frente as larvas de *A. aegypti* e *Anopheles albitatis* sl., foi utilizada a análise Probit levando-se em consideração os tempos 24hs e 48 horas. Para esta análise foi utilizado o programa *Stat Graphic Centurium XXV.1* (*Stat Ease Co. MA. USA*). Para análise de diferença de média entre os parâmetros adotados utilizou-se o teste student a nivel de significância de 0.05 através de *software PAST*.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE RAÍZES ADVENTÍCIAS FRESCAS DE *Philodenron deflexun*.

Foram realizadas três extrações do óleo essencial de raízes adventícias do *P. deflexum* dos foram determinados os rendimentos médios das amostras, calculados sobre a massa do material fresco, estão inseridos na Tabela 3, com uma média de rendimento de 0,068%.

Em um estudo que avaliou o rendimento médio de amostras de óleo essencial de plantas do gênero *Philodendron* spp foi obtido um menor rendimento com uma média de 0,030% (BACCHUS et al., 2015) e (OTTOBELLI et al., 2011) de óleo *P. scabrum* com uma média de 0,05 (VIANA et al., 2002) *P. acutatum* a média variou de 0,04 a 0,07 de *P. acutatum*. Outros autores obtiveram um maior rendimento, como (SILVA et al., 2016) do óleo essencial de raízes frescas de *P. maximum* com uma média de 0,2121 e *P. solimonense* com uma de média de 0,2007 e de raízes secas de *P. maximum* com uma média de 0,1521, *P. solimonense* com uma média e 0,1049, *P. goeldii* com uma média de 0,1366 e (BEZERRA et al., 2002) de *P. imbe* com um rendimento de média 0,6% numa base de peso de raízes secas.

**Tabela 3** Rendimento médio das três extrações do óleo essencial de raízes adventícias e do material fresco de *P. deflexum*. Quantidade de matéria vegetal (g) e óleo essencial (g) utilizados nas extrações.

	Forma	Materia vegetal (g)	Óleo essencial (g)	Rendimento %
1 <sup>a</sup>	raíz adventícia	500	0,301	0,079
2 <sup>a</sup>	raíz adventícia	500	0,293	0,067
3 <sup>a</sup>	raíz adventícia	500	0,201	0,058
				<b>Média=0,068</b>

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 - 2016).

### 6.2 IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

O resultado da análise qualitativa e quantativa do óleo permitiu identificar 41 constituintes no óleo essencial de *P. deflexum* extraído de raízes na forma fresca. Os compostos majoritários foram  $\beta$ -Bisaboleno (18,23%), Limoneno (15,24%), Undecanol (10,27%), (-)-Isoledeno (6,32%),  $\alpha$ -Copaeno (10,23%), Acetato de butilo butirila ( 5,98%),  $\beta$ -Cariofileno, (9,76%), m-Cimeno (7,21%),  $\beta$ -Selineno (6,33%), (Tabela 4). Nesta tabela estão contidos o Tempo de Retenção das Substâncias e o Índice de Retenção Calculado.

**Tabela 4** - Constituintes químicos, tempo de retenção das substâncias (TRS), índice de retenção calculado (IRC) e percentagem da composição (%) do óleo essencial de *Philodendrum deflexum* extraídos de raízes adventícias frescas.

No.	Composição	TRS	IRC	% Composição
1	$\alpha$ -Pino	9,64	930	0,11
2	Canfeno	8,77	938	0,04
3	Sabino	6,99	958	0,17
4	$\beta$ -Pino	7,88	963	0,18
5	$\beta$ -Mirreno	9,22	975	1,16
6	$\alpha$ -Phellandro	8,44	995	0,22
7	$\alpha$ -Terpino	11,88	1002	0,01
8	<b>m-Cimeno</b>	<b>14,66</b>	<b>1003</b>	<b>7,21</b>
9	$\beta$ -Phellandro	13,88	1005	0,01
10	<b>Limoneno</b>	<b>15,99</b>	<b>1028</b>	<b>15,24</b>
11	<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimeno	12,85	1017	0,02
12	<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	13,22	1027	0,01
13	$\gamma$ -Terpino	14,81	1035	0,01
14	$\alpha$ -Cubebeno	22,94	1345	0,2
15	Ciclosativeno	21,88	1363	0,16
16	$\alpha$ -Ylangeno	24,12	1371	0,03
17	<b><math>\alpha</math>-Copaeno</b>	<b>7,98</b>	<b>998</b>	<b>10,23</b>
18	<b><math>\beta</math>-Cariofileno</b>	<b>22,14</b>	<b>997</b>	<b>9,76</b>
19	<b><math>\beta</math>-Selineno</b>	<b>8,07</b>	<b>998</b>	<b>6,33</b>
20	<i>cis</i> - $\beta$ -Guaieno	6,78	774	0,34
21	Valenceno	7,44	991	0,44
22	$\gamma$ -Muurolo	6,98	995	0,87
23	$\alpha$ -Muurolo	7,67	987	0,22
24	<b><math>\beta</math>-Bisaboleno</b>	<b>23,69</b>	<b>1423</b>	<b>18,23</b>
25	<i>trans</i> -Calameneno	19,65	1175	0,07
26	$\delta$ -Cadineno	8,23	756	0,34
27	$\alpha$ -Calacoreno	10,23	884	0,02
28	Germacreno B	24,92	1224	0,73
29	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bisaboleno	17,43	995	0,33
30	<i>trans</i> -Nerolidol	18,96	884	0,98
31	$\alpha$ -Cariofileno oxido	21,43	1022	1,21
32	1- <i>epi</i> -Cubenol	10,22	1221	0,07
33	<i>epi</i> - $\alpha$ -Cadinol	8,43	886	0,11
34	$\beta$ -Bisabolol	9,12	997	0,02
35	$\alpha$ -Bisabolol	11,8	1018	0,04
36	ácido linoleico	10,22	976	0,08
37	ácido oleico	9,76	1003	0,09
38	<b>(-)-Isoledeno</b>	<b>20,65</b>	<b>25,09</b>	<b>6,32</b>
39	<b>Undecanol</b>	<b>21,334</b>	<b>1311</b>	<b>10,27</b>
40	<b>Acetato de butilo butirila</b>	<b>20,74</b>	<b>1288</b>	<b>5,98</b>
41	$\beta$ -acoradieno	24,78	1335	2,21

Fonte: Pesquisa de campo (2015 – 2016).

Na composição química do óleo essencial de *P. deflexum* foram encontrados 41 componentes. Em amostras de óleos essenciais de *Philodendron* spp foram relatados valores menores, *P. acutatum* com 35 (VIANA et al., 2002), *P. Imbé* com 18 (BEZERRA et al., 2002) e *P. fragrantissimum* com 35 (CASTELLAR et al. 2013), porém *P. bipinnatifidum* apresentou um quantitativo maior com 45 (SANTIAGO et al., 2015).

O  $\beta$ -Bisaboleno (18,23%) foi identificado como o principal composto no óleo essencial de *P. deflexum*. Esta substância foi encontrada em alta quantidade em *P. bipinnatifidum* (65.3%), (SANTIAGO et al., 2015) e *Philodendron acutatum* (49,5%), (VIANA et al., 2002) e em baixa quantidade em *P. solimoense* (11,64%) Silva et al. (2016), e ausente em *P. fragrantissimum*, (CASTELLAR et al., 2013) *P. imbé* (BEZERRA et al., 2002) *P. maximum*, e *P. goeldii*,(SILVA et al., 2016). Abaixo estão listados os constituintes majoritários de óleos essenciais de outras espécies do gênero *Philodendron* (Quadro 1).

**Quadro 1** - Constituintes majoritários em óleos essenciais do gênero *Philodendron*.

ESPÉCIES	CONSTITUINTES MAJORITÁRIOS	REFERÊNCIAS
<i>P. fragrantissimum</i>	$\beta$ -cariofileno (29,9%), limoneno(15,8%), $\alpha$ -selineno (15,7%), $\alpha$ -selineno (15,7%), $\alpha$ -copaene (3,2%),	(CASTELLAR et al. 2013)
<i>P. acutatum</i>	$\alpha$ -pineno (23,2%), $\beta$ -pineno (21,8%), 2-undecanona (12,7%), 2-tridecanona (34,3%), $\beta$ -bisaboleno (49,5%)	(VIANA et al. 2002)
<i>P. imbé</i>	$\alpha$ -pineno (13,3%), sabineno (0,9%), $\beta$ -pineno (15,8%), mirceno (0,6%), limoneneo (15,5%),	(BEZERRA et al., 2002),
<i>P. maximum</i>	$\beta$ -cariofileno (28,29%), germacreno-D (13,22%) e $\alpha$ -copaeno (11,52%), undecanol (26,54 %), lactato de butil-butirila (12,59 %), pentadecanol (11,94%) e octadeceno (11,82%)	(SILVA et al. 2016).
<i>P. solimoense</i>	undecanol (13,52%), $\beta$ -bisaboleno (11,64%), trans- $\gamma$ - bisaboleno (10,65%) e $\beta$ -cariofileno (33,97%) e $\alpha$ -humuleno (18,23%),	(SILVA et al. 2016).

<i>P. goeldii</i>	limoneno (42,27%), $\beta$ cariofileno (15,03 %) e $\alpha$ -humuleno (10,40%)	(SILVA et al. 2016).
<i>P. bipinnatifidum</i>	$\beta$ -bisaboleno (65,3%) e trans- $\alpha$ -bergamoteno (9,9%)	(SANTIAGO et al., 2015).

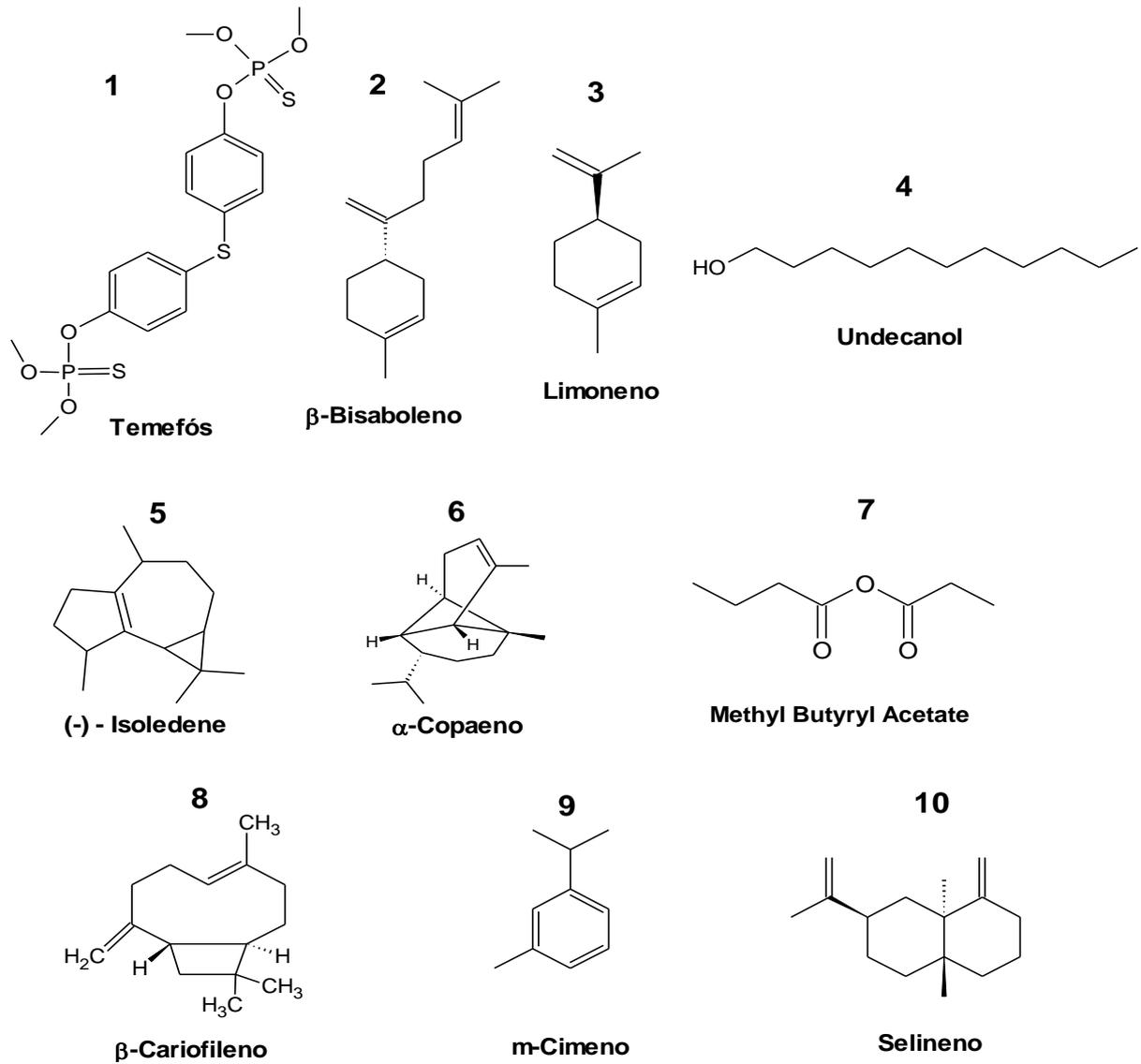
**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 - 2016).

### 6.3 PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES ADME/TOX DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL

As predições das propriedades de absorção, distribuição, toxicológica (ADME/TOX) foram realizadas para o Temfós e nove compostos majoritários identificados:  $\beta$ -Bisaboleno, Limoneno, Undecanol, (-)-Isoledeno,  $\alpha$ -Copaeno, Acetato de butilo butirila,  $\beta$ -Cariofileno, m-Cimeno,  $\beta$ -Selineno (Figura 4).

A previsão da absorção intestinal humana (AIH) é um dos principais objetivos na otimização e seleção de candidatos para o desenvolvimento de medicamentos orais. Na Tabela 5 pode-se observar os valores de absorção de AIH, PCaco-2 e PMDCK previstos para os compostos. O foco na descoberta de drogas modernas não está simplesmente na atividade farmacológica, mas também na busca de propriedades farmacocinéticas mais favoráveis (YEE, 1997a). Os resultados da absorção intestinal humana são constituídos pela soma de absorção e biodisponibilidade, avaliada a partir da proporção de excreção ou excreção cumulativa na urina, biliar e fezes (YAMASHITA et al., 2000; ZHAO et al., 2001).

**Figura 4** Compostos majoritários identificados do óleo essencial da *P. deflexum* via cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa.



**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016)

**Tabela 5** - Valores de referência da absorção intestinal humana.

Classificação	AIH
Compostos mal absorvidos	0 ~ 20%
Compostos moderadamente absorvidos	20 ~ 70%
Compostos bem absorvidos	70 ~ 100%

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

Os compostos investigados mostraram boa absorção intestinal humana, tendo valores de HIA maior que 90% (m-cimeno, limoneno,  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -Cariofileno,  $\beta$ -selineno,  $\beta$ -bisaboleno, (-)-Isoledene, undecanol), exceto o temefós e Acetato de butilo butirila que mostraram absorção igual a 91,8822 e 99,7361 %, respectivamente, tendo uma variação entre eles  $AIH = \pm 8.1178\%$  e  $\pm 0.2638$ , como mostrado na Tabela 6.

**Tabela 6** - Propriedades da absorção dos compostos do óleo essencial de *P. deflexum* em relação absorção intestinal humana (AIH), permeabilidade celular *in vitro* Caco-2 ( $P_{Caco-2}$ ), permeabilidade celular em Maden Darby Canine Kidney ( $P_{MDCK}$ ) e permeabilidade da pele ( $P_{pele}$ ).

Compostos	AIH(%)	$P_{Caco-2}$ (nm/s)	$P_{MDCK}$ (nm/s)	$P_{pele}$
1 Temefós	99,7361	21,7138	0,9305	- 0,9333
2 $\beta$ -Bisaboleno	100,0000	23,4050	63,6779	-0,5857
3 Limoneno	100,0000	23,6317	238,4340	- 0,8343
4 Undecanol	100,0000	35,3046	121,6330	-0,9137
5 (-)-Isoledene	100,0000	22,3275	46,5435	-0,9618
6 $\alpha$ -Copaeno	100,0000	23,6323	40,0711	-1,0337
7 Acetato de butilo butirila	91,8822	21,3224	95,4516	-1,9180
8 $\beta$ -Cariofileno	100,0000	23,6315	56,2164	-0,6764
9 m-Cimeno	100,0000	23,1550	237,5070	-0,8074
10 $\beta$ -Selineno	100,0000	23,4924	57,2175	-0,6424

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

O modelos celulares PCaco-2 (nm/s) e PMDCK (nm/s) têm sido utilizados como modelos *in vitro* de confiança no que se refere à previsão de absorção do fármaco por via oral, sendo que as células Caco-2, a partir de derivados cólon humano adenocarcinoma, têm várias rotas de transporte de drogas através do intestinal epitélio (YEE, 1997b).

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram uma permeabilidade média de 24,1616 como proposto por (YAZDANIAN et al., 1998). A Tabela 6 mostram os valores de

PCaco-2, e de acordo com esses valores podem ser classificados como de permeabilidade média (valor entre 4 e 70 nm/s) e alta permeabilidade (>70 nm/s). Assim, observa-se que todos os compostos mostraram uma permeabilidade média, conforme estudos realizados por Cunha et al., (2015).

De acordo com Irvine et al., (1999) o sistema celular MDCK pode ser usado como uma ferramenta para a triagem rápida de permeabilidade. Nesse estudo, todos os compostos estudados mostraram uma elevada permeabilidade do sistema celular MDCK (> 25), com exceção do Temefós, o qual apresentou um valor de 0.9305 nm /s, muito inferior aos demais compostos estudados.

De acordo com Ray et al., (1992), a importância das células do tipo MDCK está no fato de elas virem sendo utilizadas para isolar vírus do tipo Influenza A e Influenza B, dentre outros. Além disto, elas são utilizadas em estudos dos mecanismos relacionados com o transporte de íons, proteínas, lipídios e drogas (LIU et al., 1993; VAN MEER; HOF, 1993).

Nas indústrias farmacêuticas, de cosméticos e de agroquímicos, entende-se que a taxa de permeabilidade da pele é um parâmetro crucial para a administração transdérmica de medicamentos e a avaliação do risco químico de produtos que podem entrar em contato acidentalmente com ela (S.SINGH; J.SINGH, 1993). Os compostos estudados mostraram valores negativos da permeabilidade da pele, isto é, não é importante que os compostos sejam administrados por via transdérmica, conforme se observa na Tabela 4. Contudo, os compostos podem ser considerados de ação tópica, como por exemplo, os repelentes.

A distribuição de uma droga depende da sua ligação às proteínas da região plasmática (LPP) e partição em tecido adiposo e outros tecidos. No plasma, o fármaco pode estar na forma não-ligada ou ligada, a qual depende da afinidade que ele apresenta pela proteína plasmática (fármaco alvo).

Se a ligação às proteínas é reversível, então um equilíbrio químico vai existir entre estados ligados e não ligados. As proteínas de ligação podem influenciar na meia-vida biológica no organismo. A porção ligada pode atuar como um reservatório ou depósito para a qual o fármaco é liberado lentamente na forma não-ligada. À medida que esta é metabolizada e/ou excretada do corpo, a fração ligada irá ser liberada, a fim de manter o equilíbrio (GODIN 1995; PRATT; TAYLOR 1990).

A Tabela 7 é apresentado dos resultados das propriedades de distribuição (LPP % e  $C_{Brain} / C_{blood}$ ) para os compostos investigados. Todos os compostos estudados mostraram forte ligação com as proteínas plasmáticas com valor igual a 100%.

A penetração da barreira hematoencefálica é um fator crítico no campo farmacêutico, pois compostos que atuam sobre o sistema nervoso central (SNC) devem passar por ela, e compostos inativos no SNC não devem atravessar, a fim de evitar efeitos colaterais (AJAY; BEMIS, 1999).

Dos compostos investigados para este parâmetro, apenas o temefós apresentaram valor de  $CB_{\text{Brain}}/CB_{\text{Blood}} < 1$ , caracterizando efeitos inativos no SNC, pois de acordo com a proposta de MA et al., (2005), os compostos com valor maior que 1 ( $CB_{\text{Brain}}/CB_{\text{Blood}} > 1$ ) são classificados como ativos no SNC, podendo causar efeitos colaterais, ou seja, todos o compostos majoritários aqui estudados. Àqueles que mostraram valores abaixo de 1 ( $CB_{\text{Brain}}/CB_{\text{Blood}} < 1$ ) foram classificados como inativos. Portanto, o Temefós apresentou valor de  $CB_{\text{Brain}}/CB_{\text{Blood}}$  igual a 0.648413, como visto na Tabela 7.

**Tabela 7** - Distribuição das propriedades ligação às proteínas da região plasmática (LPP) e de penetração da barreira hemato-encefálica ( $C_{\text{Brain}}/C_{\text{Blood}}$ ) dos compostos do óleo essencial de *Philodendron deflexum*.

	COMPOSTOS	LPP (%)	BB ( $C_{\text{Brain}}/C_{\text{Blood}}$ )
1	Temefós	100	0,6484
2	$\beta$ -Bisaboleno	100	15,0642
3	Limoneno	100	8,2782
4	Undecanol	100	10,3047
5	(-)-Isoledene	100	11,9441
6	$\alpha$ -Copaeno	100	11,1471
7	Acetato de butilo butirila	100	1,2955
8	$\beta$ -Cariofileno	100	13,3193
9	m-Cimeno	100	4,9698
10	$\beta$ -Selineno	100	13,4992

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

O teste de Ames avalia mutagenicidade dos compostos, sendo que este ensaio utiliza cepas *Salmonella typhimurium* com modificações nos genes responsáveis pela síntese de histidina. Assim, o ensaio avalia a capacidade de um agente mutagênico de causar inibição do crescimento em meio sem histidina, conforme estudos realizados por Ma et al., (2005). No Quadro 2 é apresentado os compostos fitoquímicos de *P. deflexum* submetidos neste

estudo e é possível concluir que os compostos 1, 2, 3, 7, 8, 9 e 10 mostram previsões mutagênicos. Os compostos 4, 5, e 6 mostraram previsões não-mutagênicos.

**Quadro 2** - Propriedades toxicológicas cancerígenas e mutagênicas dos compostos do óleo essencial de *Philodendron deflexum*.

Compostos		Carcinogenicidade		Teste de Ames
		Camundongo	Rato	Mutagênicidade
1	Temefós	Negativa	Negativa	Mutagênico
2	$\beta$ -Bisaboleno	Negativa	Positiva	Mutagênico
3	Limoneno	Negativa	Positiva	Mutagênico
4	Undecanol	Positiva	Negativa	Não-mutagênico
5	(-)-Isoledene	Negativa	Positiva	Não-mutagênico
6	$\alpha$ -Copaeno	Negativa	Positiva	Não-mutagênico
7	Acetato de butilo butirila	Positiva	Positiva	Mutagênico
8	$\beta$ -cariofileno	Negativa	Positiva	Mutagênico
9	m-Cimeno	Negativa	Negativa	Mutagênico
10	$\beta$ -Selineno	Negativa	Positiva	Mutagênico

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

Desta forma, o teste de Ames através do servidor preADMET, confirmou os resultados dos compostos do óleo essencial de *P. deflexum* para mutagenicidade, ver Quadro 2, incluindo o Temofós (composto 1) que os estudos evidenciaram a mutagenicidade para esta cepa. (MARIA et al., 2008) assim, ficou evidente que o temefós possuem efeito mutagênico em ambos os sexos, para as três concentrações testadas, permitindo ser detectado mesmo 72hs após tratamento único de células de medula óssea de camundongos.

No entanto, a falta de outros estudos conclusivos sobre a mutagenicidade dos compostos do óleo essencial do *P. deflexum*, torna impossível afirmar que os resultados mostrados são de fato mutagênicos ou não mutagênicos via análise *in silico*. Isso reforça o que a literatura na área vem mostrando sobre as predições de mutagenicidade para Temofós (composto 1). O teste de mutagenicidade não é desejável como teste único, porque é menos sensível do que um teste específico de mutação (por causa das muitas mutações espontâneas de vários tipos) e pode, em casos especiais, não funcionar em todos (AMES et al., 1973).

A complexidade e a dificuldade de interpretar estes resultados podem ser explicadas pelo fato de, mesmo se todas as quatro cepas parecerem capazes de detectar todos os agentes

mutagênicos, podem, no entanto, não ser totalmente abrangentes. Aiub et al. (2002) concluíram que o temefós mostraram-se mutagênicos: através do ensaio Cometa (SCGE), induzindo lesões grosseiras no DNA no sistema SOS cromoteste para a linhagem PQ37 de *Escherichia coli* e através do teste de Ames com as linhagens de *Salmonella typhimurium*.

Os testes de carcinogenicidade possuem o objetivo de identificar o potencial tumorigênico em animais e avaliação de risco em seres humanos, e isso requer muito tempo de estudo (>2 anos) e o servidor on-line preADMET prevê os resultados de NTP (*National Toxicology Program*) de dados EUA/ FDA, porque eles são feitos de dados in vivo em ratos e camundongos durante 2 anos (S. SINGH; J. SINGH, 1993b).

Na predição de carcinogenicidade no rato,  $\beta$ -Bisaboleno, Limoneno, (-)-Isoledene,  $\alpha$ -Copaeno, Acetato de butilo butirila,  $\beta$ -Cariofileno,  $\beta$ -Selineno apresentaram uma previsão positiva, isto é, não há nenhuma evidência de atividade carcinogênica. Os outros compostos investigados foram previstos como negativos, o que significa que há evidência de atividade carcinogênica em rato, para compostos Temefós, Undecanol, m-Cimeno. Na predição de carcinogenicidade no Camundogo, Acetato de butilo butirila, Undecanol, foi obtida previsão positiva, isto é, não há nenhuma evidência de atividade carcinogênica.

Os outros compostos investigados;  $\beta$ -Bisaboleno, Limoneno, (-)-Isoledene,  $\alpha$ -Copaeno,  $\beta$ -Cariofileno,  $\beta$ -Selineno, Temefos, apresentaram uma previsão negativa que demonstra que exibem atividade carcinogênica. Pavão e Leão (2005) a partir de análise através de método químico-quântico de caracterização de carcinogênicos, concluíram que o temefós, assim como outros inseticidas utilizados no combate ao *Ae. aegypti*, apresentam um forte caráter eletrofílico, uma das características de agentes químicos carcinogênicos.

#### 6.4 ATIVIDADE LARVICIDA

Na tabela 8 é demonstrado o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* produzidos pelas concentrações 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 100 ppm e 120 ppm do óleo essencial de *P. deflexum*. Em 24 hs de exposição a mortalidade variou de 1,8 a 85% e em 48h de 1,9 a 90%. Foi observada uma diferença significativa ( $T=36,21$ ;  $p<0,05$ ) na proporção de mortalidade entre as concentrações testadas em 24 e 48hs.

**Tabela 8** - Percentual de mortalidade (média  $\pm$  desvio padrão) de larvas de *Ae. aegypti* frente a diferentes concentrações do óleo essencial de *Philodendron deflexum* em diferentes períodos (24 e 48 h).

Tempo de exposição (h)	Controle	Concentrações Testadas (ppm)				
		20	40	80	100	120
24	0	1,8 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	15 $\pm$ 5,13 <sup>b</sup>	37,5 $\pm$ 6,13 <sup>c</sup>	65 $\pm$ 5,13 <sup>d</sup>	85 $\pm$ 3,13 <sup>e</sup>
48	0	1,9 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	15 $\pm$ 5,03 <sup>b</sup>	45,2 $\pm$ 5,13 <sup>c</sup>	72,5 $\pm$ 4,73 <sup>d</sup>	90 $\pm$ 4,63 <sup>e</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem ao nível de significância de 5% pelo Teste T de Student.

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

Na Tabela 9 é demonstrado percentual de mortalidade de larvas de *An. albatarasis* produzidos pelas concentrações 20 pm, 40 pm, 80pm, 120pm, do óleo essencial do *P. deflexum*. Em 24hs de exposição a mortalidade variou de 2,5 a 85%, e em 48hs, a variação foi de 2,5 a 95%. Em 24hs e 48h, foi observada uma diferença significativa (T= 28,34; P<0,05).

**Tabela 9** - Percentual de mortalidade (média  $\pm$  desvio padrão) de larvas *An. albatarasis* frente a diferentes concentrações óleo essencial de *Philodendron deflexum*, em diferentes períodos (24 e 48h).

Tempo de exposição (h)	Controle	Concentrações Testadas (ppm)				
		20	40	80	100	120
24	0	2,5 $\pm$ 2,33 <sup>a</sup>	15 $\pm$ 6,23 <sup>b</sup>	55 $\pm$	75 $\pm$ 3,46 <sup>c</sup>	85 $\pm$ 4,01 <sup>d</sup>
				4,57 <sup>c</sup>		
48	0	2,5 $\pm$ 2,33 <sup>a</sup>	15 $\pm$ 6,23 <sup>b</sup>	55 $\pm$	75 $\pm$ 3,57 <sup>c</sup>	95 $\pm$ 3,97 <sup>d</sup>
				4,18 <sup>c</sup>		

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem ao nível de significância de 5% pelo Teste T de Student.

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

Nas tabelas 10 e 11 estão demonstradas as estimativas das dosagens letais CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> do óleo essencial de *P. deflexum* para 24 e 48 h, frente as espécies *Ae. aegypti* e *An. Albitarsis*.

**Tabela 10** - Estimativas das concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) em ppm e seus respectivos intervalos de confiança (IC) com limite inferior (LI) e limite superior (LS) das concentrações do óleo essencial de *Philodendron deflexum* em larvas de *A. aegypti* e *A. albipennis* com 24 horas de exposição.

Espécies de mosquitos	CL50	CL90
	(IC95% LI-LS)	(IC95% LI-LS)
	86,34	130,55
<i>Aedes aegypti</i>	(70,3456 - 103,889)	(110,927 - 178,538)
	78,2877	123,539
<i>Anopheles albipennis</i>	(61,6067 - 94,921)	(104,487-166,824)

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

**Tabela 11** - Estimativas das concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) em ppm e seus respectivos intervalos de confiança (IC) com limite inferior (LI) e limite superior (LS) das concentrações do óleo essencial de *P. deflexum*, em larvas de *Ae aegypti* e *An. albipennis* com 48 horas de exposição.

Espécies de mosquitos	CL50	CL90
	(IC95% LI-LS)	(IC95% LI-LS)
	80,96	121,13
<i>Aedes aegypti</i>	(65,4045 - 96,1469)	(104,0680 - 158,754)
	75,371	115,101
<i>Anopheles albipennis</i>	(59,6761 - 90,0586)	(98,6365 - 149,372)

**Fonte:** Pesquisa de campo (2015 – 2016).

O óleo essencial de *P. deflexum* mostrou um potencial larvicida frente as espécies testadas para *An. albipennis* essa sensibilidade foi de (CL<sub>50</sub> = 78,28 – CL<sub>90</sub> = 123,53) ppm em 24 h e (CL<sub>50</sub> = 75,37 – CL<sub>90</sub> = 115,10) ppm nas 48h, e para *Ae. aegypti* foi de (CL<sub>50</sub> = 86,34 – CL<sub>90</sub> 130,55) ppm nas 24 h e CL<sub>50</sub> = 80, 96 – CL<sub>90</sub> = 121, 13) ppm nas 48 hs. A organização Mundial da Saúde ainda não estabeleceu um critério padrão para a determinação da atividade larvicida de produtos naturais, entretanto, Dias e Moraes (2014) utilizaram uma classificação estabelecida por Cheng et al., (2003) em que os compostos com CL<sub>50</sub>> 100 mg / L são considerados não ativos, com LC<sub>50</sub> <100 mg / L considerados ativos, e aqueles com LC<sub>50</sub> <50 mg / L altamente ativos.

Além disso, as amostras que tinham os seus resultados expressos em porcentagem de mortalidade foram consideradas ativas quando foram capazes de matar quase 100% de larvas com 100 mg / L. Vários autores desenvolveram seus próprios critérios para caracterizar o potencial larvicida de substancias de origem vegetal (CHANTRAINE et al 1998; MASSEBO et al 2009; MAGALHÃES et al., 2010; KOMALAMISRA et al., (2005).

Alguns estudos demonstraram outras atividades biológicas de óleos essenciais de espécies do gênero *Philodendron* spp. *P. goeldii* tendo como componente majoritário principal o limoneno (42,27%) produziu inibição do crescimento de *Corynebacterium glutamicum* (SILVA et al., 2016). *P. bipinnatifidum* tendo como constituintes majoritários o  $\beta$ -bisaboleno (65,3%) e trans- $\alpha$ -bergamoteno (9,9%) foram ativos quanto a atividade inseticida e de inibição alimentar de *Diabrotica speciosa* (SANTIAGO et al., 2014).

O extrato de *Philodendron scabrum* constituído majoritariamente por oxido de cariofileno (19,42%),  $\alpha$ -capoen (16,08%) e o  $\beta$ -bisaboleno (10,01%), apresentou atividade antioxidante e citotóxica em *Artemia salina* (OTTOBELLI, 2010). Há relatos na literatura do uso da raiz do *P. deflexum* por indígenas e populações tradicionais no Brasil, Colômbia, Equador e Peru, no tratamento da malária e de seus sintomas (LOPEZ et al., 2006).

## 6 CONCLUSÃO

- A composição química do óleo essencial de *P. deflexum* permitiu identificar 41 constituintes da análise qualitativa e quantitativa na forma fresca, os compostos majoritários são  $\beta$ -Bisaboleno(2), Limoneno(3), Undecanol(4), (-) – Isoledeno(5),  $\alpha$ -Copaeno(6), acetato de butil butirila(7),  $\beta$ -Cariofileno(8), m-Cimeno(9),  $\beta$ -Selineno(10).
- O óleo essencial de *P. deflexum* mostrou um potencial larvicida frente as espécies testadas para *An. albirtasis* essa sensibilidade foi de (CL<sub>50</sub> = 78,28 – CL<sub>90</sub> = 123,53) ppm em 24 h e (CL<sub>50</sub> = 75,37 – CL<sub>90</sub> = 115,10) ppm nas 48h, e para *Ae. aegypti* foi de (Cl<sub>50</sub> = 86,34 – CL<sub>90</sub> 130,55) ppm nas 24 h e Cl<sub>50</sub> = 80, 96 – Cl<sub>90</sub> = 121, 13) ppm nas 48 hs.
- Os compostos Undecanol(4), (-) –Isoledeno(5), e  $\alpha$ -Copaeno(6), apresentaram resultados satisfatórios em comparação com o temefós e demais, possuindo bons resultados ADME/Tox, podendo ser utilizados com ação tópica .
- Tais resultados sugerem que a espécie estudada apresentou um bom potencial para o desenvolvimento de um novo agente para o control vectorial de mosquitos desses gêneros, no entanto mais estudos são necessários para confirmação de tal atividade.

## REFERÊNCIAS

- AJAY, A. ; Bemis, G. W. and M. A. Murcko, **Journal of Medicinal Chemistry**. 42, 4942 (1999).
- AMES BN, Gurney EG, Miller JA, Bartsch H. Carcinogens as Frameshift Mutagens: Metabolites and Derivatives of 2Acetylaminofluorene and Other Aromatic Amine Carcinogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 1972; 69:3128-3132.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105-121.
- ANSARI, M.A.; VASUDEVAN, P.; TANDON M.; RAZDANR, K. 2000a. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**. v.71, p. 267-271.
- ANSARI, M.A.; RAZDAN, R.K.; TANDON, M.; VASUDENVAN, P. 2000b Larvicidal and repellent actions of *Dalbergia sissoo* Roxb.(Leguminosae) oil against mosquitoes. **Bioresource Technology**. v. 73, p. 207-211.
- ARBAOUI A. A., CHUA T. H. Bacteria as a source of oviposition attractant for *Aedes aegypti* mosquitoes. **Tropical Biomedicine**, v 31, p. 134-142. 2014.
- BACCHUS, N. E., Wélidia, N. O., Christiane, M.; Cléria, M. M. Caracterização Química do Óleo Essencial de *Philodendron* sp. no Município de São João da Baliza, Roraima. **The Electronic Journal of Chemistry** Vol 7 No. 4. December 2015.
- BARRETO, C.F. *Aedes aegypti*- Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, v. 1, n. 2, p.62-73, nov. 2005.
- BATISTA, P. M. et al. Detection of arboviruses of public health interest in free-living New World primates (*Sapajus* spp.; *Alouatta caraya*) captured in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 6, p. 684-690, 2013.
- BEZERRA, M.Z.B., Andrade-Neto, M., Freitas, R.M., Feitosa, C.M. and de Andrade, I.M. (2002) The Root Oil of *Philodendron imbe* Schott (Araceae). **Journal of Essential Oil Research**, 14, 56-57.
- BORGES, S. M. D. A. A. **Importância Epidemiológica do *Aedes albopictus* Nas Américas**. Dissertação de mestrado (Faculdade de Saúde Pública) – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2001.
- BOUSEMA, T., Drakeley, C., Gesase, S., Hashim, R., Magesa, S., Mosha, F., Otieno, S., Carneiro, I., Cox, J., Msuya, E., Kleinschmidt, I., Maxwell, C., Greenwood, B., Riley, E.,

Sauerwein, R., Chandramohan, D., Gosling, R. 2010 Identification of Hot Spots of Malaria Transmission for Targeted Malaria Control. **Journal of Infectious Diseases**, 201(11): 1764-1774.

BOYCE, P.C.; CROAT, T.B. **The Überlist of Araceae: Totals for published and estimated number of species in aroid genera**. Disponível em: . Acesso em: 02/02/2015. 2012.

BRADLEY, D.L. **The particular and general. Issues of specificity and vercaltly in the history of Malaria control**. **Parasitology**, v. 40, p. 5-10, 1998.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde D de V em DT. Dengue, Chikungunya e Zika: a nova realidade brasileira. **Boletim Epidemiológico**, N. 24. 2015;1-8.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. 2009. P. 160

CAMARGO, M.F., Santos, A.H., Oliveira, A.W.S., Abrão, N., Alves, R.B.N., Isac, E. (1998) Avaliação da ação residual do larvicida temephos sobre o *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) em diferentes tipos de recipientes. **Revista de Patologia Tropical**, 27(1): 65-70.

CAMPELL, F.L.; SULIVAN, W.W.; SMITH, L.N.. 1933. The relative toxicity of nicotine, anabasine, methyl anabasine and lupinine for culicine mosquito larvae. **Journal of Economic Entomology** v. 26, p. 500-5.

CASTELLAR, A.; Danilo, R. O; Suzana, G. L.; Humberto, R. B.; Maria, L. C. S.; Valdely, F. K.; Valdevir, F. V. J. Essential oil from *Philodendron fragrantissimum*, an aromatic Araceae from Amazonia, Brazil 05 March 2013.

CARVALHO, L. A. F.; SILVA, I. G. Avaliação longitudinal da atividade do Temphos a 1% sobre o *Aedes aegypti* (Lin., 1762). **Entomologia y vectores**, n. P. 191-201, 2000.

CAVALCANTI, E.S.B.; MORAIS, S.M.; LIMA, M.A.; SANTANA, E.W.P. 2004. Larvicidal Activity of Essential Oils from Brazilian Plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 99, n.5, p. 541-544.

CHANTRAINE JM, Laurent D, Ballivian C, Saavedra G, Ibañez R, Vilaseca LA (1998) Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. **Phytotherapy Research** 12:350-354.

CHAVASSE, D.C., Yap, H.H. (eds.) (1997) Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. Geneva: WHO, 129p.

CENTERS for Disease Control and Prevention. **Virus Chikungunya**. 2011 v. 13, p. 218-228

CHENG SS, Chang HT, Chang ST, Tsai KH, Chen WJ (2003) Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**. doi:10.1016/S0960-8524(03)00008-7

CHOOCHOTE, B.T.; KANJANAPOTHI, D.; RATTANACHANPICHAI, E.; CHAITHOG, U.; CHAIWONG, P.; JITPAKDI, A.; TIPPAWANGKOSOL, P.; RIYONG D.; PITASAWAT. 2004. Potencial of crude seed extract of celery, *Apium graveolens* L., against the mosquito *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**. v. 29, n.2, p.340-345.

COELHO, M. A. N. Philodendron Shott (Araceae) : Morfologia e Taxonomia das espécies da Reserva Ecologica de Marcaé de Cima – Nova Rio de Janeiro , Brasil. *Rodriguésia* 2000, 51 (78-79): 21-68

COELHO, M.A.N.; SOARES, M.L.; CALAZANS, L.S.B.; GONÇALVES, E.G.; ANDRADE, I.M. DE; PONTES, T.A.; SAKURAGUI, C.M.; TEMPONI, L.G.; BUTURI, C.; MAYO, S. **Araceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico** do Rio de Janeiro. 2014. Disponível em: . Acesso em: 18/01/2016.

CRONQUIST, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University Press. New York.

DIAS, C.N.; & Moraes, D.F.C. **Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.** (Diptera: Culicidae) larvicides: review (2014) 113:565–592.

DE BARROS, F. S. M.; HONORIO, N. A.; ARRUDA, M. E. Survivorship of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) in Relation with Malaria Incidence in the Brazilian Amazon. **Plos One**, v. 6, n. 8, Aug 8 2011.

DONALISIO MR, Freitas ARR. Chikungunya in Brazil: an emerging challenge. **Revista Brasileira Epidemiologia Associação Brasileira de Saúde Coletiva**; 2014;283–5.

FAUQUET, C. M. et al. **Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses**. 1st ed. London: Elsevier, 2005.

FEITOSA, C.M.; Bezerra, M.Z.B.; Cito, M.G.L.; Junior, J.S.C.; Lopes, J.A.D. e Neto, J.M.M. 2007. Constituintes químicos de *Philodendron imbe* Schott. **Química Nova**, vol.30, p.41-44.

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 224-229, 2007.

FORATTINI O.P. **Culicidologia Médica**. 2 ed. 549 p. São Paulo, Brasil. 1996.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. **Uma breve história da Febre Amarela**. Disponível em: < <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infol=1490&sid=9&tpl=printervie>>. Acesso em: 01 out 2013.

FRAUSIN, G. 1; LIMA, R.B.S. 1; HIDALGO, A.F. 1; MING, L.C. 2; POHLIT, A.M. Plants of the Araceae family for malaria and related diseases: a review. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Campinas**, v.17, n.4, p.657-666, 2015.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Dengue 5 é descoberta na Ásia**. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/rededengue/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=230&sid=3>; Acessado em 30/08/2015

GALARDO, A.; Arruda, M.; D'almeida Couto, A.; Wirtz, R.; Lounibos, L.; Zimmerman, R. 2007. Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in the Brazilian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 76: 461 - 469.

GALARDO, A. K. R.; ZIMMERMAN, R.; GALARDO, C. D. Larval control of Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi using granular formulation of Bacillus sphaericus in abandoned gold-miners excavation pools in the Brazilian Amazon Rainforest. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 46, n. 2, p. 172- 177, Mar-Apr 2013.

GODIN, D.V. **Pharmacokinetics: Disposition and metabolism of drugs, Principles of Pharmacology**, edited by P. L. Munson, Chapman & Hall, New York, NY, USA (1995).

HEINZ, F. X.; STIASNY, K. Flaviviruses and their antigenic structure. **Journal of Clinical Virology**, v. 55, n. 4, p. 289-295, 2012.

HEAL, R.E.; ROGERS, E., WALLACE, S. , STARNES, O. 1950. **A survey of plants for insecticidal activity**. *Lloydia*.v.13, n.2, p. 89-162.

HONÓRIO, N.A. et al. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro. v. 31, n. 5, p. 906-908, 2015.

HSDB. (2003) Hazardous Substances Databank: Temephos. **National Library of Medicine, National Toxicology Program**. <http://www.toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>. Acessado em 20/10/ 2010

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapas de Biomas e Vegetação. 2004. Disponível em: . Acesso em: 20 jan. 2014.

KIRAN SR, BhavaniK, DeviPS, RaoBRR, ReddyKJ (2006) Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of Chloroxylon swietenia DC against Aedes aegypti and Anopheles stephensi. **Bioresource Technology**. doi:10.1016/j.biortech.2005.10.003

KOMALAMISRA N, Trongtokit Y, Rongsriyam Y, Apiwathnasorn C (2005) Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species. **South east Asian JTrop Med Public Health** 36:1412–1422

KNIGHT, T.E.; BOLL, P.; EPSTEIN, W.L.; PRASAD, A.K. **Resorcinols and Catechols: A Clinical Study of Cross-sensitivity**. Elsevier, American Journal of Contact Dermatitis, USA, v.7, p.138-145. 1996. ISSN: 1532-8163.

LADEIRA, A.M., Andrade, S.O. & Sawaya, P. (1975). Studies on *Dieffenbachia picta* Schott: Toxic effects in guinea pigs. **Toxicology and Applied Pharmacology** 34: 363–373.

LÓPEZ ,R. et al. Manual de identificación de especies no maderables del corregimiento de Tarapacá. Bogotá: **Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (SINCHI)** – GTZ (Germany), 2006. 120p

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; DOS ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. **Revista Saúde Pública**, Curitiba, PR, v. 38, n. 6, p.842-843, 2014.

MA, X. L.; Chen, C.; and Yang, J. **Acta Pharmaceutica Sinica**. 26, 500 (2005).

MAGALHÃES LAM, Lima MP, Marques MOM, Facanali R, Pinto ACS, Tadei WP (2010) **Chemical composition and larvicidal activity against Aedes aegypti larvae of essential oils from four Guarea species. Molecules.** doi:10.3390/molecules15085734.

MARTINS-CAMPOS, K. M.; PINHEIRO, W. D.; VITOR-SILVA, S.; SIQUEIRA, A. M.; MELO, G. C.; RODRIGUES, I. C.; FE, N. F.; BARBOSA, M. D. V.; TADEI, W. P.; GUINOVART, C.; BASSAT, Q.; ALONSO, P. L.; LACERDA, M. V. G.; MONTEIRO, W. M. Integrated vector management targeting Anopheles darlingi populations decreases malaria incidence in an unstable transmission area, in the rural Brazilian Amazon. **Malaria journal**, v. 11, Oct 23 2012.

MASSEBO F, Tadesse M, Bekele T, Balkew M, Gebre-Michael T (2009) Evaluation on larvicidal effects of essential oils of some local plants against Anopheles arabiensis Patton and Aedes aegypti Linnaeus (Diptera, Culicidae) in Ethiopia. **African Journal of Biotechnology** 8:4183–4188.

MAYO, S.J., BOGNER, J. & BOYCE, P.C. The Genera of Araceae. **Royal Botanic Gardens kew**, Firt published 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Fundação Nacional de Saúde. Dengue : aspects epidemiológicos, diagnostico e tratamento** / Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. - Brasília: Fundação Nacional de Saúde,. 20p.; il. - ( Serie A.Normas e Manuais Técnicos, nº 176),2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2009) **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue. (Série A. Normas e Manuais Técnicos), Brasília: Ministério da Saúde, 160 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6 ed. Série A. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005a. 816p. ISBN85-334-1047-6.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue: Situação epidemiológica**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/index.cfmportal.boletim>> Acesso em: Set.2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica (SIVEP). Notificação de casos de malária. **Resumo**

**epidemiológico:** região malária. Brasília: Secretária de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde, 2009.

MONATH, T. P.; HEINZ, F. X. Flaviviruses. In: KNIPE, D. M. et al. (Eds.). **Fields Virology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 1996. p. 961-1034.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J.J.; MARTÍNEZDÍAZ, R.A.; ESCARIO, J.A.; MARTÍNEZFERNÁNDEZ, A.R.; GÓMEZ-BARRIO, A. In vitro screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. Elsevier, **Journal of Ethnopharmacology**, USA, v.71, p.101-107. 2000. ISSN: 0378-8741.

MUSTAFA MS, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**. 2015;67–70.

MORRIS, C.D., Dame, D. A., Robinson, J.W. (1996) Control of *Aedes albopictus* in waste tire piles with reduced rates of temephos-treated granules. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 12(3): 472-476.

NOELLI, F.S. Múltiplos usos de espécies vegetais pela farmacognosia guarani através de informações históricas. **Diálogos**, v.2, p.117-199. 1998.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Número de casos reportados de chikungunya en países o territorios de las Américas. Sem Epidemiológica / SE 33 (actualizada al 21 agosto 2015);2015.

OTTOBELLI, I.; FACUNDO, V.A.; ZULIANI, J.; LUZ, C.C.; BRASIL, H.O.B.; MILITÃO, J.S.L.T.; BRAZFILHO, R. Estudo químico de duas plantas medicinais da Amazônia: *Philodendron scabrum* K. Krause (Araceae) e *Vatairea guianensis* Aubl. (Fabaceae). INPA, Manaus. *Acta Amazonica*, v.41, p.393-400. 2011. ISSN 0044-5967.

OTTOBELLI, I. ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Philodendron scabrum* K. Krause (Araceae) e *Vatairea guianensis* Aubl (Fabaceae) Porto Velho – Rondônia 2010.

PATHAK, N.; MITALL, P.K.; SINGHP, O.P.; SAGAR, D.V.; VASUDEVAN, P. 2000. Larvicidal action essential oil s from plant against the vector mosquitoes *Anopheles stephensis* Liston, *Culex quinquesfasciatus* Say *Aedes aegypti* (L.). **Journal of Vector Ecolog**. v.2, p.52-55.

PINHEIRO, V.C.S., Tadei, W.P. (2002) Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil.

PIRES, J.M. 1978. Plantas Ictiotóxicas: Aspectos da botânica sistemática. Sessão integrada-Plantas ictiotóxicas (Timbós). Ciênc. Cult. Suplemento. **V Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**. v. 32, p. 37-41.

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. O.; ALVES, S. B.; **Potencial de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti***. Rev. Saúde Pública, n. 37. p.813-816, 2003.  
Pontes, T. A.; Andrade, I. M.; Alves, M. Rodriguésia 2010, 61, 689.

PRATT, W. B. and Taylor, P. (eds.), **Principles of Drug Action: The Basis of Pharmacology**, 3rd edn., Churchill Livingstone, New York, NY, USA (1990).

REFSTRUP, T. & BOLL, P. M. Allergenic 5-alkyl- and 5-alkenylresorcinols from philodendron species. **Elsevier, Phytochemistry**, USA, v.24, n.11, p. 2563-2565. 1985. ISSN: 0031-9422.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 379 p.

RODRIGUES, R.M. **A flora da Amazônia**. Ed. CEJUP. Belém. 462p. 1989.

SINGH, S. and Singh, J. **Medicinal research reviews**.13, 569. 1999.

SANTIANTGO, J. A.; Cardoso, M. G.; Ana, C. S. F.; Jair, C. M.; Franscinely, A. A.; Maria, L. T.; Wilder, D.S.; Thais, A. S.; Karen, C.C.; David, L. N. Chemical Characterization and Application of the Essential Oils from *Chenopodium ambrosioides* and *Philodendron bipinnatifidum* in the Control of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae), 5, 3994-4002. 2014.

SCHILTE C., SAIKOWSKY F., STAIKOVSKY F., COUDERC T., MADEC Y., CARPENTIER F., KASSAB S., ALBERT M. L., LECUIT M., MICHAULT A. Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study. **Plos neglected tropical diseases**, 7 (3): e2137. 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5ª ed., Porto Alegre Florianópolis. Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.

SILVA, J. I. M.; Souza, M. S.; Soares, M. L. C.; Costa, R. C.; Nunez, C. V. Óleos essenciais das raízes das espécies de *Philodendron maximum*, *P. solimoesense* e *P. goeldii* (Araceae), **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, Vol, 10(1), 1-93, Jan-Mar 2016

SÍTIO The CATE Project. Disponível em: <<http://www.cate-araceae.org?view=272e7b975456-4eb8-a12d-f857ffc01dad>>. Acesso em: 01 setembro 2011),

SIVEP-MALARIA. **Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica** 2012.

SIVEP. 2014. **Sistema de Informação de vigilância Epidemiológica** - Notificação de casos. disponível em: <[http://portalweb04.saude.gov.br/sivep\\_malaria/default.asp](http://portalweb04.saude.gov.br/sivep_malaria/default.asp)>

SUKUMAR, K., Perich M. J., Boombar L. R. (1991). Botanical derivatives in mosquito control: a review. **American Mosquito Control Association**. V. 7, 210–237.

SVOBODA, W. K. **Vigilância de epizootias em primatas não humanos (PNH) como instrumento de monitoramento de arboviroses e outras viroses de interesse em Saúde**

**pública**. 136 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

TARE, V.; DESHPANDE, S.; SHARMA, R. N. 2004. Susceptibility of two different Strains of *Aedes aegypti* (Díptera:Culicidae) to plant oils. **Journal of Economic Entomology**. v. 97, n. 5, p. 1734-1736.

TAUIL, P.L. Condições para a transmissão da febre do vírus chikungunya. **Epidemiologia e Serviços Saúde**. Brasília, v. 23, n. 4, p. 773-774, 2014. Disponível em: . Acesso em: 27 mar. 2016.

TAYLOR P. (1991) Anticholinesterase agents. In: Brunton L., Lazo J., Parker K., Goodman Gilman's (eds.) **The pharmacological basis of therapeutics**. 8th ed. New York: McGraw Hill, p.131-149.

TEFANI, A.; DUSFOUR, I.; CRUZ, M. C. B.; DESSAY, N.; GALARDO, A. K. R.; GALARDO, C. D.; GIROD, R.; GOMES, M. S. M.; GURGEL, H.; LIMA, A. C. F.; MORENO, E. S.; MUSSET, L.; NACHER, M.; SOARES, A. C. S.; CARME, B.; ROUX, E. Land cover, land use and malaria in the Amazon: a systematic literature review of studies using remotely sensed data. **Malaria journal**, v. 12, Jun 8 2013.

TRAVASSOS da Rosa APA, Travassos da Rosa JFS, Pinheiro FP, Vasconcelos PFC. Arboviroses. In: Leão RNQ. **Doenças infecciosas e parasitárias – enfoque amazônico**. Belém: CEJUP; UEPA; Instituto Evandro Chagas; 1997. p.207-25.).

VALLE, D.; CLARK, J. Conservation Efforts May Increase Malaria Burden in the Brazilian Amazon. **Plos One**, v. 8, n. 3, Mar 6 2013.

VAREJÃO J. B. M., SANTOS C. B., REZENDE H. R., BEVILACQUA L. C., FALQUETO A. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na cidade de Vitória, ES. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 38: 238-240. 2005.

VASCONCELOS PFC, Travassos da Rosa APA, Rodrigues SG, Travassos da Rosa ES, Dégallier N, Travassos da Rosa JFS. Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. **Cadernos de Saúde Pública**. 2001;17:155-64.

VASCONCELOS, P. F. C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? **Revista Panamericana Amaz Saude**. v.6, n.2, 2015.

VIANA, F. A.; Neto, M. A.; Pouliquen, Y. B e Lucien, V. G. CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL FROM ROOTS OF *PHILODENDRON ACUTATUM* SCHOT. 172-174. 2011.

VIANA, F. A. LUCIEN V. G.; ANDRADE M. N.; MORAIS S. M.; UCHOA D. E. A.; POULIQUEN Y. B. M.; SANTIAGO G. M. P.; BEZERRA H. S. S. 1999a. Atividade larvicida do óleo essencial de *Philodendron deflexum* sobre *Aedes aegypti* a. IX **Simpósio**

**Latino-Americano de Farmacobotânica e III Reunião Latino-Americano de Fitoquímica.** Gramado-RS. 209p.

VIANA, F. A.; LUCIEN, V. G.; SOBRAL, M. M. S. Z.; ANDRADE, M. N.; MORAIS, S. M.; POULIQUEN, Y. B. M.; SANTIAGO, G. M. P.; BEZERRA, H. S. S. 1999b. Atividade larvicida do óleo essencial de *Siparuma guianensis* sobre *Aedes aegypti*. **IX Simposio Latino-Americano de Farmacobotânica e III Reunião Latino-Americano de Fitoquímica.** Gramado-RS. 210p.

WHO.1970. Insecticide resistance and vector control. **World Health Organization Technical Reports Series.**443. 53p.

WHO.1980. Resistance of vectors of disease pesticides. **Technical Report Series** 655. Geneva. 48p.

WORLD Health Organization. **Guidelines for the treatment of malaria.** Geneva, 2006.

WORLD Health Organization. **Dengue/dengue haemorrhagic fever** [Internet]. . Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/dengue/en/>; Acessado em 29/08/2015

WHO. 1984. Chemical methods for the control of arthropod vectors and pests of public health importance, Geneva, 108p.

WORLD Health Organization (WHO) 2009. Disponível em <http://www.who.int/media/centre/factsheets/fs117/en/>.

WHO. World Health Organization. World Health Organization Technical Report Series 719. **Arthropod-borne and rodent-borne viral diseases.** Geneva: 1985.

WHO, 2013. **Dengue Control. World Health Organization Technical, Geneva.** Disponível em: <<http://www.who.int/denguecontrol/en/index.html>>. Acesso em: 10 jul.2013.

WHO. 2014. Who Global Malaria Programme: **World Malaria Report 2014**, World Health Organization, 124p.

YAZDANIAN, M. S. L; Glynn, J. L. Wright, and A. Hawi, **Pharmaceutical Research.**15, 1490 (1998).

YAMASHITA, V.; Furubayashi, T.; Kataoka, M.; Sakane, T.; Sezaki, H.; and Tokuda, H. **European Journal of Pharmaceutical.** 10, 195 (2000).

YEE, S. **Pharmaceutical Research.** 14, 763 (1997).

YOSHIKAWA, K.; Kishi, K.; Arihara, S. **Phytochemistry** 1992, 31, 1335.

ZANLUCA, C.; Campos, V.; Melo, A. De.; Mosimann, L. P.; Igor G. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz Primeiro relatório da transmissão autóctone do vírus Zika no Brasil.** 2015;1–5.

ZHAO, Y. H.; Le, J.; Abraham, M. H.; Hersey, A.; Eddershaw, P. J.; Luscombe, C. N.; Butina, D.; Beck, G.; Sherborne, B.; Cooper, I. and Platts, J. A. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 90, 749 (2001).