



UnB

Instituto de Química - IQ

Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica – PPGTQB

TESE DE DOUTORADO

A MADEIRA COMO FONTE DE LARVICIDAS NATURAIS CONTRA O *Aedes Aegypti*: ESTUDO DE REVISÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE SEIS ESPÉCIES NATIVAS BRASILEIRAS

Lucia Fernanda Alves Garcia

Orientador: Prof. Dr. Mauro Vicentini Correia

Brasília, DF

2021

LUCIA FERNANDA ALVES GARCIA

A MADEIRA COMO FONTE DE LARVICIDAS NATURAIS CONTRA O *Aedes Aegypti*: ESTUDO DE REVISÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE SEIS ESPÉCIES NATIVAS BRASILEIRAS

Tese apresentada à Universidade de Brasília como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Tecnologias Química e Biológica para obtenção do título de Doutora em Tecnologias Química e Biológica.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Mauro Vicentini Correia (Orientador)

Profa. Dra. Simone Monteiro e Silva

Prof. Dr. Sebastião José de Melo

Prof. Dr. Marcílio Martins de Moraes

Dr. Alessandro César de Oliveira Moreira

Dedico este trabalho à minha filha Lara, que iniciou sua existência em meu ventre durante minha jornada do Doutorado e que me ensinou a plenitude da vida e o amor incondicional.

Agradecimentos

Aos meus pais José Rubens e Marinete e aos meus irmãos Marcos e Andrea, por me ensinarem o poder da disciplina e da determinação.

Ao meu companheiro Diego, pela parceria e pelo incentivo.

Ao meu orientador professor Mauro, pela paciência e gentileza.

Aos colegas do Laboratório de Produtos Florestais, em especial ao Alessandro, à Dhébora e à Fernanda, pelo incentivo e pela compreensão das minhas ausências.

Aos estagiários do Laboratório de Produtos Florestais Emanoela e Dênis pela ajuda no preparo das amostras e dos extratos.

À coordenação do Laboratório de Produtos Florestais e do Serviço Florestal Brasileiro que me concederam o afastamento para a finalização do Doutorado.

À professora Laila Espíndola que acreditou na minha capacidade e permitiu a utilização dos recursos do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília.

Aos colegas do Laboratório de Farmacognosia, em especial aos químicos João Paulo e Laís que me ajudaram e me ensinaram.

Aos colegas do Insetário, em especial ao Renato, que me ajudou na realização dos testes.

À professora Simone e ao professor Sebastião que forneceram valiosas críticas e sugestões no exame de qualificação e assim me ajudaram a aprimorar este trabalho.

Ao meu sogro Cássio, minha sogra Liliane, minha cunhada Cássia e seu esposo Flávio, que comemoraram comigo cada conquista desta jornada.

A todos que de alguma maneira me incentivaram e torceram pelo meu sucesso.

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.”

Marie Curie

Resumo

A grande diversidade de espécies madeireiras nativas brasileiras aliada a ampla variedade de compostos encontrados no caule dessas espécies proporcionam uma fonte incomensurável de moléculas bioativas. Diversos trabalhos científicos tem sido publicados sobre o tema e relatam que os compostos presentes em madeiras de várias espécies possuem ações anti-inflamatórias, anticancerígenas, fungicidas, bactericidas, inseticidas, entre outras. Diante do cenário epidemiológico preocupante relacionado às doenças causadas pelo *Aedes aegypti*, nesta Tese a ação larvicida contra esse mosquito foi escolhida como foco de estudo. Para tanto, o trabalho foi dividido em dois capítulos.

O Capítulo 1 apresenta um estudo de revisão que contemplou 23 trabalhos científicos sobre o tema. Nesses estudos foram avaliadas as atividades larvicidas de 66 espécies vegetais, pertencentes a 23 famílias botânicas. Cerca de 30% foram classificadas como ativas. A espécie que apresentou o material bruto mais ativo foi a *Callistris glaucophylla* cujo óleo essencial apresentou CL₅₀ igual a 0,69ppm.

No Capítulo 2 são apresentados os resultados dos ensaios larvicidas de seis espécies nativas brasileiras coletadas na Floresta Nacional de Jacundá: *Peltogyne lecointei*, *Martiodendron elatum*, *Dipteryx odorata*, *Erisma uncinatum*, *Handroanthus incanus* e *Allantoma decandra*. A partir do extrato bruto de *Handroanthus incanus* foram isoladas e identificadas duas moléculas ativas: lapachol e desidro- α -lapachona, que apresentaram CL₅₀ iguais a 6,41ppm e 43,38ppm, respectivamente.

A análise conjunta dos resultados obtidos nos Capítulos 1 e 2 permitem inferir que a madeira pode ser considerada uma fonte potencial de novos produtos larvicidas. Contudo, recomenda-se a realização de estudos dos impactos ambientais e da viabilidade econômica relacionados ao uso da madeira como fonte destes produtos.

Palavras-chave: madeira, extrativo, inseticida, lapachol, desidro- α -lapachona

Abstract

The great diversity of Brazilian native wood species combined with the wide variety of compounds found in the stem of these species provide an immeasurable source of bioactive molecules. Several papers have been published about it and report that compounds existing in woods of many species have anti-inflammatory, anti-cancer, fungicide, bactericide, insecticide actions, among others. In view of the worrying epidemiological scenario related to diseases caused by *Aedes aegypti*, in this thesis the larvicide action against this mosquito was chosen as the focus of study. Therefore, the research was divided into two chapters.

Chapter 1 presents a review about 23 scientific papers on the subject. In these studies, the larvicidal activities of 66 plant species belonging to 23 botanical families were evaluated. About 30% were classified as active. The species that presented the most active crude material was *Callitris glaucophylla*, whose essential oil showed CL₅₀ equal to 0.69ppm.

Chapter 2 presents the results of the larvicide assays of six native Brazilian species collected in Jacundá National Forest: *Peltogyne lecointei*, *Martiodendron elatum*, *Dipteryx odorata*, *Erisma uncinatum*, *Handroanthus incanus* and *Allantoma decandra*. From the crude extract of *Handroanthus incanus*, two active molecules were isolated and identified: lapachol and dehydro- α -lapachone, which presented CL₅₀ equal to 6.41ppm and 43.38ppm, respectively.

The analysis of the results obtained in Chapters 1 and 2 allow us to infer that wood can be considered a potential source of new larvicidal products. However, it is recommended studies about environmental impacts and economic feasibility related to the use of wood as a source for these products.

Keywords: wood, extractive, insecticide, lapachol, dehydro- α -lapachone

Sumário

Lista de figuras	11
Lista de tabelas.....	14
Abreviações.....	15
1. Introdução	17
2. Objetivos.....	20
3. Referencial teórico.....	21
3.1. Elementos constituintes da madeira	21
3.2. Classes químicas dos extrativos.....	22
3.2.1. Terpenoides	23
3.2.2. Flavonoides	25
3.2.3. Alcaloides	26
3.2.4. Quinonas	27
3.2.5. Taninos	27
3.3. <i>Aedes aegypti</i>	28
3.4. Doenças transmitidas pelo <i>Aedes aegypti</i>	33
3.5. Inseticidas.....	35
3.5.1. Resistência a inseticidas.....	41
3.6. Floresta Nacional de Jacundá.....	43
3.7. Espécies madeireiras estudadas no Capítulo 2 desta Tese	44
3.7.1. <i>Peltogyne lecointei</i>	45
3.7.2. <i>Martiodendron elatum</i>	46
3.7.3. <i>Dipteryx odorata</i>	47
3.7.4. <i>Erismma uncinatum</i>	49
3.7.5. <i>Allantoma decandra</i>	51

3.7.6. <i>Handroanthus incanus</i>	53
CAPÍTULO 1	56
I. Introdução.....	57
II. Materiais e métodos.....	58
III. Resultados e discussões	59
IV. Considerações sobre o Capítulo 1	75
CAPÍTULO 2	76
I. Introdução.....	77
II. Materiais e métodos.....	78
II.1. Coleta e identificação do material vegetal.....	78
II.2. Preparo das amostras	79
II.3. Extrações.....	80
II.4. Partição Líquido-Líquido	81
II.5. Extração em Fase Sólida	82
II.6. Isolamento e purificação	83
II.7. Ensaio larvicida.....	85
II.8. Cromatografia Gasosa	87
II.9. Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência.....	88
II.10. Ressonância Magnética Nuclear	89
III. Resultados e discussão	91
IV. Considerações sobre o Capítulo 2	134
4. Considerações finais	135
5. Referências bibliográficas	136
6. Apêndices	163
6.1. Apêndice 1: Placas de CCD na luz visível.	163
6.2. Apêndice 2. Placas de CCD reveladas na luz UV (254nm).	165
6.3. Apêndice 3. Placas de CCD reveladas com ácido fosfomolibdico e aquecimento. ...	166

6.4.	Apêndice 4. Memória de cálculo do preparo das amostras.	167
6.5.	Apêndice 5. Resultados dos testes para atividade larvicida dos extratos brutos e frações.	169
6.6.	Apêndice 6. Resultados dos testes para atividade larvicida para cálculo de CL ₅₀	171

Lista de figuras

Figura 1: Camadas do tronco (espécie <i>Cordia trichotoma</i>).....	21
Figura 2: Estruturas químicas de alguns terpenoides.....	25
Figura 3: Estrutura geral dos flavonoides.....	25
Figura 4: Estruturas químicas de alguns alcaloides.....	26
Figura 5: Estruturas químicas das classes de quinonas.....	27
Figura 6: Estruturas químicas dos tipos de taninos.....	28
Figura 7: Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	29
Figura 8: Ovos de <i>Aedes aegypti</i>	30
Figura 9: Larva de <i>Aedes aegypti</i>	31
Figura 10: Pupa do <i>Aedes aegypti</i>	31
Figura 11: Mosquito adulto <i>Aedes aegypti</i>	32
Figura 12: Constituintes do tegumento dos insetos [49].....	33
Figura 13: Estruturas químicas de alguns inseticidas químicos organoclorados.....	37
Figura 14: Estruturas químicas de alguns inseticidas químicos organofosforados.....	38
Figura 15: Estruturas químicas de alguns inseticidas piretroides sintéticos.....	39
Figura 16: Estruturas químicas de alguns inseticidas reguladores de crescimento.....	41
Figura 17: Floresta Nacional de Jacundá.....	43
Figura 18: <i>Peltogyne lecointei</i>	45
Figura 19: Estruturas químicas de compostos isolados do gênero <i>Peltogyne</i>	46
Figura 20: <i>Martiodendron elatum</i>	47
Figura 21: <i>Dipteryx odorata</i>	48
Figura 22: Estruturas químicas de alguns compostos isolados de <i>Dipteryx odorata</i>	49
Figura 23: <i>Erisma uncinatum</i>	50
Figura 24: Compostos isolados de <i>Erisma calcaratum</i>	51
Figura 25: <i>Allantoma decandra</i>	52

Figura 26: <i>Handroanthus incanus</i>	53
Figura 27: Estruturas químicas de alguns compostos isolados do gênero <i>Handroanthus</i> e da espécie <i>Handroanthus incanus</i>	55
Figura 28: Número de espécies vegetais estudadas por família botânica.	67
Figura 29: Estruturas químicas das moléculas isoladas dos metabólitos secundários.	70
Figura 30: Classes das moléculas potencialmente ativas contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> . ..	71
Figura 31: Etapas para o preparo das amostras.....	80
Figura 32: Etapas para obtenção de extratos brutos.	81
Figura 33: Fracionamento por Partição Líquido-Líquido.	82
Figura 34: Fracionamento por Extração em Fase Sólida (EFS).....	83
Figura 35: Cromatografia de Coluna Aberta, rotaevaporação e frações obtidas.....	84
Figura 36: Ensaios larvicidas.	86
Figura 37: Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas.	87
Figura 38: Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Eficiência.	89
Figura 39: Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de 600MHz.	90
Figura 40: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie <i>Peltogyne lecointei</i>	93
Figura 41: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie <i>Peltogyne lecointei</i> . ..	94
Figura 42: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie <i>Martiodendron elatum</i>	95
Figura 43: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie <i>Martiodendron elatum</i> . ..	96
Figura 44: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie <i>Dipteryx odorata</i>	97
Figura 45: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie <i>Dipteryx odorata</i>	98
Figura 46: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie <i>Erisma uncinatum</i> . ..	99
Figura 47: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie <i>Erisma uncinatum</i> . ..	100

Figura 48: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie <i>Allantoma decandra</i>	101
Figura 49: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie <i>Allantoma decandra</i>	102
Figura 50: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie <i>Handroanthus incanus</i>	103
Figura 51: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie <i>Handroanthus incanus</i>	104
Figura 52: Estruturas químicas dos compostos dos extratos brutos identificados por Cromatografia Gasosa.	107
Figura 53: Perfil cromatográfico da fração PLL1.....	110
Figura 54: Perfil cromatográfico da fração PLL2.....	111
Figura 55: Perfil cromatográfico da fração PLL3.....	112
Figura 56: Espectro de RMN de ¹ H da fração PLL1.....	115
Figura 57: Espectro de RMN de ¹ H da fração PLL2.....	116
Figura 58: Espectro de RMN de ¹ H da fração PLL3.....	117
Figura 59: Placas de Cromatografia de Camada Delgada reveladas por (a) Luz UV e (b) Ácido fosfomolibdico com aquecimento	123
Figura 60: Aspecto físico à temperatura ambiente de FR20-2, FR20-3 e FR20-4.....	123
Figura 61: Placas de CCD reveladas por luz UV das frações FR20-1 a FR20-23 e do lapachol comercial (padrão).	124
Figura 62: Espectro de RMN de ¹ H da fração FR20-2.....	125
Figura 63: Espectro de RMN de ¹ H da fração FR20-4.....	127
Figura 64: Espectro de RMN de ¹³ C da fração FR20-4.	128
Figura 65. Resultados obtidos por UHPLC-DAD-MS do extrato bruto de <i>Handroanthus incanus</i> , compostos isolados e do lapachol comercial.....	130
Figura 66. Curvas de dose-resposta para a atividade larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>	131
Figura 67: Esquematização dos resultados obtidos.....	133

Lista de tabelas

Tabela 1: Espécies madeireiras avaliadas para atividade larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>	60
Tabela 2: Moléculas potencialmente ativas presentes nos metabólitos secundários.....	69
Tabela 3: Espécies madeireiras avaliadas neste trabalho.	79
Tabela 4: Resultados dos testes de atividade larvicida dos extratos brutos.	91
Tabela 5: Compostos majoritários presentes nos extratos brutos.	105
Tabela 6: Massas e distribuição das frações obtidas por Partição Líquido-Líquido.	108
Tabela 7: Resultados dos ensaios larvicidas de PLL1 a PLL4.	109
Tabela 8: Compostos majoritários presentes nas frações obtidas por Partição Líquido-Líquido.	113
Tabela 9: Massas e distribuições das subfrações obtidas por Extração em Fase Sólida....	118
Tabela 10: Resultados dos ensaios larvicidas de EFS1 a EFS6.	119
Tabela 11: Agrupamento das frações obtidas por Cromatografia de Coluna Aberta do extrato bruto de <i>Handroanthus incanus</i>	121
Tabela 12: Resultado dos ensaios larvicidas dos grupos das frações obtidas por Cromatografia de Coluna Aberta do extrato bruto de <i>Handroanthus incanus</i>	122
Tabela 13. Dados de RMN de FR20-2 e FR20-4 e da literatura para lapachol e desidro- α -lapachona	129

Abreviações

AChE: Acetilcolinesterase

AHJ: Análogos de Hormônio Juvenil

BHC: Benzenohexacloro

BPU: Benzoil-fenil-uréia

CC: Cromatografia de Coluna

CCD: Cromatografia de Camada Delgada

CG: Cromatografia Gasosa

CG-EM: Cromatografia Gasosa acoplado à Espectrômetro de Massas

CL₅₀: Concentração Letal de 50%

DAD: Detector de Arranjo de Diodo

DDT: Dicloro-difenil-tricloroetano

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EFS: Extração em Fase Sólida

ESI: Eletrospray

FLONA: Floresta Nacional

ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

LPF: Laboratório de Produtos Florestais

OMS: Organização Mundial da Saúde

PLL: Partição Líquido-Líquido

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RNA: Ácido ribonucleico

SFB: Serviço Florestal Brasileiro

TAPPI: Technical Association of Pulp and Paper Industry

TMS: Tetrametilsilano

UPA: Unidade de Produção Anual

UBV: Ultra Baixo Volume

UMF: Unidade de Manejo Florestal

1. Introdução

Desde os primórdios da civilização a madeira é uma das matérias primas mais utilizadas pelo homem [1]. Além da vantagem de ser renovável, esse recurso possui alta resistência mecânica, baixo consumo energético para o seu processamento, bom isolamento térmico e fácil trabalhabilidade, e por isso tem sido de grande utilidade nas áreas de energia, construção civil e na indústria moveleira [2]. Contudo, a presença de inúmeros compostos químicos denominados extrativos em sua composição pode ampliar o uso da madeira em diversas áreas da ciência e da tecnologia.

Os extrativos são substâncias sintetizadas pela árvore como defensivos para estímulos ambientais como as características do solo, condições climáticas, concentração de dióxido de carbono, presença de animais como insetos, e de microrganismos como bactérias e fungos [3]. São substâncias que se diferenciam das macromoléculas que compõem a parede celular vegetal (celulose, hemicelulose e lignina) devido, principalmente, à sua menor massa molar [4]. Os extrativos são frequentemente associados a propriedades como cor, cheiro e sabor e são classificados como metabólitos secundários, já que, em geral não são essenciais para a vida da árvore como os metabólitos primários: DNA, RNA, proteínas, etc [5, 6].

A madeira contém aproximadamente de 3 a 10% de extrativos [5]. Porém, algumas espécies tropicais podem apresentar quantidades de extrativos superiores a 10%, como no caso da *Vatairea paraenses* que apresenta cerca de 17% [7].

A composição química dos extrativos varia de espécie para espécie e também entre indivíduos da mesma espécie, dependendo da origem geográfica e das condições climáticas do momento da coleta [8]. E ainda, um mesmo indivíduo pode apresentar diferentes composições de extrativos em cada uma de suas partes (casca, cerne, alborno, etc) [3]. Esses fatores aliados a grande biodiversidade de espécies arbóreas nativas brasileiras tornam esse recurso uma fonte potencial incomensurável de princípios ativos [9]. Ainda assim, o uso da madeira para a produção de aromáticos, medicinais, corantes e outros químicos, representam menos de 0,0015% da produção anual brasileira de silvicultura e extração vegetal [10].

Diversas classes de substâncias estão presentes nos extrativos, tais como lignanas, norlignanas, flavonoides, estilbenos, diarilheptanoides, terpenoides, quinonas, taninos e alcaloides [11, 12]. Muitas dessas substâncias apresentam propriedades que as tornam fonte potencial de princípios ativos de origem natural. O alfa-bisabolol, por exemplo, é um produto aromático de alto valor de mercado extraído da madeira de candeia e usado como fixador na indústria de perfumes [13]. As substâncias taxol e podofilotoxina que podem ser isoladas de algumas coníferas possuem ação anticancerígena [14]. O drimenol obtido da madeira de *Drimys angustifolia* tem sido utilizado na síntese de uma série de substâncias com propriedades fungicidas e para uso na perfumaria [15]. Propriedades anti-inflamatórias e anticancerígenas podem ser observadas nos extrativos da madeira de espécies do gênero *Zanthoxylum* [16].

O uso dos extrativos como inseticidas naturais também se destaca como de grande potencial. Isso porque algumas classes de compostos são sintetizadas pelas plantas para atuar na defesa contra artrópodes [17]. Assim, diversos estudos tem sido publicados sobre a ação inseticida de extratos e óleos essenciais obtidos de folhas, flores, frutos e sementes [18–21]. Contudo, não há tantos trabalhos sobre o uso da madeira para esse fim.

Os inseticidas de origem natural apresentam certas vantagens em relação aos produtos sintéticos como os organoclorados, organofosforados e piretroides. Dentre as vantagens estão a maior biodegradabilidade e a menor toxicidade a organismos não alvos [22]. Quando comparados aos bioinseticidas e aos reguladores de crescimento, os inseticidas de origem vegetal podem apresentar menor custo para sua produção [22]. Além disso, existe o problema da resistência desenvolvidas pelos insetos aos produtos sintéticos usados em larga escala e por longos períodos [23]. Assim, a busca por novos produtos à base de extratos vegetais que visam diminuir as populações de insetos vetores de doenças é atualmente uma das estratégias mais promissoras [24].

Em relação à efetividade da ação dos larvicidas pressupõe-se que está diretamente relacionada ao mecanismo de ação da molécula. De maneira geral, os inseticidas sintéticos (organoclorados, organofosforados e piretroides) agem no sistema nervoso dos insetos, os bioinseticidas destroem o intestino e os reguladores

de crescimento impedem o desenvolvimento e assim inibem a emergência de adultos [25].

Dentre os mais populares usos de inseticidas está o uso no controle do mosquito *Aedes aegypti*, que é o principal vetor da dengue, chikungunya, Zika e febre amarela [26]. Tais doenças podem ser consideradas como um problema de saúde pública mundial, uma vez que a maioria da população vive em áreas de incidência do mosquito e, portanto, está vulnerável à essas enfermidades [27].

Como ainda não há vacinas disponíveis em larga escala para todas as doenças transmitidas pelo mosquito, com exceção da febre amarela, um dos modos de se enfrentar esse grave problema é através do controle populacional do inseto [27, 28]. Esse controle pode ser ambiental (eliminação dos criadouros), biológico (uso de predadores naturais dos mosquitos) e químicos (ovicidas, larvicidas, pupicidas e adulticidas), sendo esse último o predominante [27]. Como a fase larval do inseto é a mais vulnerável, o uso de larvicidas tem sido o método de combate mais empregado [29]. Essa vulnerabilidade é explicada pela baixa mobilidade das larvas quando comparadas aos insetos adultos e a presença de proteção externa contra tóxicos (tegumento) não tão rígida quando comparada a dos ovos e das pupas [30]. Além disso, o controle das larvas tem a vantagem de impedir o surgimento da forma adulta do mosquito que é a única capaz de transmitir as doenças [31].

Diante desse cenário, essa tese abordou a atividade inseticida de compostos presentes na madeira contra as larvas do *Aedes aegypti*. Para tanto, o trabalho foi dividido em dois capítulos. O Capítulo 1 apresenta um estudo de revisão sobre o tema e o Capítulo 2 apresenta o estudo da avaliação da atividade larvicida do material obtido de seis espécies madeireiras nativas brasileiras contra o *Aedes aegypti*.

Espera-se que os resultados aqui descritos possam contribuir para a valorização da madeira e com isso estimular a exploração mais sustentável desse recurso tão importante. Ao mesmo tempo, almeja-se colaborar com a busca de produtos naturais capazes de combater a proliferação do mosquito *Aedes aegypti*, que tem disseminado graves doenças no mundo inteiro.

2. Objetivos

O objetivo principal desta Tese é avaliar o uso da madeira como fonte de larvicidas naturais contra o mosquito *Aedes aegypti*. Para tanto, foram traçados os seguintes objetivos específicos:

- a. Elaborar estudo de revisão, de modo a sistematizar as informações disponibilizadas na literatura científica a respeito da ação larvicida contra *Aedes aegypti* de compostos presentes na madeira.

- b. Investigar, por meio de ensaios biomonitorados, a ação larvicida contra o *Aedes aegypti* das substâncias presentes no caule de seis espécies nativas brasileiras, isolando e identificando as moléculas ativas.

3. Referencial teórico

3.1. Elementos constituintes da madeira

A madeira é um material complexo composto por vários tipos de células produzidas pela árvore para desempenhar diferentes funções como suportar a copa, conduzir água e nutrientes e armazenar materiais de reserva [5]. Anatomicamente, o tronco de uma árvore é formado por diversas camadas: casca exterior, casca interior ou floema, cambium, alburno e cerne [32]. A casca exterior tem a função protetora do tronco; a casca interna transporta a seiva para o cambium e o alburno; o cambium produz o crescimento diametral do tronco [32].

A madeira propriamente dita é formada pelas duas camadas mais internas: alburno e cerne [5]. O alburno é a porção mais externa formado por células vivas que eventualmente morrem e se transformam em cerne, que é a porção mais interna [5]. O cerne frequentemente apresenta-se com coloração mais escura que o alburno, como no caso da espécie mostrada na Figura 1 [5].



Figura 1: Camadas do tronco (espécie *Cordia trichotoma*).

Fonte: Adaptado de [33].

Quanto à composição química elementar, a madeira é formada basicamente por carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, cálcio, potássio e magnésio [4]. Esses elementos combinam-se entre si formando moléculas de alto peso molecular (celulose, hemicelulose e lignina) e de baixo peso molecular (extrativos e substâncias minerais) [5]. Todos esses compostos são originados pelo processo de fotossíntese, que utiliza água e sais minerais do solo, luz solar e dióxido de carbono presente na atmosfera [5].

A celulose é um homopolissacarídeo linear e não ramificado constituído por 10.000 a 15.000 unidades de β -glicose unidas por ligações glicosídicas que formam cadeias estáveis e que assim conferem uma natureza rígida ao material [32,34]. A hemicelulose também é um polímero, porém se distingue da celulose por possuir diferentes unidades de repetição, sendo as mais frequentes a pentose e a hexose [32]. Já a lignina é um polímero dos álcoois cumarílico, coniferílico e sinápilico que confere à madeira a dureza e a resistência [32].

Além da celulose, hemicelulose e lignina, na madeira existem diversas substâncias que podem ser extraídas conhecidas genericamente por extrativos [32]. Os extrativos constituem cerca de 5 a 8% da madeira de coníferas e 2 a 4% de folhosas de regiões temperadas [5].

Os extrativos estão tipicamente concentrados no cerne e são frequentemente produzidos pela árvore como compostos defensivos para estímulos ambientais [8, 35, 36]. Dentre esses estímulos estão as condições abióticas as quais a árvore está submetida, como as características do solo, condições climáticas, concentração de dióxido de carbono, além dos fatores bióticos tais como a presença de insetos, bactérias e fungos [37].

3.2. Classes químicas dos extrativos

Como consequência dos diversos estímulos ambientais recebidos pela árvore, a composição química dos extrativos é muito variável, sendo produzidas inúmeras classes de substâncias [38]. Dentre as classes mais representativas estão os terpenoides, os flavonoides, os alcaloides, as quinonas e os taninos [8, 13, 39].

3.2.1. Terpenoides

Os terpenoides (Figura 2) pertencem a classe mais variada de produtos vegetais naturais e são formados a partir de unidades isoprênicas de cinco carbonos [40]. Os compostos pertencentes a esta classe podem ser classificados de acordo com o número de unidades de isopreno podendo ser: hemiterpenoides, monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides e tetraterpenoides [40].

Os hemiterpenoides são o menor grupo dos terpenos e inclui o isopreno [40]. Os monoterpenoides são compostos por duas unidades de isopreno e devido ao seu baixo peso molecular costumam ser substâncias voláteis e são os principais constituintes dos óleos essenciais [41]. Tais características conferem a aplicação industrial desses compostos em perfumes como o linalol, o limoneno e o mentol, e em inseticidas, como no caso dos piretroides [41]. Os sesquiterpenoides, como o alfa-bisabolol, possuem três unidades isoprênicas e atuam como compostos antimicrobianos e anti-herbivoria [40].

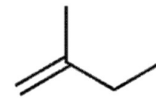
Os diterpenoides possuem quatro unidades isoprênicas e são responsáveis pela germinação de sementes, pelo alongamento caulinar e pela expansão dos frutos de muitas espécies vegetais [41]. Neste grupo encontra-se uma série de substâncias importantes farmacologicamente incluindo o taxol, um agente anticancerígeno encontrado na casca do teixo (*Taxus baccata*), e o forskolin, um composto utilizado no tratamento de glaucoma [41].

Os triterpenoides possuem seis unidades isoprênicas e formam os componentes das resinas, látex, ceras e cutícula das plantas [40]. Nessa classe destacam-se os esteroides, como o β -sitosterol, e as saponinas que desempenham um importante papel na defesa contra insetos e micro-organismos [40].

Os tetraterpenoides são compostos lipossolúveis e incluem os carotenoides e as xantofilas, pigmentos intimamente ligados aos processos fotossintéticos e especialmente, na pigmentação de flores e frutos [41],[40]. Dos carotenoides existentes os mais prevalentes são: alfa-caroteno, beta-caroteno, beta-criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina [41].

Existe ainda o grupo politerpenoides cujas moléculas são resultantes da síntese de mais de oito unidades de isoprenoides, ou seja, possuem mais de 40 carbonos em sua estrutura, como no caso da ubiquinona [40].

hemiterpenoide



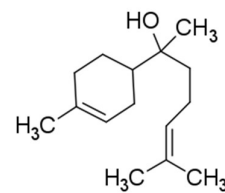
isopreno

monoterpenoide



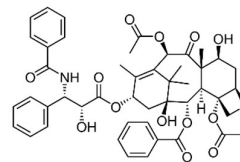
limoneno

sesquiterpenoide



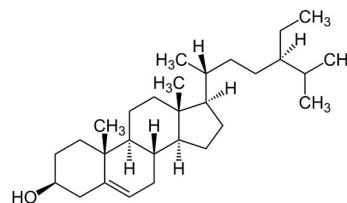
alfa-bisabolol

diterpenoide



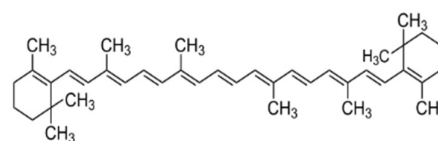
taxol

triterpenoide



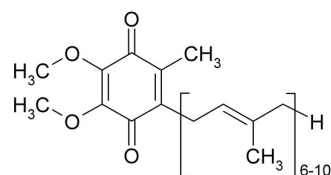
beta-sitosterol

tetraterpenoide



beta-caroteno

politerpenoide



ubiquinona

Figura 2: Estruturas químicas de alguns terpenoides.

3.2.2. Flavonoides

Os flavonoides apresentam uma estrutura química que consiste de dois anéis aromáticos (A e B) unidos por um anel heterocíclico oxigenado (Figura 3) [40]. Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos tais como flavonas, flavonóis, antocianos, chalconas, auronas, di-hidroflavonoides, isoflavonoides, neoflavonoides e biflavonoides [42].

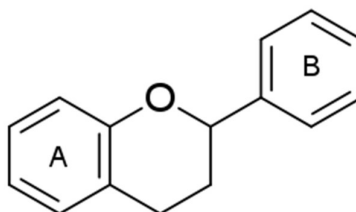


Figura 3: Estrutura geral dos flavonoides.

Os flavonoides costumam ser alvo de grande interesse econômico, uma vez que alguns representantes dessa classe apresentam propriedades biológicas como antitumorais, anti-inflamatórias, antioxidantes e antivirais, além de outros que são corados e por isso utilizados como pigmentos [42].

3.2.3. Alcaloides

Os alcaloides (Figura 4) são compostos orgânicos cíclicos que possuem no seu anel pelo menos um átomo de nitrogênio que apresenta um par de elétrons não compartilhados e isso confere um caráter alcalino a esses compostos [41]. São substâncias derivadas de aminoácidos aromáticos como o triptofano e a tirosina (derivados do ácido chiquímico) e também de aminoácidos alifáticos como a ornitina e a lisina [40]. Como exemplo de substâncias do grupos dos alcaloides temos a quinina, camptotecina, chimanina, cusparina, galipina, morfina, codeína, papaverina, tropanol, cocaína, ergotamina, vincristina e vimblastina [42].

Uma das principais funções dos alcaloides é a defesa química das plantas contra os predadores, promovendo assim o potencial terapêutico dessa classe de substâncias (antitumoral, antifúngico e antibacteriano) [42]. Além disso, esses compostos são famosos pela presença de substâncias que atuam no sistema nervoso e são largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos [41], [40].

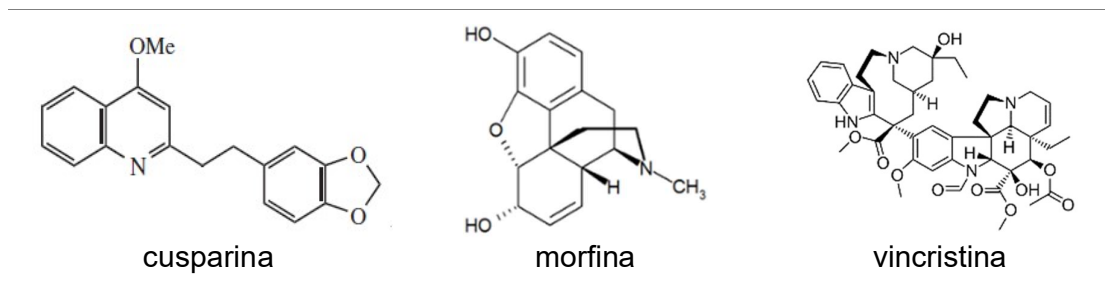


Figura 4: Estruturas químicas de alguns alcaloides.

3.2.4. Quinonas

A principal característica das quinonas é a presença de dois grupos carbonílicos que formam um sistema conjugado cíclico com pelo menos duas ligações duplas entre átomos de carbono [42]. Conforme o tipo de ciclo no qual o sistema de duplas e cetonas conjugadas está inserido, as quinonas podem ser classificadas como: benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas (Figura 5) [42]. Dentre as propriedades observadas nas quinonas destacam-se a atividade laxante das antraquinonas e as atividades farmacológicas e biológicas das naftoquinonas [42].

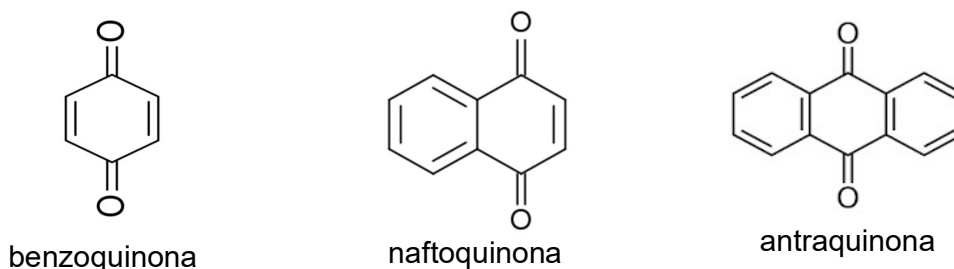
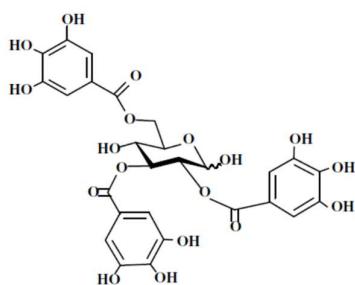


Figura 5: Estruturas químicas das classes de quinonas.

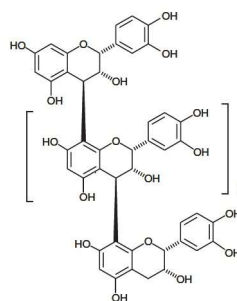
3.2.5. Taninos

Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e cerca de 3.000 daltons e que podem formar complexos solúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas [42]. A partir de sua estrutura química podem ser agrupados em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (Figura 6) [42]. Os taninos hidrolisáveis são caracterizados por um poliol central, em geral β -D-glicose, cujas hidroxilas são esterificadas com o ácido gálico [42]. Já os taninos condensados, também chamados proantocianidinas, são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais unidades flavan-3-ol e flavan-3,4-diol [42].

Espécies vegetais ricas em taninos são empregadas para o tratamento de diversas doenças como diarreias, pressão alta, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, inflamações, problemas estomacais, problemas renais e do sistema urinário [42].



tanino hidrolisável



tanino condensado

Figura 6: Estruturas químicas dos tipos de taninos.

3.3. *Aedes aegypti*

O mosquito *Aedes aegypti* é oriundo da região etiópica, porém, de forma passiva se dispersou por todo hemisfério ocidental, Mediterrâneo e Ásia tropical, nos séculos XVII, XVIII e XIX, respectivamente [43]. No final do século XIX e início do século XX chegou às Ilhas do Pacífico [23, 24]. Atualmente há registros dessa espécie em todos os países das Américas, com exceção do Canadá [44].

O *Aedes aegypti* pertence ao Filo Arthropoda, Classe Hexapoda, Ordem Diptera, Família Culicidae e subgênero *Stegomyia* [5, 6]. É diferenciável de outras espécies por possuir escamas pretas com manchas branco-prateadas na superfície dorsal do tórax [43].

Existem duas subespécies de *Aedes aegypti*, diferenciadas com base em caracteres morfológicos e comportamentais: *Aedes aegypti formosus* (forma silvestre) e o *Aedes aegypti aegypti* (forma doméstica) [46]. A primeira subespécie, presumidamente a forma ancestral, tem como características a coloração mais escura

e a zoofilia, já a segunda exibe padrão de coloração mais claro e é preferencialmente antropofílica [47]. O *Aedes aegypti formosus* está confinado na África, enquanto que o *Aedes aegypti aegypti* se distribui dentro e fora do continente africano, nas regiões tropicais e subtropicais [47].

O ciclo de vida do *Aedes aegypti* (Figura 7) ocorre por metamorfose completa compreendendo: ovo, larva (com quatro estágios evolutivos), pupa e adulto [23].

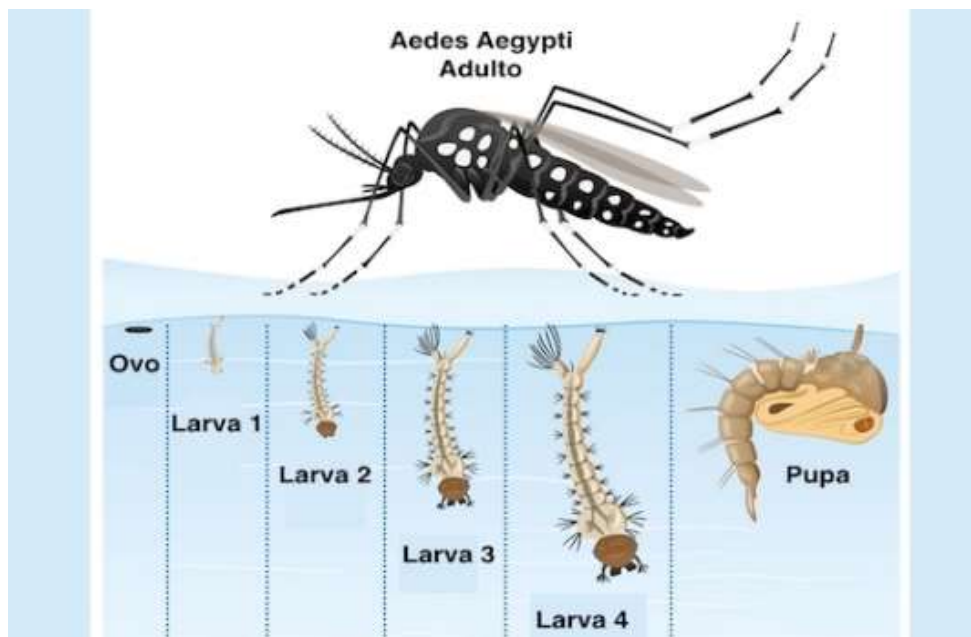


Figura 7: Ciclo de vida do *Aedes aegypti*.

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

Os ovos são elípticos, alongados e possuem cerca de 1 milímetro de comprimento (Figura 8) [45]. A forma silvestre do mosquito depositam os ovos em ocos de árvores [46]. Já a forma doméstica, procuram locais ou recipientes que possam acumular água como pneus, materiais plásticos descartáveis, caixas d'água descobertas, garrafas e pratos de vasos de plantas [23, 46].



Figura 8: Ovos de *Aedes aegypti*.

Fonte: <http://www.anm.gov.br/assuntos/dia-nacional-de-combate-ao-mosquito-aedes-aegypti/ovo-1>

Logo após a postura a membrana do ovo é flexível e de cor clara, porém, ao entrar em contato com o oxigênio, torna-se rígida e negra, conferindo proteção mecânica e evitando a perda de água [45]. Esse revestimento, formado por proteínas e quitina, permite a resistência dos ovos por longos períodos de estiagem (aproximadamente 18 meses) [44]. O contato com água, muitas vezes oriunda de chuva, propicia as condições ambientais favoráveis para a eclosão das larvas [23], [44].

As larvas de *Aedes aegypti* (Figura 9) vivem em água limpa se alimentando de algas e partículas orgânicas dissolvidas, não toleram longos períodos sem alimentação, nem luz intensa [44].

A larva possui cabeça, tórax e abdômen [44]. A cabeça é globosa, bastante esclerotizada e possui um par de antenas e o aparelho bucal do tipo mastigador-raspador [45]. O tórax das larvas é globoso, mais largo que a cabeça e possui três segmentos torácicos fundidos e revestidos por cerdas [45]. O abdômen é dividido em dez segmentos, sendo que no oitavo localiza-se o sifão respiratório e no décimo, conhecido por lobo anal, é onde termina o tubo digestivo [45].



Figura 9: Larva de *Aedes aegypti*.

Fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=599&sid=32>

Após o 4º estágio, cerca de 3 ou 4 dias após a eclosão, as larvas se transformam em pupas (Figura 10) [44]. As pupas são quiescentes e destituídas de mandíbulas funcionais, portanto, não se alimentam [45]. Possuem o corpo dividido em cefalotórax e abdômen e sua respiração é feita por meio de um par de tubos respiratórios que ficam constantemente acima da superfície líquida possibilitando trocas gasosas e também facilitando a emergência do inseto adulto [44, 45]. A movimentação é feita através de um par de paletas natatórias situada no último segmento abdominal [45].



Figura 10: Pupa do *Aedes aegypti*.

Fonte: <http://www.anm.gov.br/assuntos/dia-nacional-de-combate-ao-mosquito-aedes-aegypti>

Após 2 ou 3 dias como pupa, o *Aedes aegypti* se torna adulto e dentro de 24 horas já é capaz de voar e acasalar [44]. O mosquito adulto (Figura 11) mede cerca de 3 a 6mm de comprimento, vive em média 30 a 35 dias e deposita em média 400 a 600 ovos durante a vida [45], [44]. Possui cabeça globosa, tórax comprimido lateralmente, abdômen cilíndrico, pernas e asas [45]. O tórax, as pernas, as asas e o abdômen são revestidos por escamas com tonalidade castanho-escuro [45]. Alimenta-se de néctar ou seiva vegetal, porém a fêmea, após o acasalamento, faz hematofagia, devido à necessidade da albumina e proteínas para maturação dos ovos [23]. O repasto sanguíneo das fêmeas de *Aedes aegypti* geralmente é realizado em horários diurnos e preferencialmente em humanos [43].



Figura 11: Mosquito adulto *Aedes aegypti*.

Fonte: <https://saude.rs.gov.br/aedes>

Apesar de possuir um sistema imunológico simples, o *Aedes aegypti* apresenta como as primeiras linhas de defesa: o tegumento, o sistema respiratório composto pelos espiráculos e traqueias, e o trato digestivo, incluindo a membrana peritrófica e o epitélio [48]. A segunda linha de defesa se dá na hemocele (cavidade do corpo), onde a penetração e o crescimento de micro-organismos invasores como fungos, bactérias, vírus e protozoários são inibidos por componentes antimicrobianos formados por proteínas, lipídios, hidrocarbonetos, difenóis, carboidratos, quitina e melanina [48].

Como já mencionado, o tegumento do *Aedes aegypti* representa a primeira barreira de defesa do inseto conferindo proteção mecânica, química e biológica, sustentação de músculos e órgãos, além de evitar o dessecamento [49]. É composto

por três camadas básicas: lâmina basal (camada contínua acelular de cerca de 0,5 µm ou menos de espessura formada por proteínas fibrosas, colágeno, glicoproteínas e glicosaminoglicanos); epiderme (camada de células epiteliais secretoras e outras células especializadas de vários tipos, responsáveis pela formação de toda a cutícula); e cutícula (Figura 12) [49]. A cutícula é a parte mais externa do tegumento e é dividida em procutícula (subdividida em exocutícula, com quitina e a proteína esclerotina conferindo rigidez; e endocutícula, mais espessa e flexível) e epicutícula (composta basicamente de lipídios e evita a perda de água) [49].

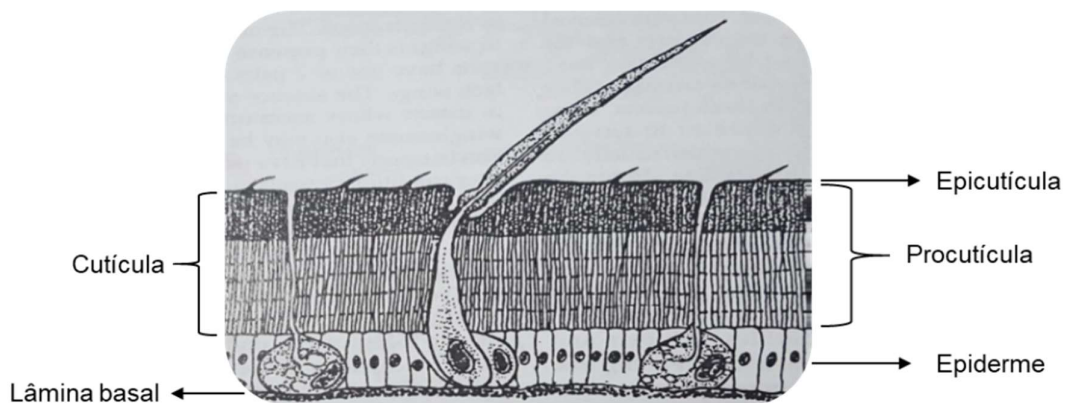


Figura 12: Constituintes do tegumento dos insetos [49].

3.4. Doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*

Dengue, chikungunya, Zika e febre amarela são doenças transmitidas através da picada de fêmeas infectadas do mosquito *Aedes aegypti* e têm se constituído como um dos principais problemas de saúde pública no mundo [26].

A incidência da dengue tem crescido drasticamente no mundo inteiro nas últimas décadas, atingindo anualmente cerca de 390 milhões de pessoas [50]. Até 1970 apenas 9 países haviam enfrentado epidemias de dengue grave, entretanto, atualmente essa doença passou a ser endêmica em mais de 100 países, localizados na África, nas Américas, no Mediterrâneo Oriental, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental [50]. A ameaça de um possível surto de dengue também já existe na

Europa, onde a transmissão local da dengue foi relatada pela primeira vez na França e Croácia em 2010 [45]. Em 2016, ano caracterizado por grandes surtos de dengue em todo o mundo, foram registrados mais de 2 milhões de casos somente nas Américas, sendo aproximadamente 1,5 milhões no Brasil [50].

O vírus dengue possui quatro sorotipos distintos e suas infecções podem variar desde formas oligossintomáticas a formas graves, podendo levar o indivíduo ao óbito [51]. A primeira manifestação é a febre, geralmente acima de 38°C, de início abrupto e com duração de 2 a 7 dias, associada a cefaleia, astenia, mialgia, artralgia e dor retroorbitária, sendo que, anorexia, náuseas, vômitos e diarreia também podem se fazer presentes [26]. Uma vez que não existe tratamento específico para a dengue, a assistência em saúde é feita para aliviar os sintomas por meio de repouso e hidratação por via oral ou intravenosa [51].

O vírus chikungunya foi descoberto na Tanzânia em 1952, sendo que os piores surtos ocorreram na Índia, Ásia e África [52]. As infecções por chikungunya podem evoluir em três fases: febril ou aguda, pós-aguda e crônica [26]. A fase aguda da doença tem duração de 5 a 14 dias e é caracterizada principalmente por febre alta de início súbito (>38,5°C) e surgimento de intensa poliartralgia, geralmente acompanhada de dorsalgia, exantema, cefaleia, mialgia e fadiga, com duração variável [26]. Na fase pós-aguda, que tem um curso de até 3 meses, geralmente a febre desaparece [26]. Se os sintomas persistirem por mais de 3 meses após o início da doença, considera-se instalada a fase crônica [26]. A doença tem baixa mortalidade em indivíduos adultos, porém, podem apresentar complicações em idosos e recém-nascidos [52]. O alívio dos sintomas também é feito por repouso e hidratação.

A infecção pelo vírus Zika tem sido notificada na África, nas Américas, no sudeste asiático e no pacífico ocidental [53]. A enfermidade causada pelo vírus Zika se caracteriza, mais frequentemente, por manifestações clínicas brandas e autolimitadas [54]. Os sintomas aparecem alguns dias após a picada do mosquito infectado, duram entre 2 a 7 dias e incluem febre baixa, erupção cutânea (exantema), conjuntivite, dores musculares e articulares e cansaço [53]. Assim como no caso da dengue e chikungunya, o tratamento inclui o repouso e a hidratação do paciente.

O vírus Zika se diferencia das outras arboviroses por ser potencialmente teratogênico, estando associado a casos graves de distúrbios neurológicos, incluindo a Síndrome de Guillain-Barré e anormalidades em fetos e recém-nascidos, incluindo as malformações congênitas, em que se destaca a microcefalia [26].

A febre amarela é endêmica em 47 países, sendo 34 na África e 13 nas Américas Central e do Sul [55]. Uma vez contraído, o vírus da febre amarela demora de 3 a 6 dias para ser incubado no corpo e os sintomas mais comuns são febre, dores musculares com dor lombar proeminente, dor de cabeça, perda de apetite, náusea ou vômito [55]. Na maioria dos casos, os sintomas desaparecem depois de 3 ou 4 dias, entretanto, uma pequena porcentagem de pacientes entra em uma segunda fase mais grave, dentro de 24 horas após a recuperação dos sintomas iniciais [55]. Nessa fase, há retorno da febre alta e as pessoas estão suscetíveis a desenvolverem icterícia (“amarelamento” da pele e dos olhos), urina escura, dores abdominais com vômitos e sangramentos que podem ocorrer a partir da boca, nariz, olhos ou estômago [55]. A febre amarela pode ser prevenida por uma vacina extremamente eficaz, segura e acessível, porém, uma vez contraído o vírus não há medicamento antiviral específico e o tratamento é feito para aliviar os sintomas [55].

No Brasil, o cenário epidemiológico caracterizado pela circulação dos vírus causadores das arboviroses dengue, chikungunya, Zika e febre amarela, constitui-se em um grande desafio tanto para a assistência quanto para a vigilância, em suas ações de identificação de casos suspeitos, no diagnóstico precoce e no desencadeamento das ações de prevenção e controle [26].

A ação mais simples para controlar ou prevenir a transmissão dessas doenças é combater o mosquito vetor [50]. Para tanto, as estratégias mais utilizadas baseiam-se em campanhas para eliminação de criadouros e em uso de inseticidas para diminuir a incidência de insetos em diferentes fases do seu ciclo de vida [45].

3.5. Inseticidas

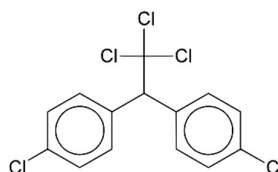
Na década de 40 as pragas agrícolas eram combatidas por inseticidas de origem natural: nicotina (isolado de espécies de *Nicotiana*), piretrina e aletrina

(extraídos das flores do *Chrysanthemum cinerariaefolium*) e rotenona (isolado de espécies do gênero *Derris* e *Lonchocarpus*) [23].

Entre as décadas de 50 e 70, os inseticidas naturais foram substituídos pelos de origem sintética, quando passou-se a utilizar os inseticidas químicos organoclorados [56].

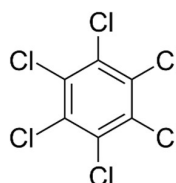
Os inseticidas organoclorados (Figura 13) são classificados em quatro grupos: difenil-alifáticos, hexaclorociclohexanos, ciclodienos e policloroterpenos [57]. O grupo difenil-alifático inclui o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), considerado o primeiro inseticida de efeito prolongado, cuja ação envolve a destruição do equilíbrio de íons sódio e potássio dos axônios, impedindo a transmissão normal dos impulsos nervosos em insetos e mamíferos [57].

difenil-alifáticos



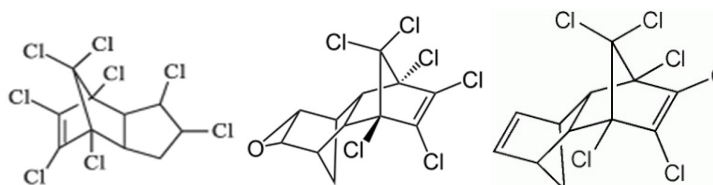
dicloro-difenil-tricloroetano (DDT)

hexaclorociclohexanos



benzenohexacloro (BHC)

ciclodienos

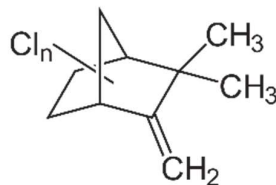


clordano

aldrin

dieldrin

policloroterpenos



toxafeno

Figura 13: Estruturas químicas de alguns inseticidas químicos organoclorados.

No grupo dos hexaclorociclohexanos destaca-se o benzenohexacloro (BHC) que também é comercializado com o nome de lindano e tem ação semelhante à do DDT [57]. A maioria das substâncias do grupo de cicloedienos que inclui o clordano, aldrin e dieldrin são persistentes e estáveis no solo e por isso foram usados como controle de térmitas e outros insetos cujas fases larvas alimentam-se nas raízes das plantas [57].

Os ciclodienos impedem a entrada dos íons cloreto nos neurônios, antagonizando os efeitos do receptor do ácido gama-aminobutírico [57]. O grupo de policloroterpenos que inclui o toxafeno e o estrobane tem ação semelhante à dos ciclodienos, porém foram mais usados na agricultura [57].

Devido às características de alta persistência no ambiente, ação indistinta (atingindo tanto os vetores quanto a fauna e flora da área) e o uso indiscriminado dos organoclorados, na década de 80 se fez necessária a introdução de agentes químicos mais seletivos, e assim surgem os organofosforados e piretroides [23].

O grupo dos organofosforados (Figura 14) incluem todos os inseticidas que contém fósforo e são classificados em três subgrupos: os alifáticos (malation, vapon, vidrin), os derivados de fenil (etil e metil paration, fenitroton, temefós) e os heterocíclicos (clorpirifos, clorpirifos-metil) [57]. Os organofosforados atuam inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE) formando um complexo enzima-inibidor e assim impedindo a transmissão dos impulsos nervosos, desencadeando a paralisia e a morte do inseto [56].

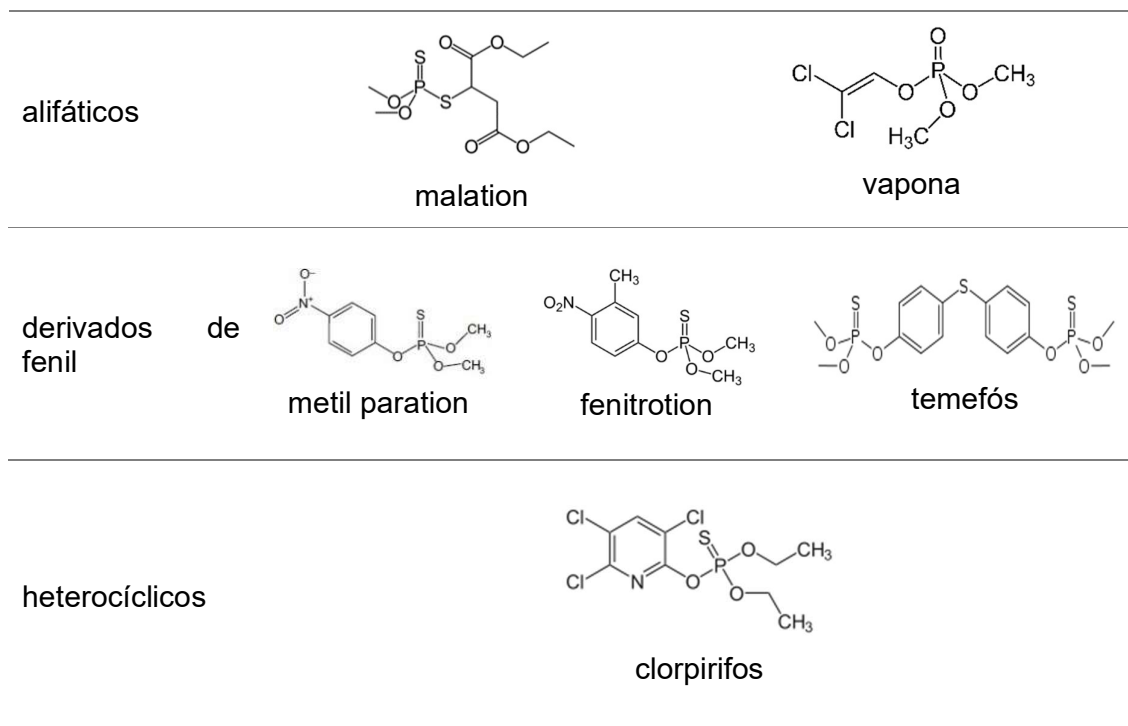


Figura 14: Estruturas químicas de alguns inseticidas químicos organofosforados.

Os inseticidas organofosforados apresentam vantagens sobre os organoclorados como serem biodegradáveis e não se acumularem nos tecidos, no entanto, são instáveis e mais tóxicos para os vertebrados, mesmo em doses relativamente baixas [57].

Os piretroides (Figura 15) são compostos sintéticos derivados de piretrinas e do ácido crisântemo, ambos extraídos das flores de plantas pertencentes ao gênero *Chrysanthemum* [49]. Esses compostos foram sintetizados através de modificações estruturais para diminuir a degradabilidade e aumentar a eficácia da piretrina natural, usada na década de 40 [49]. Essas substâncias alteram a permeabilidade do sódio na membrana do axônio impedindo a repolarização normal após o impulso nervoso, levando o inseto a uma morte rápida [23].

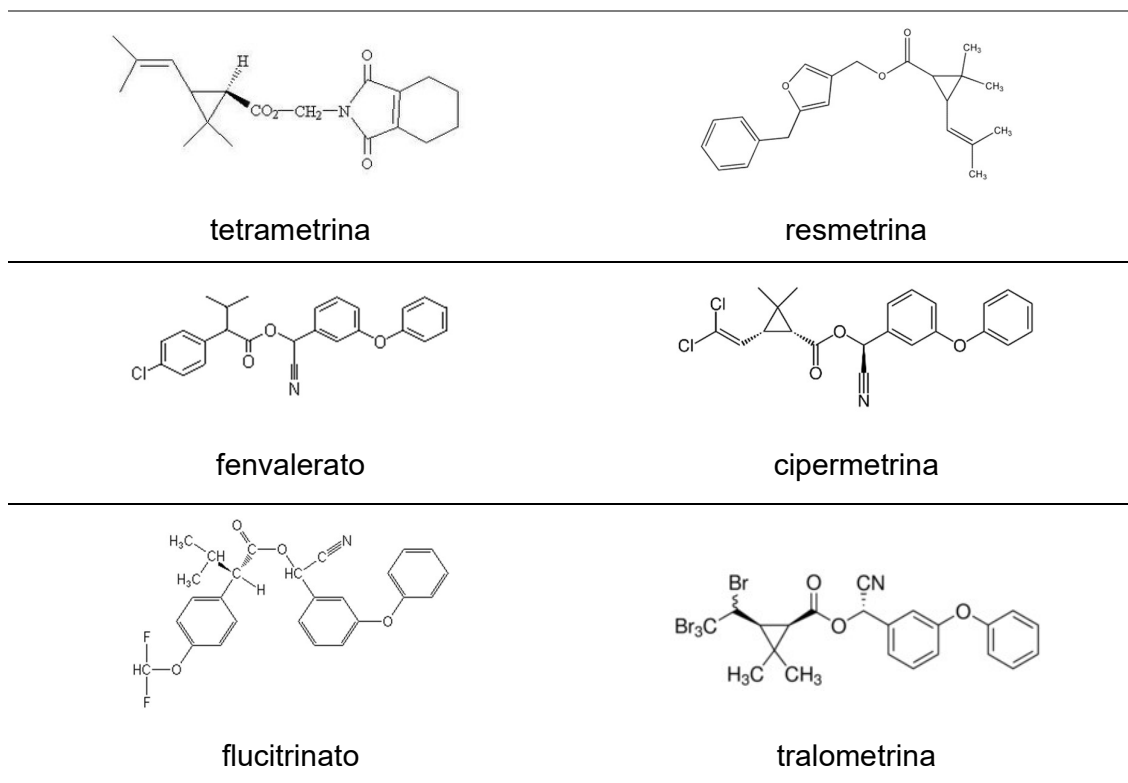


Figura 15: Estruturas químicas de alguns inseticidas piretroides sintéticos.

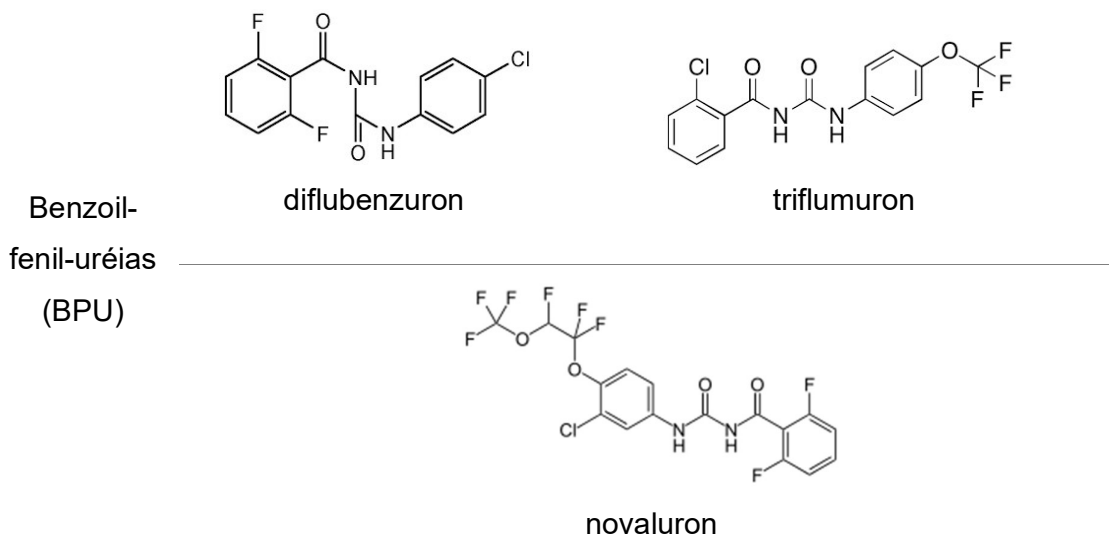
Os inseticidas piretroides mais usados são: tetrametrina, resmetrina, bioresmetrina, bioaletrina, phonotrina, fenvalerato, permetrina, bifentrina, lambda-cialotrina, cipermetrina, ciflutrina, deltametrina, esfenvalerato, fenpropatrina, flucitrinato, fluvalinato, praletrina, tauflualinato, teflutrina, tralometrina e zeta-cipermetrina [57].

Os inseticidas piretroides são biodegradáveis, possuem baixa toxicidade aos mamíferos, maior estabilidade à luz e ao calor e menor volatilidade, quando comparado às demais classes [49]. Dentre as desvantagens do uso desses compostos estão a toxicidade para os animais aquáticos e o custo elevado [57].

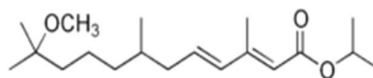
A rápida recuperação do mosquito após as intervenções de controle requer a mudança periódica dos métodos inseticidas, fato esse que culminou no desenvolvimento dos bioinseticidas e os reguladores de crescimento [56].

Os bioinseticidas são obtidos a partir de bactérias entomopatogênicas como *Bacillus sphaericus* e *Bacillus thuringiensis israelenses* [23]. Ambas produzem endotoxinas proteicas que quando ingeridas pelas larvas, atacam e destroem seu intestino médio, levando-as à morte [45]. Ainda que possuam uma ação eficiente contra as larvas, os bioinseticidas apresentam como desvantagem o alto custo de produção em larga escala [58].

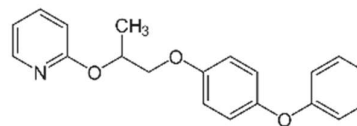
Os inseticidas reguladores de crescimento (Figura 16) utilizados no controle de mosquitos pertencem ao grupo das benzoil-fenil-uréias (BPU) ou são compostos quimicamente relacionados ao hormônio juvenil natural de insetos, designados como Análogos de Hormônio Juvenil (AHJ) [57]. As BPU interferem na síntese de quitina durante o desenvolvimento dos estágios imaturos, impossibilitando a ecdise (processo de muda) e, com isso, diminuindo a emergência de adultos [59]. Entre os inibidores da síntese de quitina mais utilizados, encontram-se o diflubenzuron, triflumuron e o novaluron [57]. Os AHJ interferem no sistema endócrino dos insetos, atuando sobre o desenvolvimento e inibindo a emergência dos adultos [57].



Análogos
de
Hormônio
Juvenil
(AHJ)



metopreno



piriproxifen

Figura 16: Estruturas químicas de alguns inseticidas reguladores de crescimento.

Para o controle de focos de formas larvárias de *Aedes aegypti* a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde Brasileiro recomendam os seguintes produtos: temefós, *Bacillus thuringiensis israelensis*, diflubenzuron, novaluron e piriproxifen [60].

O temefós apresenta Concentração Letal de 50% (CL₅₀) entre 2,3ppm e 9,4ppm [23],[61],[62] e é um dos mais utilizado para controle do *Aedes Aegypti* no Brasil [45], [58]. Esse larvicida é capaz de persistir na água por um período entre 48 a 72 horas até se degradar por processo fotoquímico, gerando compostos inativos contra o mosquito *Aedes aegypti* e tóxicos a outros organismos não alvos [58].

Para o controle do mosquito adulto utiliza-se a aplicação de malation a Ultra Baixo Volume (UBV), porém, devido à dispersão dos aerossóis e ao risco de contato com organismos não alvo, esse tipo de controle somente é utilizados em casos de surtos e epidemias [45].

Devido à grande resistência apresentada pelos ovos de *Aedes aegypti* ainda não há produtos disponíveis no mercado com ação ovicida para serem usados em campanhas de saúde pública [45].

3.5.1. Resistência a inseticidas

A resistência a inseticidas tem causado enorme dificuldade no controle de vetores [45],[57]. Trata-se de uma característica genética que se insere numa

população em função do uso continuado de um determinado inseticida [45]. Os mecanismos envolvidos na resistência de insetos derivam de: diminuição da taxa de penetração, detoxificação metabólica aumentada e diminuição da sensibilidade do sítio-alvo [57]. Tais mecanismos podem conferir resistência cruzada a outro inseticida estruturalmente relacionado [57].

A diminuição da taxa de penetração causada pelo espessamento da camada cuticular reduz a toxicidade de inseticidas como o DDT (organoclorado), o malation (organofosforado), permetrina e deltametrina (ambos piretroides) que precisam penetrar pelo tegumento do inseto e difundir por suas camadas até atingir a hemolinfa e serem transportados até seu sítio-alvo no sistema nervoso [49].

A resistência ao principal larvicida utilizado nas últimas décadas, o organofosforado temefós, vem sendo detectada desde 1999 e por isso tem sido substituído por inseticidas reguladores do crescimento: diflubenzuron, novaluron e piriproxifen [60]. Embora os inseticidas reguladores de crescimento possam ser um importante elemento no manejo da resistência a inseticidas, uma vez que atuam de maneira diferente dos inseticidas tradicionais, também já existem registros de resistência a esses compostos [45, 57]. Quanto aos bioinseticidas, até o momento não houve registro de resistência aos produtos à base de *Bacillus thuringiensis israelenses*, porém, em relação aos derivados de *Bacillus sphaericus* a resistência já se desenvolveu em algumas populações na Índia, no Brasil e na França [45, 57].

A resistência a inseticidas resulta no aumento da frequência de aplicação, dosagens crescentes, rendimentos diminuídos, danos ambientais e surgimento de doenças [45]. Assim, a busca por novas substâncias alternativas mais eficazes e menos tóxicas tanto ao homem quanto à natureza para o controle do mosquito *Aedes aegypti* é necessária [23].

A biodegradabilidade, a baixa toxicidade e a redução do impacto ambiental apontam os produtos naturais provenientes de plantas como candidatos alternativos às medidas de controle de vetores, principalmente os resistentes aos inseticidas convencionais [45].

3.6. Floresta Nacional de Jacundá

As amostras de madeira utilizadas nesta Tese foram obtidas na Floresta Nacional de Jacundá ou FLONA de Jacundá. A FLONA está situada ao norte do Estado de Rondônia (Figura 17) e possui 220.644 hectares de cobertura vegetal do tipo Amazônica, predominantemente Floresta Ombrófila Aberta [63, 64].

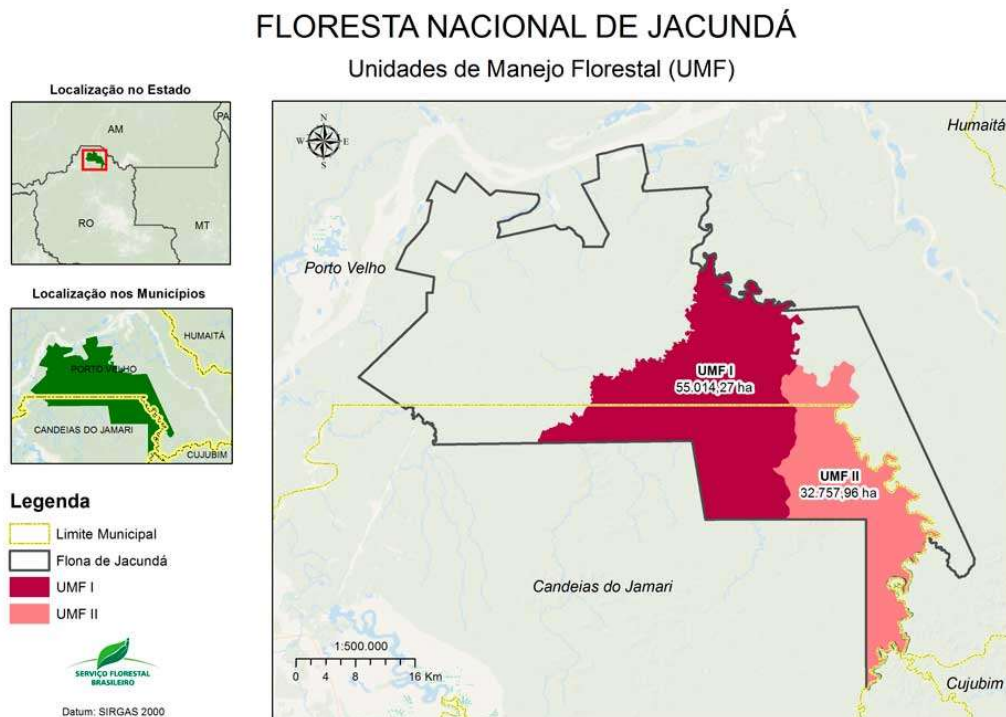


Figura 17: Floresta Nacional de Jacundá.

Fonte: <http://www.florestal.gov.br/florestas-sob-concessao>

A FLONA de Jacundá possui um potencial econômico, ecológico e de serviços socioambientais que impulsionam o desenvolvimento local ofertando às famílias tradicionais existentes a possibilidade de desenvolver o extrativismo como fonte de renda [64]. De tal modo que foi autorizada como Área de Concessão Florestal pelo Plano de Outorga Florestal 2009 publicado pelo Serviço Florestal Brasileiro (SFB) [63].

A Concessão Florestal, prevista na Lei nº 11.284 de 2 de março de 2006, é uma das modalidades de gestão que permite que o governo conceda à empresas e comunidades o direito de manejar florestas públicas para obtenção de produtos e serviços [7]. O principal objetivo desse modo de gestão é conservar a cobertura vegetal das florestas brasileiras, por meio da melhoria da qualidade de vida da população que vive em seu entorno e do estímulo à economia formal com produtos e serviços oriundos de florestas manejadas de forma sustentável [66].

As concessões são feitas mediante licitação onde os contratos firmados somente permitem a obtenção do recurso florestal por meio de técnicas de manejo florestal de impacto reduzido [65]. A exploração é feita por meio de um sistema de rodízio, onde apenas de quatro a seis árvores são retiradas por hectare e o retorno à mesma área só ocorre após 30 anos [65].

Atualmente a FLONA de Jacundá permanece sob o regime de Concessão Florestal, cujo contrato com a empresa vencedora da licitação foi assinado em julho de 2013 e se estende por quarenta anos a partir da data de assinatura. No âmbito desse contrato, o volume total de madeira proveniente da FLONA de Jacundá transportada de 2014 a 2018 foi de 151.956,15 m³ [67].

Em relação à biodiversidade, de acordo com o Plano de Manejo da Floresta Nacional de Jacundá (2010) elaborado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) foram identificadas na região 159 espécies comerciais passíveis de exploração [64].

3.7. Espécies madeireiras estudadas no Capítulo 2 desta Tese

As espécies madeireiras utilizadas como objeto de pesquisa nesta Tese foram: *Peltogyne lecointei*, *Martiodendron elatum*, *Dipteryx odorata*, *Erisma uncinatum*, *Allantoma decandra* e *Handroanthus incanus*.

3.7.1. *Peltogyne lecointei*

A espécie *Peltogyne lecointei* Ducke (Figura 18) pertence à família Fabaceae e é nativa do Brasil e das Guianas [68]. A madeira das espécies pertencentes ao gênero *Peltogyne* são de alta densidade, possuem cheiro e gosto imperceptíveis, alta resistência ao ataque de xilófagos (fungos apodrecedores e cupins de madeira seca) porém baixa resistência a organismos xilófagos marinhos [69]. A madeira desta espécie é utilizada na construção civil, na fabricação de assoalhos e mobiliários, além de peças menores como cabos de ferramentas, cabos para cutelaria e tacos de bilhar [69]. Além disso, a madeira é utilizada na confecção de adornos e acabamentos finos devido a coloração violácea em várias nuances até o roxo intenso que o cerne assume quando entra em contato com o ar [70].

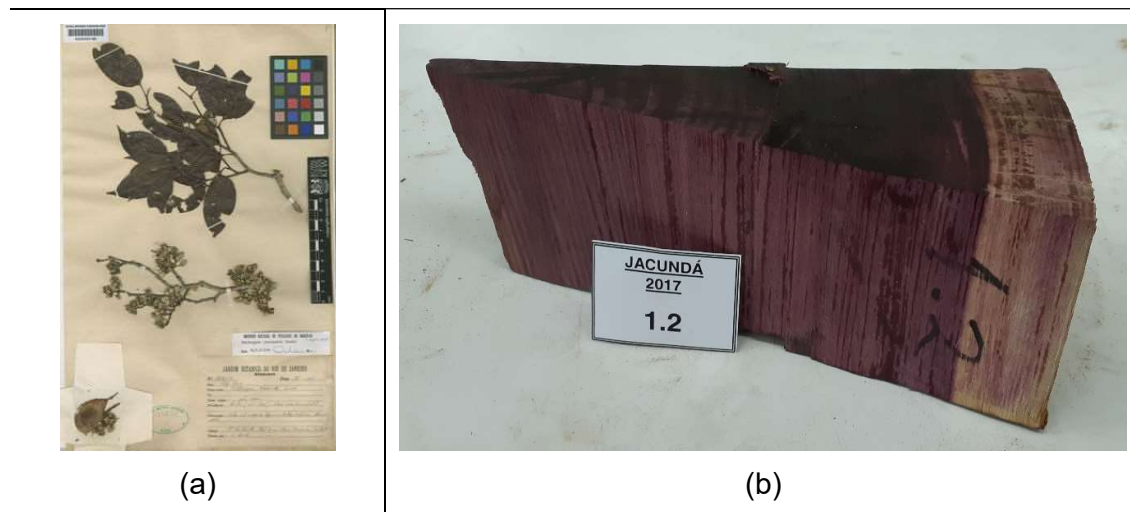


Figura 18: *Peltogyne lecointei*.

Fontes: (a) <http://powo.science.kew.org/> (b) arquivo do LPF

Não foram encontradas publicações sobre a compostos presentes nos extratos do caule de *Peltogyne lecointei*. Contudo, sabe-se que o teor de extrativos dessa espécie é de cerca de 2,69% e que algumas espécies do gênero *Peltogyne* apresentam em seus extratos as substâncias peltoginol, mopanol e (+)-2,3-trans-

pubesquin [70, 71, 72]. As estruturas químicas do peltoginol e do mopanol são mostradas na Figura 19.

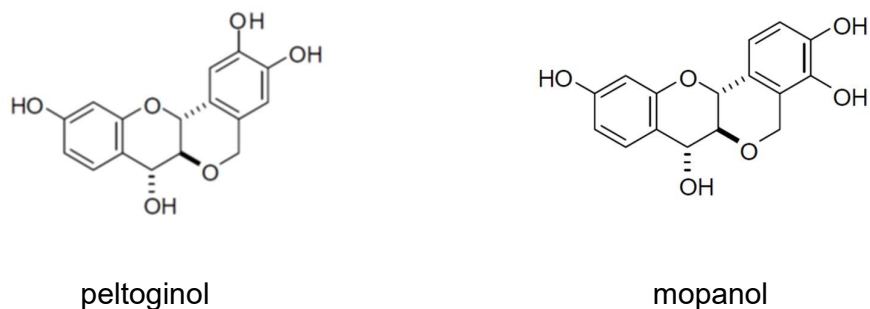


Figura 19: Compostos isolados do gênero *Peltogyne*.

Quanto a atividade biológica, também não foram observadas publicações com análises biológicas dos extratos da espécie *Peltogyne lecointei*. Porém, foi relatado que o extrato em acetato de etila do gênero *Peltogyne* possui atividade antifúngica contra *Pycnoporus sanguineus* (podridão branca) e antibacteriana [73]. Além disso, em pesquisa realizada em 1961 foi isolada da espécie *Peltogyne recifensis* uma substância com propriedades antimicrobianas contra cepas do gênero *Mycobacterium* e *Nocardia*, além de agir discretamente contra *Bacillus mycoides*, *Sarcina lutea*, *Neisseria catarrhalis*, *Brucella suis* e *Candida stellatoidea* [70].

3.7.2. *Martiodendron elatum*

A espécie *Martiodendron elatum* (Ducke) Gleason (Figura 20) pertence à família Fabaceae e é nativa do Brasil, Bolívia, Peru e Venezuela [68]. A madeira desta espécie possui boa durabilidade natural e por isso é utilizada em obras externas, especialmente decks [74].



(a)



(b)

Figura 20: *Martiodendron elatum*.

Fontes: (a) <http://powo.science.kew.org/> (b) Arquivo do LPF

Não foram encontradas publicações científicas sobre a composição química e a atividade biológica da madeira da espécie *Martiodendron elatum*, nem de outras espécies do mesmo gênero.

3.7.3. *Dipteryx odorata*

A espécie *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. (Figura 21) também pertence à família Fabaceae e é nativa do Brasil, Bolívia, Colômbia, Guianas, Peru, Suriname, Trindade e Tobago e Venezuela [68]. A madeira dessa espécie possui alta

densidade, cheiro e gosto imperceptíveis, e cerne de alta resistência ao ataque de xilófagos (fungos apodrecedores e cupins), porém baixa resistência aos xilófagos marinhos [69]. É utilizada na construção civil pesada externa e interna (pontes, postes, mourões, estacas, dormentes, vigas, caibros, etc), construção civil leve (batentes, forros e lambris), na fabricação de assoalhos (tacos, tábuas, parquetes, degraus de escada), mobiliários, além de cabos de ferramenta e embarcações [69].



(a)



(b)

Figura 21: *Dipteryx odorata*.

Fontes: (a) <http://powo.science.kew.org/> (b) Arquivo do LPF

O teor de extrativos da madeira de *Dipteryx odorata* pode chegar a 18%, contendo principalmente flavonoides tais como retusina, 8-metoxiretusina, 3'-hidroxi-8-metoxiretusina, odoratina, dipterixinao, afrormosina e (+)-(3R)-8,2',3'-trihidroxi-7,4'-

dimetoxiisoflavana [73, 75, 76]. As estruturas químicas de algumas dessas moléculas são mostradas na Figura 22.

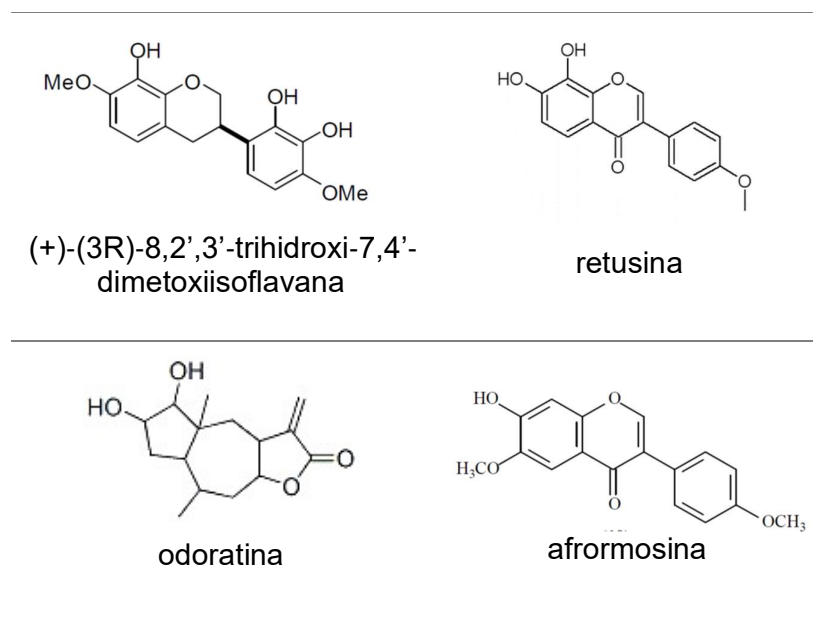


Figura 22: Compostos isolados de *Dipteryx odorata*.

Em relação à atividade biológica, foi relatado que o extrato em acetato de etila dessa espécie possui atividade antifúngica contra *Pycnoporus sanguineus* (podridão branca) e *Gloeophyllum trabeum* (podridão parda), enquanto que o extrato metanólico é ativo somente contra o *Gloeophyllum trabeum* [73].

Quanto aos compostos isolados, há registros de que a afrormosina apresentou efeito contra o *Trypanosoma cruzi* [76].

3.7.4. *Erisma uncinatum*

A espécie *Erisma uncinatum* Warm. (Figura 23) pertence à família Vochysiaceae e é nativa do Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador, Guianas, Peru, Suriname e Venezuela [68]. A madeira possui baixa densidade, cheiro e gosto imperceptíveis e

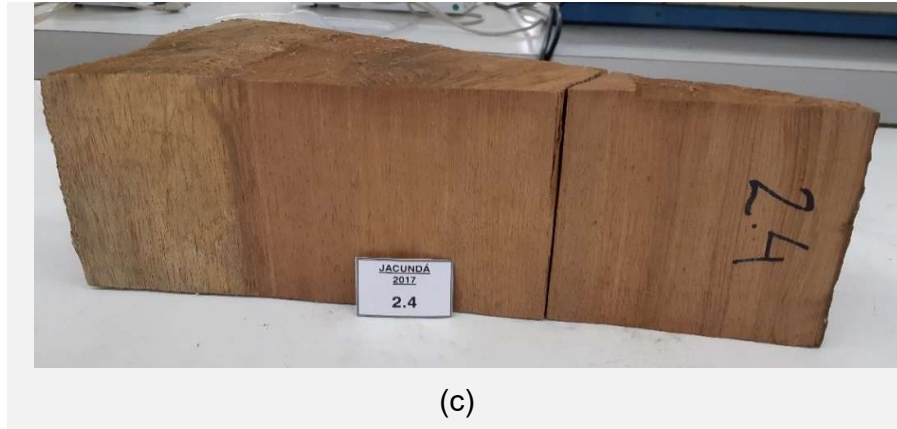
baixa resistência ao ataque de organismos xilófagos (fungos e insetos) [69]. É utilizada na construção civil leve (portas, ripas, molduras, andaimes, etc), na fabricação de mobiliários, além de peças menores como lâminas decorativas, chapas compensadas e embalagens [69]. Além disso, a madeira de *Erisma uncinatum* também pode ser utilizada na produção de fibras e artesanatos [77].



(a)



(b)



(c)

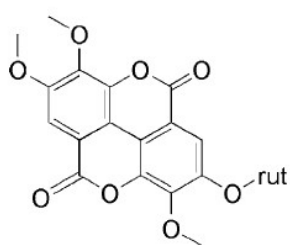
Figura 23: *Erisma uncinatum*.

Fontes: (a) <http://powo.science.kew.org/>

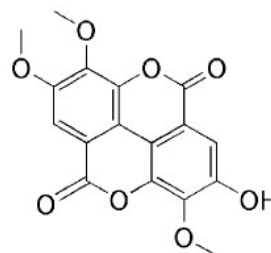
(b) <https://lpf.florestal.gov.br/pt-br/madeiras-brasileiras> (c) Arquivo do LPF

Não foram encontrados estudos científicos a respeito da análise química da madeira da espécie *Erisma uncinatum*. Contudo, sabe-se que o teor de extrativos dessa espécie é de cerca de 3,47% [71]. Além disso, na madeira de uma espécie do

mesmo gênero, a *Erismia calcaratum*, foram identificados os seguintes compostos derivados do ácido elágico: ácido 3,3',4-tri-O-metilelágico-4'-O-rutinosil e ácido 3,3',4-tri-O-metilelágico, cujas estruturas químicas são mostradas na Figura 24 [78].



ácido 3,3', 4-tri-O-metilelágico-4'-O-rutinosil



ácido 3,3', 4-tri-O-metilelágico

Figura 24: Compostos isolados de *Erismia calcaratum*.

Quanto à atividade biológica, apesar da madeira da *Erismia uncinatum* ser classificada como de baixa resistência ao ataque de xilófagos foi publicado um estudo que constatou o efeito tóxico dos extratos da madeira dessa espécie em térmita do gênero *Nasutitermes sp.* [79, 80].

3.7.5. *Allantoma decandra*

A espécie *Allantoma decandra* (Ducke) S.A.Mori, Ya Y.Huang & Prance (Figura 25) pertence à família Lecythidaceae e é nativa do Brasil, Colômbia e Peru [68]. A madeira é moderadamente pesada de textura fina a média, e possui cheiro e gosto imperceptíveis [81]. É utilizada na construção civil leve e recomendada para produção de rodapés, guarnições, cordões, venezianas, forros, a parte interna de móveis finos, molduras para quadros, obras de entalhe, artigos de escritório,

embalagens e lâminas decorativas, compensados, cascos de embarcações leves, cabos de vassouras e instrumentos musicais [82].

Não foram encontradas publicações a respeito da composição química e da atividade biológica dos extratos da espécie *A. decandra*, nem de espécies do mesmo gênero.

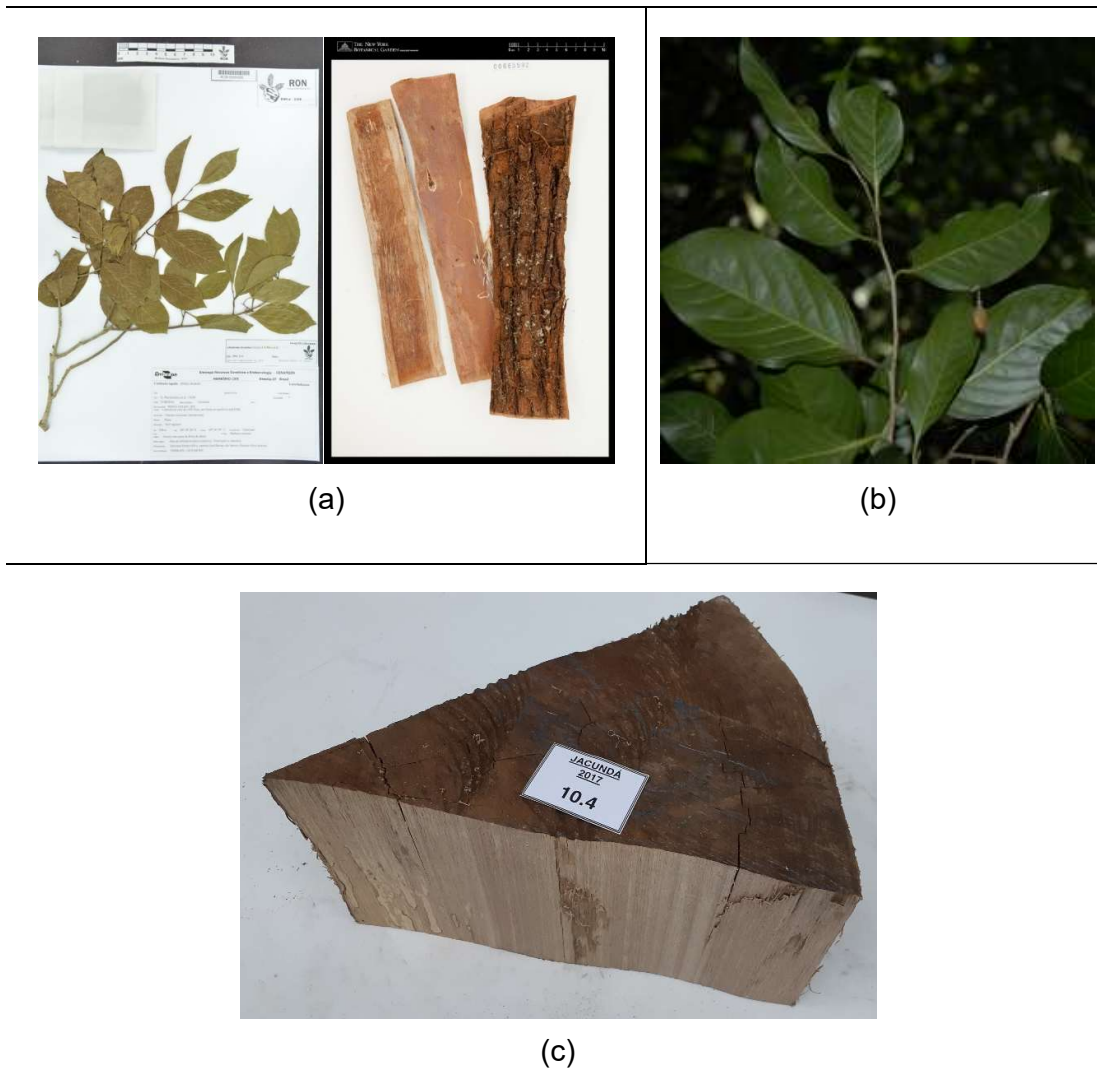


Figura 25: *Allantoma decandra*.

Fontes: (a) [http://www. http://inct.splink.org.br/](http://www.inct.splink.org.br/)
(b) <http://powo.science.kew.org/> (c) Arquivo do LPF

3.7.6. *Handroanthus incanus*

A espécie *Handroanthus incanus* (A.H.Gentry) S. Grose (Figura 26) pertence à família Bignoniaceae e é nativa do Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador e Peru [68]. Até o ano de 2007 essa espécie pertencia ao gênero *Tabebuia* e era identificada como *Tabebuia incana* A.H. Gentry. A partir de 2007, com base em estudos filogenéticos, o gênero *Tabebuia* foi dividido em três: *Tabebuia*, *Handroanthus* e *Roseodendron* [83]. Então, a espécie *Tabebuia incana* passou a pertencer ao gênero *Handroanthus* e recebeu a atual identificação. Diante disso, a revisão bibliográfica feita para a elaboração desta Tese incluiu a busca por publicações relacionadas às duas identificações: *Handroanthus incanus* e *Tabebuia incana*.

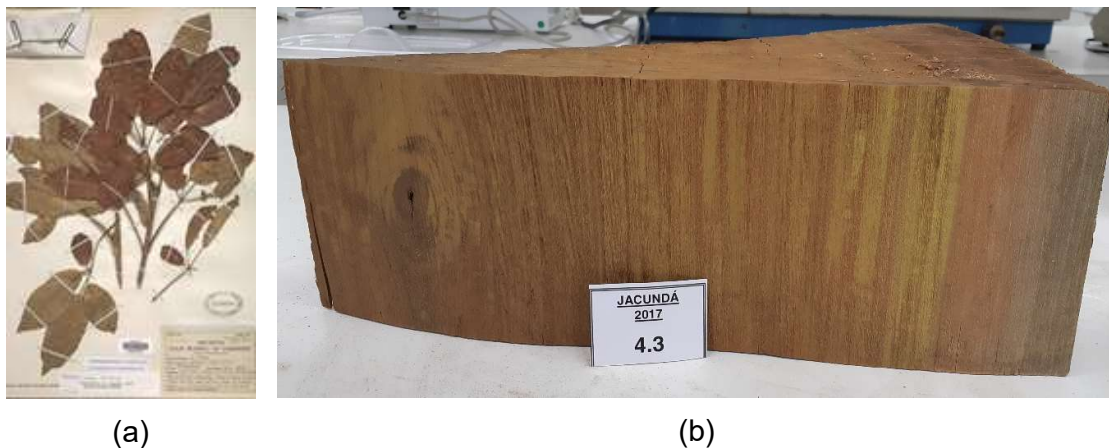


Figura 26: *Handroanthus incanus*.

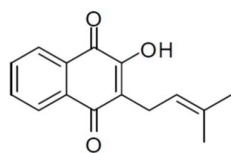
Fontes: (a) <http://inct.splink.org.br/> (b) Arquivo do LPF

A madeira do gênero *Tabebuia* apresentam alta densidade, cheiro e gosto imperceptíveis e alta resistência ao ataque de organismos xilófagos (fungos e cupins) [69]. É utilizada na construção civil pesada (pontes, dormentes, cruzetas, defensas, vigas e caibros) e leve (portas, janelas, batentes, guarnições, rodapés, forros e lambris), na fabricação de assoalhos (tábuas, tacos, parquetes e degraus de escada),

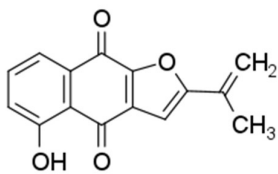
mobiliários, além de peças menores como artigos de esporte, brinquedos, cabos de ferramenta, instrumentos musicais, etc [69].

As espécies do gênero *Tabebuia* têm sido tradicionalmente usadas na Amazônia para o tratamento de uma série de doenças como sífilis, febres, malária, doenças de pele e distúrbios estomacais [73]. Atribui-se essas propriedades à presença de lapachol, desidro- α -lapachona, furanonaftoquinonas, tecnomaquinonas, lignanas, flavonoides, fenilpropanoides, iridoides e fenólicos glicosilados nas espécies deste gênero [73, 84]. Ao lapachol também é atribuída atividade antiparasitária, antibacteriana, antifúngica, antitumoral, antiinflamatória e antidepressiva [8, 35, 36, 84].

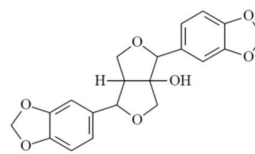
Além dos compostos comuns ao gênero: lapachol, tecomaquinona e algumas furanonaftoquinonas tais como: 2-etil-5-hidroxinafto[2,3-b]furano-4,9quinona, (-)-5-hidroxi-2(1'-hidroxietil)nafto[2,3-b]furano-9-quinona e (+)-8-hidroxi-2(1'-hidroxietil)-7-metoxinafto[2,3-b]furano-4,9-quinona), a análise química da madeira da espécie *Handroanthus incanus* identificou a presença de lapachenole, desidro-iso- α -lapachona e das lignanas: paulownina, cicloolivil e cicloolivil acetonida [85].



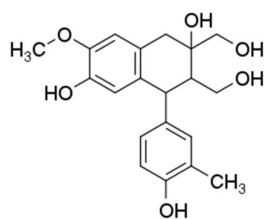
lapachol



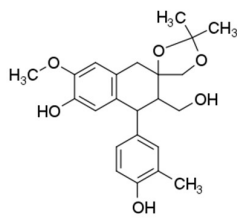
2-etil-5-
hidroxinafto[2,3-
b]furano-4,9quinona



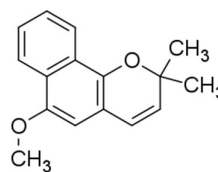
paulownina



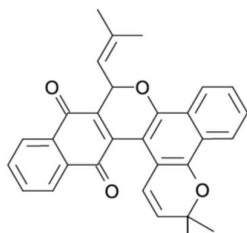
cicloolivil



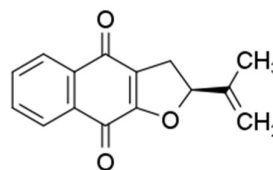
cicloolivil acetonida



lapachenole



tecomaquinona



desidro-iso- α -lapachona

Figura 27: Compostos isolados do gênero *Handroanthus* e da espécie *Handroanthus incanus*.

Quanto a atividade biológica, sabe-se que os extratos em acetato de etila e metanólico de uma espécie do mesmo gênero, a *Tabebuia serratifolia*, apresentou atividade antifúngica contra *Gloeophyllum trabeum* (podridão parda) [73].

Não foram encontrados estudos sobre a atividade larvicida do caule de *Handroanthus incanus*, porém, algumas espécies do gênero *Tabebuia* já foram estudadas. Os extratos brutos das espécies *Tabebuia avellanedae* e *Tabebuia heptaphylla* apresentaram atividade larvicida moderada e alta, respectivamente [86]. Em contrapartida, o extrato bruto da espécie *Tabebuia caraíba* se mostrou inativo [87].

CAPÍTULO 1

A madeira como fonte de larvicidas naturais contra *Aedes aegypti* (estudo de revisão)

I. Introdução

O Brasil possui mais de 488 milhões de hectares ocupados por florestas naturais, o que equivale a aproximadamente 57% do seu território [65]. Como efeito, o país possui o maior número de espécies florestais arbóreas do mundo, sendo que somente na Amazônia estima-se haver mais de 11 mil [88, 89].

O setor de base florestal brasileiro é de grande relevância para o país representando o quinto produto de maior importância para o saldo da balança comercial [90]. A madeira, um dos principais recursos florestais explorados, é utilizada principalmente para fins energéticos e industriais como na fabricação de carvão vegetal, cuja produção brasileira responde por cerca de um terço da mundial [91]. Contudo, esta matéria prima pode ser utilizada para fins ainda mais nobres e assim aumentar seu valor agregado, pois possui em sua composição substâncias bioativas capazes de produzir medicamentos, cosméticos, alimentos, agroquímicos, entre outros [41].

Uma das possíveis aplicações de compostos obtidos da madeira está relacionado ao desenvolvimento de inseticidas naturais contra o mosquito *Aedes aegypti*, que é vetor de doenças como a dengue, chikungunya, Zika e febre amarela [28]. Nos últimos anos as pesquisas nessa área tem se intensificado principalmente devido aos danos ambientais e ao aumento da resistência dos insetos, ambos causados pelo uso continuado de inseticidas químicos sintéticos [29].

Nesse contexto, essa revisão bibliográfica tem o objetivo de buscar e consolidar as informações disponíveis na literatura científica sobre a atividade larvicida dos compostos presentes na madeira contra o mosquito *Aedes aegypti*.

II. Materiais e métodos

A revisão bibliográfica foi feita por busca com combinações de palavras-chave (larvicida, natural, extrato, extrativo, óleo essencial, metabólitos secundários, madeira e aegypti) em quatro bancos de dados: Science Direct, Web of Science, PubMed e SciFinder.

As publicações consultadas incluíram artigos originais, artigos de revisão, dissertação de mestrado e tese de doutorado, cujo conteúdo incluía a investigação da atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti* de extratos brutos, frações, óleos essenciais e substâncias isoladas desde que obtidos exclusivamente de madeira (cerne, alburno, tronco e madeira do caule).

Como forma de padronização dos resultados foram desconsiderados os estudos nos quais os materiais analisados não estavam especificados ou eram provenientes da casca, raiz, galhos, rizoma e partes aéreas. Além disso, para assegurar a correta identificação das espécies também não foram incluídos os trabalhos realizados a partir de amostras de óleos essenciais comerciais.

III. Resultados e discussões

Foram encontrados 23 trabalhos científicos, sendo 21 artigos originais, 1 artigo de revisão e 1 dissertação de mestrado. As informações fornecidas nos trabalhos foram consolidadas e são apresentadas na Tabela 1. Os estudos contemplaram 66 espécies pertencentes a 23 famílias botânicas, o que representa uma ínfima parte do total de espécies arbóreas conhecidas, que, só na Amazônia Brasileira estima-se haver mais de 11 mil [89]. Foram conduzidos um total de 122 ensaios, sendo 106 utilizando extratos e 16 empregando óleos essenciais. Os solventes escolhidos para as extrações foram bem variados, sendo o n-hexano e o etanol os mais usados.

Conforme pode ser observado na Figura 28, a família botânica Fabaceae foi a que apresentou o maior número de espécies estudadas (12 espécies) seguida da família Cupressaceae com 8 espécies. As demais famílias obtiveram entre 1 a 6 espécies investigadas cada.

Tabela 1: Espécies madeireiras avaliadas para atividade larvicida contra *Aedes aegypti*.

FAMÍLIA	ESPÉCIE	MATERIAL BRUTO			FRAÇÃO		ISOLADO		REF.
		Tipo ¹	Solvente ²	Resultado ³	Solvente ²	Resultado ³	Composto puro	Resultado ³	
Annonaceae	<i>Annona crassiflora</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	H	NI	AE	Ativo**	-	-	[92]
					Et	Inativo**	-	-	
	<i>Annona montana</i>	E	Et	CL ₅₀ >200ppm	-	-	-	-	[93]
	<i>Cardiopetalum calophyllum</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]
	<i>Duguetia furfuracea</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]
<i>Xylopi aromática</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]	
<i>Xylopi emarginata</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]	
Apocynaceae	<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]
	<i>Condylocarpon isthmicum</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
	<i>Himatanthus phagedaenicus</i>	E	Et	CL ₅₀ >200ppm	-	-	-	-	[93]
	<i>Peschiera affinis</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
E		Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]	
Araliaceae	<i>Dendropanax cuneatus</i>	E	Et	CL ₅₀ >1000ppm	-	-	-	-	[61]
Asteraceae	<i>Eremanthus glomerulatus</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	
		E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]

Bignoniaceae	<i>Anemopaegma arvense</i>	E	Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]
	<i>Cybistax antisyphilitica</i>	E	H	CL ₅₀ : 27,61ppm	-	-	-	-	[87]
		E	H	-	-	-	lapachol	CL ₅₀ : 26,3ppm	[94]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]
	<i>Handroanthus incanus</i>	E	MS	CL ₅₀ : 96,03ppm	-	-	lapachol	CL ₅₀ : 6,41ppm	[95]
					-	-	desidro- α -lapachona	CL ₅₀ : 43,38ppm	
	<i>Tabebuia avellanedae</i>	E	Ac	CL ₅₀ : 100ppm	-	-	-	-	[96]
		E	AE	CL ₅₀ : 151ppm	-	-	-	-	
		E	Et	CL ₅₀ : 185ppm	-	-	-	-	
	<i>Tabebuia caraiba</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	[87]
<i>Tabebuia heptaphylla</i>	E	C	CL ₅₀ : 86,1ppm	-	-	lapachol	-	[86]	
	E	H	CL ₅₀ : 161,7ppm	-	-	2,6-di-terc-butil naftaleno e lapachol	-	[86]	
Boraginaceae	<i>Auxemma glazioviana</i>	OE	-	CL ₅₀ : 2,89ppm	-	-	α -bisabolol e α -cadinol	-	[97]
Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
Combretaceae	<i>Buchenavia tomentosa</i>	E	Et	CL ₅₀ >1000ppm	-	-	-	-	[61]
	<i>Terminalia fagifolia</i>	E	Et	CL ₅₀ : 373,14ppm	-	-	-	-	[61]
Cupressaceae	<i>Callitris glaucophylla</i>	OE	-	CL ₅₀ : 0,69ppm	-	-	ácido citronélico e guaiol	-	[98]
		E	GRL	CL ₅₀ : 5,21ppm	-	-	-	-	[98]
		E	M	CL ₅₀ : 306ppm	-	-	-	-	[98]
	<i>Calocedrus formosana</i>	OE _c	-	CL ₅₀ : 75,2ppm	-	-	-	-	[99]
		OE _a	-	CL ₅₀ : 104,8ppm	-	-	-	-	[99]
	<i>Chamaecyparis formosensis</i>	OE	-	CL ₅₀ : 38,6ppm	-	-	mirtenol	-	[100]
	<i>Cryptomeria japonica</i>	OE _c	-	CL ₅₀ : 72ppm	-	-	-	-	[99]
OE _a		-	CL ₅₀ : 82,7ppm	-	-	-	-	[99]	
E _a		M	CL ₅₀ : 11,5ppm	M	CL ₅₀ >12,5ppm	-	-		

					AE	CL ₅₀ >12,5ppm	-	-	[10 1]		
					C	CL ₅₀ >12,5ppm	-	-			
					H	CL ₅₀ :2,4ppm	ferruginol	CL ₅₀ >100ppm			
		Ec	M	CL ₅₀ >400ppm							[10 1]
		Ec	Et	CL ₅₀ : 63,2ppm		H	CL ₅₀ : 36,1ppm	ferruginol	CL ₅₀ : 64,1ppm	[10 2]	
	epi-cubebol							CL ₅₀ : 100ppm			
	cubebol							CL ₅₀ : 68,6ppm			
	isopimarol							CL ₅₀ >100ppm			
	AE							CL ₅₀ >400ppm	-		-
	B	CL ₅₀ >400ppm	-	-							
	A	CL ₅₀ >400ppm	-	-							
	<i>Cunninghamia konishii</i>	E	Et	CL ₅₀ : 240ppm	-	-	-	-	[10 3]		
		OE	-	CL ₅₀ : 85,7ppm	-	-	cedrol e α-pineno	CL ₅₀ >100ppm	[10 3]		
<i>Cunninghamia lanceolata</i>	OE _c	-	CL ₅₀ : 106,4ppm	-	-	-	-	[99]			
	OE _a	-	CL ₅₀ : 172,2ppm	-	-	-	-	[99]			
<i>Juniperus virginiana</i>	OE	-	CL ₅₀ : 1ppm	-	-	-	-	[43]			
<i>Taiwania cryptomerioides</i>	OE _c	-	CL ₅₀ : 79,8ppm	-	-	-	-	[99]			
	OE _a	-	CL ₅₀ : 240ppm	-	-	-	-	[99]			
Fabaceae	<i>Anadenanthe ra colubrina</i>	E	M	NI	D	CL ₅₀ >500ppm	-	-	[10 4]		
					AE	CL ₅₀ >1000ppm	-	-			
					B	Inativo ‡	-	-			
	E	Et	NI	CH	CL ₅₀ >800ppm	-	-	[10 4]			
	<i>Bowdichia virgilioides</i>	E	Et	CL ₅₀ >200ppm	CH	CL ₅₀ <50ppm	medicarpina:maackiain (7:3)	CL ₅₀ :17,5ppm	[10 4]		
	<i>Dalbergia oliveri</i>	E	H	CL ₅₀ : 325ppm	-	-	-	-	[10 5]		
		E	D	CL ₅₀ :289ppm	-	-	(+)-medicarpina formononetina	CL ₅₀ :102,5ppm CL ₅₀ :152,6ppm			

				-	-	(±)-violanona	CL ₅₀ :224,6ppm	
	E	AE	CL ₅₀ : 3060ppm	-	-	-	-	
	E	M	CL ₅₀ : 688,5ppm	-	-	-	-	
<i>Dipteryx odorata</i>	E	MS	Inativo†	-	-	-	-	[95]
<i>Diptychandra aurantiaca</i>	E	Et	CL ₅₀ >1000ppm	-	-	-	-	[61]
<i>Enterolobium schomburgkii</i>	E	AE	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
	E	M	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
	E	A	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
<i>Hymenaea stigonocarpa</i>	E	CH	CL ₅₀ >200ppm	AE	Inativo‡	-	-	[10 4]
<i>Inga alba</i>	E	AE	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
	E	M	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
	E	A	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
<i>Macrolobium guianense</i>	E	AE	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
	E	M	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
<i>Martiodendron elatum</i>	E	MS	Inativo†	-	-	-	-	[95]
<i>Peltogyne lecointei</i>	E	MS	Inativo†	-	-	-	-	[95]
<i>Spirotropis longifolia</i>	E	AE	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]
	E	M	Inativo□	-	-	-	-	[10 6]

		E	EP	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	A	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
Humiriaceae	<i>Humiria balsamifera</i>	E	AE	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	M	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	EP	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	A	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	A	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
Lauraceae	<i>Licaria cannella</i>	E	AE	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	M	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	EP	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	A	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
	<i>Ocotea suaveolens</i>	E	Et	CL ₅₀ >1000ppm	-	-	-	-	[61]
	<i>Sextonia rubra</i>	E	AE	CL ₅₀ : 3,17ppm	-	-	-	-	[10 6]
Lecythidaceae	<i>Allantoma decandra</i>	E	MS	Inativo [†]	-	-	-	-	[95]
Malpighiaceae	<i>Byrsonima spicata</i>	E	AE	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	M	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	EP	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]
		E	A	Inativo [□]	-	-	-	-	[10 6]

	<i>Basiloxylon brasiliensis</i>	E	Et	CL ₅₀ >200ppm	-	-	-	-	[93]
Malvaceae	<i>Mansonia gagei</i>	Ec	D	Inativo ^o	-	-	mansonona C	CL ₁₀₀ : 6,25ppm	[10 7]
		Ec	Et	Inativo ^o	-	-	-	-	[10 7]
		Ec	M	Inativo ^o	-	-	-	-	[10 7]
	<i>Melochia parvifolia</i>	E	Et	CL ₅₀ >1000ppm	-	-	-	-	[61]
Piperaceae	<i>Piper ribesioides</i>	E	E	CL ₅₀ : 8,13ppm	-	-	-	-	[10 8]
Rutaceae	<i>Amyris balsamifera</i>	OE	-	CL ₅₀ : 1ppm	-	-	-	-	[43]
	<i>Spathelia excelsa</i>	E	M	NI	-	-	desacetilespathelina	CL ₅₀ : 69,9ppm	[10 9]
-					-	glabretal	CL ₅₀ : 4,8ppm	[10 9]	
Salicaceae	<i>Casearia grandiflora</i>	E	AE	Inativo*	-	-	-	-	[10 6]
		E	M	Inativo*	-	-	-	-	[10 6]
	<i>Casearia sylvestris</i>	E	H	CL ₅₀ : 369,4ppm	-	-	-	-	[87]
E		Et	Inativo*	-	-	-	-		
Santalaceae	<i>Santalum album</i>	OE	-	CL ₅₀ : 10ppm	-	-	guaiol, elemol e eudesmol	-	[43]
Sapindaceae	<i>Cupania vernalis</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	
	<i>Matayba guianensis</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	
	<i>Serjania lethalis</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	
E		Et	Inativo*	-	-	-	-		
Sapotaceae	<i>Manilkara huberi</i>	E	AE	Inativo*	-	-	-	-	[10 6]

		E	M	Inativo*	-	-	-	-	[106]
		E	EP	Inativo*	-	-	-	-	[106]
		E	A	Inativo*	-	-	-	-	[106]
	<i>Pouteria gardneri</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	[87]
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	
	<i>Pouteria ramiflora</i>	E	H	Inativo*	-	-	-	-	
		E	Et	Inativo*	-	-	-	-	
	<i>Pouteria torta</i>	E	Et	Inativo*	-	-	-	-	
Thymelaeaceae	<i>Aquilaria malaccensis</i>	OE	-	CL ₅₀ : 20,19ppm	-	-	-	-	
Vochysiaceae	<i>Erisma uncinatum</i>	E	MS	Inativo†	-	-	-	-	[95]

¹ E: Extrato; Ea: Extrato do alburno; Ec: Extrato do cerne; OE: Óleo essencial; OEa: Óleo essencial do alburno; OEc: Óleo essencial do cerne.

² A: Água; Ac: Acetona; AE: Acetato de etila; Et: Etanol; D: diclorometano; M: Metanol; H: N-hexano; EP: Éter de petróleo; CH: Ciclohexano; B: Butanol; C: clorofórmio; NI: Não informado; GRL: Gás Refrigerante Liquefeito; MS: Mistura de solventes (n-hexano: acetato de etila: etanol: diclorometano (4:4:1:1 v/v)).

³ CL₅₀: Concentração letal para 50% das larvas; CL₁₀₀: Concentração letal para 100% das larvas.

* resultado <65% de mortalidade para 500ppm em 24 horas

** considerado ativo a parti de 10% de mortalidade para 125ppm

† resultado < 80% de mortalidade para 250ppm em 24 horas

□ resultado <50% de mortalidade para 100ppm em 48 horas

◇ testes realizados para 500ppm e critério de classificação não informado pelo autor

‡ inativos em concentrações de 10 a 500ppm

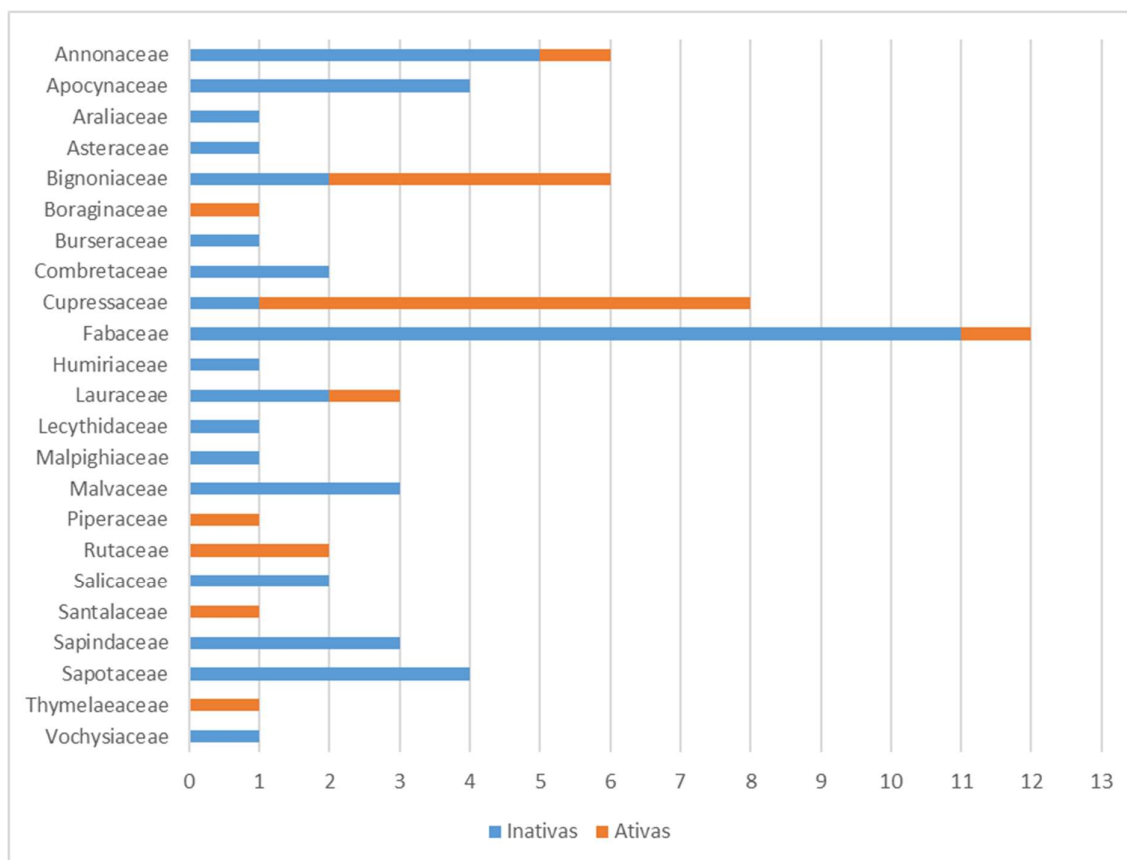


Figura 28: Número de espécies vegetais estudadas por família botânica.

Foi possível observar que não houve homogeneidade no critério adotado pelos autores quanto à classificação da atividade larvicida do material estudado. Alguns autores consideraram ativas as amostras com $CL_{50} < 1000 \text{ ppm}$ após 24h [61]. Outros autores adotaram critérios mais restritivos e classificaram como ativas somente as que após 24h apresentaram $CL_{50} < 100 \text{ ppm}$ [43]. E ainda, alguns autores não apresentaram os resultados de CL_{50} , no entanto, classificaram as amostras de acordo com a porcentagem de mortes das larvas para uma concentração específica e um tempo determinado. Mesmo nesses casos os critérios foram diferentes. Alguns autores consideraram ativas as amostras que a 500ppm de concentração causaram 65% de mortalidade das larvas em 24h [87]. Outros autores só consideraram ativas as que obtiveram no mínimo 80% de mortalidade em 24h a 250ppm de concentração [95]. Em um dos trabalhos as amostras foram identificadas como ativas quando a 100ppm causaram a morte de mais de 50% das larvas em 48h [106]. E ainda, um dos

autores testou as amostras a 500ppm e outro testou de 10 a 500ppm, sendo que ambos as classificaram como ativas ou inativas, porém, não informaram o critério para classificação [104, 107].

Como forma de padronizar os resultados compilados neste artigo de revisão foi adotado o critério mais restritivo para classificação da amostra como ativa ($CL_{50} \geq 100\text{ppm}$ em 24h). Assim, somando-se as amostras ativas por esse critério àquelas classificadas como ativas pelos autores que avaliaram somente a percentagem de mortes das larvas, têm-se dezessete espécies com material bruto ativo (seis extratos, nove óleos essenciais e duas com ambos). Outras três espécies apresentaram frações ou substâncias isoladas ativas, apesar do material bruto não ter sido testado ou ter sido considerado inativo pelo autor. Assim, têm-se um total de vinte espécies que apresentaram atividade larvicida, o que representa cerca de 30% do total das espécies estudadas.

As espécies que apresentaram os materiais brutos mais ativos foram a *Callitris glaucophylla* cujo óleo essencial apresentou CL_{50} igual a 0,69ppm, seguida da *Amyris balsamifera* e *Juniperus virginiana*, ambas apresentando óleos essenciais com CL_{50} iguais a 1ppm. Em relação aos extratos, a espécie *Sextonia rubra* apresentou a maior atividade com CL_{50} igual a 3,17ppm. Além dessas, outras três espécies apresentaram óleo essencial ou extrato com resultados de CL_{50} abaixo de 10ppm (*Auxemma glazioviana*, *Piper ribesoides* e *Santalum album*).

Os estudos permitiram a identificação de vinte e três moléculas potencialmente ativas, além de uma mistura (Medicarpina:maackiain (7:3)), conforme é mostrado na Tabela 2. Destas, doze foram obtidas a partir de materiais brutos ativos, quatro foram isoladas de frações ativas e cinco moléculas mais a mistura (Medicarpina:maackiain (7:3)) foram isoladas de materiais brutos inativos. Outras duas moléculas foram obtidas de materiais brutos não testados. As estruturas químicas são mostradas na Figura 29.

Tabela 2: Moléculas potencialmente ativas presentes nos metabólitos secundários.

CLASSE	MOLÉCULA	RESULTADO	OBTENÇÃO
Aromáticos	2,6-di-terc-butilnaftaleno	NI	EB inativo (CL ₅₀ : 161,7ppm)
Quinonas	lapachol	CL ₅₀ : 26,3ppm	EB não testado
		NI	EB ativo (CL ₅₀ : 86,1ppm)
	desidro- α -lapachona	CL ₅₀ : 43,38ppm	EB ativo (CL ₅₀ : 96,03ppm)
	tectoquinona	CL ₅₀ : 3,3ppm	EB ativo (CL ₅₀ : 11,5ppm)
	mansonona C	CL ₁₀₀ : 6,25ppm	EB inativo
Flavonoides	medicarpina:maackiain (7:3)	CL ₅₀ : 17,5ppm	EB inativo (CL ₅₀ >200ppm)
	medicarpina	CL ₅₀ : 102,5ppm	EB inativo (CL ₅₀ :289ppm)
	formononetina	CL ₅₀ : 152,6ppm	EB inativo (CL ₅₀ : 289ppm)
	violanona	CL ₅₀ : 224,6ppm	EB inativo (CL ₅₀ : 289ppm)
Terpenoides	α -bisabolol	NI	OE ativo (CL ₅₀ : 2,89ppm)
	α -cadinol	NI	OE ativo (CL ₅₀ : 2,89ppm)
	ácido citronélico	NI	OE ativo (CL ₅₀ : 0,69ppm)
	guaiol	NI	OE ativo (CL ₅₀ : 0,69ppm)
		NI	EB ativo (CL ₅₀ : 11,5ppm)
	mirtenol	NI	OE ativo (CL ₅₀ : 38,6ppm)
	ferruginol	CL ₅₀ >100ppm	FR ativa (CL ₅₀ : 2,4ppm)
		CL ₅₀ : 64,1ppm	FR ativa (CL ₅₀ : 36,1ppm)
	epi-cubebol	CL ₅₀ : 100ppm	FR ativa (CL ₅₀ : 36,1ppm)
	cubebol	CL ₅₀ : 68,6ppm	FR ativa (CL ₅₀ : 36,1ppm)
	isopimarol	CL ₅₀ >100ppm	FR ativa (CL ₅₀ : 36,1ppm)
	cedrol	CL ₅₀ >100ppm	OE ativo (CL ₅₀ : 85,7ppm)
	α -pineno	CL ₅₀ >100ppm	OE ativo (CL ₅₀ : 85,7ppm)
	desacetilSPATHELINA	CL ₅₀ : 69,9ppm	EB não testado
glabretal	CL ₅₀ : 4,8ppm	EB não testado	
elemol	NI	EB ativo (CL ₅₀ : 10ppm)	
eudesmol	NI	EB ativo (CL ₅₀ : 10ppm)	

NI: Não informado na publicação. EB: Extrato bruto. OE: Óleo essencial. FR: Fração.

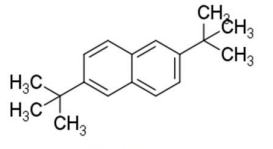
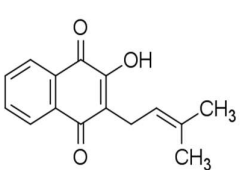
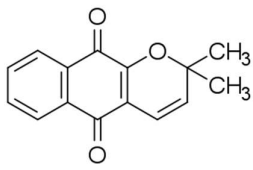
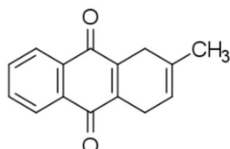
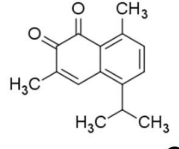
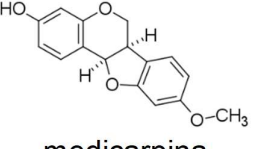
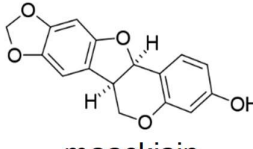
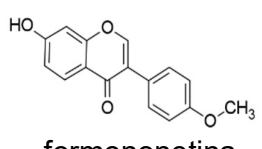
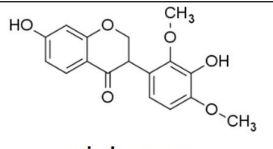
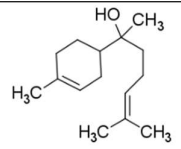
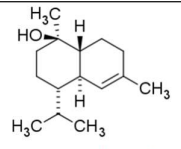
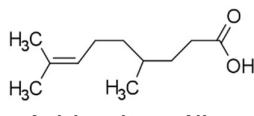
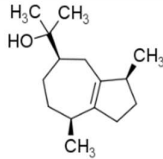
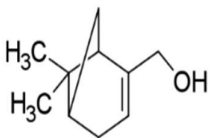
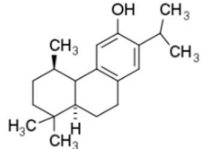
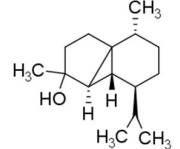
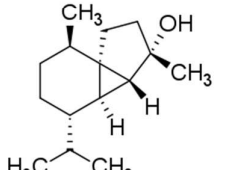
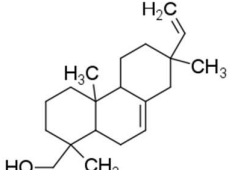
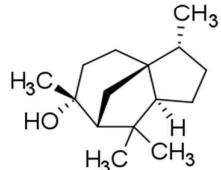
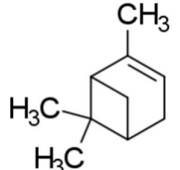
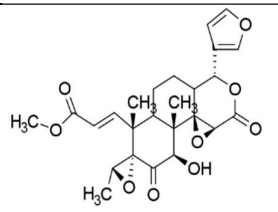
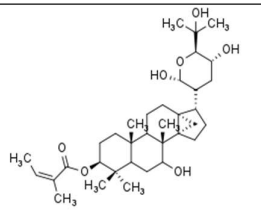
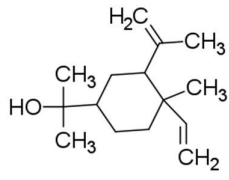
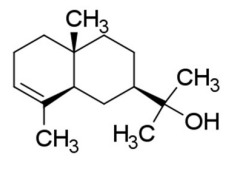
 <p>2,6-di-tert-butilnaftaleno</p>	 <p>lapachol</p>	 <p>desidro-α-lapachona</p>	 <p>tectoquinona</p>
 <p>mansonona C</p>	 <p>medicarpina</p>	 <p>maackiain</p>	 <p>formononetina</p>
 <p>violanona</p>	 <p>α-bisabolol</p>	 <p>α-cadinol</p>	 <p>ácido citronílico</p>
 <p>guaiol</p>	 <p>mirtenol</p>	 <p>ferruginol</p>	 <p>epi-cubebol</p>
 <p>cubebol</p>	 <p>isopimarol</p>	 <p>cedrol</p>	 <p>α-pineno</p>
 <p>desacetilSPATHELINA</p>	 <p>glabretal</p>	 <p>elemol</p>	 <p>eudesmol</p>

Figura 29: Estruturas químicas das moléculas isoladas dos metabólitos secundários.

As moléculas potencialmente ativas pertencem as seguintes classes de substâncias: quinonas, aromáticos, flavonoides e terpenoides, sendo essa última a mais representativa com 62% do total, conforme é mostrado na Figura 30.

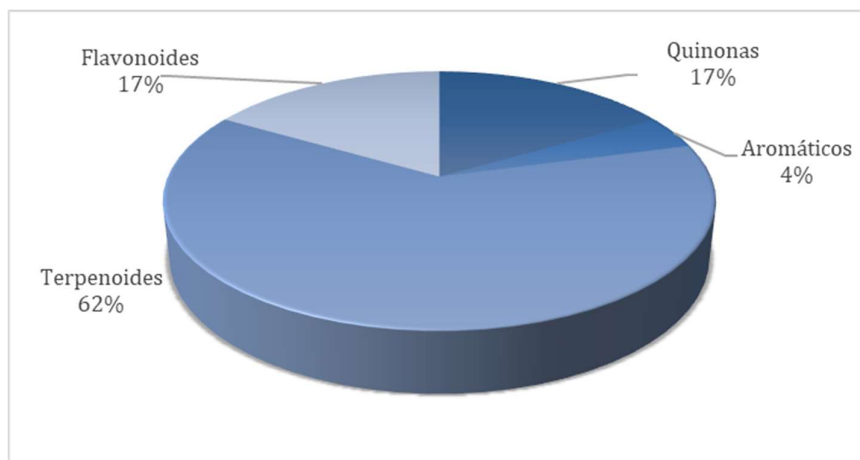


Figura 30: Classes das moléculas potencialmente ativas contra larvas de *Aedes aegypti*.

A principal característica das quinonas é a presença de dois grupos carbonílicos que formam um sistema conjugado cíclico com pelo menos duas ligações duplas entre átomos de carbono [42, 111]. Dentre as propriedades observadas das quinonas destacam-se as atividades laxante, farmacológica e biológica [42]. Nos trabalhos publicados foram relatadas três quinonas com ação larvicida: a tectoquinona, o lapachol, a desidro- α -lapachona e a mansonona C. A tectoquinona apresentou a maior ação larvicida dentre todas as moléculas testadas, com CL_{50} igual a 3,3ppm.

Os flavonoides apresentam uma estrutura química difenilpropano que consiste de dois anéis aromáticos unidos por um anel heterocíclico oxigenado [40, 112, 113]. Os flavonoides costumam ser alvo de grande interesse econômico, uma vez que alguns representantes dessa classe apresentam propriedades biológicas como antitumorais, anti-inflamatórias, antioxidantes e antivirais, além de outros que são corados e por isso utilizados como pigmentos [42, 113, 114]. Dentre os trabalhos

consultados, a mistura entre os flavonoides medicarpina:maackiain (7:3) apresentou o melhor resultado em termos de atividade larvicida, com CL₅₀ igual a 17,5ppm.

Os terpenoides pertencem a classe mais variada de produtos vegetais naturais e são formados através da fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos [40], [115], [116]. Os compostos terpenoides de baixo peso molecular costumam ser substâncias voláteis e por isso podem ser usados em sabores e em perfumes [41]. A função desses compostos nas plantas pode ser tanto para atrair polinizadores quanto para repelir insetos, como no caso dos piretroides [41, 117]. Alguns terpenoides de maior peso molecular, como os esteroides, possuem a função inseticida e também são precursores das saponinas, que atuam como compostos antimicrobianos contra fungos e bactérias [40]. Além desses, há também alguns terpenoides como os carotenoides que são antioxidantes e ainda conferem coloração às plantas [41]. Diante dessas informações, nota-se que os terpenoides possuem um grande potencial de atividade biológica. Dentre os terpenoides identificados na Tabela 2, o glabretal se destaca devido à sua alta atividade larvicida, cujo resultado foi de CL₅₀ igual a 4,8ppm.

O único representante da classe de aromáticos, o 2,6-di-terc-butilnaftaleno, não foi testado isoladamente contra as larvas do mosquito.

Em relação à efetividade da ação larvicida dos extratos, óleos essenciais e moléculas isoladas testadas nos estudos, pode-se dizer que os resultados apresentados por algum desses compostos são similares à inseticidas sintéticos como o temefós. Esse organofosforado é o único larvicida recomendado pela Organização Mundial de Saúde para uso em água potável [57]. Dados encontrados da literatura mostram resultados de CL₅₀ do temefós variando entre 2,3ppm e 9,4ppm e informam que esse larvicida é um dos mais utilizado para controle do *Aedes Aegypti* no Brasil [23, 45, 58, 61, 62].

Dentre todas as espécies estudadas, sete (*C. glaucophylla*, *A. balsamifera*, *J. virginiana*, *S. rubra*, *A. glazioviana*, *P. ribesoides* e *S. álbum*) obtiveram material bruto com atividade similar ao temefós, apresentando CL₅₀ < 10ppm. Nesse caso, cabe destacar que se trata de resultados obtidos para os materiais brutos (extratos e óleos essenciais), ou seja, sem qualquer fracionamento ou isolamento.

Em relação às moléculas, apesar de apenas quinze terem sido testadas isoladamente, destaca-se a efetividade do terpenoide glabretal que apresentou CL₅₀ igual a 4,8ppm e da quinona tectoquinona cujo CL₅₀ foi de 3,3ppm. Tanto o glabretal quanto a tectoquinona apresentaram boa efetividade quando comparadas ao temefós.

Quanto ao modo de ação dos larvicidas naturais não foram encontrados nos estudos a descrição dos mecanismos. Porém, presume-se que a atividade larvicida de algumas moléculas naturais como o lapachol deve estar relacionado à geração de espécies reativas de oxigênio que podem danificar o DNA e posteriormente induzem à morte da larva [86]. Esse mecanismo de ação se diferencia dos empregados pelos inseticidas convencionalmente usados. Essa característica pode conferir mais uma vantagem para o uso de alguns inseticidas naturais, uma vez que contribui para o enfrentamento da resistência nos insetos.

Em relação à toxicidade a organismos não alvos, ainda que considerados menos tóxicos que os sintéticos, os larvicidas naturais também podem apresentar certa toxicidade aguda aos organismos não alvos, como no caso das saponinas e de alguns subprodutos do processo de extração de óleos essenciais como os hidrolatos [118–120]. E ainda, tais compostos podem interferir a longo prazo na fisiologia e no comportamento desses organismos [121]. Assim, o desenvolvimento de produtos de origem natural também deve demandar estudos detalhados sobre sua ação no ecossistema a curto, médio e longo prazo.

As informações contidas na Tabela 1 também permitem inferir algumas observações a respeito de similaridades e divergências entre os resultados obtidos.

A primeira observação está relacionada com a questão da complexidade intrínseca ao processo de obtenção do material vegetal a ser analisado. Por exemplo, o extrato bruto etanólico da espécie *Cybistax antisiphilitica* não apresentou atividade larvicida enquanto que o extrato bruto hexânico apresentou CL₅₀ igual a 27,6ppm. Esses resultados enfatizam a influência do solvente escolhido no perfil do material obtido após o processo extrativo.

Também merece destaque a diferença entre os resultados encontrados para os extratos brutos metanólicos do cerne e do alburno da espécie *Cryptomeria*

japonica. Enquanto que o extrato do primeiro material foi considerado inativo com CL₅₀ maior que 400ppm, o do segundo apresentou alta atividade com CL₅₀ igual a 11ppm. Esses resultados mostram que os perfis dos compostos presentes no cerne podem ser bem diferentes daqueles existentes no alburno de uma mesma árvore.

Outra observação digna de nota se refere à interação existente entre as moléculas presentes no material vegetal, que pode ser sinérgica e otimizar a atividade biológica ou antagônica e diminuir a ação do complexo em comparação às substâncias isoladas [122]. Como exemplo podemos citar a ação antimalária da espécie *Artemisia annua*. Os efeitos sinérgicos e antagonistas dos diversos compostos presentes no extrato dessa planta como a artemisina, principal substância ativa, tem sido alvo de diversas pesquisas. Apesar das causas desses efeitos ainda serem desconhecidas, presume-se que estão relacionadas com a ação anti-oxidante ou pro-oxidante das moléculas [122].

Esse fenômeno pode ser uma possível explicação para os resultados apresentados para a *Cunninghamia konishii*. O óleo essencial da madeira dessa espécie apresentou CL₅₀ igual a 85,7ppm, porém, os componentes majoritários cedrol e α -pineno quando testados isoladamente se mostraram menos eficazes contra as larvas, uma vez que ambos apresentaram CL₅₀ maiores que 100ppm.

Caso parecido pode ser observado para a espécie *Cryptomeria japonica*, cujo extrato bruto etanólico do cerne apresentou CL₅₀ igual a 63,2ppm. Esse extrato foi fracionado e a fração hexânica intensificou a atividade pois obteve CL₅₀ igual a 36,1ppm. Entretanto, a separação dos compostos dessa fração ocasionou uma diminuição na efetividade da atividade pois as moléculas isoladas: ferruginol, epicubebol, cubebol e isopimarol apresentaram CL₅₀ de 64,1ppm, 100ppm, 68,6ppm e maior que 100ppm, respectivamente.

IV. Considerações sobre o Capítulo 1

O avanço da tecnologia em termos de análises químicas proporcionou a implementação de técnicas de isolamento, identificação e elucidação de moléculas bioativas presentes na madeira com grande valor comercial. Algumas dessas moléculas apresentam propriedades larvicidas que apontam essa matéria prima natural como fonte potencial de novos produtos para esse fim.

Apesar dos pesticidas sintéticos serem considerados mais efetivos que os naturais, alguns compostos presentes na madeira (tanto do material bruto quanto das substâncias isoladas) foram similares e até mais efetivos que um dos larvicidas sintéticos mais utilizados, o temefós.

A utilização de larvicidas provenientes de matérias primas naturais como a madeira pode apresentar diversas vantagens em comparação aos sintéticos, tais como: ser obtido a partir de um recurso renovável, apresentar maior biodegradabilidade e menor toxicidade aos organismos não alvos.

No caso do *Aedes aegypti* há ainda a questão da resistência desenvolvida pelo mosquito devido ao uso contínuo e em larga escala dos larvicidas sintéticos. Diante desse problema, se torna ainda mais importante a busca por novos princípios ativos de origem natural que apresentem mecanismos de ação diferentes dos sintéticos e que possam com isso favorecer a diminuição dessa resistência.

CAPÍTULO 2

Avaliação da atividade larvívora de seis espécies madeireiras da Floresta Nacional de Jacundá

I. Introdução

O Sistema de Concessão Florestal, que é detalhado no item 3.6 desta Tese, permite a exploração de espécies vegetais presentes em Florestas Nacionais (FLONAs) como a Floresta Nacional de Jacundá. No âmbito deste Sistema, dentre as espécies já exploradas nesta FLONA estão: *Peltogyne lecointei*, *Martiodendron elatum* e *Dipteryx odorata* (Fabaceae), *Erisma uncinatum* (Vochysiaceae), *Allantoma decandra* (Lecythidaceae) e *Handroanthus incanus* (Bignoniaceae).

As madeiras dessas espécies, cujas características são descritas com maiores detalhes no item 3.7 desta Tese, são utilizadas para diversos fins, tais como: construção civil, fabricação de móveis e de utensílios domésticos. Os compostos presentes na madeira de algumas delas apresentaram atividades biológicas relevantes, como nos casos da *Dipteryx odorata* e da *Erisma uncinatum*, cujos extratos apresentaram, respectivamente, ação antifúngica e antitérmitas. Entretanto, nem todas foram estudadas quimicamente nem biologicamente, como nos casos das espécies *Allantoma decandra* e *Martiodendron elatum*.

A investigação da composição química e da atividade biológica dos compostos presentes na madeira dessas espécies já exploradas pode representar uma importante estratégia para adoção de práticas mais sustentáveis do setor florestal. Isso porque a identificação de novos usos comerciais permite às empresas um melhor aproveitamento da matéria prima, maior flexibilidade quanto à comercialização de seus produtos e ainda, a possibilidade de reaproveitamento dos resíduos gerados pelo processo de beneficiamento da madeira.

Neste contexto, o intuito deste Capítulo é estudar a composição química e a atividade biológica relacionada à ação larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti* dos compostos presentes nas madeiras de espécies já exploradas presentes na Floresta Nacional de Jacundá.

II. Materiais e métodos

II.1. Coleta e identificação do material vegetal

As amostras foram coletadas no mês de junho do ano de 2017 na Floresta Nacional do Jacundá situada ao norte do Estado de Rondônia, a cerca de 100 km da cidade de Porto Velho. A coleta foi realizada sob o respaldo da Autorização para Atividades com Finalidade Científica n° 60658-3 emitida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).

Para este trabalho foram estudadas as espécies que na ocasião da amostragem estavam sendo abatidas durante a exploração da Unidade de Produção Anual (UPA) 4 da Unidade de Manejo Florestal (UMF) - I de Jacundá, conforme Plano de Manejo da Área de Concessão Florestal.

Após a derrubada das árvores selecionadas para estudo (três a cinco árvores de cada espécie) os troncos foram arrastados para os pátios de floresta, seccionados em toras, identificados e transportados até o pátio da serraria. Em seguida, as toras foram cortadas em discos e encaminhadas ao Laboratório de Produtos Florestais (LPF) do Serviço Florestal Brasileiro (SFB).

A identificação das espécies foi feita pelos botânicos taxonomistas Carlos Alberto da Silva e Luiz Carlos Lobato, ambos do Museu Paraense Emílio Goeldi. As exsiccatas foram arquivadas na Coleção Científica da Área de Anatomia e Morfologia da Madeira do LPF. Os números dos registros são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Espécies madeireiras avaliadas neste trabalho.

ESPÉCIE	FAMÍLIA	REGISTRO DA EXSICATA
<i>Peltogyne lecointei</i>		1610
<i>Martiodendron elatum</i>	Fabaceae	1601
<i>Dipteryx odorata</i>		1590
<i>Erisma uncinatum</i>	Vochysiaceae	1603
<i>Allantoma decandra</i>	Lecythidaceae	1575
<i>Handroanthus incanus</i>	Bignoniaceae	1597

II.2. Preparo das amostras

O preparo das amostras foi feito no LPF com base na norma TAPPI 257 cm-12 publicada pela Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI). A TAPPI é um órgão não governamental fundado em 1915 nos Estados Unidos e que publica artigos, normas e livros relacionados à indústria de papel e celulose.

De cada disco obtido foi retirada uma cunha de aproximadamente um quarto do seu diâmetro. As cunhas foram aplainadas sucessivamente e o material obtido foi moído em um moinho de facas do tipo Wiley. De forma a evitar a contaminação da amostra, o moinho foi limpo com ar comprimido ao término de cada moagem. Além disso, cerca de 50g iniciais do material moído de todas as amostras foram descartados.

Após, o material foi peneirado em um agitador de peneiras da marca Bertel, utilizando-se duas peneiras de 40 e 60 mesh. Para a padronização do tamanho das partículas foi utilizado o material passante na peneira de 40 mesh e retido na peneira de 60 mesh, após 20 minutos de agitação. As etapas são mostradas na Figura 31.

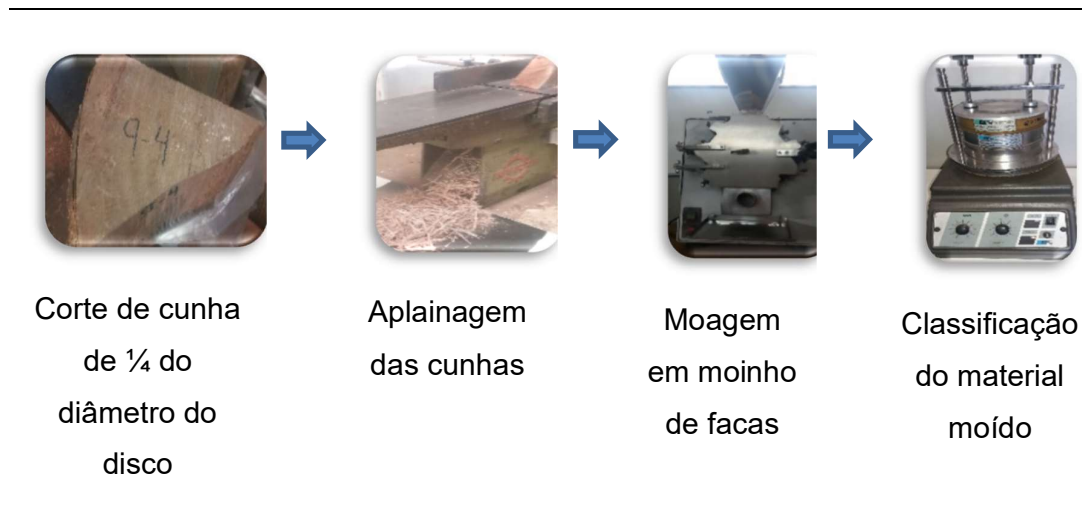


Figura 31: Etapas para o preparo das amostras.

II.3. Extrações

Para a obtenção dos extratos brutos as amostras das madeiras moídas e já classificadas foram colocadas em erlenmeyers, coberta com o solvente extrator e submetidas a um banho ultrassônico por 60 minutos na frequência de 40 kHz. As misturas obtidas foram filtradas com papel filtro e reservadas. Esse processo de adição de solvente, sonificação e filtragem foi realizado três vezes para cada amostra. Os três filtrados obtidos de cada amostra foram reunidos e rotaevaporados a aproximadamente 35°C e 0,8Bar. Para finalizar o processo de secagem, os extratos foram deixados em estufa à vácuo por aproximadamente 12h, à pressão de 0,8Bar e temperatura de 40°C. O registro fotográfico dessas etapas é mostrado na Figura 32.

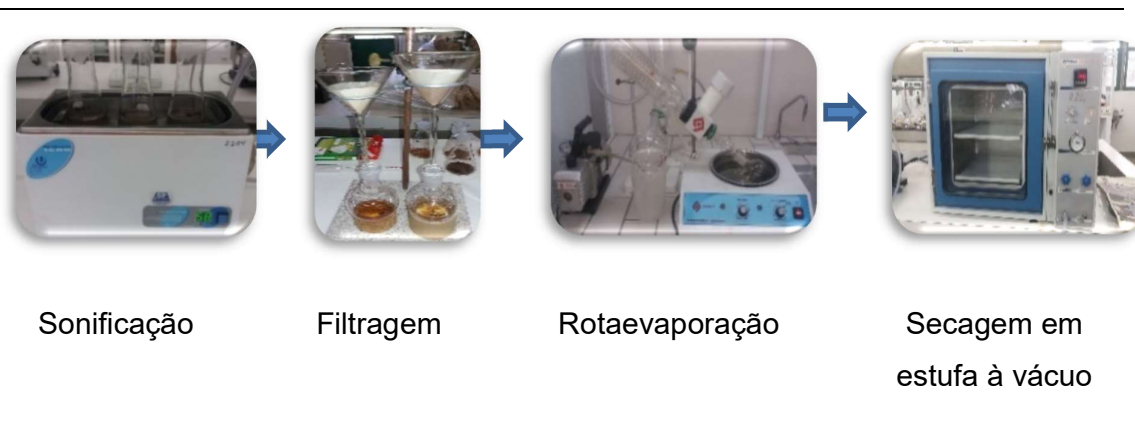


Figura 32: Etapas para obtenção de extratos brutos.

Neste trabalho foram realizadas extrações em três momentos distintos. Para a realização dos testes preliminares das seis espécies madeireiras estudadas foram utilizados 50g da madeira de cada espécie. Foram realizadas duas extrações, a primeira utilizando n-hexano 100% e a segunda com acetato de etila 100%. Num segundo momento, para o fracionamento pela técnica de Partição Líquido-Líquido, foi realizada uma nova extração somente da espécie ativa, utilizando-se 600g de madeira e a mistura de solventes: n-hexano/acetato de etila/ etanol/ diclorometano (4:4:1:1). Contudo, como as massas obtidas das frações de interesse poderiam não ser suficientes para o isolamento das moléculas ativas, optou-se por uma terceira extração dobrando-se a quantidade de madeira da espécie ativa. Assim, a terceira extração foi realizada utilizando-se 1200g de madeira moída e a mesma mistura de solventes da segunda extração.

II.4. Partição Líquido-Líquido

O fracionamento por Partição Líquido-Líquido (PLL) foi feito utilizando-se um funil de separação de 1L. Inicialmente o extrato seco foi diluído em 300mL da solução metanol:água (9:1) e então foi particionado com os seguintes solventes: n-hexano, diclorometano e acetato de etila. As quatro frações obtidas foram coletadas em erlenmeyers de 500mL e identificadas como PLL1 (hexânica), PLL2

(diclorometânica), PLL3 (acetato de etila) e PLL4 (hidrometanólica) (Figura 33). O conteúdo de cada erlenmeyer foi rotaevaporado a aproximadamente 35°C e 0,8Bar e em seguida transferido para um pequeno frasco de vidro. Para finalização da secagem as frações PLL1 e PLL3 foram deixadas por 16h em estufa à vácuo a 40°C e 0,8Bar enquanto que as frações PLL2 e PLL4, por apresentarem um aspecto mais seco foram diretamente liofilizadas.

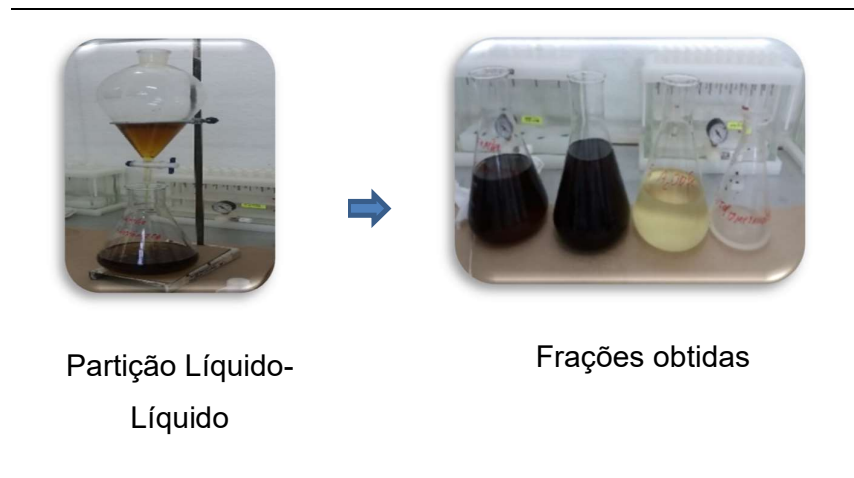


Figura 33: Fracionamento por Partição Líquido-Líquido.

II.5. Extração em Fase Sólida

A Extração em Fase Sólida (EFS) foi realizada utilizando-se cartuchos com sorvente de diol e seis sistemas eluentes: hexano, hexano:diclorometano (9:1), diclorometano:acetato de etila (20:1), acetato de etila, acetato de etila:metanol (5:1) e metanol. As frações recolhidas foram identificadas como EFS1, EFS2, EFS3, EFS4, EFS5 e EFS6, em seguida foram levadas ao concentrador à vácuo para secagem, conforme mostra a Figura 34.



Extração em Fase Sólida



Concentrador à vácuo

Figura 34: Fracionamento por Extração em Fase Sólida (EFS).

II.6. Isolamento e purificação

O extrato bruto da espécie ativa (*Handroanthus incanus*) obtido na terceira extração (que utilizou 1200g de amostra de madeira e a mistura de solventes n-hexano/acetato de etila/ etanol/ diclorometano (4:4:1:1)) foi submetido à Cromatografia de Coluna Aberta utilizando-se sílica gel 60 (0.063 – 0.200mm). Foram utilizados 12g de extrato bruto e cerca de 120g de sílica empacotada com n-hexano. A estabilização da coluna foi feita através da passagem de n-hexano por 30 minutos. Foram utilizados como eluentes: n-hexano, n-hexano: acetato de etila (95%), n-hexano: acetato de etila (90%), n-hexano: acetato de etila (80%), n-hexano:acetato de etila (70%), n-hexano: acetato de etila (50%), acetato de etila, acetato de etila: metanol (80%) e acetato de etila:metanol (50%). Conforme a eluição progredia, a solução era recolhida em erlenmeyers de 300mL, imediatamente rotaevaporada e transferida para pequenos frascos de vidro, conforme mostrado na Figura 35. Neste processo foram obtidas 122 frações, identificadas como FR1 a FR122.

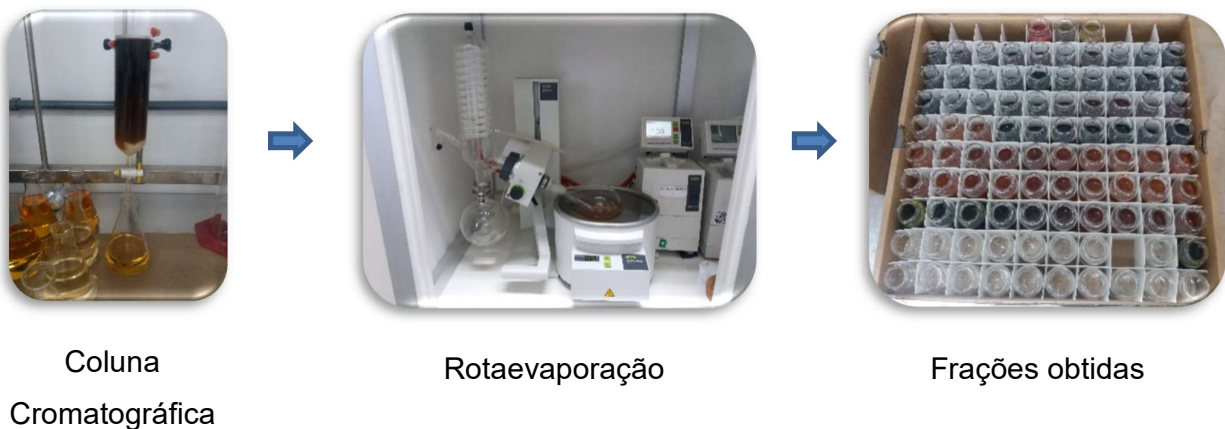


Figura 35: Cromatografia de Coluna Aberta, rotaevaporação e frações obtidas.

A análise do perfil químico das frações FR1 a FR122 obtidas por Cromatografia de Coluna Aberta foi feita por Cromatografia de Camada Delgada utilizando-se placas cromatográficas de sílica. Após eluição em n-hexano, as placas cromatográficas foram reveladas por dois métodos: irradiação de luz ultravioleta a 254nm e imersão da placa em solução de ácido fosfomolibdico seguida de aquecimento com soprador térmico. As frações cujas placas demonstraram similaridade quando reveladas foram agrupadas. O registro fotográfico das placas cromatográficas é mostrado nos Apêndices 1, 2 e 3.

Para o isolamento das moléculas ativas, a fração FR20 foi submetida a um novo processo de Cromatografia de Coluna Aberta com sílica gel 60 (0.063 – 0.200mm). Para tanto, utilizou-se cerca de 400mg da fração e 15g de sílica empacotada com n-hexano. A estabilização da coluna foi feita através da passagem de n-hexano por 30 minutos. Foram utilizados como eluentes: n-hexano: diclorometano (85%), n-hexano: diclorometano (50%) e acetato de etila (100%). Conforme a eluição progredia, a solução era recolhida em erlenmeyers de 300mL, imediatamente rotaevaporada e transferida para pequenos frascos de vidro. Neste processo foram obtidas 23 subfrações, identificadas como FR20-1 a FR20-23. Todas as subfrações foram analisadas por Cromatografia de Camada Delgada, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente.

II.7. Ensaio larvicida

Para a avaliação da atividade larvicida foram utilizadas larvas da linhagem Rockefeller da colônia mantida no Insetário do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Ciências de Saúde a Universidade de Brasília.

Durante os ensaios a temperatura da sala foi mantida a $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Os ensaios foram realizados conforme Procedimento Operacional do Laboratório de Farmacognosia. Utilizando-se placas de 12 poços, com cada poço contendo 10 larvas no estágio 3 de crescimento, 3mL de água e o extrato bruto a 250ppm. Os ensaios iniciais dos extratos brutos e das frações obtidas por Partição Líquido-Líquido foram feitos em triplicata, enquanto que para as frações obtidas por Extração em Fase Sólida, por Cromatografia de Coluna Aberta e para o cálculo do CL_{50} as amostras foram testadas em quadruplicata. Para se obter uma maior robustez nos resultados, para o cálculo do CL_{50} os ensaios foram repetidos de 2 a 3 vezes, em diferentes dias, utilizando-se lotes diferentes de larvas da mesma colônia, e em diferentes concentrações (de 10 a 200 ppm). Após 24h e 48h de exposição todos os poços foram inspecionados, o número de larvas mortas registradas e a porcentagem de mortalidade determinada. As larvas que não apresentavam movimento, mesmo após leve agitação da placa, foram consideradas mortas. As amostras que causaram $\geq 80\%$ de mortalidade foram consideradas ativas. O controle negativo consistiu na exposição de 10 larvas somente à água. As curvas de dose-resposta e o cálculo da CL_{50} com 95% de confiabilidade foram realizados utilizando-se o Programa GraphPad Prisma 7.05. O registro fotográfico de parte dos ensaios é apresentado na Figura 36..

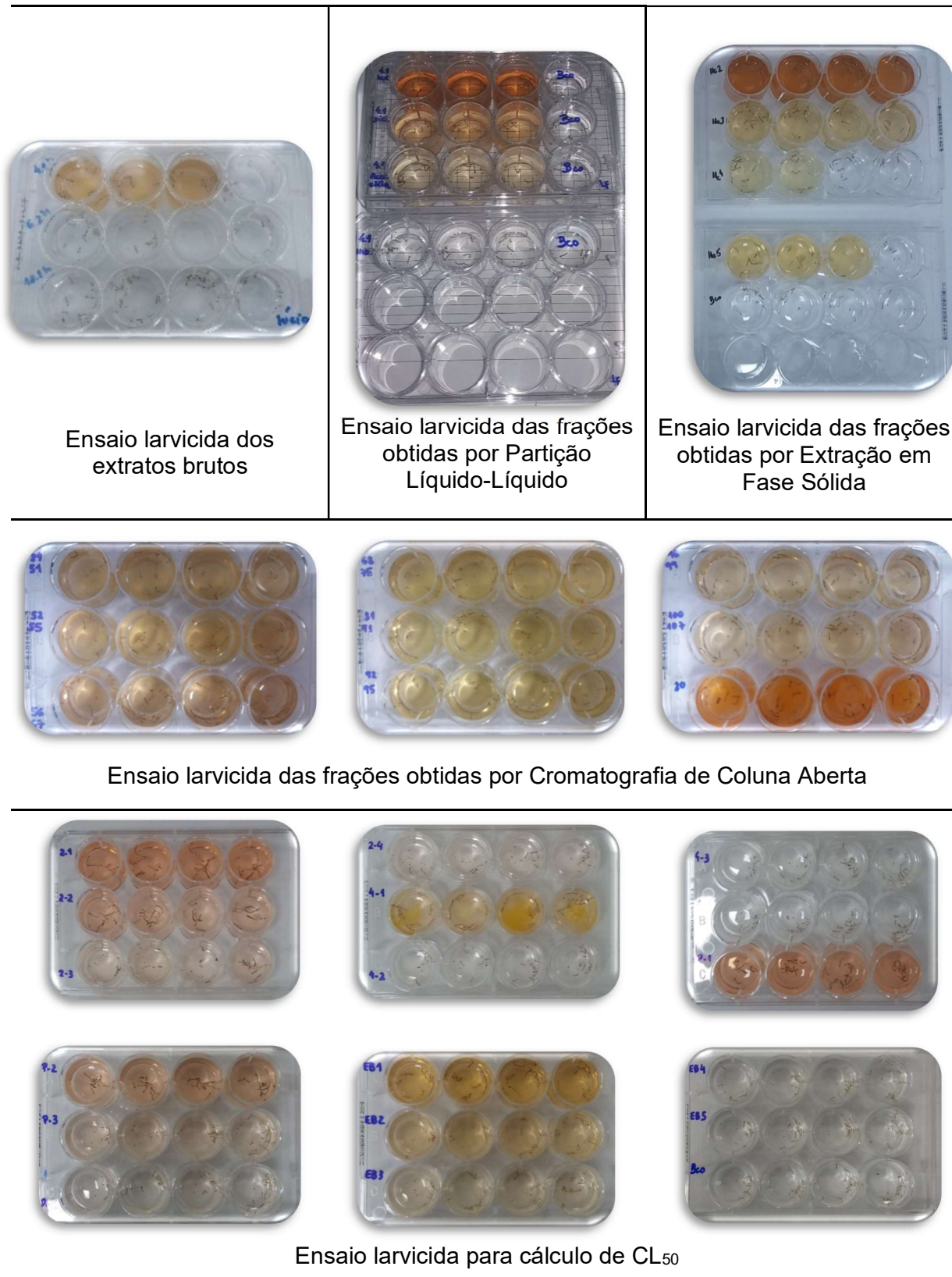


Figura 36: Ensaios larvicidas.

II.8. Cromatografia Gasosa

Para as análises de Cromatografia Gasosa, foi utilizado um Cromatógrafo Gasoso da marca Agilent, modelo 7890A, acoplado à Espectrômetro de Massas modelo 5975C, também da marca Agilent (Figura 37). Esse equipamento pertence ao Laboratório de Produtos Florestais do Serviço Florestal Brasileiro.

Utilizou-se coluna capilar de sílica fundida da marca Agilent J&W (HP-5MS), com 30m de comprimento, diâmetro de 0,25mm, espessura do filme de 0,25 μ m, e hélio como gás carreador. As condições de operação do cromatógrafo gasoso foram: pressão interna da coluna de 30kPa; razão de split de 20:1; fluxo de 0,7mL/min e temperatura no injetor de 270°C.



Figura 37: Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas.

A programação da coluna consistiu no seguinte método: temperatura inicial de 60°C por 1 minuto, aumento de 6°C/min até 240°C, seguida de aumento de 10°C/min até 260°C e manutenção dessa temperatura por 3 minutos.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 MS LIBRARY).

Para a realização das análises, as amostras foram pesadas em balança analítica (marca Bel, modelo UMark 210A), diluídas em 10mL de solvente (n-hexano para os extratos brutos hexânicos e metanol para as demais) e levadas ao vórtex por 15 minutos para a solubilização. Os extratos brutos em acetato de etila das espécies *Dipteryx odorata* e *Allantoma decandra* apresentaram pouca solubilidade no solvente utilizado e por isso foram sonificadas por 60 minutos. Ainda assim, o extrato bruto de *Allantoma decandra* permaneceu pouco solúvel e então foi centrifugado por 10 minutos a 1200 rpm e para a análise utilizou-se apenas o sobrenadante.

II.9. Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência

As análises por Cromatografia Líquida foram realizadas por sistema cromatográfico da marca Bruker, com bomba Elute HPG 1300, detector de arranjos de diodo (DAD) e espectrômetro de massas modelo Compact com fonte de ionização por Eletrospray (ESI) (Figura 38). Esse equipamento pertence ao Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Ciências de Saúde da Universidade de Brasília.

Foi utilizada coluna cromatográfica de 50mm x 2,1mm d.i., com 1,7 μ m de diâmetro de partícula precedida de um pré coluna de 5mm x 2,1mm d.i., com 1,7 μ m diâmetro de partícula. As separações cromatográficas foram realizadas em temperatura de 40°C. A fase móvel foi constituída por A (água) e B (acetonitrila). As condições de análise foram: volume de injeção de 2 μ L; eluição com fluxo de 0,5mL min⁻¹ com gradiente de solventes inicialmente de 95% de A (1 a 10min), 100% de B (10 a 14min) e 95% de A (14 a 16 min). Para a detecção por DAD foram realizadas varreduras de 200-700 nm para encontrar o comprimento de onda de absorção máxima de cada composto. As condições para o espectrômetro de massas foram: capilar de 4,5kV, gás secante ou nebulizador a 4,0Bar, 200°C e fluxo de 9,0L/min. As análises foram feitas no modo positivo.



Figura 38: Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Eficiência.

II.10. Ressonância Magnética Nuclear

As análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília. Para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C foi utilizado equipamento da marca Bruker, modelo Magneto Ascend 600 Console Avance III HD, operando a 600MHz (Figura 39).

Para a realização das análises foram pesadas cerca de 10mg de cada amostra em balança analítica (marca Mettler Toledo, modelo ME 204). Após, as amostras foram deixadas no dessecador sob vácuo até secagem completa e então diluídas em clorofórmio deuterado. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno.



Figura 39: Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear de 600MHz.

Fonte: <http://caiq.unb.br/equipamentos/487-espectrometro-de-ressonancia-magnetica-nuclear-de-600-mhz>

III. Resultados e discussão

Os ensaios larvicidas dos extratos brutos demonstraram uma alta atividade da espécie *Handroanthus incanus*, cujo extrato bruto hexânico apresentou mortalidade média de 100% após 24h. O extrato bruto em acetato de etila dessa espécie também ocasionou a morte das larvas em 24h, porém, em menor intensidade com média de 40% de mortes. Entretanto, após 48h a média de mortalidade aumentou para 65%. Os extratos brutos de *Peltogyne lecointei* não ocasionaram nenhuma morte após 24h, porém, o material hexânico surpreendeu ao ocasionar média de mortalidade de 55% em 48h. As espécies *Erisma uncinatum*, *Dipteryx odorata* e *Allantoma decandra* apresentaram média de mortes após 48h entre 5 e 6,7% para o extrato bruto hexânico. Ambos os extratos obtidos da espécie *Martiodendron elatum* não ocasionaram mortes das larvas. Esses resultados podem ser visualizados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados dos testes de atividade larvicida dos extratos brutos.

ESPÉCIE	SOLVENTE USADO NA EXTRAÇÃO	CONCENTRAÇÃO (ppm)	MÉDIA DE MORTES APÓS 24 HORAS (%)	MÉDIA DE MORTES APÓS 48 HORAS (%)
<i>Peltogyne lecointei</i>	Acetato de etila	250	0	0
	N-hexano	250	0	55
<i>Martiodendron elatum</i>	Acetato de etila	250	0	0
	N-hexano	250	0	0
<i>Dipteryx odorata</i>	Acetato de etila	250	0	0
	N-hexano	250	0	5
<i>Erisma uncinatum</i>	Acetato de etila	250	0	0
	N-hexano	250	0	5
<i>Allantoma decandra</i>	Acetato de etila	250	0	0
	N-hexano	250	0	6,7
<i>Handroanthus incanus</i>	Acetato de etila	250	40	65
	N-hexano	250	100	-

Com exceção do extrato da espécie *Handroanthus incanus*, nenhum outro extrato bruto em acetato de etila ocasionou mortes das larvas. Além disso, nota-se maior atividade do extrato bruto hexânico em relação ao obtido em acetato de etila para a espécie *Handroanthus incanus*. Esses resultados podem estar relacionados com o perfil de polaridade dos extratos obtidos. Isso porque a permeabilidade do tegumento das larvas, cuja camada mais externa é composta basicamente de lipídios, parece ser maior para compostos apolares. Essa proposição foi levantada em trabalho publicado em 2014, cuja autora sugere um papel significativo da lipofilicidade dos compostos na atividade larvicida contra *Aedes aegypti* [45].

Os extratos brutos de todas as espécies, tanto os obtidos com acetato de etila 100% quanto os com n-hexano 100%, foram analisados por Cromatografia Gasosa. Os perfis cromatográficos são mostrados nas Figuras 40 a 51 e os compostos majoritários são descritos na Tabela 5..

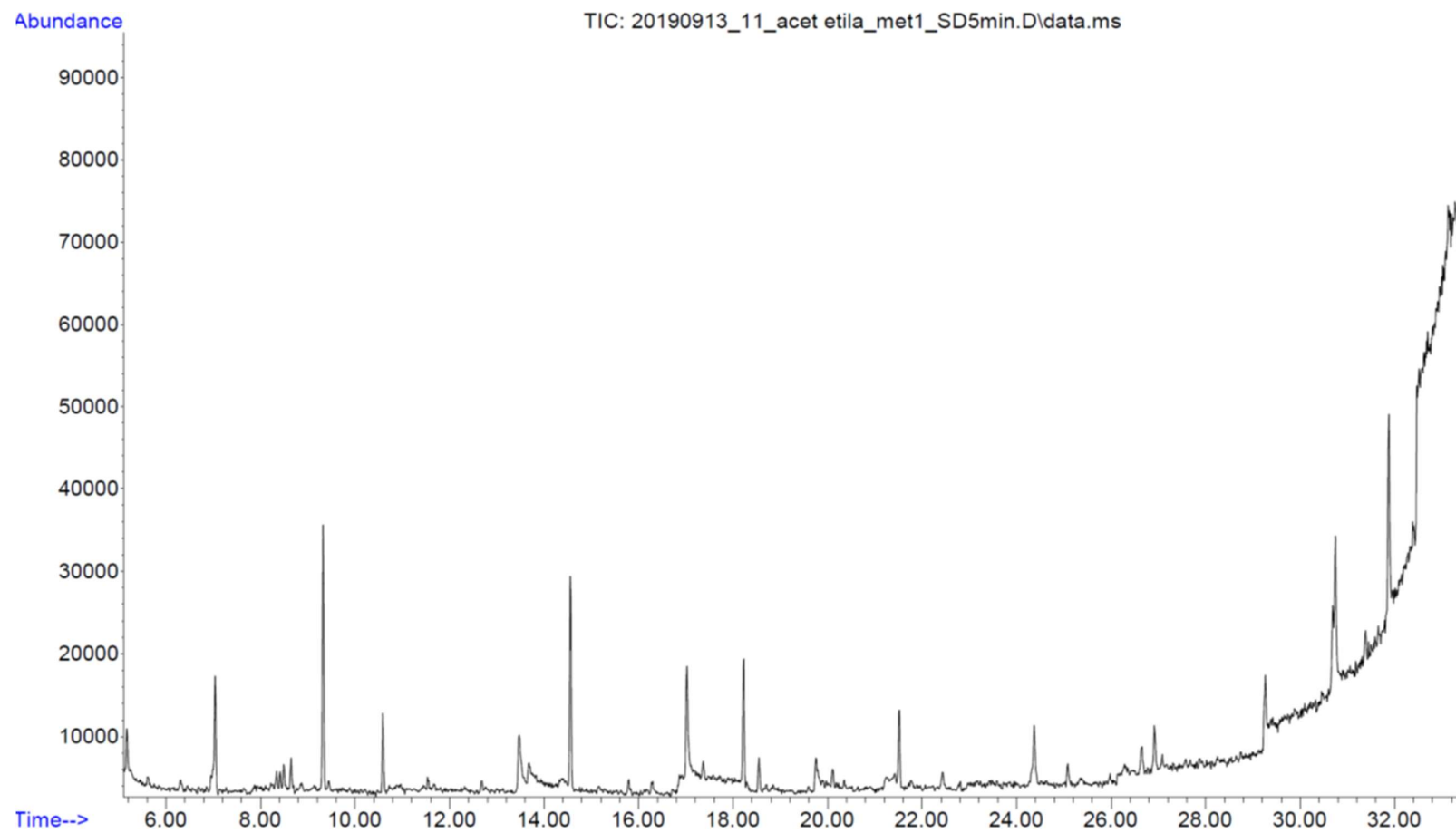


Figura 40: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie *Peltogyne lecointei*.

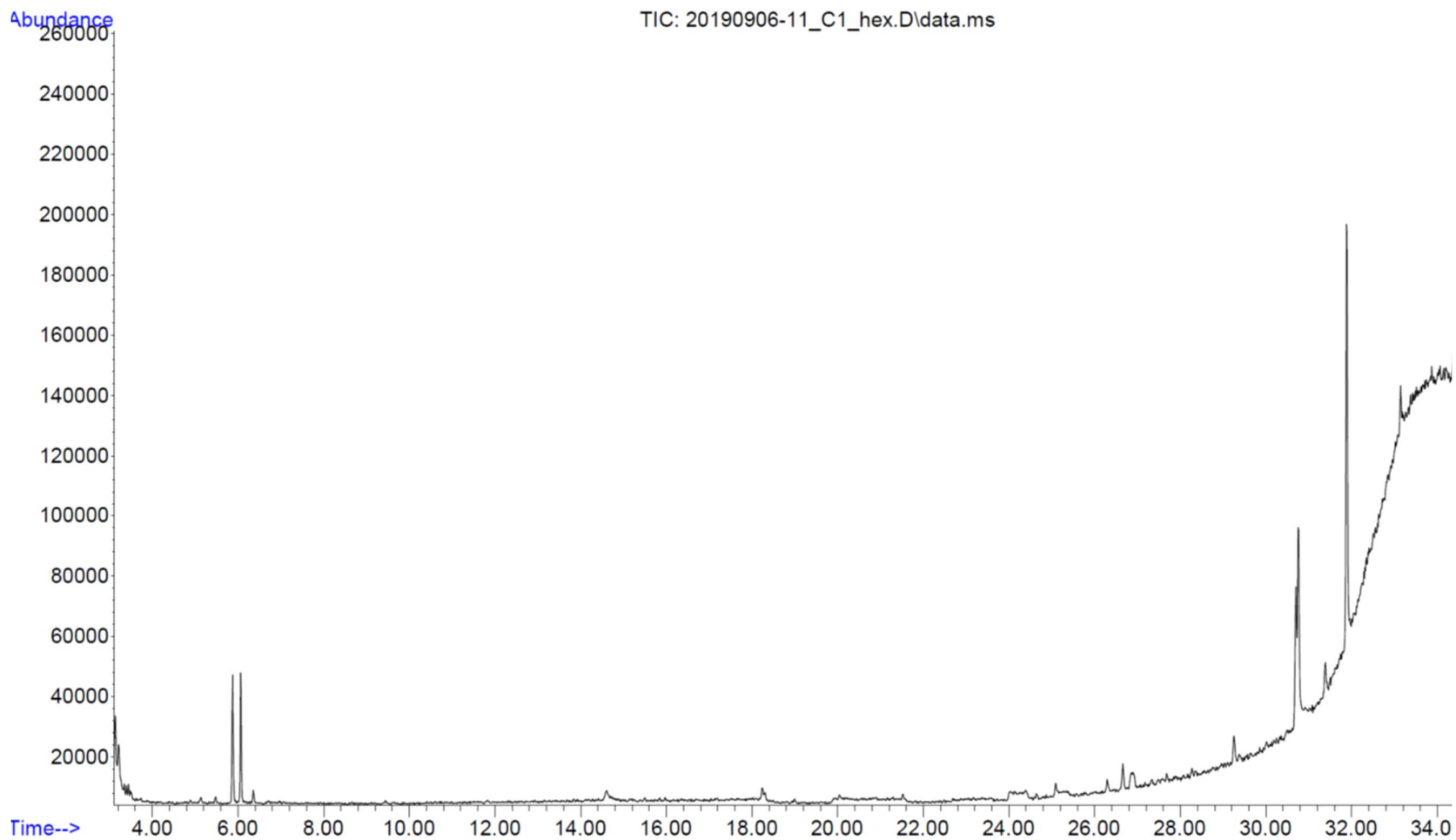


Figura 41: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie *Peltogyne lecointei*.

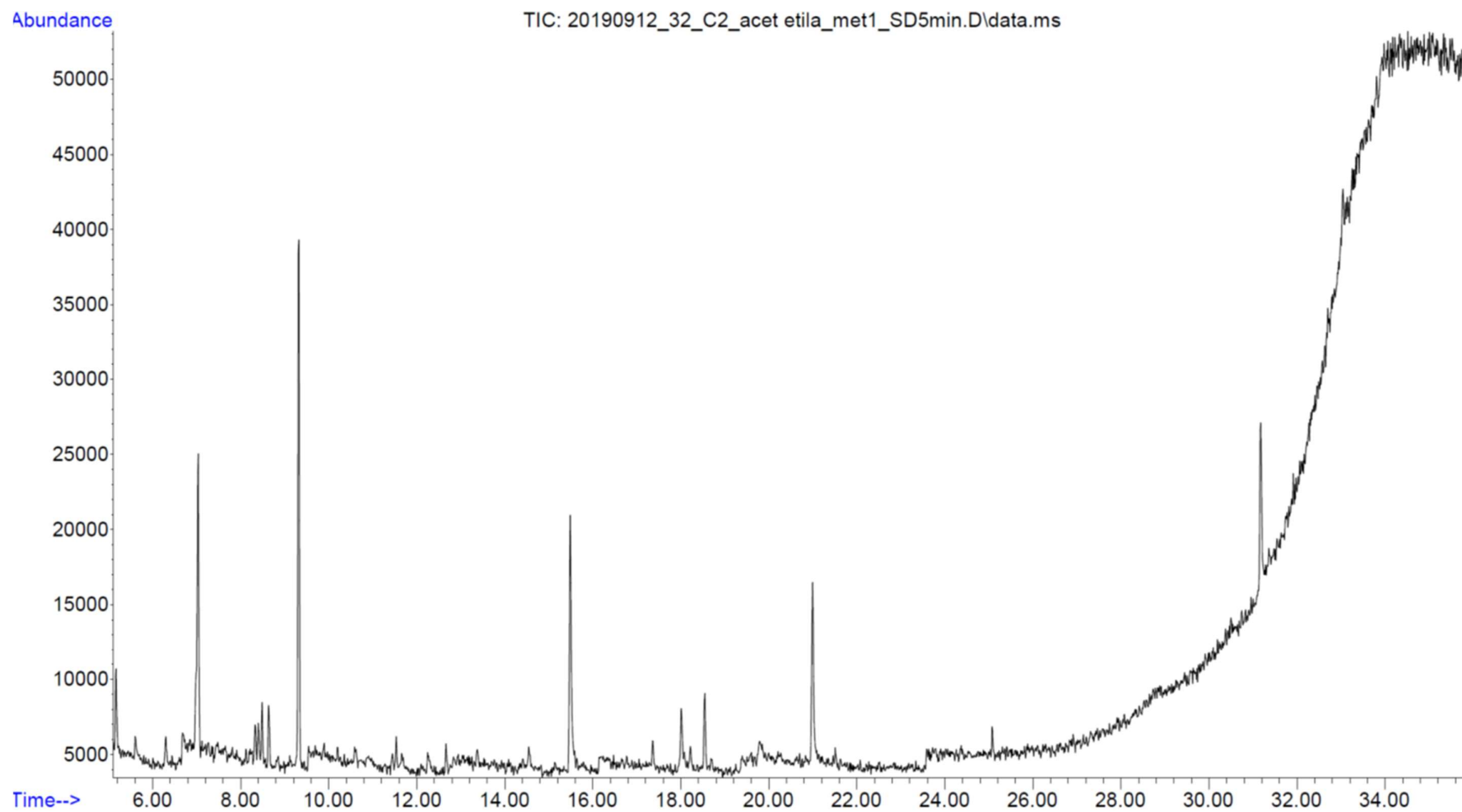


Figura 42: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie *Martiodendron elatum*.

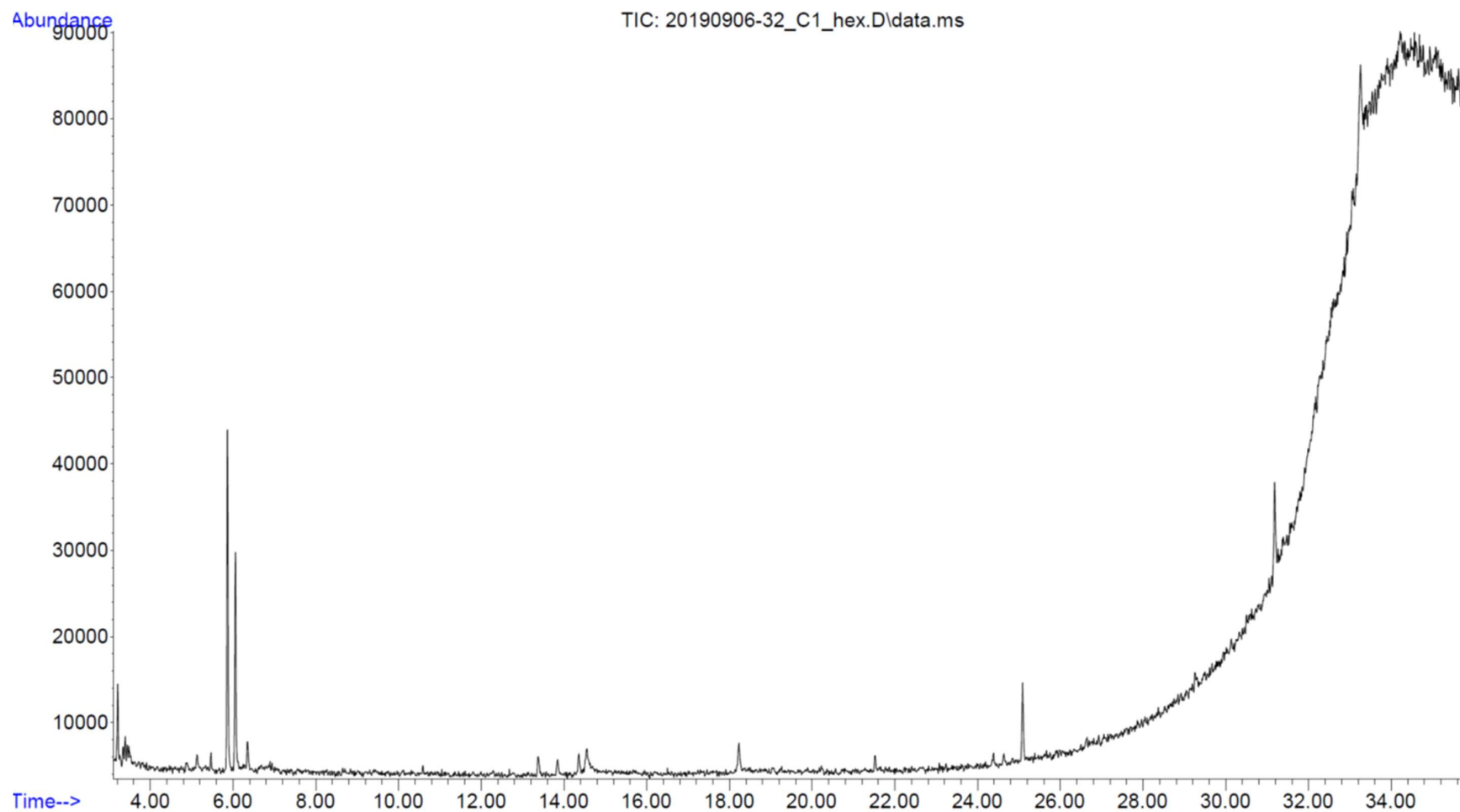


Figura 43: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie *Martiodendron elatum*.

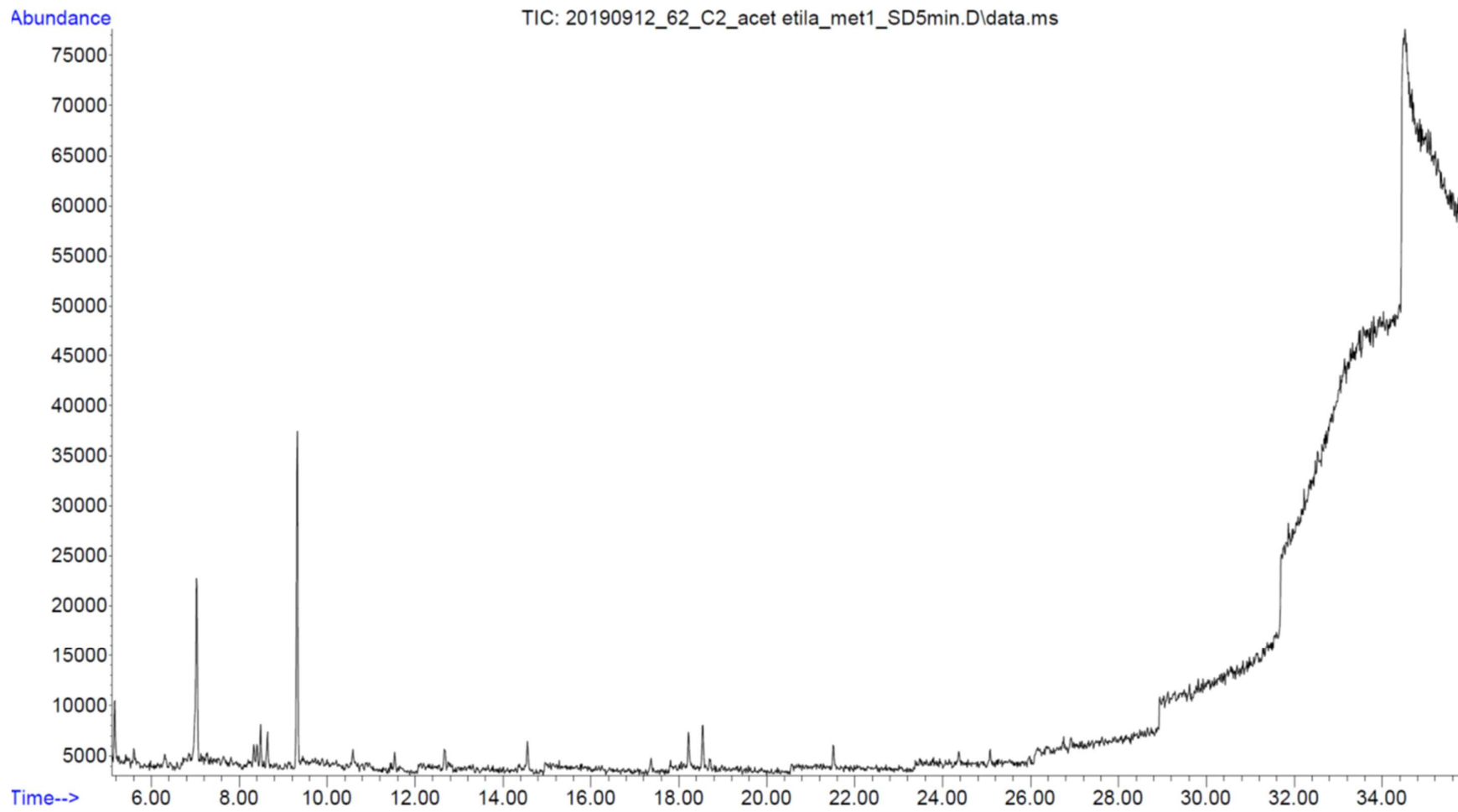


Figura 44: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie *Dipteryx odorata*.

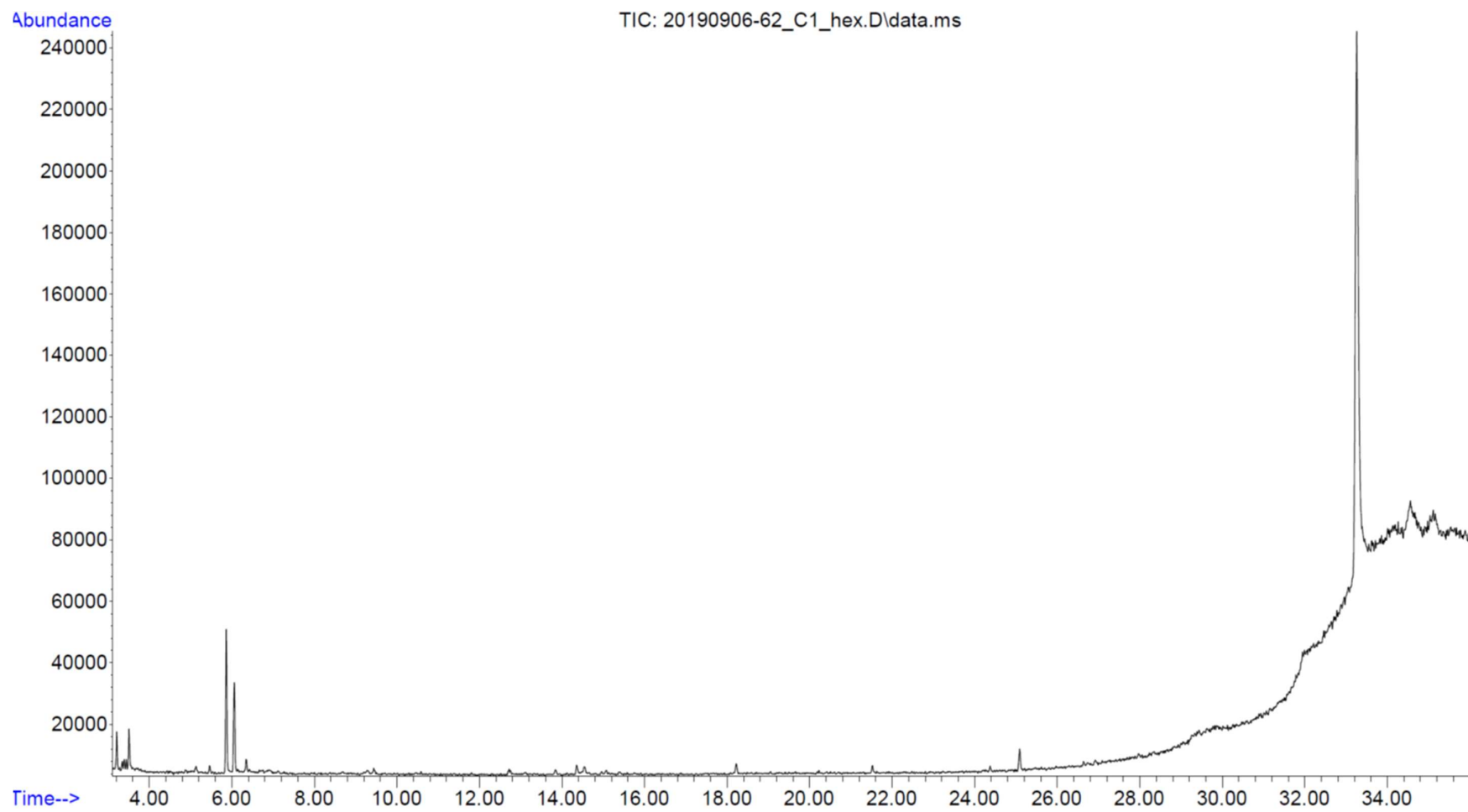


Figura 45: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie *Dipteryx odorata*.

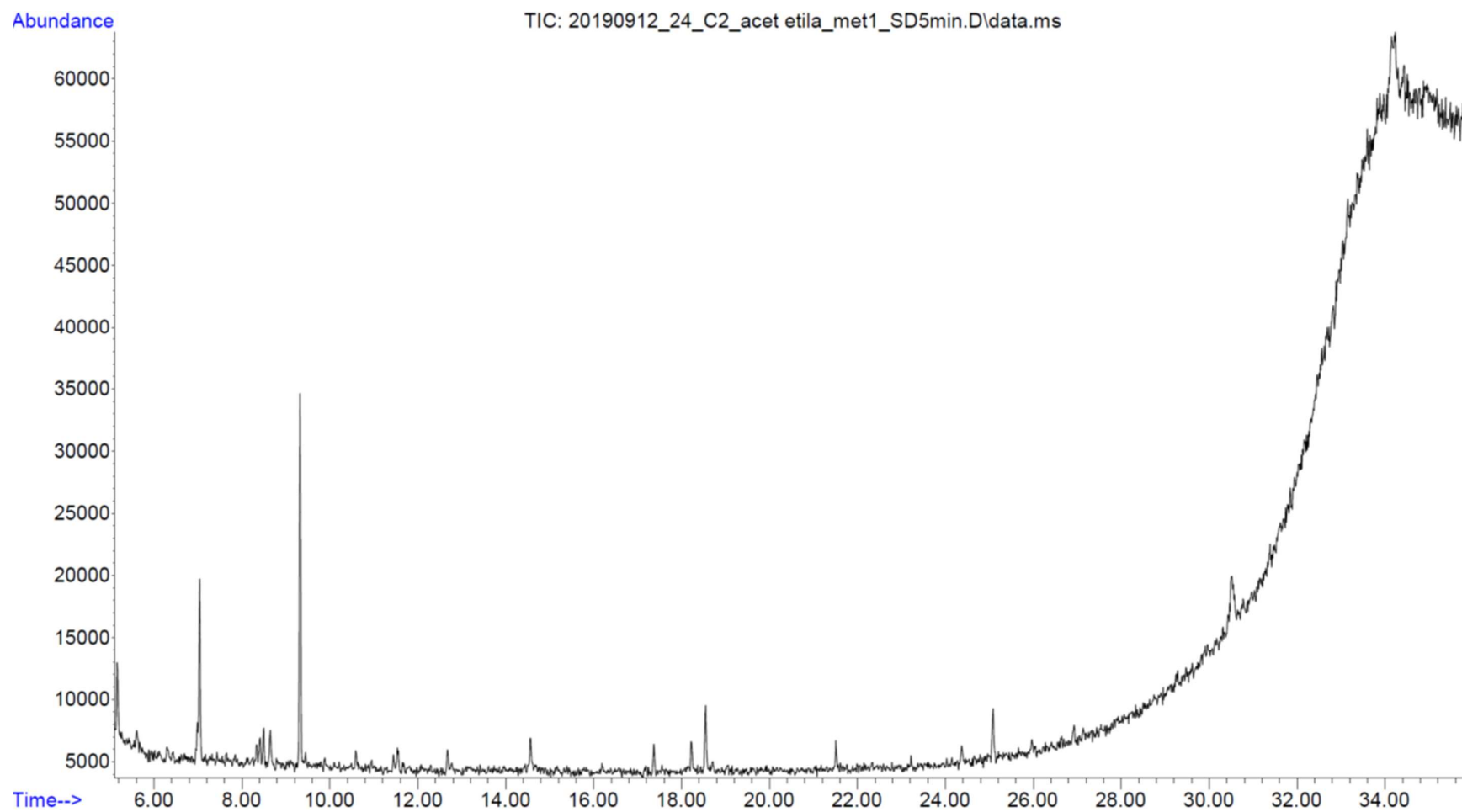


Figura 46: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie *Erisma uncinatum*.

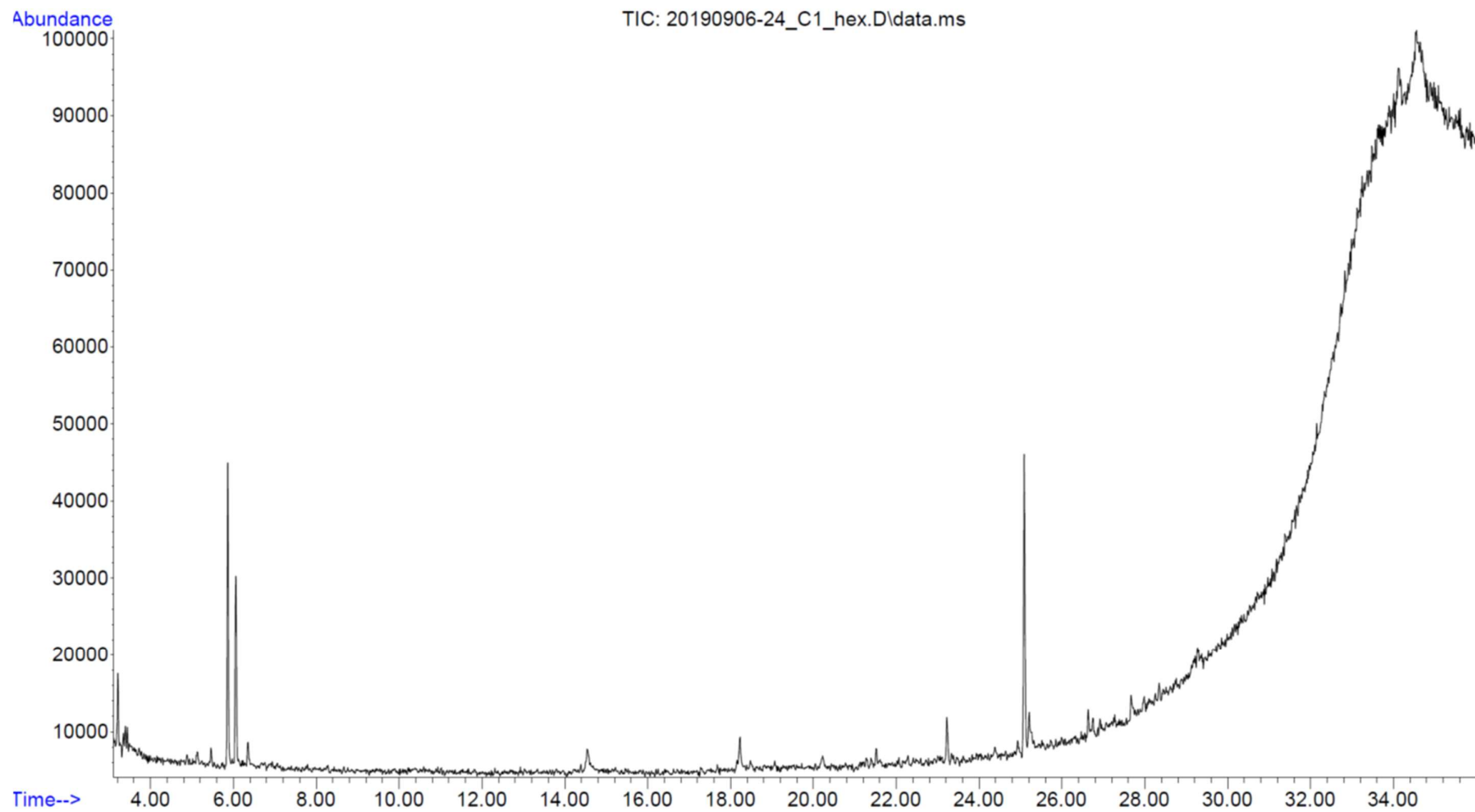


Figura 47: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie *Erisma uncinatum*.

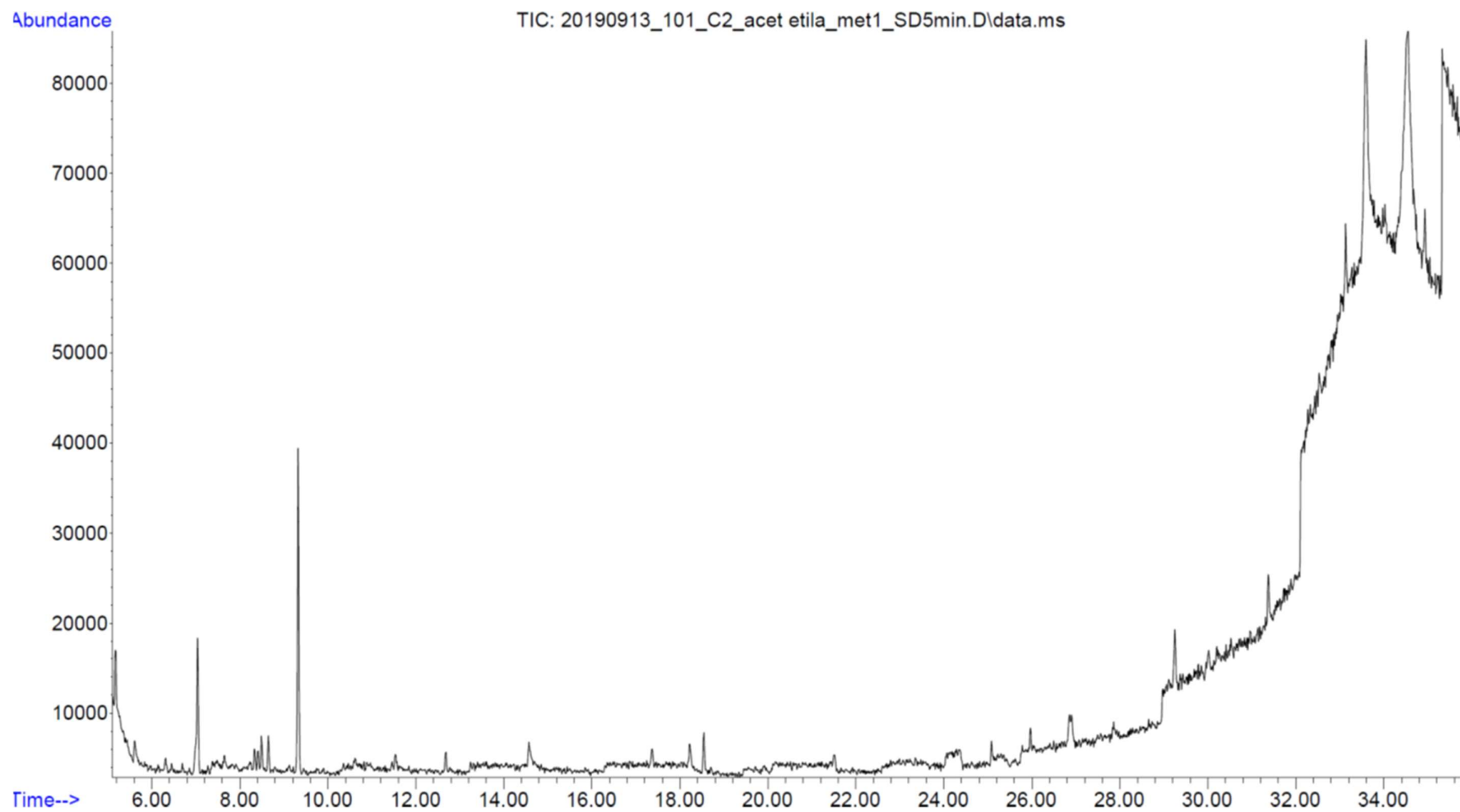


Figura 48: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie *Allantoma decandra*.

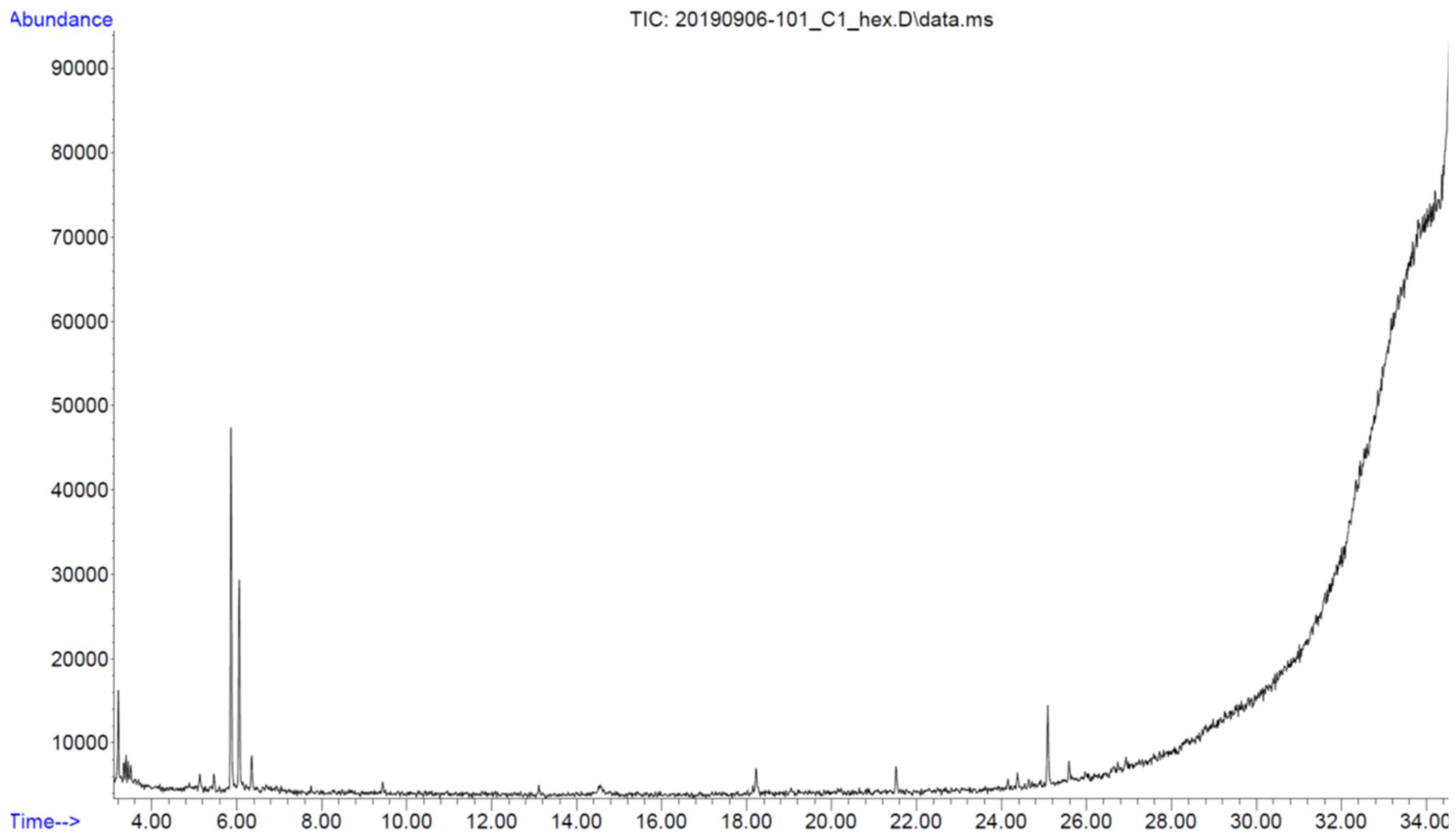


Figura 49: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie *Allantoma decandra*.

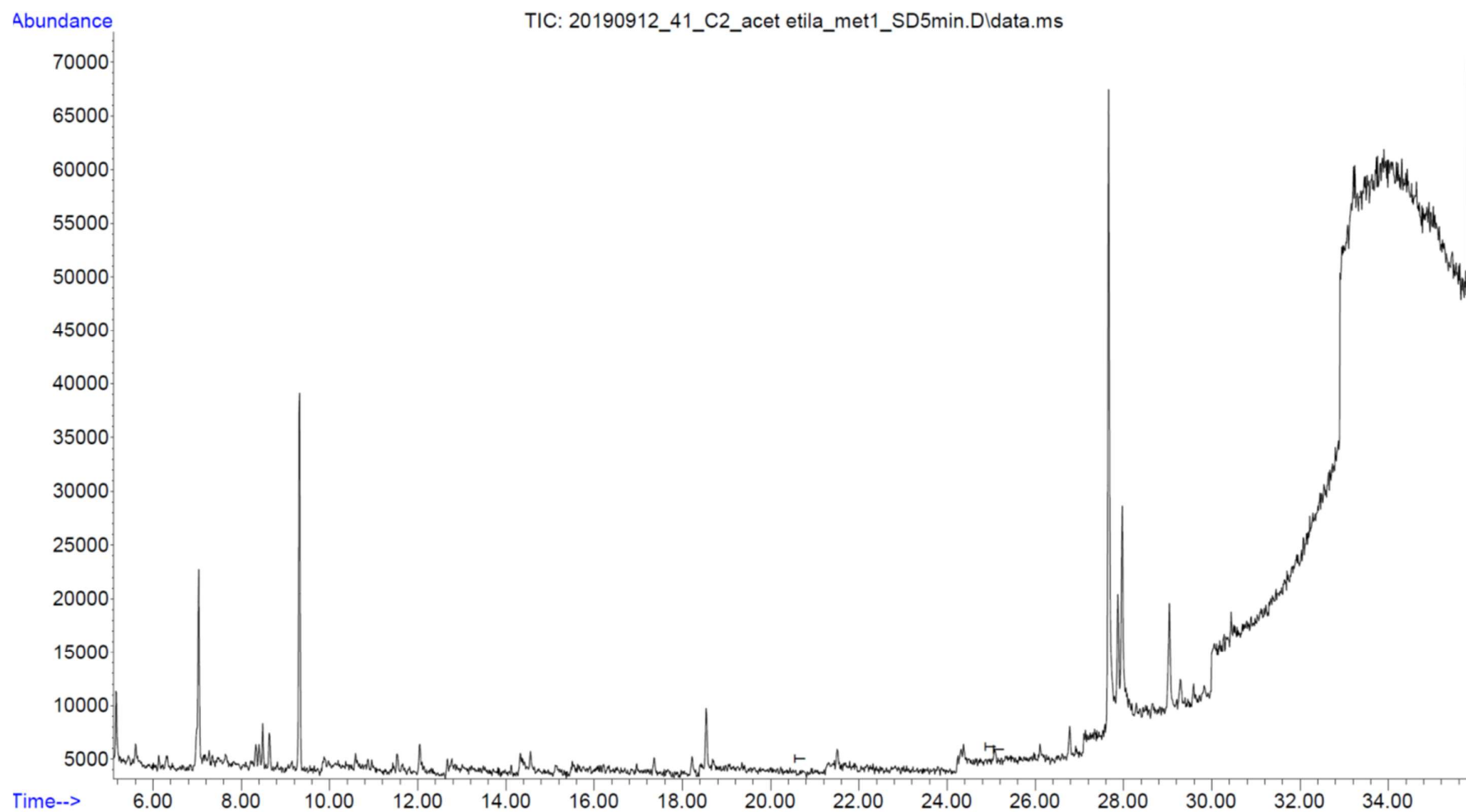


Figura 50: Perfil cromatográfico do extrato bruto em acetato de etila da espécie *Handroanthus incanus*.

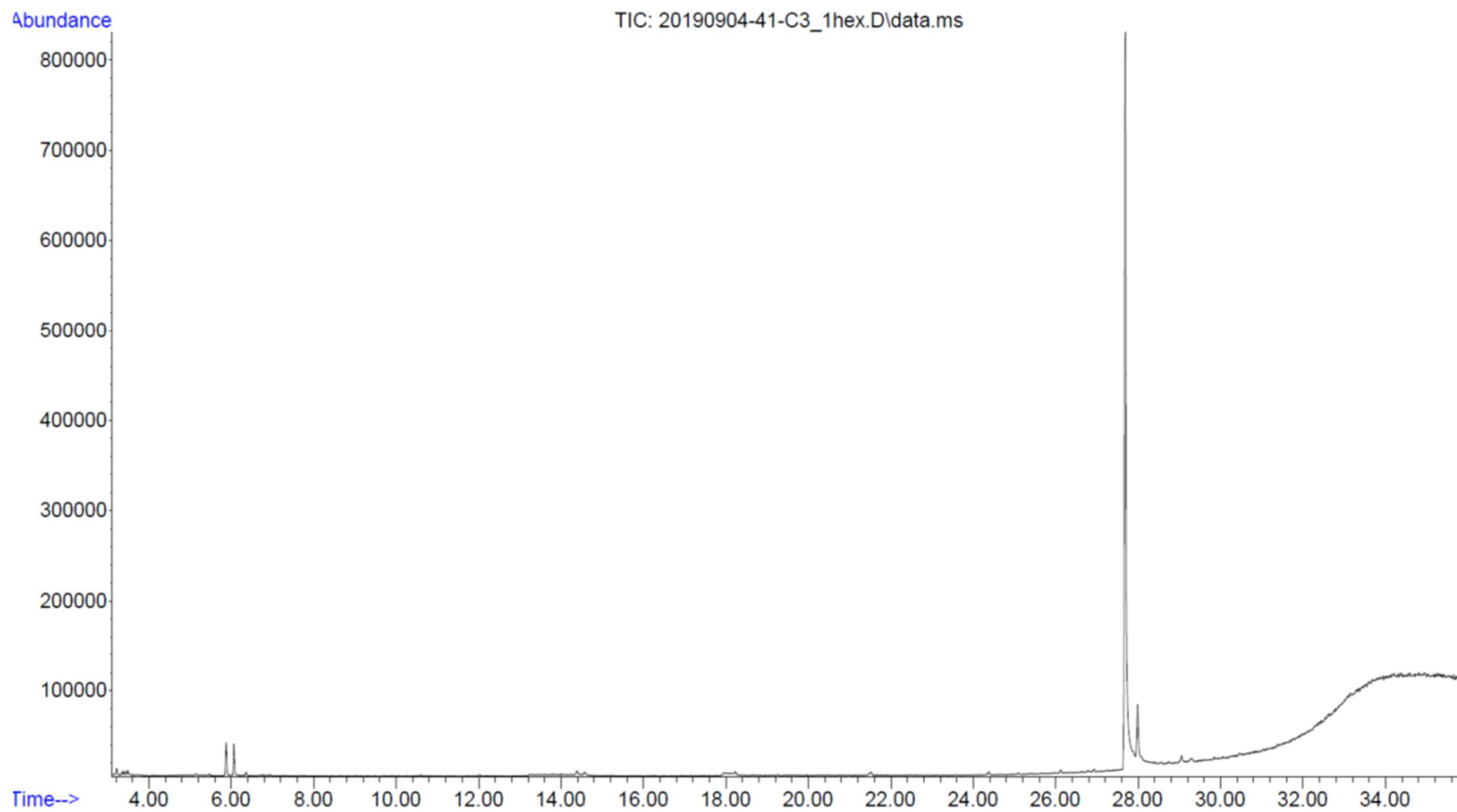


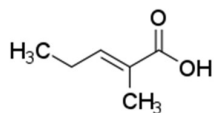
Figura 51: Perfil cromatográfico do extrato bruto hexânico da espécie *Handroanthus incanus*.

Tabela 5: Compostos majoritários presentes nos extratos brutos.

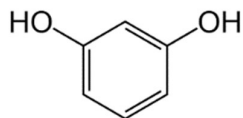
ESPÉCIE	COMPOSTO	EXTRATO	TEMPO DE RETENÇÃO	ÁREA (%)
<i>Peltogyne lecointei</i>	resorcinol	AE	13,50	4,95
	benzaldeido	AE	17,03	5,50
	ácido 2-pentenoico	AE	31,87	7,26
		H	31,89	34,16
	ácido 1-naftaleno pentanoico	H	30,69	12,16
<i>Martiodendron elatum</i>	3-etil-N-nitroso-2(3H)-benzotiazolimine	H	30,76	16,19
	1-fenil-1-propanol	AE	15,50	13,64
	álcool homovanílico	AE	21,00	9,22
	3-hexanol	H	5,86	26,16
<i>Dipteryx odorata</i>	5-nonanona	H	6,05	18,32
	3-hexanol	H	5,86	6,75
	4-heptanona	H	6,05	4,91
<i>Erisma uncinatum</i>	esqualeno	H	33,27	76,10
	3-hexanol	H	5,86	19,37
	5-nonanona	H	6,05	14,25
<i>Allantoma decandra</i>	ácido 1,2-benzenodicarboxílico	H	25,08	24,73
	3-hexanol	H	5,86	31,84
	5-nonanona	H	6,05	19,75
<i>Handroanthus incanus</i>	ácido 1,2-benzenodicarboxílico	H	25,08	9,21
		AE	27,67	28,24
	lapachol	H	27,70	86,14
		AE	27,97	7,57
	desidro- α -lapachona	H	27,98	5,86
α -lapachona	AE	29,03	5,01	

AE: acetato de etila H: hexânico

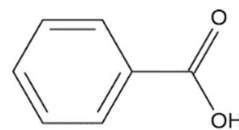
Peltogyne lecointei



ácido 2-pentenoico

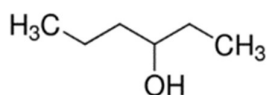


resorcinol

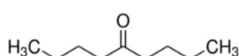


benzaldeído

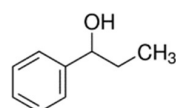
Martiodendron elatum



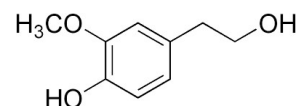
3-hexanol



5-nonanona

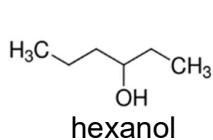


1-fenil-1-
propanol

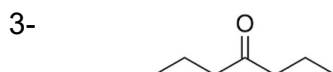


álcool homovanílico

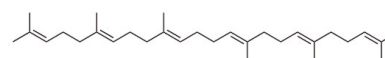
Dipteryx odorata



hexanol

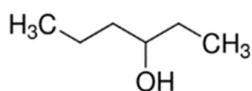


4-heptanona

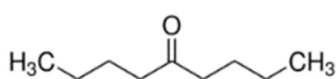


esqualeno

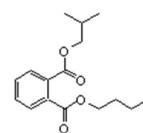
Erisma uncinatum



3-hexanol

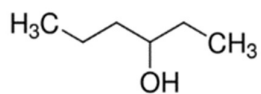


5-nonanona

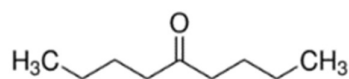


ácido 1,2-
benzenodicarboxílico

Allantoma decandra

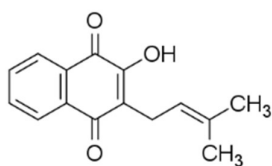


3-hexanol

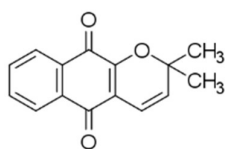


5-nonanona

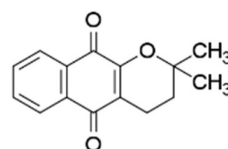
Handroanthus incanus



lapachol



desidro-α-lapachona



α-lapachona

Figura 52: Estruturas químicas dos compostos dos extratos brutos identificados por Cromatografia Gasosa.

As análises por Cromatografia Gasosa permitiram observar os perfis dos compostos voláteis presentes nos extratos brutos. De modo geral, observa-se a presença de compostos típicos de espécies vegetais como terpenoides e quinonas, além da presença de álcoois e cetonas.

A análise do extrato bruto de *Peltogyne Lecointei* permitiu identificar cinco compostos majoritários, dentre eles o resorcinol. Em estudo publicado em 2014, o ensaio larvicida contra o *Aedes aegypti* indicou atividade para o resorcinol comercial (99,0% da marca Sigma Aldrich), que apresentou CL_{50} igual a 577ppm [45]. Contudo, essa substância foi identificada apenas no extrato em acetato de etila, que não apresentou qualquer atividade mesmo após 48h. Assim, sugere-se que alguma das outras substâncias identificadas no extrato hexânico pode ter ocasionado a morte de 55% das larvas após 48h.

Nos extratos de *Handroanthus incanus* prevaleceram as quinonas: lapachol, desidro-α-lapachona e α-lapachona. Esse resultado está em consonância com as informações encontradas na literatura, que confirmam a presença dessas classes de substâncias bioativas em espécies do gênero *Tabebuia* [73], [84], [85]. Assim, em uma primeira análise, sugere-se que a alta atividade larvicida encontrada neste trabalho para a espécie *Handroanthus incanus* esteja relacionada com a presença dessas moléculas.

Nota-se que alguns compostos se repetem em extratos de diferentes espécies como o composto 3-hexanol, que aparece nos extratos de *Allantoma decandra*, *Dipteryx odorata* e *Martiodendron elatum*, e a substância 5-nonanona que

está presente nos extratos de *Allantoma decandra*, *Martiodendron elatum* e *Erisma uncinatum*.

Diante dos resultados obtidos nos ensaios larvicidas mostrados na Tabela 4, a espécie *Handroanthus incanus* foi escolhida para a continuidade das análises. Para tanto, foi realizada uma nova extração utilizando-se 600g de madeira moída e a mistura de solventes: n-hexano/acetato de etila/ etanol/ diclorometano (4:4:1:1), conforme metodologia de extração descrita no item II.3 desta Tese.

O primeiro fracionamento do extrato bruto de *Handroanthus incanus* foi feito utilizando-se a técnica de Partição Líquido-Líquido. Foram utilizados 3,2672g de extrato bruto de *Handroanthus incanus*, sendo obtidas quatro frações: PLL1, PLL2, PLL3 e PLL4. As massas obtidas e a distribuição em % são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6: Massas e distribuição das frações obtidas por Partição Líquido-Líquido.

FRAÇÃO	SISTEMA ELUENTE	MASSA (g)	DISTRIBUIÇÃO (%)
PLL1	n-hexano	0,8056	24,66
PLL2	diclorometano	2,0201	61,83
PLL3	acetato de etila	0,4368	13,37
PLL4	metanol:água (9:1)	0,0045	0,14

A partir dos dados apresentados Tabela 6 nota-se que mais de 86% do extrato bruto se deslocou para as frações mais apolares PLL1 e PLL2. Esse resultado sugere uma característica predominantemente apolar dos compostos presentes na amostra.

O ensaio larvicida das frações mostrou que a fração PLL1 apresentou a maior taxa de mortalidade das larvas, com a média de 100% de mortes em 24h. A fração PLL3 alcançou uma taxa de mortalidade de 40% em 24h que se manteve após 48h. A fração PLL2 ocasionou poucas mortes após 24h (16,7%) e esse número

cresceu em 48h (36,7%), porém permaneceu reduzido. Por fim, a fração PLL4 obteve baixíssima atividade, com nenhuma morte após 24h e média de 3,3% após 48h. Esses resultados sugerem que os compostos mais ativos observados no extrato bruto estejam presentes em maior quantidade em PLL1. As médias de mortes após 24 e 48h podem ser visualizadas na Tabela 7.

Tabela 7: Resultados dos ensaios larvicidas de PLL1 a PLL4.

FRAÇÃO	CONCENTRAÇÃO (ppm)	MÉDIA DE MORTES APÓS 24 HORAS (%)	MÉDIA DE MORTES APÓS 48 HORAS (%)
PLL1	250	100	-
PLL2	250	16,7	36,7
PLL3	250	40	40
PLL4	250	0	3,3

Os perfis cromatográficos obtidos por Cromatografia Gasosa das frações PLL1, PLL2 E PLL3 são mostrados nas Figuras 53 a 55, respectivamente. Cabe ressaltar que toda a massa obtida de PLL4 (4,5mg) foi utilizada para a realização do ensaio larvicida e por isso não foi possível efetuar a análise cromatográfica dessa fração.

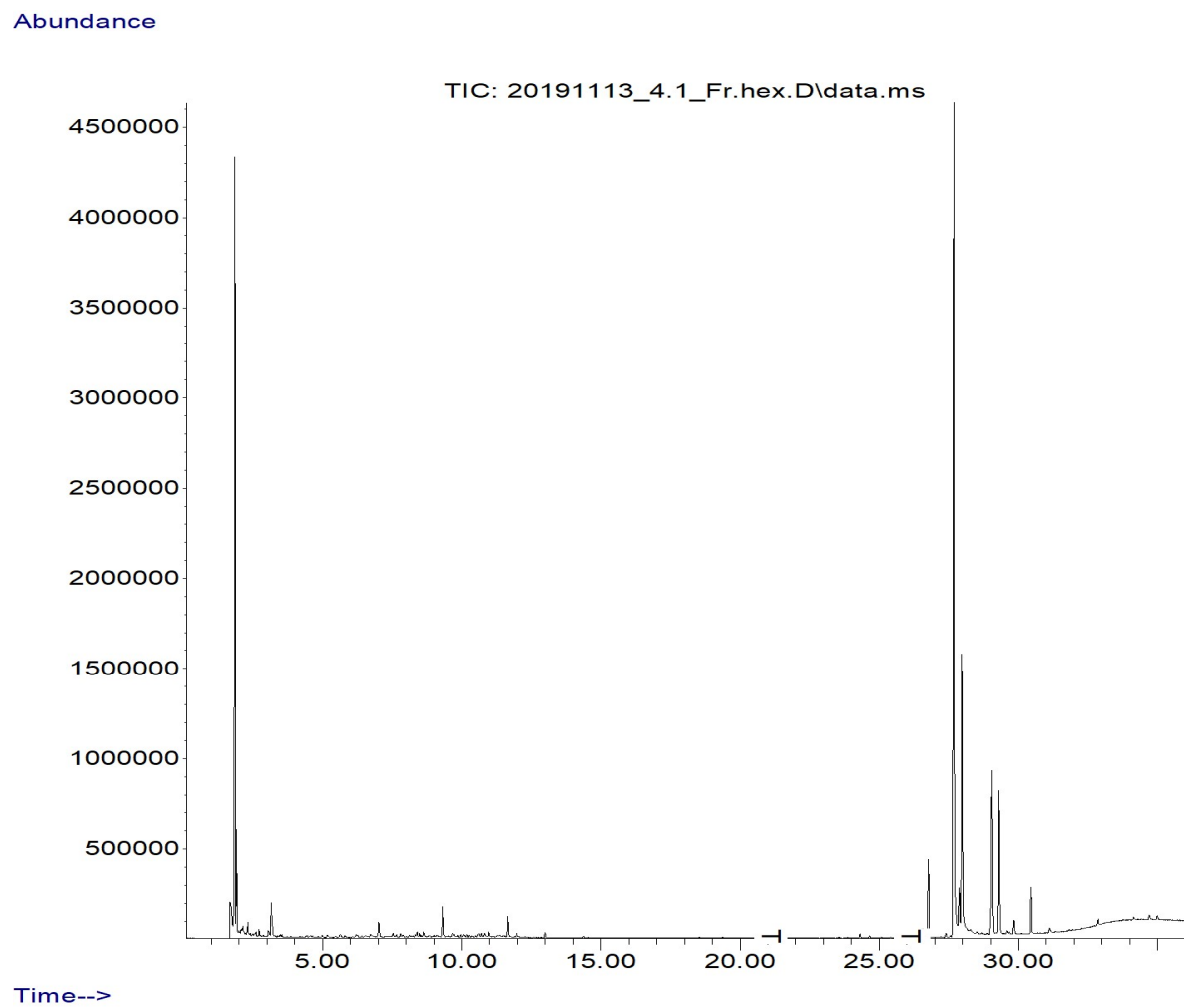


Figura 53: Perfil cromatográfico da fração PLL1.

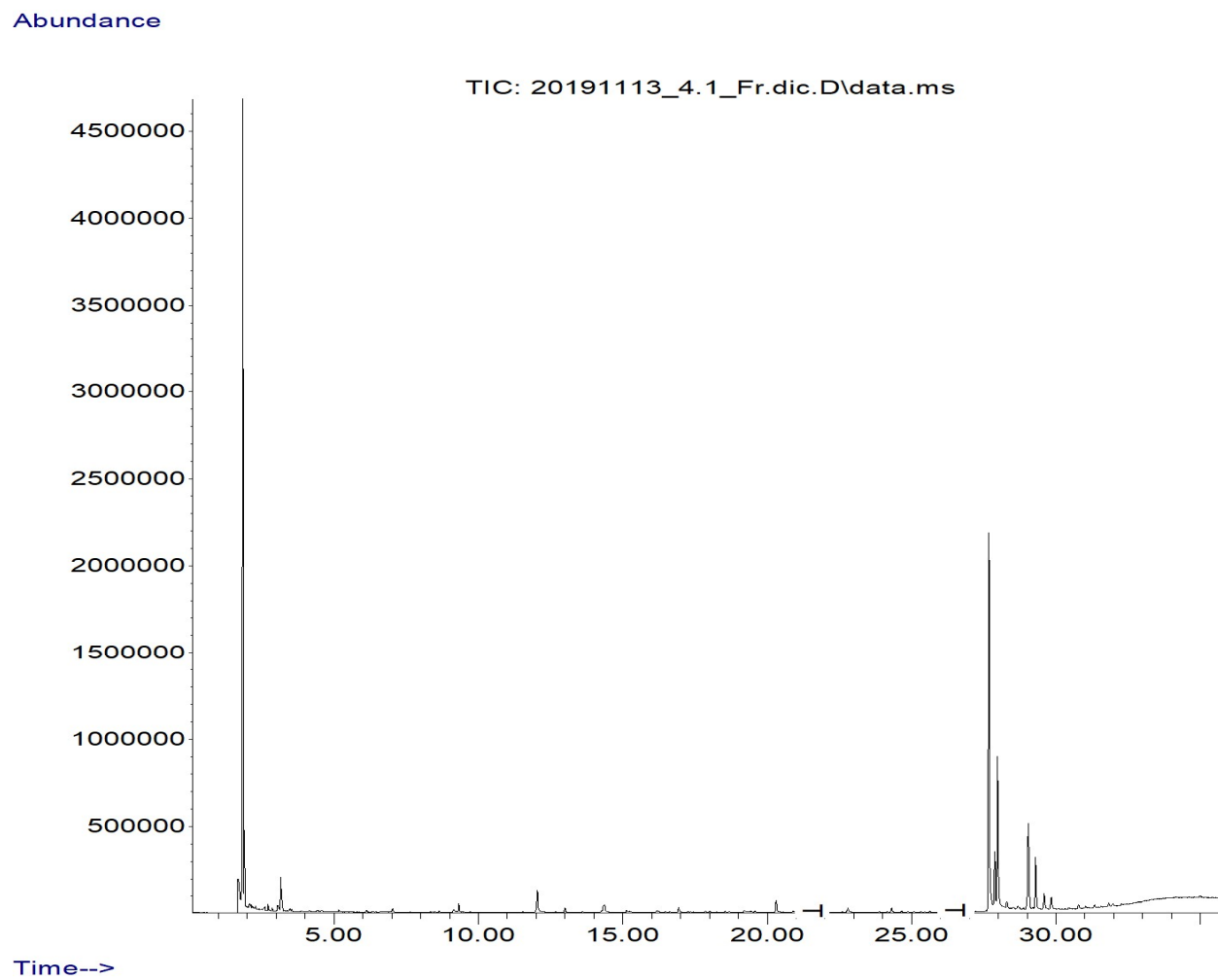


Figura 54: Perfil cromatográfico da fração PLL2.

Abundance

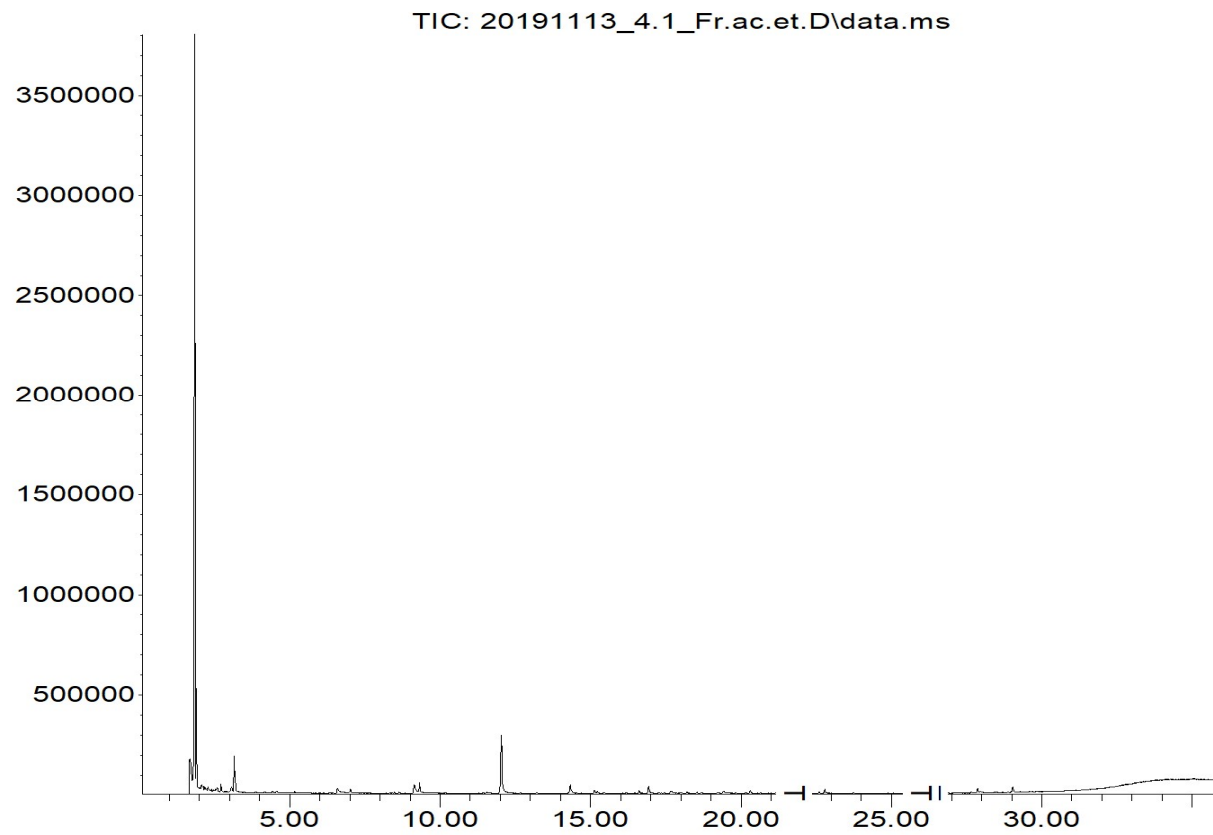


Figura 55: Perfil cromatográfico da fração PLL3.

Os compostos majoritários identificados nos cromatogramas de PLL1, PLL2 e PLL3 são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Compostos majoritários presentes nas frações obtidas por Partição Líquido-Líquido.

ESPÉCIE	COMPOSTO	FRAÇÃO	TEMPO DE RETENÇÃO	ÁREA %
<i>Handroanthus incanus</i>	lapachol	PLL1	27,68	32,74
		PLL2	27,68	22,65
	desidro- α -lapachona	PLL1	27,99	11,85
		PLL2	27,99	10,04
	α -lapachona	PLL1	29,03	7,46
		PLL2	29,03	6,07
	4-vinilfenol	PLL3	12,05	8,40

Observa-se que as quinonas presentes nos extratos brutos (lapachol, desidro- α -lapachona e α -lapachona) foram identificadas em ambas as frações PLL1 e em PLL2. Entretanto, os testes biológicos mostraram alta atividade para a primeira fração (média de 100% de mortes em 24h) e baixa para a segunda (média de 16,7% de mortes em 24h). Assim, se faz necessária a continuidade das análises para averiguar o motivo da diferença entre os resultados desses ensaios.

Em relação à fração PLL3 foi identificado um composto que não havia sido identificado anteriormente como majoritário nos extratos brutos, o 4-vinilfenol. Essa fração apresentou mortalidade média de 40% das larvas após 24h, entretanto, não foram identificadas as naftoquinonas presentes nas demais frações. Então, presume-se que o 4-vinilfenol pode ter causado algum efeito larvicida.

Para a confirmar a presença das moléculas identificadas na Cromatografia Gasosa, as frações foram submetidas à Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os espectros de RMN de ^1H obtidos para PLL1, PLL2 E PLL3 são mostrados nas Figuras 56, 57 e 58, respectivamente. Mais uma vez cabe destacar que não foi possível realizar a análise por RMN da PLL4 pois a massa total obtida no fracionamento (4,5mg) foi utilizada no ensaio larvicida.

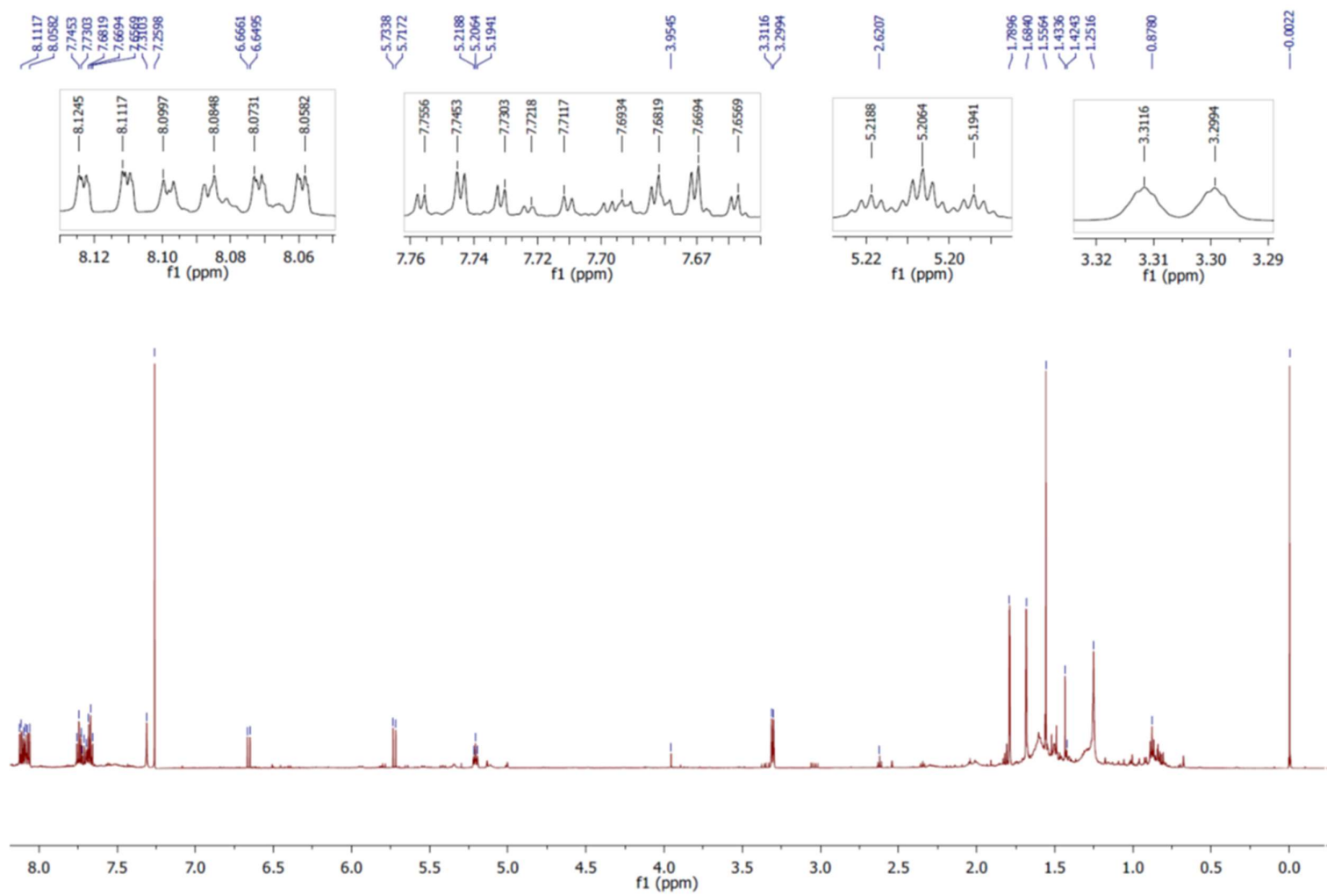


Figura 56: Espectro de RMN de ^1H da fração PLL1.

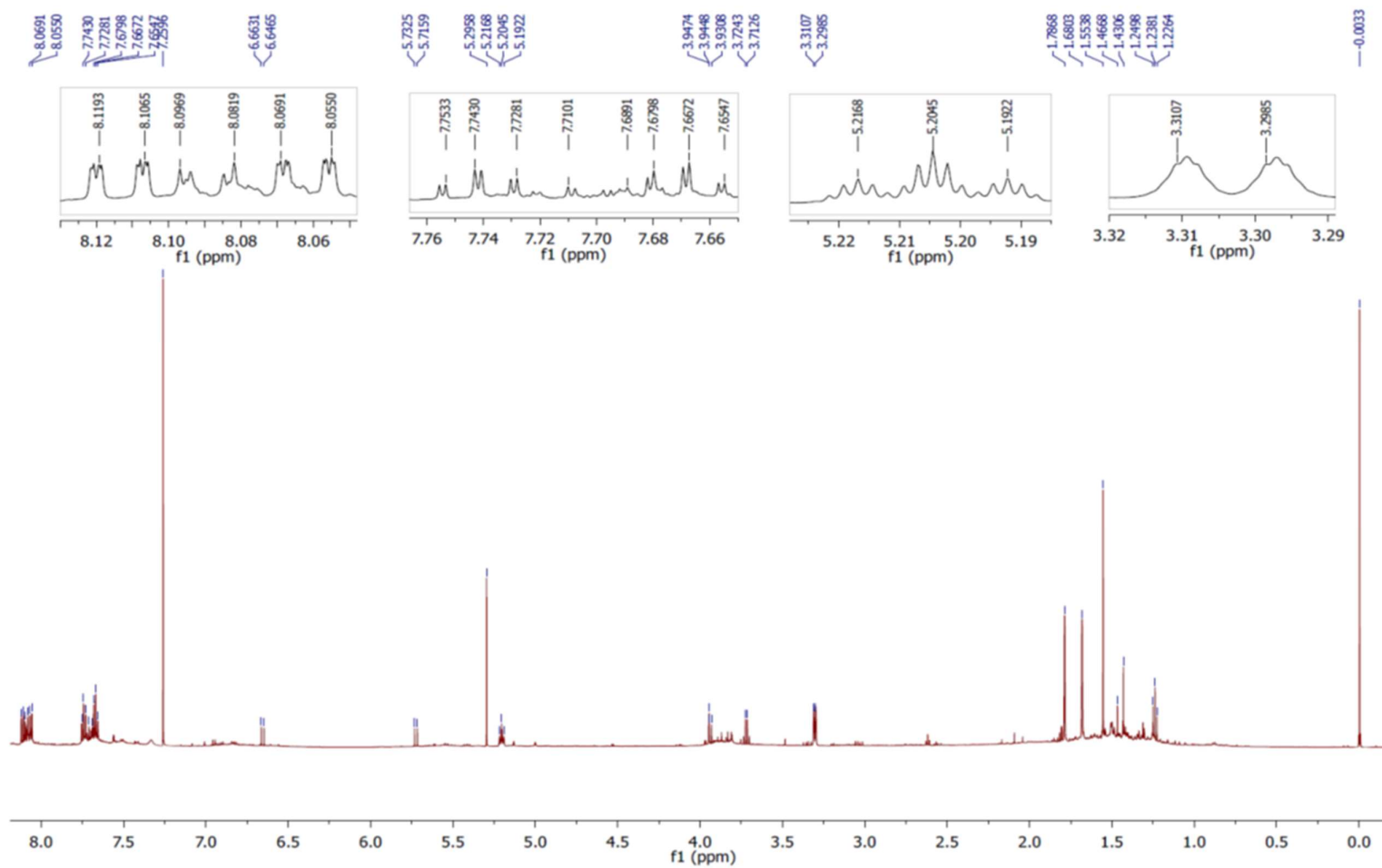


Figura 57: Espectro de RMN de ¹H da fração PLL2.

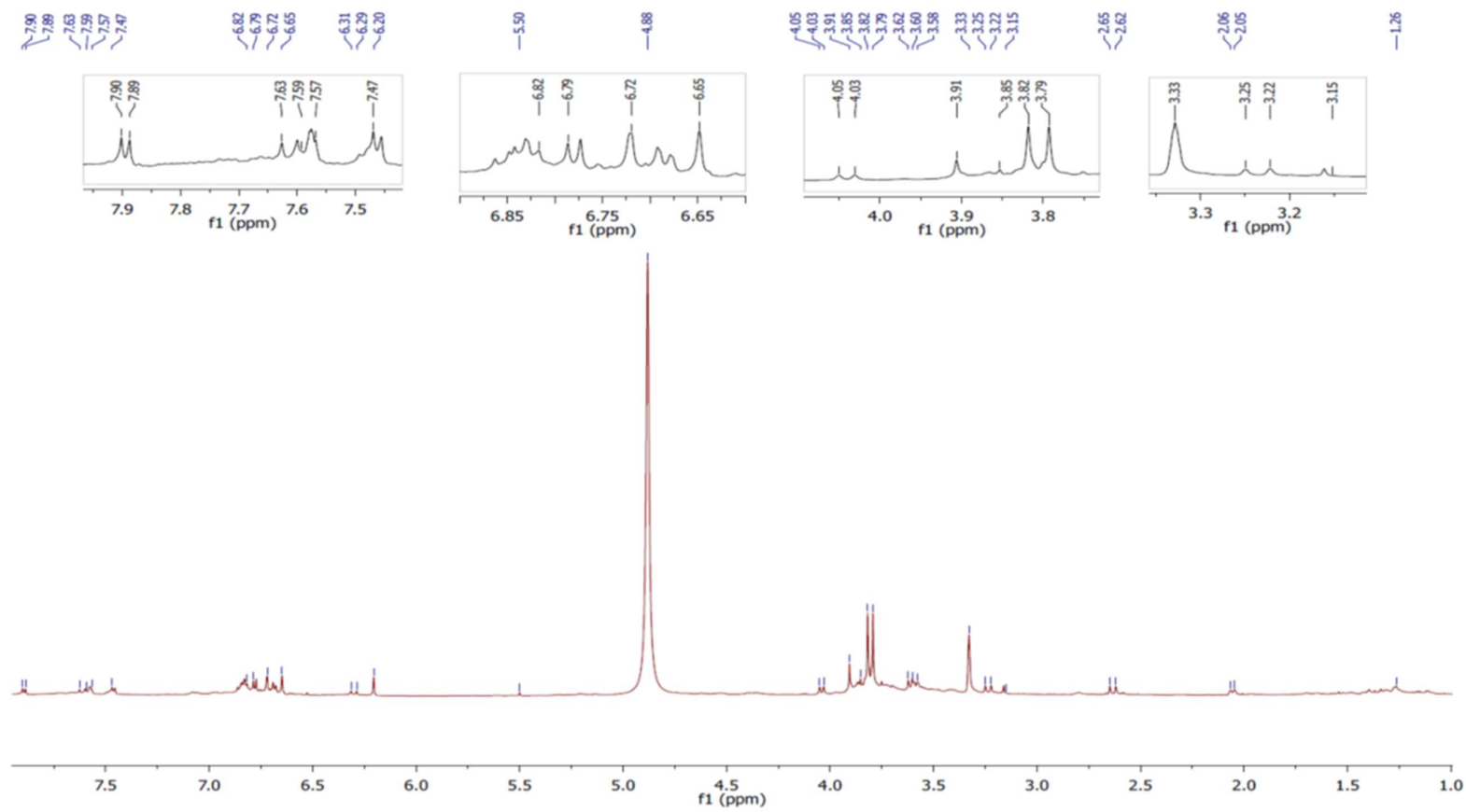


Figura 58: Espectro de RMN de ^1H da fração PLL3.

Nos espectros de RMN de ^1H das frações PLL1 e PLL2 podem ser observados sinais compatíveis com os encontrados na literatura para a substância lapachol: dois singletos em δ 1,69ppm e 1,79ppm (metilas da prenila), um duplete em δ 3,3ppm (metileno da prenila), um tripleto em δ 5,2 ppm (metina da prenila), além dos sinais característicos dos hidrogênios aromáticos em δ 7,7ppm e 8,1ppm [123]. Em ambos os espectros também foram observados sinais adicionais, indicando a presença de outras substâncias.

O espectro de RMN de ^1H da fração PLL3 se mostrou incompatível com os sinais característicos do lapachol, sendo então necessárias investigações mais detalhadas para a confirmação da presença do 4-vinilfenol, além da identificação dos demais compostos.

Diante dos resultados obtidos nos ensaios larvicidas e nas análises químicas, a fração PLL1 foi selecionada para prosseguir a investigação química para o isolamento e a elucidação das moléculas ativas. Para isso, foi feito um novo fracionamento de PLL1 por meio da técnica de Extração em Fase Sólida (EFS). Foram utilizados 0,7247g da fração, sendo obtidas as subfrações EFS1, EFS2, EFS3, EFS4, EFS5 e EFS6. As massas obtidas e a distribuição em % são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9: Massas e distribuições das subfrações obtidas por Extração em Fase Sólida.

Fração	SISTEMA ELUENTE	MASSA OBTIDA (g)	DISTRIBUIÇÃO (%)
EFS1	n-hexano	0,2387	32,94
EFS2	n-hexano:diclorometano (9:1)	0,1952	26,94
EFS3	diclorometano:acetato de etila (20:1)	0,1853	25,57
EFS4	acetato de etila	0,0331	4,57
EFS5	acetato de etila:metanol (5:1)	0,0046	0,63
EFS6	metanol	0,0062	0,86

Conforme mostrado na Tabela 9 observa-se que a maior parte dos compostos presentes na amostra se deslocaram para os sistemas eluentes mais apolares (EFS1, EFS2 e EFS3). Juntas essas subfrações somaram cerca de 85% da massa total. Esse resultado já era esperado uma vez que a amostra particionada foi obtida por meio de um solvente apolar (n-hexano). Assim, deduz-se que o processo de Extração em Fase Sólida tenha otimizado a separação dos componentes mais polares ainda presentes na amostra, através da migração destes para EFS4, EFS5 E EFS6.

Todas as subfrações (EFS1 a EFS6) foram submetidas ao ensaio larvicida contra *Aedes aegypti*. Os resultados das médias de mortalidade após 24 e 48h são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10: Resultados dos ensaios larvicidas de EFS1 a EFS6.

SUBFRAÇÃO	CONCENTRAÇÃO (ppm)	MÉDIA DE MORTES APÓS 24 HORAS (%)	MÉDIA DE MORTES APÓS 48 HORAS (%)
EFS1	250	100	-
EFS2	250	100	-
EFS3	250	100	-
EFS4	250	0	37,5
EFS5	250	35	70
EFS6	250	0	0

As subfrações EFS1, EFS2 e EFS3 apresentaram alta atividade larvicida ocasionado a morte em média de 100% das larvas após 24h. A subfração EFS4 não ocasionou mortes após 24h, porém, após as 48h foi constatada em média 37,5% de mortes. Inicialmente EFS5 apresentou uma baixa atividade larvicida, com média de mortes de 35%, porém, após 48h o valor da média duplicou atingindo 70%. Já a EFS6 não ocasionou mortes mesmo após 48h de ensaio. Os resultados dos testes

sugeriram a presença de uma ou mais substâncias altamente ativas nas subfrações EFS1, EFS2 e EFS3, além de compostos com boa atividade, porém de ação um pouco mais lenta em EFS5.

Inicialmente planejava-se realizar a separação cromatográfica das subfrações mais ativas obtidas por Extração em Fase Sólida. Porém, observou-se que além de não ter sido obtida uma quantidade significativa de massas de EFS1 (0,2387g), EFS2 (0,1952g) e EFS3 (0,1853g), aparentemente essas subfrações ainda se apresentavam como misturas complexas. Tendo em mente que talvez não fosse possível isolar as moléculas ativas em quantidade suficiente para a realização dos ensaios larvicidas necessários para o cálculo de CL_{50} , optou-se por uma terceira extração utilizando-se 1200g de madeira moída de *Handroanthus incanus* e a mistura de solventes: n-hexano/acetato de etila/ etanol/ diclorometano (4:4:1:1), conforme metodologia de extração descrita no item II.3 desta Tese. O extrato bruto obtido (12,0479g) foi submetido diretamente à técnica de Cromatografia de Coluna Aberta.

A Cromatografia de Coluna Aberta originou 122 frações, identificadas como FR1 a FR122. Todas as frações foram submetidas a Cromatografia de Camada Delgada e aquelas que apresentaram similaridade entre os deslocamentos após revelação, foram reunidas em 18 grupos (I a XVIII), conforme mostra a Tabela 11.

As frações 1, 2, 3, 6, 7, 8, 15 e 17 não apresentaram manchas significativas quando reveladas e por isso foram desconsideradas. As frações 18 e 23 também foram descartadas devido a um erro no processo de rotaevaporação, que ocasionou a contaminação da fração. As frações 16 e 19 apresentaram uma mancha única e bem definida, enquanto que as frações 20, 21 e 80 cristalizaram a temperatura ambiente, sugerindo uma pureza do material. Então, essas frações não foram reunidas a outras para a realização dos testes posteriores. Os registros fotográficos das placas encontram-se nos Apêndices 1, 2 e 3.

Tabela 11: Agrupamento das frações obtidas por Cromatografia de Coluna Aberta do extrato bruto de *Handroanthus incanus*.

ELUENTE	FRAÇÕES OBTIDAS	GRUPOS
N-hexano	FR4 e FR5	I
	FR9 a FR12	II
	FR13 e FR14	III
	FR16	IV
	FR19	V
N-hexano/acetato de etila 95%	FR20	VI
	FR21	VII
	FR24 a FR49	VIII
N-hexano/acetato de etila 90%	FR50 e FR51	IX
	FR52 e FR55	
	FR56 a FR67	X
	FR68 a FR70	XI
FR71 a FR75		
N-hexano/acetato de etila 80%	FR76 a FR79	XII
	FR80	XIII
	FR81 a FR88	XIV
N-hexano/acetato de etila 70%	FR89 a FR91	XV
	FR92 a FR95	
	FR96 a FR99	XVI
N-hexano/acetato de etila 50%	FR100 a FR106	XVII
	FR107	
Acetato de etila	FR108 a FR112	XVIII
Acetato de etila/metanol 80%	FR113 a FR116	
Acetato de etila/metanol 50%	FR117 a FR122	

Os grupos que apresentaram quantidade de massa suficiente (de VI a XI e de XIV a XVII) foram submetidos a ensaios larvicidas contra o *Aedes aegypti* e os resultados são apresentados na Tabela 12..

Tabela 12: Resultado dos ensaios larvicidas dos grupos das frações obtidas por Cromatografia de Coluna Aberta do extrato bruto de *Handroanthus incanus*.

GRUPOS	CONCENTRAÇÃO (ppm)	MÉDIA DE MORTES APÓS 24 HORAS (%)	MÉDIA DE MORTES APÓS 48 HORAS (%)
VI (FR20)	250	100	-
VII (FR21)	250	100	-
VIII	250	47,5	72,5
IX	250	30	95
X	250	0	60
XI	250	0	7,5
XIV	250	0	2,5
XV	250	0	5
XVI	250	2,5	2,5
XVII	250	0	12,5

Os grupos VI (FR20) e VII (FR21) apresentaram 100% de morte das larvas após 24h. Esse resultado indica a presença nessas frações de uma ou mais moléculas de atividade larvicida expressiva contra o mosquito *Aedes aegypti*. A análise comparativa por Cromatografia de Coluna Delgada com o lapachol comercial adquirido da empresa Sigma-Aldrich indicou a presença dessa substância em ambas as frações, porém, sendo a majoritária apenas em FR21. A Figura 59 mostra as manchas resultantes da análise comparativa por Cromatografia de Camada Delgada de FR21, da mistura entre a FR21 e o lapachol comercial, e somente do lapachol comercial.

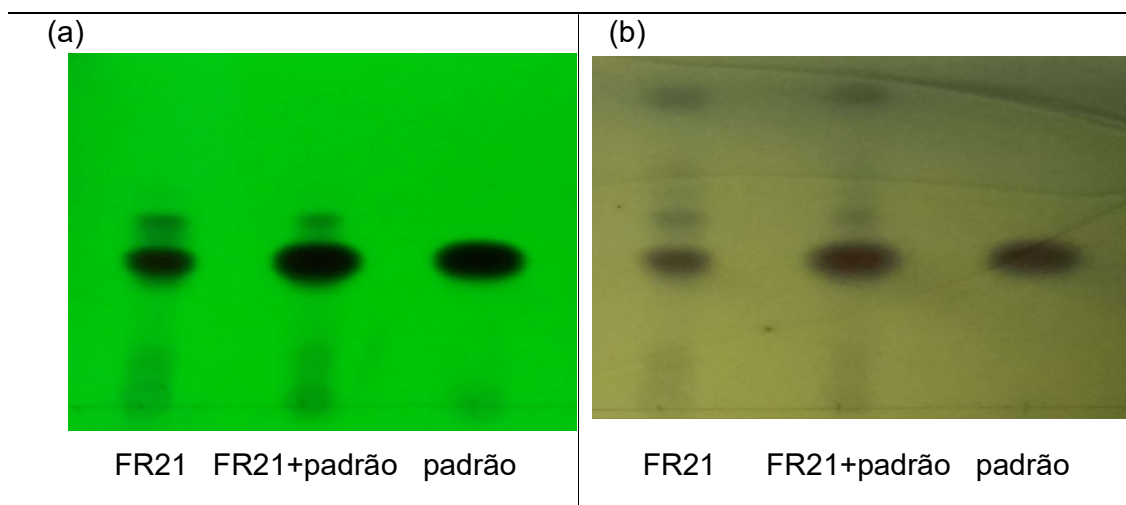


Figura 59: Placas de Cromatografia de Camada Delgada reveladas por (a) Luz UV e (b) Ácido fosfomolíbico com aquecimento

Como a atividade larvicida do lapachol já é descrita na literatura, optou-se por investigar o composto majoritário potencialmente larvicida presente em FR20. Então, essa fração foi submetida a uma nova Cromatografia de Coluna Aberta. Foram utilizados 400mg de FR20, sendo obtidas vinte e três subfrações identificadas como FR20-1 a FR20-23. Após a secagem total do solvente observou-se que à temperatura ambiente FR20-2 formou cristais amarelados e as frações FR20-3 e FR20-4 se cristalizaram na cor laranja (Figura 60). As demais frações apresentaram aspecto oleoso.

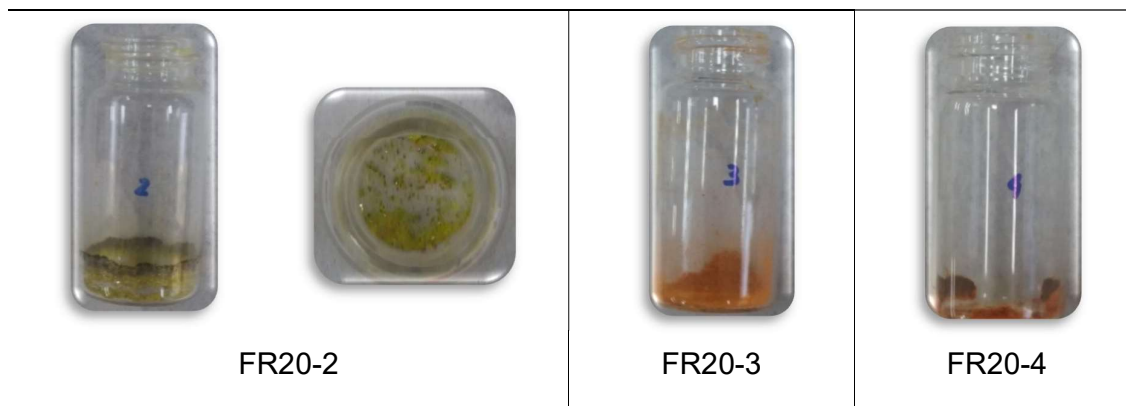


Figura 60: Aspecto físico à temperatura ambiente de FR20-2, FR20-3 e FR20-4.

A análise comparativa por Cromatografia de Camada Delgada das frações com o lapachol comercial (padrão) sugeriu a presença deste composto em FR20-1 a FR20-5 sendo este o composto majoritário apenas em FR20-1 e FR20-2 (Figura 61). As manchas obtidas para as frações FR20-3, FR20-4 e FR20-5 sugerem que outro composto se apresenta como o majoritário. Dentre esses, FR20-2 e FR20-4 se destacaram por apresentar uma mancha mais delimitada e aparentemente mais pura.

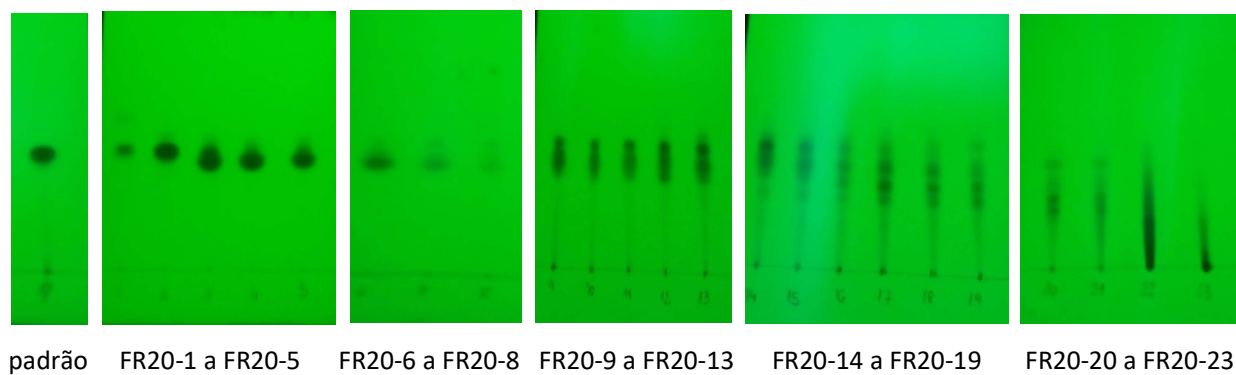


Figura 61: Placas de CCD reveladas por luz UV das frações FR20-1 a FR20-23 e do lapachol comercial (padrão).

Diante dos resultados obtidos por Cromatografia de Camada Delgada e os aspectos físicos observados à temperatura ambiente, as frações FR20-2 e FR20-4 foram escolhidas para a continuidade da investigação química. O objetivo dessa investigação era de confirmar a presença do lapachol em FR20-2 e de isolar e identificar o composto majoritário de FR20-4.

A confirmação da presença do lapachol foi feita através da análise por RMN de ^1H de FR20-2 que mostrou sinais similares aos encontrados na literatura para a substância 2-hydroxy-3-(3'-methylbut-2'-enyl)naphthalene-1,4-dione (lapachol): δ_{H} 1,69 (s), 1,79 (s), 3,3 (d), 5,2 (t), 7,7 (m) e 8,1 (m) ppm, conforme pode ser visto na Figura 62 e na Tabela 13 [124]. O resultado da análise por UHPLC/DAD/MS reforçou a identificação dessa molécula com $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 243.1002 (calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 243.1016) e pureza cromatográfica de 96,95% (Figura 65).

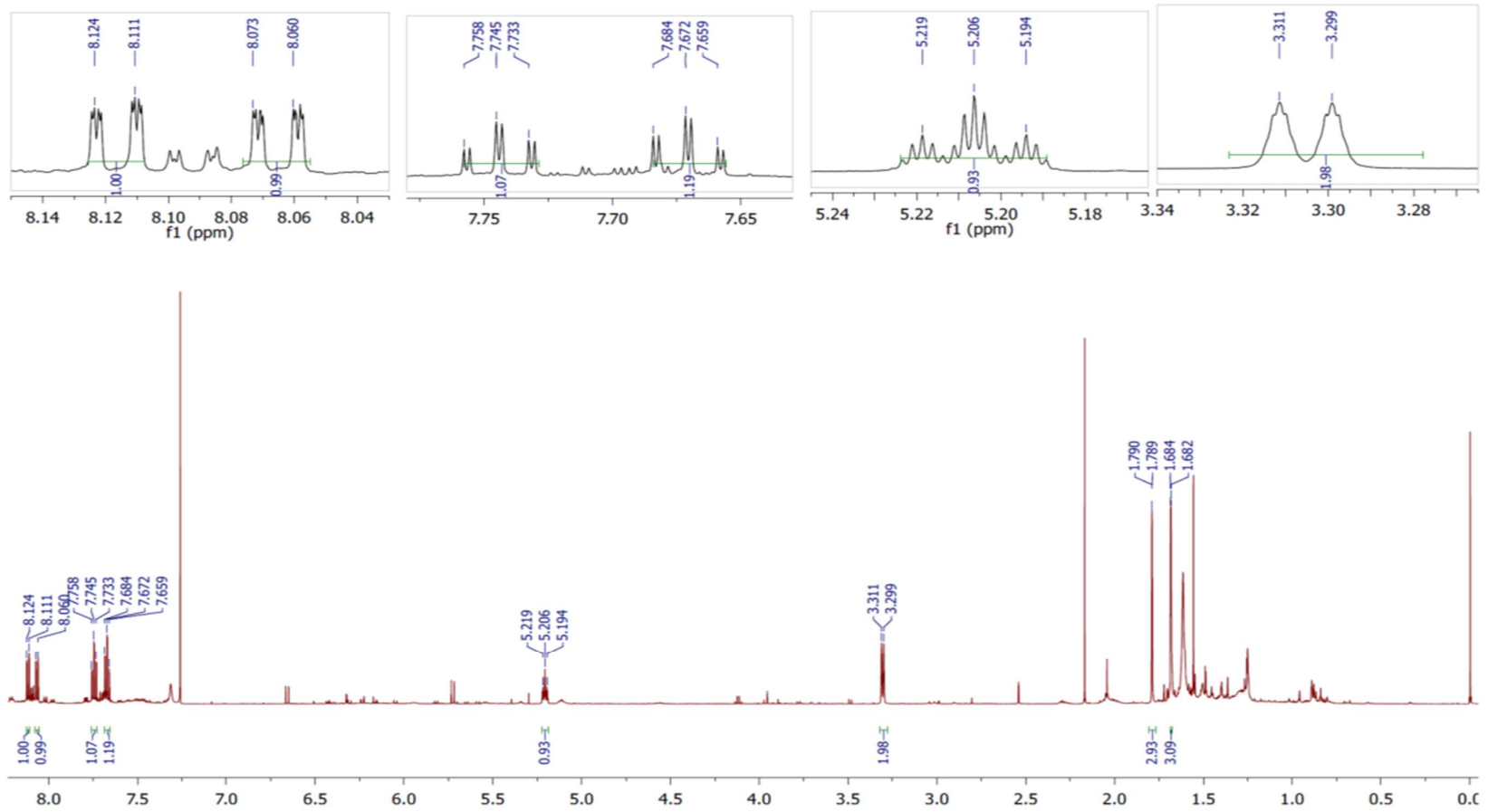


Figura 62: Espectro de RMN de ^1H da fração FR20-2.

Em relação à FR20-4, os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C mostraram sinais similares aos encontrados na literatura (Tabela 13) para a substância 2,2-dimethylbenzo[g]chromene-5,10-dione (desidro- α -lapachona): δH 1,55 (s), 5,72 (d;10,0), 6,65 (d;10,0), 7,72-7,66 (m) e 8,10-8,08 (m) ppm (Figura 62); e δC 28,4, 80,5, 115,5, 130,9, 131,5, 131,6, 126,2, 133,2, 133,9, 181,9, 117,8, 152,5 e 179,9 ppm (Figura 63) [1]. A confirmação da fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3$) e a identificação da molécula foram feitas por UHPLC/DAD/MS com $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 241.0852 (calculado $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 241.0859). A pureza cromatográfica foi de 94,98 % (Figura 64).

A Tabela 13 mostra os dados de RMN obtidos para FR20-2, FR20-4 e os encontrados na literatura para as substâncias lapachol e desidro- α -lapachona.

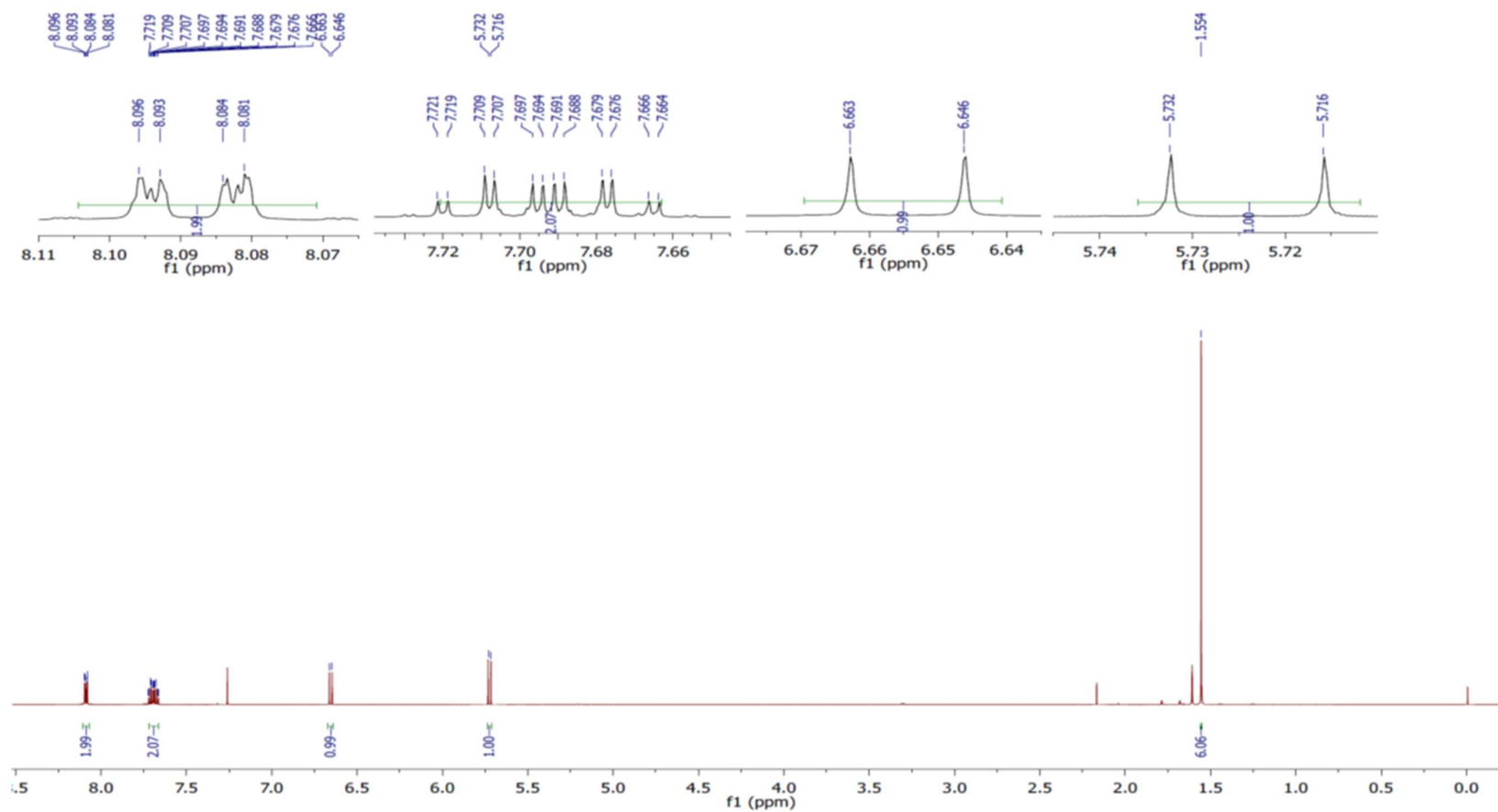


Figura 63: Espectro de RMN de ^1H da fração FR20-4.

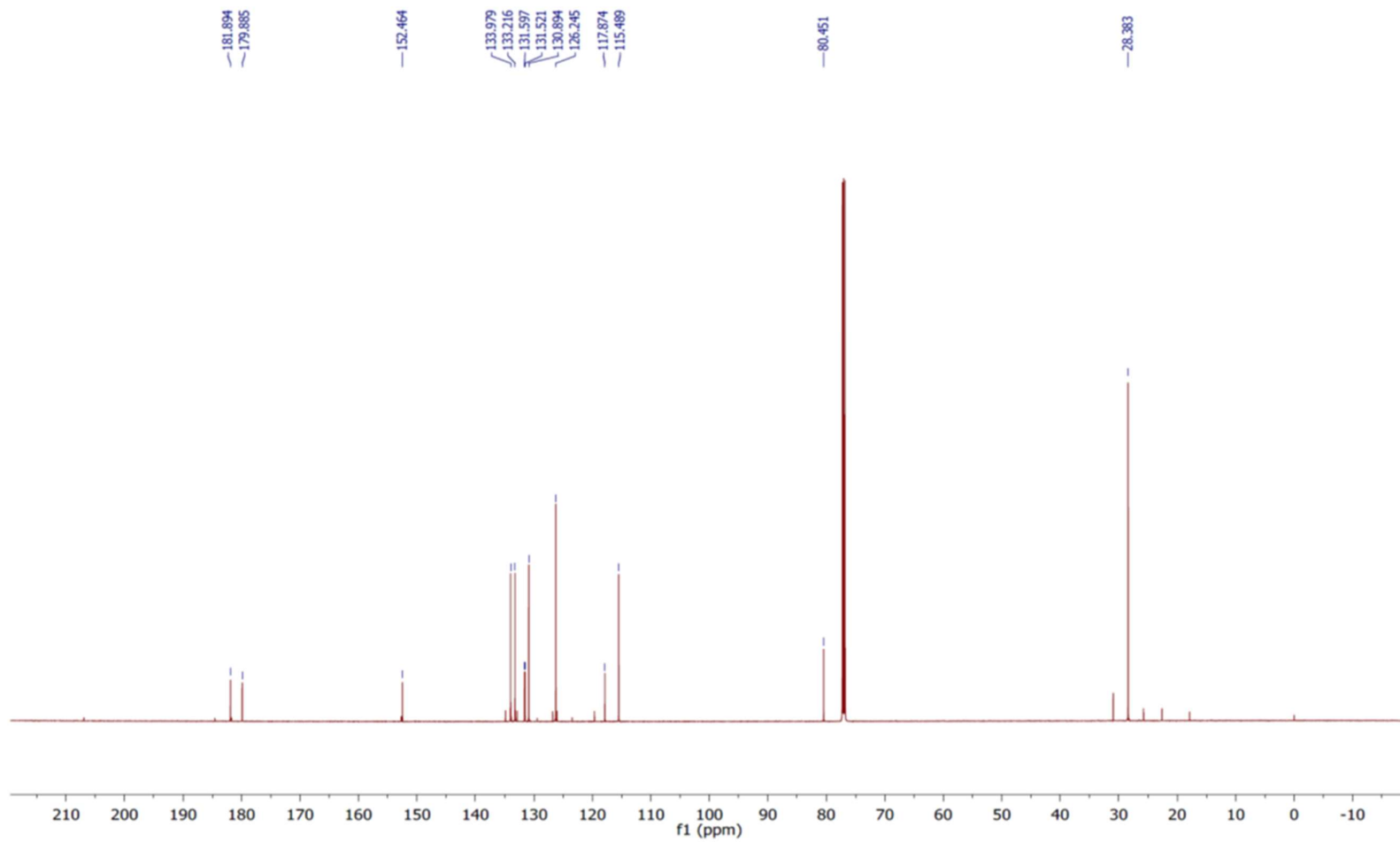


Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C da fração FR20-4.

Tabela 13. Dados de RMN de FR20-2 e FR20-4 e da literatura para lapachol e desidro- α -lapachona

N°	LITERATURA		LITERATURA			
	FR20-2	lapachol [124]	FR20-4		desidro- α -lapachona [1]	
	δ H	δ H	δ H	δ C	δ H	δ C
1				179,9		179,9
2				152,5		152,5
3				117,8		117,9
4				181,9		181,9
5	8,11(d;7,7)	8,07(d;7,5)	8,10-8,08(m)		8,10-8,09 (m)	126,2
6	7,73(t;7,5)	7,70(t;7,5)	7,72-7,66(m)	133,9	7,72-7,68 (m)	134,0
7	7,65(t;7,5)	7,62(t;7,5)	7,72-7,66(m)	133,2	7,72-7,68 (m)	133,2
8	8,05(d;7,6)	8,02(d;7,5)	8,10-8,08(m)	126,2	8,10-8,09 (m)	126,2
9				131,6		131,6
10				131,5		131,5
11			6,65 (d;10,0)	115,5	6,66 (d; 10,0)	115,5
12			5,72 (d;10,0)	130,9	5,73 (d; 10,0)	130,9
13				80,5		80,5
14			1,55 (s)	28,4	1,56 (s)	28,4
15			1,55 (s)	28,4	1,56 (s)	28,4
1'	3,29(d;7,3)	3,27(d;7,3)				
2'	5,18(t;7,3)	5,17(t;7,3)				
4'	1,78(s)	1,75(s)				
5'	1,68(s)	1,64(s)				

δ _H (multiplicidade; J em Hz).

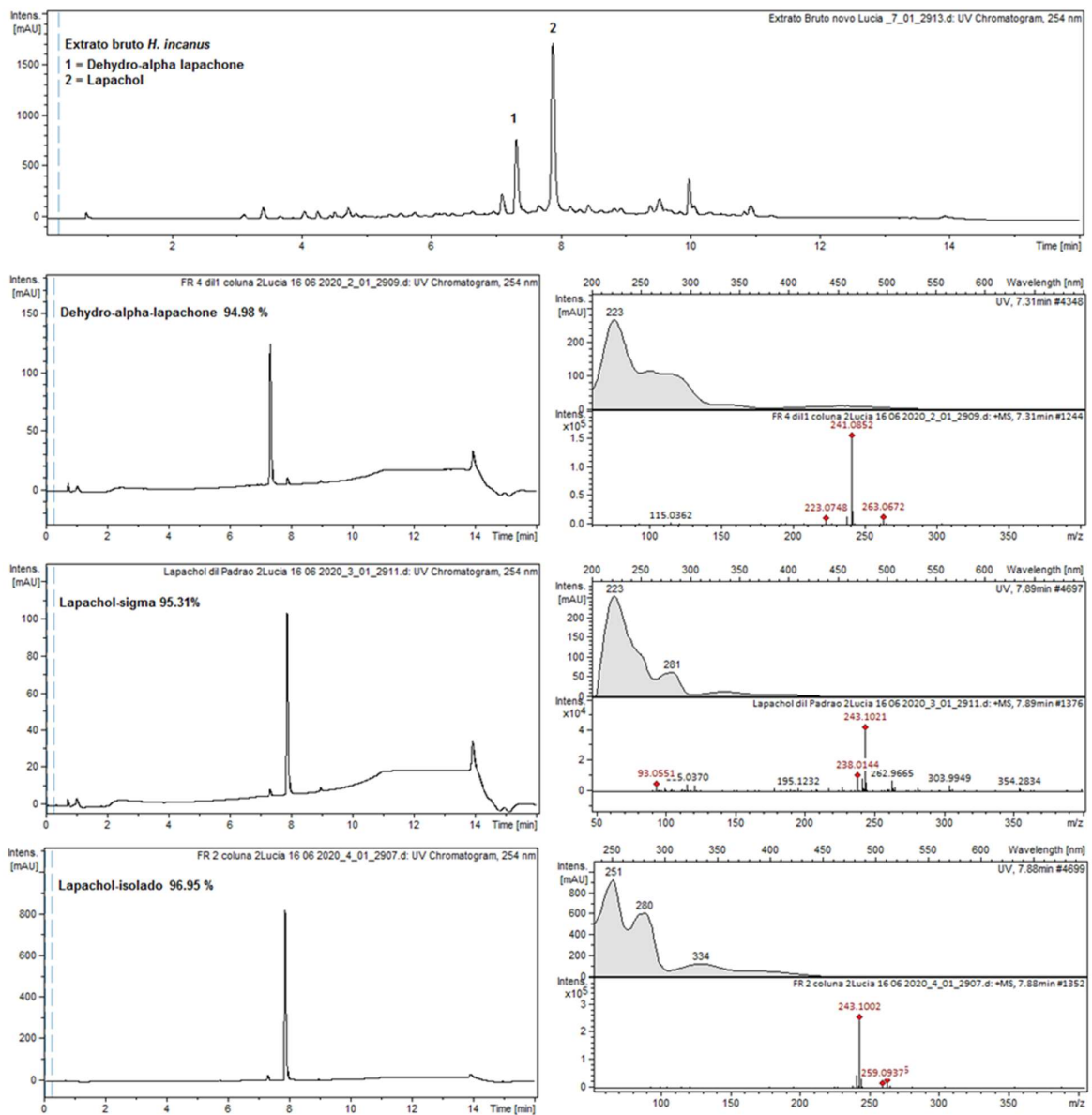


Figura 65. Resultados obtidos por UHPLC-DAD-MS do extrato bruto de *Handroanthus incanus*, compostos isolados e do lapachol comercial

Após o isolamento e a identificação das moléculas presentes em FR20-2 e FR20-4 foram conduzidos novos ensaios larvicidas contra o *Aedes aegypti* para o cálculo de CL₅₀. Além das moléculas isoladas, também foram testados o extrato bruto de *Handroanthus incanus* utilizado na Cromatografia de Coluna Aberta e o lapachol comercial. Os resultados obtidos para CL₅₀ foram iguais a 97,07ppm para o extrato bruto; 6,39ppm para o lapachol isolado (FR20-2); 43,47ppm para a desidro- α -lapachona (FR20-4) e 10,33ppm para o lapachol comercial (Figura 66).

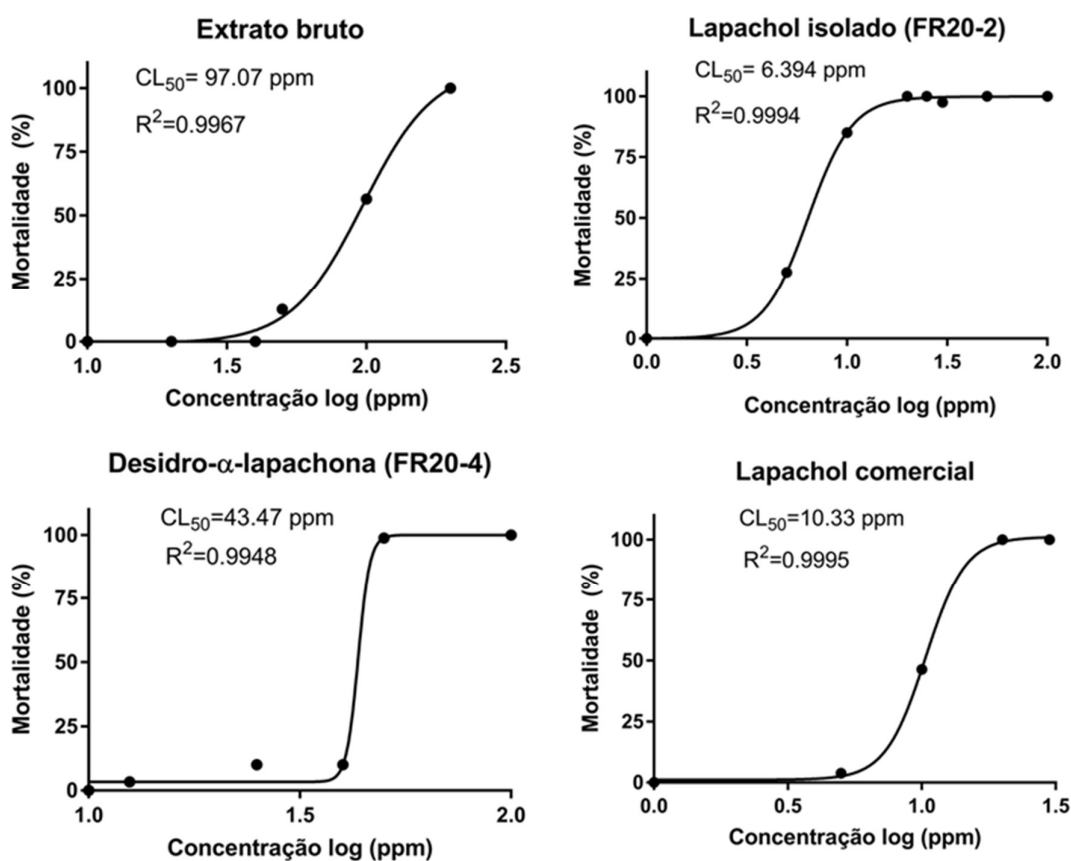


Figura 66. Curvas de dose-resposta para a atividade larvicida contra *Aedes aegypti*

O lapachol é uma naftoquinona encontrada em muitas espécies de Bignoniaceae e Verbenaceae [125]. À temperatura ambiente se apresenta sob a forma de pigmento cristalino amarelo e possui atividade antiparasitária,

antibacteriana, antifúngica e antitumoral [84, 126]. Na literatura, a ação dessa substância é descrita como CL₅₀ de 20,79ppm e de 26,3ppm contra larvas de *Aedes aegypti* e CL₅₀ igual a 12,75ppm contra *Artêmia salina* [94, 124]. Neste trabalho, a ação larvicida tanto do lapachol isolado e do lapachol comercial foram mais intensas que os valores da literatura, com CL₅₀ iguais a 6,39 e 10,33 ppm, respectivamente.

A desidro- α -lapachona pode ser encontrada em espécies de Bignoniaceae e à temperatura ambiente se apresenta sob a forma de cristal alaranjado [125]. É uma substância considerada atóxica e possui propriedades antivasculares levando a um efeito antitumoral [127]. Não foram encontradas na literatura informações sobre a atividade larvicida desse composto, sendo, portanto, descrito neste trabalho pela primeira vez. Adotando os diversos critérios disponíveis na literatura, inclusive os mais restritivos, o resultado de CL₅₀ igual a 43,47ppm obtido para a substância desidro- α -lapachona classifica esse composto como de alta atividade larvicida contra *Aedes aegypti* [43, 61, 87, 106, 128, 129].

Quando comparado a um dos larvicidas mais usados no Brasil, o temefós (CL₅₀ entre 2,3ppm a 9,4ppm), os resultados encontrados neste estudo para a substância desidro- α -lapachona indicam uma menor efetividade da ação contra *Aedes aegypti* [23, 61, 62]. Contudo, a origem natural dessa substância pode propiciar diversas vantagens ambientais em relação ao uso do larvicida organofosforado, tais como menor toxicidade a organismos não alvos e maior biodegradabilidade.

Para facilitar a visualização dos resultados obtidos neste Capítulo, as etapas e os dados gerados pelos ensaios biológicos contra as larvas do mosquito *Aedes aegypti* foram esquematizados na Figura 67.

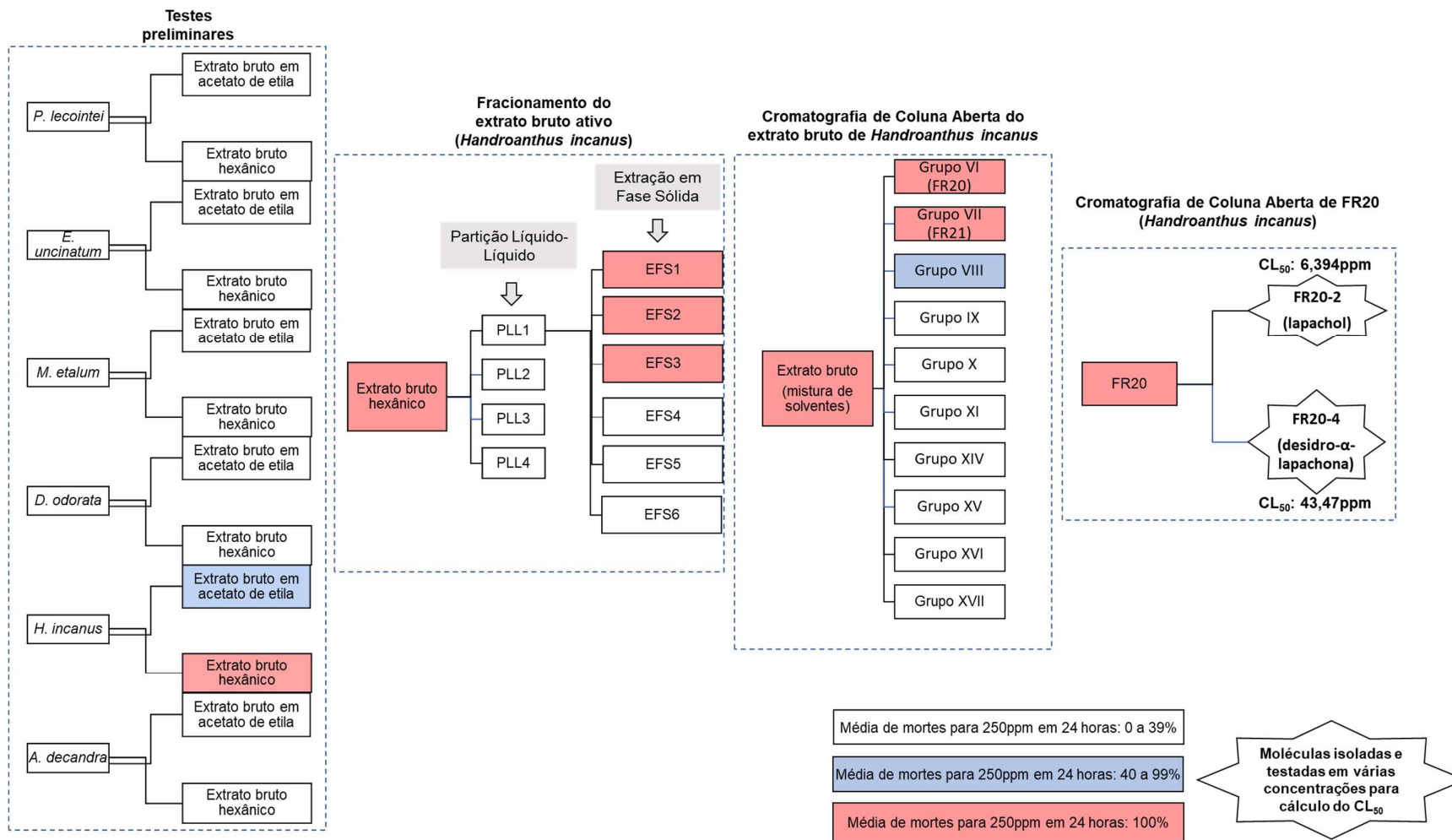


Figura 67: Esquematização dos resultados obtidos.

IV. Considerações sobre o Capítulo 2

Neste trabalho foi avaliada a atividade larvívica contra o mosquito *Aedes aegypti* de extratos brutos do caule de seis espécies madeireiras: *Peltogyne lecointei*, *Martiodendron elatum*, *Dipteryx odorata*, *Erismia uncinatum*, *Allantoma decandra* e *Handroanthus incanus*. O extrato bruto hexânico da espécie *Handroanthus incanus* apresentou, na concentração de 250ppm, 100% de mortalidade das larvas após 24h. As demais espécies apresentaram pouca ou nenhuma atividade.

O estudo químico do extrato hexânico da espécie *Handroanthus incanus* possibilitou o isolamento e a identificação das moléculas lapachol e desidro- α -lapachona como as principais responsáveis pela ação larvívica do material vegetal bruto, apresentando CL₅₀ iguais a 6,39ppm e 43,47ppm, respectivamente. O lapachol é uma substância com atividade larvívica já conhecida enquanto que a ação contra as larvas do *Aedes aegypti* da desidro- α -lapachona é descrita pela primeira vez.

Diante dos resultados encontrados, infere-se que a desidro- α -lapachona é uma substância que deve ser melhor investigada como uma possível fonte alternativa de larvívica natural contra o mosquito *Aedes aegypti*. Para tanto, sugere-se uma análise mais aprofundada da toxicidade dessa molécula no meio ambiente e da viabilidade comercial do uso da madeira de *Handroanthus incanus* como matriz desse composto.

4. Considerações finais

A análise conjunta dos resultados apresentados nos Capítulos 1 e 2 desta Tese permite inferir algumas informações importantes a respeito do uso da madeira como matriz para o desenvolvimento de produtos larvicidas contra o *Aedes aegypti*.

A primeira constatação diz respeito a existência de inúmeros compostos naturais presentes em diversas espécies madeireiras com efetividade similar a de larvicidas sintéticos convencionais, como o temefós.

A segunda constatação é de que esses compostos podem apresentar alta atividade tanto na sua forma bruta (extratos e óleos essenciais), como em frações e em moléculas isoladas.

A terceira constatação está relacionada aos benefícios relacionados ao uso de larvicidas naturais provenientes da madeira, tais como: obtenção a partir de recurso renovável, maior biodegradabilidade, menor toxicidade aos organismos não alvos, contribuição para o enfrentamento da resistência dos insetos devido ao mecanismo de ação diferenciado e ainda, a possibilidade de reaproveitamento dos resíduos gerados no processo de beneficiamento da madeira.

Por fim, conclui-se que a madeira pode ser fonte de larvicidas naturais e que seu uso para esse fim pode agregar valor à essa matéria prima e assim estimular o uso sustentável desse recurso florestal. Para tanto, é imprescindível a continuidade da pesquisa tanto em relação à toxicidade aos organismos não alvos e a viabilidade comercial dos compostos já identificados como ativos quanto em relação a análise das demais espécies madeireiras ainda não investigadas.

5. Referências bibliográficas

- [1] L. E. S. de Melo, “Estudo químico de resíduos madeiros de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson, *Acacia mangium* Willd. e *Dipteryx polyphylla* Huber”, 2016.
- [2] J. M. Vidal, W. V. Evangelista, J. de C. Silva, e I. P. Jankowsky, “Preservação de Madeiras no Brasil, cenário atual e tendências”, *Ciência Florest.*, vol. 25, nº 1, p. 257–271, 2015.
- [3] G. T. Kirker, A. B. Blodgett, R. A. Arango, P. K. Lebow, e C. A. Clausen, “The role of extractives in naturally durable wood species”, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 82, p. 53–58, 2013.
- [4] D. Fengel e G. Wegener, *Wood Chemistry ultrastructure reactions*. De Gruyter, 1983.
- [5] U. Klock e A. S. de Andrade, “Química da Madeira”, *Universidade Federal do Paraná*. Curitiba, 2013.
- [6] R. C. dos Santos *et al.*, “Effect of properties chemical and siringil/guaiacil relation wood clones of eucalyptus in the production of charcoal”, *Cienc. Florest.*, vol. 26, nº 2, 2016.
- [7] M. A. E. Santana e E. Y. A. Okino, “Chemical composition of 36 Brazilian Amazon forest wood species”, *Holzforschung*, vol. 61, nº 5, p. 469–477, 2007.
- [8] N. Valette, T. Perrot, R. Sormani, E. Gelhaye, e M. Morel-Rouhier, “Antifungal activities of wood extractives”, *Fungal Biol. Rev.*, p. 1–11, 2017.
- [9] I. D. K. Ferraz, N. Leal Filho, A. M. Imakawa, V. P. Varela, e F. C. M. Piña-Rodrigues, “Características básicas para um agrupamento ecológico preliminar de espécies madeireiras da floresta de terra firme da Amazônia Central”, *Acta Amaz.*, vol. 34, nº 4, p. 621–633, 2004.
- [10] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, “Pevs 2016: produção da silvicultura e da extração vegetal”, 2017, vol. 2016, p. 5–12, 2017.

- [11] E. Sjöström, *Wood Chemistry*. Academic Press, 1981.
- [12] D. N. S. Hon e N. Shiraishi, *Wood and Cellulosic Chemistry, Revised, and Expanded*. 2000.
- [13] C. L. S. de O. Mori, “Análise das características da madeira e do óleo essencial de candeia - *Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish, da região de Aiuruoca, MG.”, Universidade de São Paulo, 2008.
- [14] S. T. Chang, D. S. Y. Wang, C. L. Wu, S. G. Shiah, Y. H. Kuo, e C. J. Chang, “Cytotoxicity of extractives from *Taiwania cryptomerioides* heartwood”, *Phytochemistry*, vol. 55, nº 3, p. 227–232, 2000.
- [15] T. G. Santos *et al.*, “Chemical characterization of essential oils from *Drimys angustifolia* miers (Winteraceae) and antibacterial activity of their major compounds”, *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 24, nº 1, p. 164–170, 2013.
- [16] L. E. C. Ladino, Oscar Javier Patino; Suarez, “Chemical constituents of the wood from *Zanthoxylum quinduense* Tul. (Rutaceae)”, *Quim. Nova*, vol. 33, nº 5, p. 1019–1021, 2010.
- [17] R. Pavela, F. Maggi, R. Iannarelli, e G. Benelli, “Plant extracts for developing mosquito larvicides: From laboratory to the field, with insights on the modes of action”, *Acta Trop.*, vol. 193, nº January, p. 236–271, 2019.
- [18] E. R. Cole, “Estudo Fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* RADDI) e sua eficácia no combate ao dengue”, 2008.
- [19] I. M. Chung, S. H. Seo, E. Y. Kang, S. D. Park, W. H. Park, e H. I. Moon, “Chemical composition and larvicidal effects of essential oil of *Dendropanax morbifera* against *Aedes aegypti* L.”, *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 37, nº 4, p. 470–473, 2009.
- [20] J. Subramaniam, K. Kovendan, K. Murugan, e W. Walton, “Mosquito larvicidal activity of *Aloe vera* (Family : Liliaceae) leaf extract and *Bacillus sphaericus* , against *Chikungunya* vector , *Aedes aegypti*”, *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 19, nº 4, p. 503–509, 2012.

- [21] D. Wahyuni, "New bioinsecticide granules toxin from extract of papaya (*Carica papaya*) seed and leaf modified against *Aedes aegypti* larvae", *Procedia Environ. Sci.*, vol. 23, nº Ictcred 2014, p. 323–328, 2015.
- [22] M. Govindarajan, "Evaluation of *Andrographis paniculata* Burm. f. (Family : Acanthaceae) extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera : Culicidae)", *Asian Pac. J. Trop. Med.*, vol. 4, nº 3, p. 176–181, 2011.
- [23] L. M. G. E. Silva, "Estudo químico biomonitorado por ensaio com larvas *Aedes Aegypti* das espécies *Ocotea velloziana* (Meisn.) Mez. e *Aiouea trinervis* (Meisn.)", p. 110, 2010.
- [24] R. Pavela, "Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review", *Ind. Crops Prod.*, vol. 76, p. 174–187, 2015.
- [25] W. S. Garcez, F. R. Garcez, L. M. G. E. Silva, e U. C. Sarmento, "Naturally occurring plant compounds with larvicidal activity against *aedes aegypti*", *Rev. Virtual Quim.*, vol. 5, nº 3, p. 363–393, 2013.
- [26] Ministério da Saúde, *Guia de vigilância em saúde 3ª edição*. 2019.
- [27] A. C. J. De Souza Wuillda, R. C. C. Martins, e F. D. N. Costa, "Larvicidal activity of secondary plant metabolites in *Aedes aegypti* control: An overview of the previous 6 years", *Nat. Prod. Commun.*, vol. 14, nº 7, 2019.
- [28] M. A. de Souza *et al.*, "Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) – A review", *South African J. Bot.*, vol. 124, p. 160–165, 2019.
- [29] C. Guarda, J. A. Lutinski, W. A. Roman, e M. A. Busato, "Atividade larvicida de produtos naturais e avaliação da susceptibilidade ao inseticida temefós no controle do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)", *Interciencia*, vol. 41, nº 4, p. 243–247, 2016.
- [30] A. R. Ishak, N. C. Dom, H. Hussain, e N. H. Sabri, "Biolarvacidal Potential of *Ipomoea Cairica* Extracts Against Key Dengue Vectors", *Procedia - Soc. Behav.*

- Sci.*, vol. 153, p. 180–188, 2014.
- [31] L. Mukandiwa, J. N. Eloff, e V. Naidoo, “Larvicidal activity of leaf extracts and seselin from *Clausena anisata* (Rutaceae) against *Aedes aegypti*”, *South African J. Bot.*, vol. 100, p. 169–173, 2015.
- [32] A. L. Gonzaga, *Madeira: uso e conservação*. Brasília: IPHAN/Monumenta, 2006.
- [33] V. K. D. Wille, A. D. Wastowski, C. Pedrazzi, e M. P. Sauer, “Composição química da madeira de *Cordia trichotoma*”, *Cienc. Florest.*, p. 169–176, 2017.
- [34] D. L. Nelson e M. M. Cox, *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 6º ed. 2014.
- [35] G. T. Kirker, A. B. Blodgett, R. A. Arango, P. K. Lebow, e C. A. Clausen, “The role of extractives in naturally durable wood species”, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 82, p. 53–58, 2013.
- [36] J. J. Taylor, Adam M; Gartner, Barbara L; Morrell, “Heartwood formation and natural durability - a review.pdf”, *Wood Fiber Sci.*, vol. 34, 2002.
- [37] M. Sadiki, S. Elabed, H. Barkai, M. Balouiri, A. Nasri, e S. I. Koraichi, “The modification of cedar wood surface properties for the prevention of fungal adhesion”, *Int. J. Adhes. Adhes.*, vol. 75, nº December 2016, p. 40–46, 2017.
- [38] F. Silvério, “Caracterização de extrativos de madeira de eucalyptus e depósitos de pitch envolvidos na fabricação de celulose e papel”, Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.
- [39] L. L. N. Araújo, “Características morfofológicas, produção e composição de óleo essencial em folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- Lamiaceae cultivada em diferentes níveis de sombreamento”, Universidade Federal de Goiás, 2014.
- [40] C. M. da Silva, “Metabólitos Secundários De Plantas Do Semi-Árido De Pernambuco – Uma Inovação no controle de fitopatógenos”, Universidade Federal de Pernambuco, 2013.

- [41] M. Vizzotto, "Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância", *Embrapa Clima Temperado*, vol. 1, nº 2, p. 16, 2010.
- [42] P. R. Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P; Mentz, L. A; Petrovick, *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- [43] Clarice Noletto Dias, "Avaliação da atividade larvicida em *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) de óleos essenciais de espécies vegetais: um estudo de revisão e bioprospecção", Universidade Federal do Maranhão, 2013.
- [44] Secretaria de Saúde do Estado de Santa Catarina, "Guia de orientação para treinamento de técnicos de Laboratório de Entomologia", 2015.
- [45] Sandra Regina Lima Santos, "Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao *Aedes aegypti*", Universidade Federal de Sergipe, 2014.
- [46] M. A. V. de M. Santos, "*Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Estudos populacionais e estratégias integradas para controle vetorial em municípios da região metropolitana do Recife, no período de 2001 a 2007", Fundação Oswaldo Cruz, 2008.
- [47] R. W. da Silva, "Análise da estrutura populacional de mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em diferentes estratos urbanos na cidade de São Paulo, utilizando morfometria geométrica alar e marcadores microsatélites", Universidade de São Paulo, 2017.
- [48] L. P. Vieira, "Resposta fisiológica de fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) à infecção pelo fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*", Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2012.
- [49] A. E. H. D. Cavalcanti, "Caracterização da resistência aos piretroides pelo mecanismo de penetração reduzida em populações *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), do Estado de Pernambuco", Fundação Oswaldo Cruz, 2017.
- [50] OPAS/Brasil, "Folha informativa - dengue e dengue grave". [Online]. Available at:

- https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812. [Acessado: 10-jan-2020].
- [51] Ministério da Saúde, “Dengue: sintomas, causas, tratamento e prevenção”. [Online]. Available at: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/dengue>. [Acessado: 10-jan-2020].
- [52] Infoescola, “Chikungunya”. [Online]. Available at: <https://www.infoescola.com/doencas/chikungunya/>. [Acessado: 10-jan-2020].
- [53] OPAS/Brasil, “Perguntas e respostas sobre o vírus zika e suas consequências”. [Online]. Available at: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5292:perguntas-e-respostas-sobre-o-virus-zika-e-suas-consequencias&Itemid=882. [Acessado: 10-jan-2020].
- [54] S. M. Echeverry, H. I. Medina, G. M. Costa, e D. M. Aragón, “Optimization of flavonoid extraction from *Passiflora quadrangularis* leaves with sedative activity and evaluation of its stability under stress conditions”, *Brazilian J. Pharmacogn.*, nº 2017, p. 4–11, 2018.
- [55] OPAS/Brasil, “Folha informativa - Febre amarela”. [Online]. Available at: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5578:folha-informativa-febre-amarela&Itemid=875. [Acessado: 20-jan-2020].
- [56] W. S. Garcez, F. R. Garcez, L. M. G. E. Silva, e U. C. Sarmiento, “Naturally occurring plant compounds with larvicidal activity against *aedes aegypti*”, *Rev. Virtual Quim.*, vol. 5, nº 3, p. 363–393, 2013.
- [57] I. A. Braga e D. Valle, “*Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência”, *Epidemiol. e Serviços Saúde*, vol. 16, nº 4, p. 279–293, dez. 2007.
- [58] D. Navarro, P. Silva, M. Silva, T. Napoleao, e P. Paiva, “Larvicidal Activity of Plant and Algae Extracts, Essential Oils and Isolated Chemical Constituents against *Aedes aegypti*”, *Nat. Prod. J.*, vol. 3, p. 268–291, 2013.

- [59] R. A. Borges, W. Arruda, E. S. F. de Oliveira, G. M. Cavasin, H. H. G. da Silva, e I. G. da Silva, “Mecanismo da ação larvívica do diflubenzuron sobre *Aedes aegypti* evidenciados pelas alterações ultraestruturais”, *Rev. Patol. Trop.*, vol. 41, nº 2, p. 222–232, 2012.
- [60] Ministério da Saúde, “Larvívicas”. [Online]. Available at: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/control-de-vetores-inseticidas-e-larvívicas/larvívicas>. [Acessado: 10-jan-2020].
- [61] W. S. Garcez, F. R. Garcez, L. M. G. E. da Silva, e L. Hamerski, “Larvívica activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil”, *Bioresour. Technol.*, 2009.
- [62] M. D. L. D. G. Macoris, M. T. M. Andrighetti, V. C. G. Otrera, L. R. De Carvalho, A. L. Caldas, e W. G. Brogdon, “Association of insecticide use and alteration on *Aedes aegypti* susceptibility status”, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 102, nº 8, p. 895–900, 2007.
- [63] Serviço Florestal Brasileiro, “Floresta Nacional de Jacundá (RO)”, 2019. [Online]. Available at: <http://www.florestal.gov.br/florestas-sob-concessao/92-concessoes-florestais/florestas-sob-concessao/103-floresta-nacional-de-jacunda-ro>. [Acessado: 06-dez-2019].
- [64] Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, “Plano de Manejo da Floresta Nacional de Jacundá, localizada no Estado de Rondônia”. Porto Velho, 2010.
- [65] Serviço Florestal Brasileiro, “Florestas do Brasil”, 2019.
- [66] Serviço Florestal Brasileiro, “Concessões Florestais”. [Online]. Available at: <http://www.florestal.gov.br/o-que-e-concessao-florestal>. [Acessado: 15-jan-2020].
- [67] Serviço Florestal Brasileiro, “Balanço de Produção - Jacundá (RO)”. [Online]. Available at: <http://www.florestal.gov.br/florestas-sob-concessao/101-concessoes-florestais/florestas-sob-concessao/jacunda/623-balanco-de-producao-jacunda-ro>. [Acessado: 15-jan-2020].

- [68] R. B. Garden, “Plants of the world online”. [Online]. Available at: <http://powo.science.kew.org/>. [Acessado: 27-jan-2021].
- [69] Instituto de Pesquisas Tecnológicas, “Informações sobre madeira”. [Online]. Available at: https://www.ipt.br/consultas_online/informacoes_sobre_madeira. [Acessado: 27-jan-2021].
- [70] M. F. da Silva, “Revisão taxonômica do gênero *Peltogyne* Vog. (Leguminosae-Caesalpinioideae)”, *Acta Amaz.*, vol. 6, nº 1 suppl 1, p. 5–61, 1976.
- [71] A. P. S. Almeida, D. A. Rodrigues, e P. A. R. Castelo, “Determinação das Propriedades Químicas de Madeiras da Amazônia Meridional”, vol. 1, nº 1d, p. 1–4, 2015.
- [72] M. E. De Almeida, O. R. Gottlieb, J. Rego de Sousa, e M. A. Teixeira, “New peltogynoids from three *Peltogyne* species”, *Phytochemistry*, 1974.
- [73] A. M. de S. Rodrigues, “Análise e valorização bioinspirada dos metabólitos secundários responsáveis pela durabilidade natural de madeiras exploradas na Guiana Francesa Análise e valorização bioinspirada dos metabólitos secundários responsáveis pela durabilidade natural de madeir”, 2010.
- [74] N. B. Logsdon, Z. Finger, e Z. M. dos S. H. de Mendoza, “Caracterização físico-mecânica da madeira de tamarindo, *Martiodendron elatum* (Ducke) Gleason”, *Multitemas*, vol. 44, p. 97–119, 2013.
- [75] M. D. L. Zau, R. P. de Vasconcelos, V. M. Giacon, e F. A. R. Lahr, “Avaliação das propriedades química, física e mecânica de painéis aglomerados produzidos com resíduo de madeira da Amazônia - Cumaru (*Dipteryx Odorata*) e resina poliuretana à base de óleo de mamona”, *Polímeros*, vol. 24, nº 6, p. 726–732, dez. 2014.
- [76] P. D. E. P. E. M. Química, “Contribuição na investigação fitoquímica de *Glycine max* (soja) e *Dipteryx odorata* (cumaru) – otimização de análise cromatográfica e caracterização estrutural de flavonoides Carolina Passos da Cunha”, 2013.

- [77] J. Figueroa, E. Sanoja, e L. Delgado, “Árboles utilizados como productos forestales no maderables en la cuenca del río Botanamo, Estado Bolívar, Venezuela”, *Acta Botánica Venezolánica*, vol. 33, nº 1, p. 119–135, maio 2010.
- [78] F. C. Neto, A. C. Pilon, D. H. S. Silva, V. Da Silva Bolzani, e I. Castro-Gamboa, “Vochysiaceae: Secondary metabolites, ethnopharmacology and pharmacological potential”, *Phytochem. Rev.*, vol. 10, nº 3, p. 413–429, 2011.
- [79] O. P. Filho, A. Dorval, M. J. Duda, e R. G. Moura, “Efeito de extratos de madeiras de quatro espécies Nasutitermes sp . (Isoptera, Termitidae) response to extracts from four Brazilian woods”, *Sci. For.*, vol. 71, p. 51–54, 2006.
- [80] M. Verma, S. Sharma, e R. Prasad, “Biological alternatives for termite control: A review”, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 63, nº 8, p. 959–972, 2009.
- [81] J. A. Costa, “Classificação de madeiras da Amazônia para composição de instrumento musical de corda por meio da técnica de excitação por impulso”, Universidade Federal do Amazonas, 2017.
- [82] Amata, “Guia de madeiras”. .
- [83] S. R. Dos Santos, “A atual classificação do antigo gênero *Tabebuia* (Bignoniaceae), sob o ponto de vista da anatomia da madeira”, *Balduinia*, nº 58, p. 10, 2017.
- [84] R. D. Lima, “Estudo fitoquímico de ipês amazônicos (*Tabebuia incana* A. H. Gentry e *Tabebuia serratifolia* (VAHL) G. Nicholson e definição de perfil cromatográfico de amostra comercial”, Universidade Federal do Amazonas, 2018.
- [85] A. Braga de Oliveira, D. S. Raslan, G. G. de Oliveira, e J. G. S. Maia, “Lignans and naphthoquinones from *Tabebuia incana*”, *Phytochemistry*, vol. 34, nº 5, p. 1409–1412, 1993.
- [86] J. C. M. Borges *et al.*, “Mosquitocidal and repellent potential of formulations containing wood residue extracts of a Neotropical plant, *Tabebuia heptaphylla*”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 129, p. 424–433, 2019.

- [87] A. M. . Rodrigues, J. E. De Paula, N. Degallier, J. . Molez, e L. S. Espíndola, “Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*”, *Am. Mosq. Control Assoc.*, vol. 22, nº 2, p. 314–317, 2006.
- [88] Food and Agriculture Organization of the United Nations, “Global Forest Resources Assessment”, 2005.
- [89] S. P. Hubbell, F. He, R. Condit, L. Borda-de-Água, J. Kellner, e H. Ter Steege, “How many tree species are there in the Amazon and how many of them will go extinct?”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 105, nº SUPPL. 1, p. 11498–11504, 2008.
- [90] A. F. Batista, “O uso de ferramentas de otimização para Concessões Florestais na Amazônia: uma abordagem econômica”, in *III Prêmio Serviço Florestal Brasileiro em Estudos de Economia e Mercado Florestal*, 2015.
- [91] S. de F. de O. M. Santos e K. Hatakeyama, “Processo sustentável de produção de carvão vegetal quanto aos aspectos: ambiental, econômico, social e cultural”, *Produção*, vol. 22, nº 2, p. 309–321, 2012.
- [92] D. P. Demarque *et al.*, “Mass spectrometry-based metabolomics approach in the isolation of bioactive natural products”, *Sci. Rep.*, vol. 10, nº 1, p. 1–9, 2020.
- [93] M. C. de Omena, D. M. A. F. Navarro, J. E. de Paula, J. S. Luna, M. R. Ferreira de Lima, e A. E. G. Sant’Ana, “Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants”, *Bioresour. Technol.*, vol. 98, nº 13, p. 2549–2556, 2007.
- [94] A. M. S. Rodrigues, J. E. De Paula, F. Roblot, A. Fournet, e L. S. Espíndola, “Larvicidal activity of *Cybistax antisiphilitica* against *Aedes aegypti* larvae”, *Fitoterapia*, 2005.
- [95] L. F. A. Garcia, J. P. B. Sousa, S. J. D. Melo, L. C. Albernaz, L. S. Espindola, e M. V. Correia, “Dehydro- α -lapachone obtained from *Handroanthus incanus* species displays *Aedes Aegypti* larvicidal activity”, *Int. J. Biol. Pharm. Allied Sci.*, vol. 10, nº 7, 2021.

- [96] C. M. B. Jaqueline *et al.*, “Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities of the wood extracts of *Tabebuia avellanedae* from the Cerrado of Brazil”, *J. Med. Plants Res.*, vol. 12, n° 25, p. 404–414, 2018.
- [97] J. G. M. Costa, H. I. F. Magalhães, T. L. G. Lemos, O. D. L. Pessoa, e G. M. Pinheiro, “Estudo fitoquímico de *Auxemma glazioviana* Taub.”, *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 12, p. 68–69, 2002.
- [98] S. S. Essam Abdel, C. Deon Vahid, B. Bruce, F. Y. Mohamed Wagdy, W. A. Hoda Abdel, e M. Abdel Hamid, “Efficacy of botanical extracts from *Callitris glaucophylla*, against *Aedes aegypti* and *Culex annulirostris* mosquitoes.”, *Trop. Biomed.*, vol. 23, n° 2, p. 180–185, 2006.
- [99] S. S. Cheng, H. T. Chang, S. T. Chang, K. H. Tsai, e W. J. Chen, “Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae”, *Bioresour. Technol.*, vol. 89, n° 1, p. 99–102, 2003.
- [100] P. M. Kuo, F. H. Chu, S. T. Chang, W. F. Hsiao, e S. Y. Wang, “Insecticidal activity of essential oil from *Chamaecyparis formosensis* Matsum”, *Holzforschung*, vol. 61, n° 5, p. 595–599, 2007.
- [101] S. S. Cheng, C. G. Huang, W. J. Chen, Y. H. Kuo, e S. T. Chang, “Larvicidal activity of tectoquinone isolated from red heartwood-type *Cryptomeria japonica* against two mosquito species”, *Bioresour. Technol.*, vol. 99, n° 9, p. 3617–3622, 2008.
- [102] H. J. Gu, S. S. Cheng, C. G. Huang, W. J. Chen, e S. T. Chang, “Mosquito larvicidal activities of extractives from black heartwood-type *Cryptomeria japonica*”, *Parasitol. Res.*, vol. 105, n° 5, p. 1455–1458, 2009.
- [103] S. S. Cheng, C. Y. Lin, M. J. Chung, Y. H. Liu, C. G. Huang, e S. T. Chang, “Larvicidal activities of wood and leaf essential oils and ethanolic extracts from *Cunninghamia konishii* Hayata against the dengue mosquitoes”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 47, p. 310, 2013.
- [104] P. C. Bezerra-Silva *et al.*, “Extract of *Bowdichia virgilioides* and *maackiain* as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito”, *Exp. Parasitol.*, vol. 153, p.

160–164, 2015.

- [105] S. Pluempanupat *et al.*, “Laboratory evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) extracts and isolated isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquitoes”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 44, p. 653–658, 2013.
- [106] M. Falkowski *et al.*, “Towards the optimization of botanical insecticides research: *Aedes aegypti* larvicidal natural products in French Guiana”, *Acta Trop.*, vol. 201, n° July 2019, p. 105179, 2020.
- [107] P. Tiew, J. R. Ioset, U. Kokpol, W. Chavasiri, e K. Hostettman, “Antifungal, antioxidant and larvicidal activities of compounds isolated from the heartwood of *Mansonia gagei*”, *Phyther. Res.*, vol. 17, n° 2, p. 190–193, 2003.
- [108] M. R. S. Silvério, L. S. Espindola, N. P. Lopes, e P. C. Vieira, “Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: The main vector of important arboviruses”, *Molecules*, vol. 25, n° 15, 2020.
- [109] W. Carvalho, L. Carrilha, A. Ferraz, e A. M. F. Milagres, “Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira”, *Quim. Nova*, vol. 32, n° 8, p. 2191–2195, 2009.
- [110] M. Z. Zaridah, M. A. N. Azah, e A. Rohani, “Mosquitocidal activities of malaysian plants”, *J. Trop. For. Sci.*, vol. 18, n° 1, p. 74–80, 2006.
- [111] R. H. Thomson, *Naturally Occurring Quinones IV*. 1996.
- [112] J. B. Harborne, *The flavonoids*. 1993.
- [113] A. N. Panche, A. D. Diwan, e S. R. Chandra, “Flavonoids: An overview”, *J. Nutr. Sci.*, vol. 5, 2016.
- [114] B. T. Martins, M. Correia da Silva, M. Pinto, H. Cidade, e A. Kijjoa, “Marine natural flavonoids: chemistry and biological activities”, *Nat. Prod. Res.*, vol. 33, n° 22, p. 3260–3272, 2019.
- [115] M. B. Quin, C. M. Flynn, e C. Schmidt-Dannert, “Traversing the fungal terpenome”, *Nat. Prod. Rep.*, vol. 31, n° 10, p. 1449–1473, 2014.

- [116] D. W. Christianson, "Structural and Chemical Biology of Terpenoid Cyclases", *Chem. Rev.*, vol. 117, n° 17, p. 11570–11648, 2017.
- [117] M. E. Maffei, J. Gertsch, e G. Appendino, "Plant volatiles: Production, function and pharmacology", *Nat. Prod. Rep.*, vol. 28, n° 8, p. 1359–1380, 2011.
- [118] S. Walia, S. Saha, V. Tripathi, e K. K. Sharma, "Phytochemical biopesticides: some recent developments", *Phytochem. Rev.*, vol. 16, n° 5, p. 989–1007, 2017.
- [119] X. Jiang, H. C. B. Hansen, B. W. Strobel, e N. Cedergreen, "What is the aquatic toxicity of saponin-rich plant extracts used as biopesticides?", *Environ. Pollut.*, vol. 236, p. 416–424, 2018.
- [120] M. R. Pino-Otín, D. Ballesterro, E. Navarro, A. González-Coloma, J. Val, e A. M. Mainar, "Ecotoxicity of a novel biopesticide from *Artemisia absinthium* on non-target aquatic organisms", *Chemosphere*, vol. 216, p. 131–146, 2019.
- [121] A. Biondi, L. Zappalà, J. D. Stark, e N. Desneux, "Do Biopesticides Affect the Demographic Traits of a Parasitoid Wasp and Its Biocontrol Services through Sublethal Effects?", *PLoS One*, vol. 8, n° 9, 2013.
- [122] L. K. Caesar e N. B. Cech, "Synergy and antagonism in natural product extracts: When 1 + 1 does not equal 2", *Nat. Prod. Rep.*, vol. 36, n° 6, p. 869–888, 2019.
- [123] R. Y. O. Moreira *et al.*, "Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae)", *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 16, n° 3, p. 392–396, 2006.
- [124] M. F. Oliveira, T. L. . Lemos, M. C. d. Mattos, T. A. Segundo, G. M. P. Santiago, e R. Braz-Filho, "New enamine derivatives of lapachol and biological activity", *An. Acad. Bras. Cienc.*, p. 211–221, 2002.
- [125] S. Otten e J. P. Rosazza, "Microbial transformations of natural antitumor agents: conversion of lapachol to dehydro- α -lapachone by *Curvularia lunata*", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 38, n° 2, p. 311–313, 1979.
- [126] Á. G. Ravelo, A. Estévez-Braun, e E. Pérez-Sacau, "The chemistry and biology of lapachol and related natural products α and β -lapachones", *Stud. Nat. Prod.*

Chem., vol. 29, n° PART J, p. 719–760, 2003.

- [127] I. Garkavtsev *et al.*, “Dehydro- α -lapachone, a plant product with antivasular activity”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 108, n° 28, p. 11596–11601, 2011.
- [128] A. S. Dias *et al.*, “Evaluation of the toxicity and molluscicidal and larvicidal activities of *Schinopsis brasiliensis* stem bark extract and its fractions”, *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 24, n° 3, p. 298–303, 2014.
- [129] N. Komalamisra, Y. Trongtokit, Y. Rongsriyam, e C. Apiwathnasorn, “Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species”, *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, vol. 36, n° 6, p. 1412–1422, 2005.
- [1] L. E. S. de Melo, “Estudo químico de resíduos madeiros de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson, *Acacia mangium* Willd. e *Dipteryx polyphylla* Huber”, 2016.
- [2] J. M. Vidal, W. V. Evangelista, J. de C. Silva, e I. P. Jankowsky, “Preservação de Madeiras no Brasil, cenário atual e tendências”, *Ciência Florest.*, vol. 25, n° 1, p. 257–271, 2015.
- [3] G. T. Kirker, A. B. Blodgett, R. A. Arango, P. K. Lebow, e C. A. Clausen, “The role of extractives in naturally durable wood species”, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 82, p. 53–58, 2013.
- [4] D. Fengel e G. Wegener, *Wood Chemistry ultrastructure reactions*. De Gruyter, 1983.
- [5] U. Klock e A. S. de Andrade, “Química da Madeira”, *Universidade Federal do Paraná*. Curitiba, 2013.
- [6] R. C. dos Santos *et al.*, “Effect of properties chemical and siringil/guaiacil relation wood clones of eucalyptus in the production of charcoal”, *Cienc. Florest.*, vol. 26, n° 2, 2016.
- [7] M. A. E. Santana e E. Y. A. Okino, “Chemical composition of 36 Brazilian Amazon forest wood species”, *Holzforschung*, vol. 61, n° 5, p. 469–477, 2007.

- [8] N. Valette, T. Perrot, R. Sormani, E. Gelhaye, e M. Morel-Rouhier, “Antifungal activities of wood extractives”, *Fungal Biol. Rev.*, p. 1–11, 2017.
- [9] I. D. K. Ferraz, N. Leal Filho, A. M. Imakawa, V. P. Varela, e F. C. M. Piña-Rodrigues, “Características básicas para um agrupamento ecológico preliminar de espécies madeireiras da floresta de terra firme da Amazônia Central”, *Acta Amaz.*, vol. 34, nº 4, p. 621–633, 2004.
- [10] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, “Pevs 2016: produção da silvicultura e da extração vegetal”, 2017, vol. 2016, p. 5–12, 2017.
- [11] E. Sjöström, *Wood Chemistry*. Academic Press, 1981.
- [12] D. N. S. Hon e N. Shiraishi, *Wood and Cellulosic Chemistry, Revised, and Expanded*. 2000.
- [13] C. L. S. de O. Mori, “Análise das características da madeira e do óleo essencial de candeia - *Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish, da região de Aiuruoca, MG.”, Universidade de São Paulo, 2008.
- [14] S. T. Chang, D. S. Y. Wang, C. L. Wu, S. G. Shiah, Y. H. Kuo, e C. J. Chang, “Cytotoxicity of extractives from *Taiwania cryptomerioides* heartwood”, *Phytochemistry*, vol. 55, nº 3, p. 227–232, 2000.
- [15] T. G. Santos *et al.*, “Chemical characterization of essential oils from *Drimys angustifolia* miers (Winteraceae) and antibacterial activity of their major compounds”, *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 24, nº 1, p. 164–170, 2013.
- [16] L. E. C. Ladino, Oscar Javier Patino; Suarez, “Chemical constituents of the wood from *Zanthoxylum quinduense* Tul. (Rutaceae)”, *Quim. Nova*, vol. 33, nº 5, p. 1019–1021, 2010.
- [17] R. Pavela, F. Maggi, R. Iannarelli, e G. Benelli, “Plant extracts for developing mosquito larvicides: From laboratory to the field, with insights on the modes of action”, *Acta Trop.*, vol. 193, nº January, p. 236–271, 2019.
- [18] E. R. Cole, “Estudo Fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* RADDI) e sua eficácia no combate ao dengue”, 2008.

- [19] I. M. Chung, S. H. Seo, E. Y. Kang, S. D. Park, W. H. Park, e H. I. Moon, “Chemical composition and larvicidal effects of essential oil of *Dendropanax morbifera* against *Aedes aegypti* L.”, *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 37, nº 4, p. 470–473, 2009.
- [20] J. Subramaniam, K. Kovendan, K. Murugan, e W. Walton, “Mosquito larvicidal activity of Aloe vera (Family : Liliaceae) leaf extract and *Bacillus sphaericus* , against Chikungunya vector , *Aedes aegypti*”, *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 19, nº 4, p. 503–509, 2012.
- [21] D. Wahyuni, “New bioinsecticide granules toxin from extract of papaya (*Carica papaya*) seed and leaf modified against *Aedes aegypti* larvae”, *Procedia Environ. Sci.*, vol. 23, nº Ictcred 2014, p. 323–328, 2015.
- [22] M. Govindarajan, “Evaluation of *Andrographis paniculata* Burm. f. (Family : Acanthaceae) extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera : Culicidae)”, *Asian Pac. J. Trop. Med.*, vol. 4, nº 3, p. 176–181, 2011.
- [23] L. M. G. E. Silva, “Estudo químico biomonitorado por ensaio com larvas *Aedes Aegypti* das espécies *Ocotea velloziana* (Meisn.) Mez. e *Aiouea trinervis* (Meisn.)”, p. 110, 2010.
- [24] R. Pavela, “Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 76, p. 174–187, 2015.
- [25] W. S. Garcez, F. R. Garcez, L. M. G. E. Silva, e U. C. Sarmiento, “Naturally occurring plant compounds with larvicidal activity against *aedes aegypti*”, *Rev. Virtual Quim.*, vol. 5, nº 3, p. 363–393, 2013.
- [26] Ministério da Saúde, *Guia de vigilância em saúde 3ª edição*. 2019.
- [27] A. C. J. De Souza Wuillda, R. C. C. Martins, e F. D. N. Costa, “Larvicidal activity of secondary plant metabolites in *Aedes aegypti* control: An overview of the previous 6 years”, *Nat. Prod. Commun.*, vol. 14, nº 7, 2019.
- [28] M. A. de Souza *et al.*, “Adulticide and repellent activity of essential oils against

- Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) – A review”, *South African J. Bot.*, vol. 124, p. 160–165, 2019.
- [29] C. Guarda, J. A. Lutinski, W. A. Roman, e M. A. Busato, “Atividade larvicida de produtos naturais e avaliação da susceptibilidade ao inseticida temefós no controle do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)”, *Interciencia*, vol. 41, nº 4, p. 243–247, 2016.
- [30] A. R. Ishak, N. C. Dom, H. Hussain, e N. H. Sabri, “Biolarvacidal Potential of Ipomoea Cairica Extracts Against Key Dengue Vectors”, *Procedia - Soc. Behav. Sci.*, vol. 153, p. 180–188, 2014.
- [31] L. Mukandiwa, J. N. Eloff, e V. Naidoo, “Larvicidal activity of leaf extracts and seselin from *Clausena anisata* (Rutaceae) against *Aedes aegypti*”, *South African J. Bot.*, vol. 100, p. 169–173, 2015.
- [32] A. L. Gonzaga, *Madeira: uso e conservação*. Brasília: IPHAN/Monumenta, 2006.
- [33] V. K. D. Wille, A. D. Wastowski, C. Pedrazzi, e M. P. Sauer, “Composição química da madeira de *Cordia trichotoma*”, *Cienc. Florest.*, p. 169–176, 2017.
- [34] D. L. Nelson e M. M. Cox, *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 6º ed. 2014.
- [35] G. T. Kirker, A. B. Blodgett, R. A. Arango, P. K. Lebow, e C. A. Clausen, “The role of extractives in naturally durable wood species”, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 82, p. 53–58, 2013.
- [36] J. J. Taylor, Adam M; Gartner, Barbara L; Morrell, “Heartwood formation and natural durability - a review.pdf”, *Wood Fiber Sci.*, vol. 34, 2002.
- [37] M. Sadiki, S. Elabed, H. Barkai, M. Balouiri, A. Nasri, e S. I. Koraichi, “The modification of cedar wood surface properties for the prevention of fungal adhesion”, *Int. J. Adhes. Adhes.*, vol. 75, nº December 2016, p. 40–46, 2017.
- [38] F. Silvério, “Caracterização de extrativos de madeira de eucalyptus e depósitos de pitch envolvidos na fabricação de celulose e papel”, Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

- [39] L. L. N. Araújo, “Características morfofológicas, produção e composição de óleo essencial em folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- Lamiaceae cultivada em diferentes níveis de sombreamento”, Universidade Federal de Goiás, 2014.
- [40] C. M. da Silva, “Metabólitos Secundários De Plantas Do Semi-Árido De Pernambuco – Uma Inovação no controle de fitopatógenos”, Universidade Federal de Pernambuco, 2013.
- [41] M. Vizzotto, “Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância”, *Embrapa Clima Temperado*, vol. 1, nº 2, p. 16, 2010.
- [42] P. R. Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P; Mentz, L. A; Petrovick, *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- [43] Clarice Noleto Dias, “Avaliação da atividade larvicida em *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) de óleos essenciais de espécies vegetais: um estudo de revisão e bioprospecção”, Universidade Federal do Maranhão, 2013.
- [44] Secretaria de Saúde do Estado de Santa Catarina, “Guia de orientação para treinamento de técnicos de Laboratório de Entomologia”, 2015.
- [45] Sandra Regina Lima Santos, “Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao *Aedes aegypti*”, Universidade Federal de Sergipe, 2014.
- [46] M. A. V. de M. Santos, “*Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Estudos populacionais e estratégias integradas para controle vetorial em municípios da região metropolitana do Recife, no período de 2001 a 2007”, Fundação Oswaldo Cruz, 2008.
- [47] R. W. da Silva, “Análise da estrutura populacional de mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em diferentes estratos urbanos na cidade de São Paulo, utilizando morfometria geométrica alar e marcadores microsatélites”, Universidade de São Paulo, 2017.
- [48] L. P. Vieira, “Resposta fisiológica de fêmeas do mosquito *Aedes aegypti*

(Diptera: Culicidae) à infecção pelo fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*”, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2012.

- [49] A. E. H. D. Cavalcanti, “Caracterização da resistência aos piretroides pelo mecanismo de penetração reduzida em populações *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), do Estado de Pernambuco”, Fundação Oswaldo Cruz, 2017.
- [50] OPAS/Brasil, “Folha informativa - dengue e dengue grave”. [Online]. Available at:
https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812. [Acessado: 10-jan-2020].
- [51] Ministério da Saúde, “Dengue: sintomas, causas, tratamento e prevenção”. [Online]. Available at: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/dengue>. [Acessado: 10-jan-2020].
- [52] Infoescola, “Chikungunya”. [Online]. Available at:
<https://www.infoescola.com/doencas/chikungunya/>. [Acessado: 10-jan-2020].
- [53] OPAS/Brasil, “Perguntas e respostas sobre o vírus zika e suas consequências”. [Online]. Available at:
https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5292:perguntas-e-respostas-sobre-o-virus-zika-e-suas-consequencias&Itemid=882. [Acessado: 10-jan-2020].
- [54] S. M. Echeverry, H. I. Medina, G. M. Costa, e D. M. Aragón, “Optimization of flavonoid extraction from *Passiflora quadrangularis* leaves with sedative activity and evaluation of its stability under stress conditions”, *Brazilian J. Pharmacogn.*, nº 2017, p. 4–11, 2018.
- [55] OPAS/Brasil, “Folha informativa - Febre amarela”. [Online]. Available at:
https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5578:folha-informativa-febre-amarela&Itemid=875. [Acessado: 20-jan-2020].
- [56] W. S. Garcez, F. R. Garcez, L. M. G. E. Silva, e U. C. Sarmiento, “Naturally occurring plant compounds with larvicidal activity against *aedes aegypti*”, *Rev.*

Virtual Quim., vol. 5, nº 3, p. 363–393, 2013.

- [57] I. A. Braga e D. Valle, “Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência”, *Epidemiol. e Serviços Saúde*, vol. 16, nº 4, p. 279–293, dez. 2007.
- [58] D. Navarro, P. Silva, M. Silva, T. Napoleao, e P. Paiva, “Larvicidal Activity of Plant and Algae Extracts, Essential Oils and Isolated Chemical Constituents against Aedes aegypti”, *Nat. Prod. J.*, vol. 3, p. 268–291, 2013.
- [59] R. A. Borges, W. Arruda, E. S. F. de Oliveira, G. M. Cavasin, H. H. G. da Silva, e I. G. da Silva, “Mecanismo da ação larvicida do diflubenzuron sobre Aedes aegypti evidenciados pelas alterações ultraestruturais”, *Rev. Patol. Trop.*, vol. 41, nº 2, p. 222–232, 2012.
- [60] Ministério da Saúde, “Larvicidas”. [Online]. Available at: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/control-de-vetores-inseticidas-e-larvicidas/larvicidas>. [Acessado: 10-jan-2020].
- [61] W. S. Garcez, F. R. Garcez, L. M. G. E. da Silva, e L. Hamerski, “Larvicidal activity against Aedes aegypti of some plants native to the West-Central region of Brazil”, *Bioresour. Technol.*, 2009.
- [62] M. D. L. D. G. Macoris, M. T. M. Andrighetti, V. C. G. Otrera, L. R. De Carvalho, A. L. Caldas, e W. G. Brogdon, “Association of insecticide use and alteration on Aedes aegypti susceptibility status”, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, vol. 102, nº 8, p. 895–900, 2007.
- [63] Serviço Florestal Brasileiro, “Floresta Nacional de Jacundá (RO)”, 2019. [Online]. Available at: <http://www.florestal.gov.br/florestas-sob-concessao/92-concessoes-florestais/florestas-sob-concessao/103-floresta-nacional-de-jacunda-ro>. [Acessado: 06-dez-2019].
- [64] Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, “Plano de Manejo da Floresta Nacional de Jacundá, localizada no Estado de Rondônia”. Porto Velho, 2010.
- [65] Serviço Florestal Brasileiro, “Florestas do Brasil”, 2019.

- [66] Serviço Florestal Brasileiro, “Concessões Florestais”. [Online]. Available at: <http://www.florestal.gov.br/o-que-e-concessao-florestal>. [Acessado: 15-jan-2020].
- [67] Serviço Florestal Brasileiro, “Balanço de Produção - Jacundá (RO)”. [Online]. Available at: <http://www.florestal.gov.br/florestas-sob-concessao/101-concessoes-florestais/florestas-sob-concessao/jacunda/623-balanco-de-producao-jacunda-ro>. [Acessado: 15-jan-2020].
- [68] R. B. Garden, “Plants of the world online”. [Online]. Available at: <http://powo.science.kew.org/>. [Acessado: 27-jan-2021].
- [69] Instituto de Pesquisas Tecnológicas, “Informações sobre madeira”. [Online]. Available at: https://www.ipt.br/consultas_online/informacoes_sobre_madeira. [Acessado: 27-jan-2021].
- [70] M. F. da Silva, “Revisão taxonômica do gênero *Peltogyne* Vog. (Leguminosae-Caesalpinioideae)”, *Acta Amaz.*, vol. 6, nº 1 suppl 1, p. 5–61, 1976.
- [71] A. P. S. Almeida, D. A. Rodrigues, e P. A. R. Castelo, “Determinação das Propriedades Químicas de Madeiras da Amazônia Meridional”, vol. 1, nº Id, p. 1–4, 2015.
- [72] M. E. De Almeida, O. R. Gottlieb, J. Rego de souza, e M. A. Teixeira, “New peltogynoids from three *Peltogyne* species”, *Phytochemistry*, 1974.
- [73] A. M. de S. Rodrigues, “Análise e valorização bioinspirada dos metabólitos secundários responsáveis pela durabilidade natural de madeiras exploradas na Guiana Francesa Análise e valorização bioinspirada dos metabólitos secundários responsáveis pela durabilidade natural de madeir”, 2010.
- [74] N. B. Logsdon, Z. Finger, e Z. M. dos S. H. de Mendoza, “Caracterização físico-mecânica da madeira de tamarindo, *Martiodendron elatum* (Ducke) Gleason”, *Multitemas*, vol. 44, p. 97–119, 2013.
- [75] M. D. L. Zau, R. P. de Vasconcelos, V. M. Giacon, e F. A. R. Lahr, “Avaliação das propriedades química, física e mecânica de painéis aglomerados

- produzidos com resíduo de madeira da Amazônia - Cumaru (*Dipteryx Odorata*) e resina poliuretana à base de óleo de mamona”, *Polímeros*, vol. 24, nº 6, p. 726–732, dez. 2014.
- [76] P. D. E. P. E. M. Química, “Contribuição na investigação fitoquímica de *Glycine max* (soja) e *Dipteryx odorata* (cumaru) – otimização de análise cromatográfica e caracterização estrutural de flavonoides Carolina Passos da Cunha”, 2013.
- [77] J. Figueroa, E. Sanoja, e L. Delgado, “Árboles utilizados como productos forestales no maderables en la cuenca del río Botanamo, Estado Bolívar, Venezuela”, *Acta Botánica Venezolánica*, vol. 33, nº 1, p. 119–135, maio 2010.
- [78] F. C. Neto, A. C. Pilon, D. H. S. Silva, V. Da Silva Bolzani, e I. Castro-Gamboa, “Vochysiaceae: Secondary metabolites, ethnopharmacology and pharmacological potential”, *Phytochem. Rev.*, vol. 10, nº 3, p. 413–429, 2011.
- [79] O. P. Filho, A. Dorval, M. J. Duda, e R. G. Moura, “Efeito de extratos de madeiras de quatro espécies *Nasutitermes* sp . (Isoptera, Termitidae) response to extracts from four Brazilian woods”, *Sci. For.*, vol. 71, p. 51–54, 2006.
- [80] M. Verma, S. Sharma, e R. Prasad, “Biological alternatives for termite control: A review”, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 63, nº 8, p. 959–972, 2009.
- [81] J. A. Costa, “Classificação de madeiras da Amazônia para composição de instrumento musical de corda por meio da técnica de excitação por impulso”, Universidade Federal do Amazonas, 2017.
- [82] Amata, “Guia de madeiras”. .
- [83] S. R. Dos Santos, “A atual classificação do antigo gênero *Tabebuia* (Bignoniaceae), sob o ponto de vista da anatomia da madeira”, *Balduinia*, nº 58, p. 10, 2017.
- [84] R. D. Lima, “Estudo fitoquímico de ipês amazônicos (*Tabebuia incana* A. H. Gentry e *Tabebuia serratifolia* (VAHL) G. Nicholson e definição de perfil cromatográfico de amostra comercial”, Universidade Federal do Amazonas,

2018.

- [85] A. Braga de Oliveira, D. S. Raslan, G. G. de Oliveira, e J. G. S. Maia, “Lignans and naphthoquinones from *Tabebuia incana*”, *Phytochemistry*, vol. 34, nº 5, p. 1409–1412, 1993.
- [86] J. C. M. Borges *et al.*, “Mosquitocidal and repellent potential of formulations containing wood residue extracts of a Neotropical plant, *Tabebuia heptaphylla*”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 129, p. 424–433, 2019.
- [87] A. M. . Rodrigues, J. E. De Paula, N. Degallier, J. . Molez, e L. S. Espíndola, “Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*”, *Am. Mosq. Control Assoc.*, vol. 22, nº 2, p. 314–317, 2006.
- [88] Food and Agriculture Organization of the United Nations, “Global Forest Resources Assessment”, 2005.
- [89] S. P. Hubbell, F. He, R. Condit, L. Borda-de-Água, J. Kellner, e H. Ter Steege, “How many tree species are there in the Amazon and how many of them will go extinct?”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 105, nº SUPPL. 1, p. 11498–11504, 2008.
- [90] A. F. Batista, “O uso de ferramentas de otimização para Concessões Florestais na Amazônia: uma abordagem econômica”, in *III Prêmio Serviço Florestal Brasileiro em Estudos de Economia e Mercado Florestal*, 2015.
- [91] S. de F. de O. M. Santos e K. Hatakeyama, “Processo sustentável de produção de carvão vegetal quanto aos aspectos: ambiental, econômico, social e cultural”, *Produção*, vol. 22, nº 2, p. 309–321, 2012.
- [92] D. P. Demarque *et al.*, “Mass spectrometry-based metabolomics approach in the isolation of bioactive natural products”, *Sci. Rep.*, vol. 10, nº 1, p. 1–9, 2020.
- [93] M. C. de Omena, D. M. A. F. Navarro, J. E. de Paula, J. S. Luna, M. R. Ferreira de Lima, e A. E. G. Sant’Ana, “Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants”, *Bioresour. Technol.*, vol. 98, nº 13, p. 2549–2556, 2007.

- [94] A. M. S. Rodrigues, J. E. De Paula, F. Roblot, A. Fournet, e L. S. Espíndola, “Larvicidal activity of *Cybistax antisiphilitica* against *Aedes aegypti* larvae”, *Fitoterapia*, 2005.
- [95] L. F. A. Garcia, J. P. B. Sousa, S. J. D. Melo, L. C. Albernaz, L. S. Espindola, e M. V. Correia, “Dehydro- α -lapachone obtaines from *Handroanthus incanus* species displays *Aedes Aegypti* larvicidal activity”, *Int. J. Biol. Pharm. Allied Sci.*, vol. 10, nº 7, 2021.
- [96] C. M. B. Jaqueline *et al.*, “Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities of the wood extracts of *Tabebuia avellanedae* from the Cerrado of Brazil”, *J. Med. Plants Res.*, vol. 12, nº 25, p. 404–414, 2018.
- [97] J. G. M. Costa, H. I. F. Magalhães, T. L. G. Lemos, O. D. L. Pessoa, e G. M. Pinheiro, “Estudo fitoquímico de *Auxemma glazioviana* Taub.”, *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 12, p. 68–69, 2002.
- [98] S. S. Essam Abdel, C. Deon Vahid, B. Bruce, F. Y. Mohamed Wagdy, W. A. Hoda Abdel, e M. Abdel Hamid, “Efficacy of botanical extracts from *Callitris glaucophylla*, against *Aedes aegypti* and *Culex annulirostris* mosquitoes.”, *Trop. Biomed.*, vol. 23, nº 2, p. 180–185, 2006.
- [99] S. S. Cheng, H. T. Chang, S. T. Chang, K. H. Tsai, e W. J. Chen, “Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae”, *Bioresour. Technol.*, vol. 89, nº 1, p. 99–102, 2003.
- [100] P. M. Kuo, F. H. Chu, S. T. Chang, W. F. Hsiao, e S. Y. Wang, “Insecticidal activity of essential oil from *Chamaecyparis formosensis* Matsum”, *Holzforschung*, vol. 61, nº 5, p. 595–599, 2007.
- [101] S. S. Cheng, C. G. Huang, W. J. Chen, Y. H. Kuo, e S. T. Chang, “Larvicidal activity of tectoquinone isolated from red heartwood-type *Cryptomeria japonica* against two mosquito species”, *Bioresour. Technol.*, vol. 99, nº 9, p. 3617–3622, 2008.
- [102] H. J. Gu, S. S. Cheng, C. G. Huang, W. J. Chen, e S. T. Chang, “Mosquito larvicidal activities of extractives from black heartwood-type *Cryptomeria*

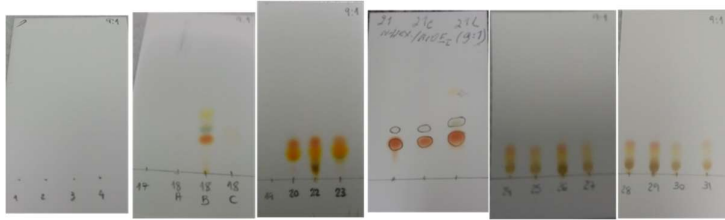
- japonica”, *Parasitol. Res.*, vol. 105, nº 5, p. 1455–1458, 2009.
- [103] S. S. Cheng, C. Y. Lin, M. J. Chung, Y. H. Liu, C. G. Huang, e S. T. Chang, “Larvicidal activities of wood and leaf essential oils and ethanolic extracts from *Cunninghamia konishii* Hayata against the dengue mosquitoes”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 47, p. 310, 2013.
- [104] P. C. Bezerra-Silva *et al.*, “Extract of *Bowdichia virgilioides* and maackiain as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito”, *Exp. Parasitol.*, vol. 153, p. 160–164, 2015.
- [105] S. Pluempanupat *et al.*, “Laboratory evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) extracts and isolated isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquitoes”, *Ind. Crops Prod.*, vol. 44, p. 653–658, 2013.
- [106] M. Falkowski *et al.*, “Towards the optimization of botanical insecticides research: *Aedes aegypti* larvicidal natural products in French Guiana”, *Acta Trop.*, vol. 201, nº July 2019, p. 105179, 2020.
- [107] P. Tiew, J. R. Ioset, U. Kokpol, W. Chavasiri, e K. Hostettman, “Antifungal, antioxidant and larvicidal activities of compounds isolated from the heartwood of *Mansonia gagei*”, *Phyther. Res.*, vol. 17, nº 2, p. 190–193, 2003.
- [108] M. R. S. Silvério, L. S. Espindola, N. P. Lopes, e P. C. Vieira, “Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: The main vector of important arboviruses”, *Molecules*, vol. 25, nº 15, 2020.
- [109] W. Carvalho, L. Carrilha, A. Ferraz, e A. M. F. Milagres, “Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira”, *Quim. Nova*, vol. 32, nº 8, p. 2191–2195, 2009.
- [110] M. Z. Zaridah, M. A. N. Azah, e A. Rohani, “Mosquitocidal activities of malaysian plants”, *J. Trop. For. Sci.*, vol. 18, nº 1, p. 74–80, 2006.
- [111] R. H. Thomson, *Naturally Occurring Quinones IV*. 1996.
- [112] J. B. Harborne, *The flavonoids*. 1993.

- [113] A. N. Panche, A. D. Diwan, e S. R. Chandra, “Flavonoids: An overview”, *J. Nutr. Sci.*, vol. 5, 2016.
- [114] B. T. Martins, M. Correia da Silva, M. Pinto, H. Cidade, e A. Kijjoo, “Marine natural flavonoids: chemistry and biological activities”, *Nat. Prod. Res.*, vol. 33, nº 22, p. 3260–3272, 2019.
- [115] M. B. Quin, C. M. Flynn, e C. Schmidt-Dannert, “Traversing the fungal terpenome”, *Nat. Prod. Rep.*, vol. 31, nº 10, p. 1449–1473, 2014.
- [116] D. W. Christianson, “Structural and Chemical Biology of Terpenoid Cyclases”, *Chem. Rev.*, vol. 117, nº 17, p. 11570–11648, 2017.
- [117] M. E. Maffei, J. Gertsch, e G. Appendino, “Plant volatiles: Production, function and pharmacology”, *Nat. Prod. Rep.*, vol. 28, nº 8, p. 1359–1380, 2011.
- [118] S. Walia, S. Saha, V. Tripathi, e K. K. Sharma, “Phytochemical biopesticides: some recent developments”, *Phytochem. Rev.*, vol. 16, nº 5, p. 989–1007, 2017.
- [119] X. Jiang, H. C. B. Hansen, B. W. Strobel, e N. Cedergreen, “What is the aquatic toxicity of saponin-rich plant extracts used as biopesticides?”, *Environ. Pollut.*, vol. 236, p. 416–424, 2018.
- [120] M. R. Pino-Otín, D. Ballester, E. Navarro, A. González-Coloma, J. Val, e A. M. Mainar, “Ecotoxicity of a novel biopesticide from *Artemisia absinthium* on non-target aquatic organisms”, *Chemosphere*, vol. 216, p. 131–146, 2019.
- [121] A. Biondi, L. Zappalà, J. D. Stark, e N. Desneux, “Do Biopesticides Affect the Demographic Traits of a Parasitoid Wasp and Its Biocontrol Services through Sublethal Effects?”, *PLoS One*, vol. 8, nº 9, 2013.
- [122] L. K. Caesar e N. B. Cech, “Synergy and antagonism in natural product extracts: When 1 + 1 does not equal 2”, *Nat. Prod. Rep.*, vol. 36, nº 6, p. 869–888, 2019.
- [123] R. Y. O. Moreira *et al.*, “Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae)”, *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 16, nº 3, p. 392–396, 2006.

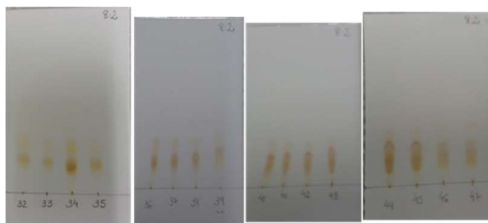
- [124] M. F. Oliveira, T. L. . Lemos, M. C. d. Mattos, T. A. Segundo, G. M. P. Santiago, e R. Braz-Filho, "New enamine derivatives of lapachol and biological activity", *An. Acad. Bras. Cienc.*, p. 211–221, 2002.
- [125] S. Otten e J. P. Rosazza, "Microbial transformations of natural antitumor agents: conversion of lapachol to dehydro- α -lapachone by *Curvularia lunata*", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 38, n^o 2, p. 311–313, 1979.
- [126] Á. G. Ravelo, A. Estévez-Braun, e E. Pérez-Sacau, "The chemistry and biology of lapachol and related natural products α and β -lapachones", *Stud. Nat. Prod. Chem.*, vol. 29, n^o PART J, p. 719–760, 2003.
- [127] I. Garkavtsev *et al.*, "Dehydro- α -lapachone, a plant product with antivasular activity", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 108, n^o 28, p. 11596–11601, 2011.
- [128] A. S. Dias *et al.*, "Evaluation of the toxicity and molluscicidal and larvicidal activities of *Schinopsis brasiliensis* stem bark extract and its fractions", *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 24, n^o 3, p. 298–303, 2014.
- [129] N. Komalamisra, Y. Trongtokit, Y. Rongsriyam, e C. Apiwathnasorn, "Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species", *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, vol. 36, n^o 6, p. 1412–1422, 2005.

6. Apêndices

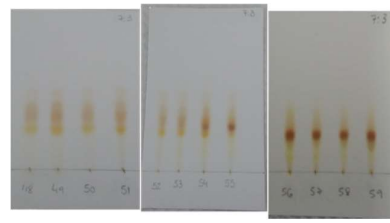
6.1. Apêndice 1: Placas de CCD na luz visível.



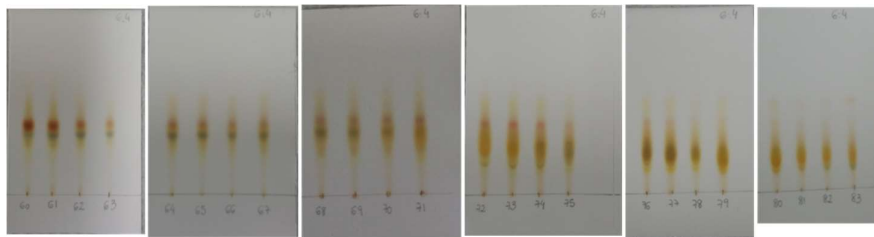
Frações de 1 a 4 e de 17 a 31 (solvente n-hexano: acetato de etila 9:1)



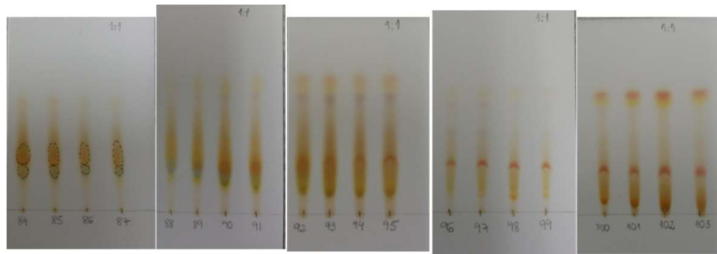
Frações de 32 a 47
(solvente n-hexano: acetato de etila 8:2)



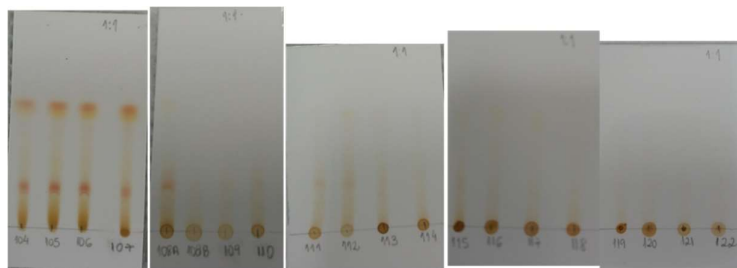
Frações de 48 a 59
(solvente n-hexano: acetato de etila 7:3)



Frações de 60 a 83 (solvente n-hexano: acetato de etila 6:4)

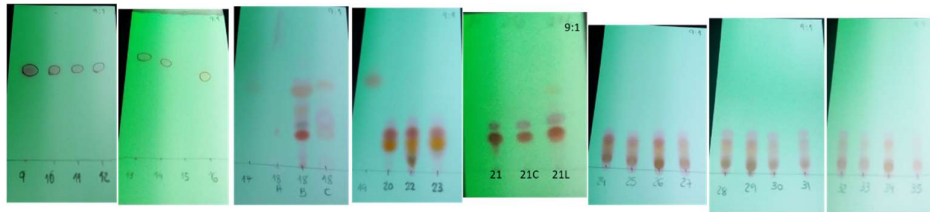


Frações de 84 a 103 (solvente n-hexano: acetato de etila 1:1)

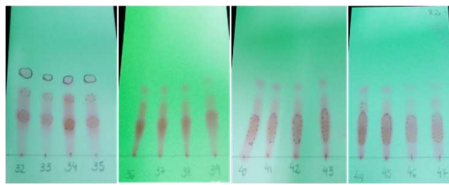


Frações de 104 a 122 (solvente n-hexano: acetato de etila 1:1)

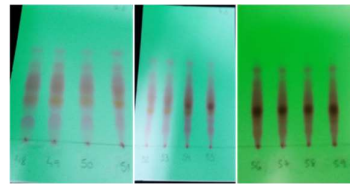
6.2. Apêndice 2. Placas de CCD reveladas na luz UV (254nm).



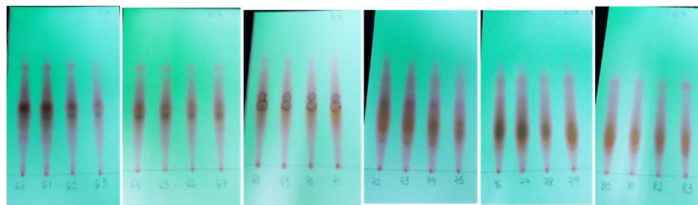
Frações de 9 a 31 (solvente n-hexano: acetato de etila 9:1)



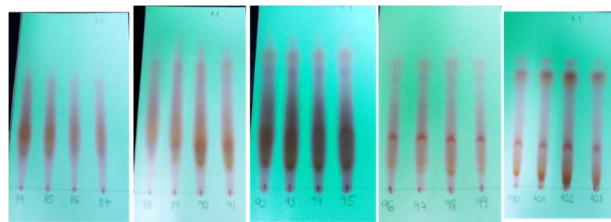
Frações de 32 a 47
(solvente n-hexano: acetato de etila 8:2)



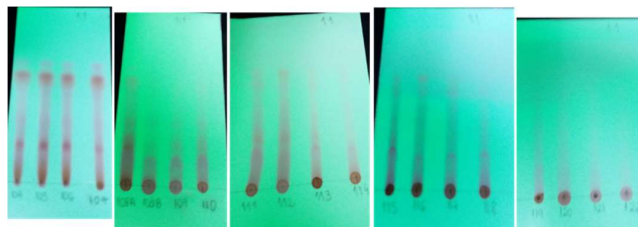
Frações de 48 a 59
(solvente n-hexano: acetato de etila 7:3)



Frações de 60 a 83 (solvente n-hexano: acetato de etila 6:4)

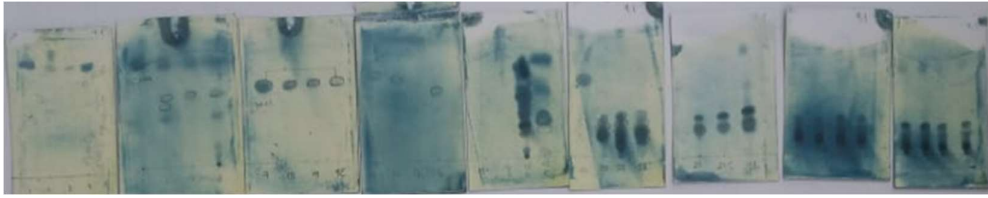


Frações de 84 a 103 (solvente n-hexano: acetato de etila 1:1)

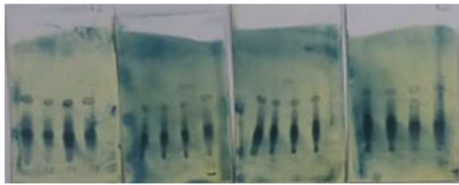


Frações de 104 a 122 (solvente n-hexano: acetato de etila 1:1)

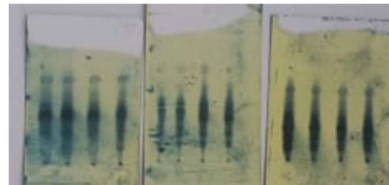
6.3. Apêndice 3. Placas de CCD reveladas com ácido fosfomolibdico e aquecimento.



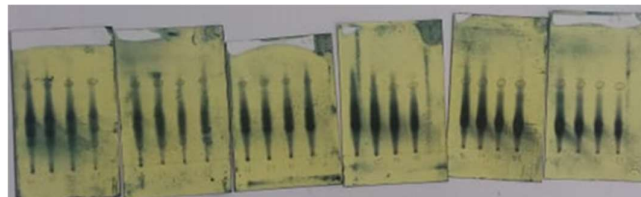
Frações de 1 a 31 (solvente n-hexano: acetato de etila 9:1)



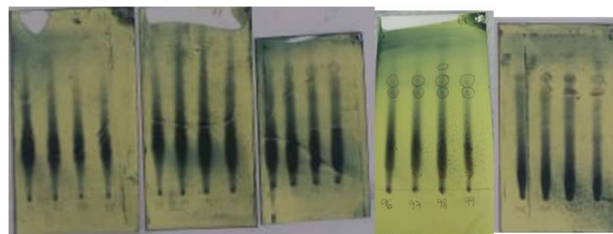
Frações de 32 a 47
(solvente n-hexano: acetato de etila 8:2)



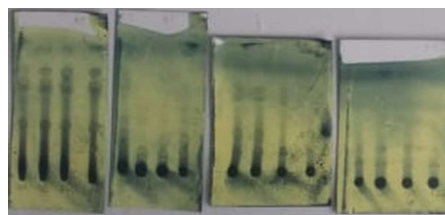
Frações de 48 a 59
(solvente n-hexano: acetato de etila 7:3)



Frações de 60 a 83 (solvente n-hexano: acetato de etila 6:4)



Frações de 84 a 103 (solvente n-hexano: acetato de etila 1:1)



Frações de 104 a 122 (solvente n-hexano: acetato de etila 1:1)

6.4. Apêndice 4. Memória de cálculo do preparo das amostras.

Código da amostra	(M1) Massa desejada (mg)	Massa efetiva (mg)	Data de pesagem	Solvente	(C1) Concentração stock (mg/mL)	(V3) Volume stock de solvente (μ L)	(C2) Concentração final (μ g/mL)	(V2) Volume final (mL)	(V1) Volume a pipetar (μ L)
<i>P.lecointei/Ae</i>	15	5,6	27/5/2019	DMSO	15	373	250	3	50
<i>E.uncinatum/Ae</i>	15	4,7	27/5/2019	DMSO	15	313	250	3	50
<i>M. elatum/Ae</i>	15	5,3	27/5/2019	DMSO	15	353	250	3	50
<i>H.incanus/Ae</i>	15	4,9	27/5/2019	DMSO	15	327	250	3	50
<i>D.odorata/Ae</i>	15	5,5	27/5/2019	DMSO	15	367	250	3	50
<i>A.decandra/Ae</i>	15	4,9	27/5/2019	DMSO	15	327	250	3	50
<i>P.lecointei/Hex</i>	15	6,8	9/3/2020	DMSO	15	453	250	3	50
<i>E.uncinatum/Hex</i>	15	16,7	9/3/2020	DMSO	15	1113	250	3	50
<i>M. elatum/Hex</i>	15	3,0	9/3/2020	DMSO	15	200	250	3	50
<i>H.incanus/Hex</i>	15	3,7	17/9/2019	DMSO	15	247	250	3	50
<i>D.odorata/Hex</i>	15	1,7	17/9/2019	DMSO	15	113	250	3	50
<i>A.decandra/Hex</i>	15	3,8	17/9/2019	DMSO	15	253	250	3	50
<i>H.incanus/PLL1</i>	15	8,6	4/11/2019	DMSO	15	573	250	3	50
<i>H.incanus/PLL2</i>	15	5,4	4/11/2019	DMSO	15	360	250	3	50
<i>H.incanus/PLL3</i>	15	6,0	4/11/2019	DMSO	15	400	250	3	50

<i>H.incanus</i> /PLL4	15	4,8	4/11/2019	DMSO	15	320	250	3	50
<i>H.incanus</i> /PLL1/EFS1	15	17,3	4/2/2020	DMSO	15	1153	250	3	50
<i>H.incanus</i> /PLL1/EFS2	15	8,0	18/12/2019	DMSO	15	533	250	3	50
<i>H.incanus</i> /PLL1/EFS3	15	6,7	18/12/2019	DMSO	15	447	250	3	50
<i>H.incanus</i> /PLL1/EFS4	15	4,1	18/12/2019	DMSO	15	273	250	3	50
<i>H.incanus</i> /PLL1/EFS5	15	1,9	18/12/2019	DMSO	15	127	250	3	50
<i>H.incanus</i> /PLL1/EFS6	15	2,6	18/12/2019	DMSO	15	173	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR20	15	11,3	11/3/2020	DMSO	15	753	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR21	15	12,7	11/3/2020	DMSO	15	847	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR24 a 51	15	13,3	11/3/2020	DMSO	15	887	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR52 a 55	15	12,1	11/3/2020	DMSO	15	807	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR56 a 67	15	15,8	11/3/2020	DMSO	15	1053	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR68 a 75	15	16,1	11/3/2020	DMSO	15	1073	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR81 a 91	15	10,7	11/3/2020	DMSO	15	713	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR92 a 95	15	11,6	11/3/2020	DMSO	15	773	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR96 a 99	15	11,1	11/3/2020	DMSO	15	740	250	3	50
<i>H.incanus</i> /FR100 a 107	15	12,0	11/3/2020	DMSO	15	800	250	3	50

6.5. Apêndice 5. Resultados dos testes para atividade larvicida dos extratos brutos e frações.

Código da amostra	Data do teste	Número Larvas mortas - 24 horas							Número Larvas mortas - 48 horas						
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	média	%	DP	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	média	%	DP
<i>P.lecointeil/Ae</i>	27/5/2019	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E.uncinatum/Ae</i>	27/5/2019	0	0	0	0	0	0	0,0	1	0	0	0	0,25	2,5	2,5
<i>M. elatum/Ae</i>	27/5/2019	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0
<i>H.incanus/Ae</i>	27/5/2019	10	1	2	3	4	40	4,1	10	5	5	6	6,5	65	65
<i>D.odorata/Ae</i>	27/5/2019	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A.decandra/Ae</i>	27/5/2019	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P.lecointeil/Hex</i>	11/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	4	7	5	6	5,5	55	55
<i>E.uncinatum/Hex</i>	11/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	1	0	0	1	0,5	5	5
<i>M. elatum/Hex</i>	11/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0
<i>H.incanus/Hex</i>	23/9/2019	10	10	10	x	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-
<i>D.odorata/Hex</i>	23/9/2019	0	0	x	x	0	0	0,0	0	1	x	x	0,5	5	5
<i>A.decandra/Hex</i>	23/9/2019	0	0	0	x	0	0	0,0	0	2	0	x	0,667	6,67	6,67
<i>H.incanus/PLL1</i>	4/11/2019	10	10	10	x	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-
<i>H.incanus/PLL2</i>	4/11/2019	1	2	2	x	1,67	16,7	0,6	3	4	4	x	3,67	36,7	36,7
<i>H.incanus/PLL3</i>	4/11/2019	5	4	3	x	4	40	1,0	5	4	3	x	4	40	40
<i>H.incanus/PLL4</i>	4/11/2019	0	0	0	x	0	0	0,0	1	0	0	x	0,25	2,5	2,5
<i>H.incanus/EFS1</i>	4/2/2020	10	10	10	10	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-

<i>H.incanus</i> /EFS2	18/12/2019	10	10	10	10	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-
<i>H.incanus</i> /EFS3	18/12/2019	10	10	10	10	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-
<i>H.incanus</i> /EFS4	18/12/2019	0	0	0	0	0	0	0,0	8	3	2	2	3,75	37,5	2,9
<i>H.incanus</i> /EFS5	18/12/2019	5	2	x	x	3,5	35	2,1	7	7	x	x	7	70	0,0
<i>H.incanus</i> /EFS6	18/12/2019	0	0	0	x	0	0	0,0	0	0	0	x	0	0	0,0
<i>H.incanus</i> /CC/FR-20	16/3/2020	10	10	10	10	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-
<i>H.incanus</i> /CC/FR-21	16/3/2020	10	10	10	10	10	100	0,0	-	-	-	-	-	-	-
<i>H.incanus</i> /CC/FR-24 a 51	16/3/2020	6	6	3	4	4,75	47,5	1,5	6	7	8	8	7,25	72,5	1,0
<i>H.incanus</i> /CC/FR-52 a 55	16/3/2020	3	5	2	2	3	30	1,4	10	9	10	9	9,5	95	0,6
<i>H.incanus</i> /CC/FR-56 a 67	16/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	8	5	4	7	6	60	1,8
<i>H.incanus</i> /CC/FR-68 a 75	16/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	1	2	0,75	7,5	1,0
<i>H.incanus</i> /CC/FR-81 a 91	16/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0	1	0,25	2,5	0,5
<i>H.incanus</i> /CC/FR-92 a 95	16/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	0	1	0	1	0,5	5	0,6
<i>H.incanus</i> /CC/FR-96 a 99	16/3/2020	0	0	0	1	0,25	2,5	0,5	0	0	0	1	0,25	2,5	0,5
<i>H.incanus</i> /CC/FR-100 a 107	16/3/2020	0	0	0	0	0	0	0,0	2	0	0	3	1,25	12,5	1,5

6.6. Apêndice 6. Resultados dos testes para atividade larvica para cálculo de CL₅₀.

Lapachol isolado (FR20-2)													
Concentração (ppm)	23/06/20			30/06/20				07/07/20				MÉDIA	DP
	Rep1	Rep2	Rep3	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4		
100	10	10	10									10	0
50	10	10	10									10	0
30				10	10	10	10	10	10	10	9	9,8	0,3
25	10	10	10									10	0
20				10	10	10	10	10	10	10	10	10	0
12,5	0	0	0									0	0
10				9	10	10	9	5	9	6	10	8,5	1,9
5				0	0	0	0	8	6	7	1	2,75	3,5
0 (branco)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Desidro- α -lapachona (FR20-4)													
Concentração (ppm)	23/06/20			30/06/20				07/07/20				MÉDIA	DP
	Rep1	Rep2	Rep3	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4		
100	10	10	10									10	0
50	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0,3
40				1	0	1	0	3	2	2	1	1,25	1
25	1	0	2									1	1
20				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12,5	1	0	0									0,3	0,58
10				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (branco)	0	0	0	0	0	0	0				0	0	0

Lapachol comercial										
Concentração (ppm)	30/06/20				07/07/20				MÉDIA	DP
	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4		
30	10	10	10	10	10	10	10	10	0	0
20	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0
10	6	9	0	6	3	9	3	1	0	3,34
5	0	0	0	0	2	0	1	0	0,43	0,79
0 (branco)	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00


Extrato bruto										
Concentração (ppm)	30/06/20				07/07/20				MÉDIA	DP
	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4		
200					9	10	10	10	9,75	0,50
100					3	5	4	10	5,50	3,11
50	0	0	0	0	2	3	0	0	0,63	1,19
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0					0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (branco)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OU TESE DE DOUTORADO

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifique e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, (dia) de (mês) de (ano).
24/3/2021

Assinatura do/a discente: 

Programa: Tecnologias Químicas e Biológicas

Nome completo: Lucia Fernanda Alves Garcia

Título do Trabalho: A madeira como fonte de larvicidas naturais contra o Aedes aegypti: estudo de revisão e avaliação da atividade larvicida de seis espécies nativas brasileiras

Nível: () Mestrado Doutorado

Orientador/a: Prof. Dr. Mauro Vicentini Correia