



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E FÍSICA  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

ANA KAROLINE SILVA DE AQUINO

ESTUDO FITOQUÍMICO de *Helicteres velutina* K. SCHUM (STERCULIACEAE): uma  
busca por substâncias ativas no controle do *Aedes aegypti* L.

AREIA, PB

2018

ANA KAROLINE SILVA DE AQUINO

ESTUDO FITOQUÍMICO de *Helicteres velutina* K. SCHUM (STERCULIACEAE): uma  
busca por substâncias ativas no controle do *Aedes aegypti* L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Licenciatura em Química da  
Universidade Federal da Paraíba como requisito  
parcial à obtenção do título licenciado em  
Química.

Orientadora: Profa. Dra. Yanna Carolina Ferreira  
Teles

AREIA, PB

2018



ANA KAROLINE SILVA DE AQUINO

ESTUDO FITOQUÍMICO de *Helicteres velutina* K. SCHUM (STERCULIACEAE): uma busca por substâncias ativas no controle do *Aedes aegypti* L.

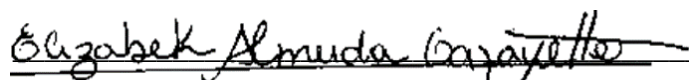
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial à obtenção do título licenciado em Química.

Aprovada em: 04/12/2018.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles (Orientadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB – Campus II)



Profa. Dra. Elizabeth Almeida Lafayette (Examinadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB – Campus II)



Profa. Dayse das Neves Moreira (Examinadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB – Campus II)

## DEDICATÓRIA

*Ao papai, **Gilvan Dias de Aquino** (in memorian), que estaria extremamente orgulhoso por ver a “Branquela” dele, formada; à mamãe, **Maria José da Silva de Aquino**, que me deu o amor e suporte necessário para que pudesse cumprir esta jornada. Com todo o meu amor, dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me concedido a oportunidade de estudar com uma maior riqueza de detalhes as obras de Suas Mãos, por ter me dado inteligência e sabedoria para aprender aquilo que eu acreditava impossível, e por ter me sustentado até aqui.

Ao meu papai, **Gilvan Dias de Aquino** (*in memoriam*) e a mainha, **Maria José da Silva de Aquino**, por terem me trazido ao mundo e me ensinado a importância que há em se dedicar aos estudos.

Ao meu irmão, **Glauber**, por ter me dito inúmeras vezes o quanto me amava e acreditava em mim. As minhas irmãs **Carla** e **Glaucia**, por, muitas vezes, terem deixado seus afazeres e assumido as tarefas domésticas por mim, enquanto eu precisava estudar e passar o dia fora de casa. Ao meu sobrinho **Victor**, por ser curioso e adorar me fazer perguntas sobre Física Quântica (rs), mesmo sem eu saber responder muitas delas, me forçando a pesquisar as respostas.

Ao meu namorado, amigo e companheiro **Carlos Jr**, que, juntamente com sua família, me acolheu durante toda a graduação, sendo uma verdadeira segunda família para mim. Também por toda a paciência para me ajudar com as disciplinas que me eram mais difíceis.

A professora **Yanna Teles**, minha orientadora, por ter acreditado no meu potencial, ter me ajudado a descobrir o quanto eu gosto de Química dos Produtos Naturais e por todo o seu apoio; me inspirei em você. A professora **Betania Hermenegildo**, minha primeira orientadora, por todas as cobranças com os prazos e horários; por sua causa, com certeza, serei uma profissional melhor. Ao meu querido professor **Borja Ruiz**, por ter me ajudado a superar as minhas dificuldades em Física e por ter me ensinado que “os verdadeiros conhecimentos estão nos livros”.

Aos meus colegas de curso: **Geandson Altieres**, **Wallison Dias**, **Andressa Dantas**, **Felipe Breno** e **Joseilton Barbosa**, que se mostraram verdadeiros AMIGOS ao longo dessa jornada. Deus abençoe vocês! A minha colega **Camila Macaúbas**, pela parceria no laboratório, na escrita dos trabalhos, nas idas aos congressos e seleções da vida; foi muito bom não estar sozinha! Aos demais colegas de laboratório: **Maysa Félix** e **Paulo Gomes**, pela parceria durante as nossas pesquisas.

A todos aqueles que torceram por mim e me ajudaram de alguma forma, eu realmente não teria conseguido sozinha. MUITO OBRIGADA!

Soli Deo Gloria!

*“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima”.*

*- Louis Pasteur*

## RESUMO

As plantas têm sido uma fonte fundamental de recursos para a humanidade e sua vasta aplicação ocorre graças a grande diversidade de moléculas produzidas pelo metabolismo celular e pela capacidade de interagir em diferentes sistemas biológicos. A Fitoquímica é uma subárea da Química de Produtos Naturais que tem por objetivo isolar e identificar metabólitos vegetais, por meio de diversos métodos analíticos. O Brasil é um país privilegiado no que diz respeito à pesquisa em produtos naturais, devido a sua vasta biodiversidade. A dengue é uma enfermidade viral transmitida pelo mosquito vetor *Aedes aegypti*, responsável também pela transmissão da Chikungunya e da Zika. Essas doenças provocam febre, dores no corpo, nas articulações, vômito, podem provocar má formação fetal e levar a óbito. Existem relatos na literatura de metabólitos vegetais com atividade larvicida e inseticida com potencial utilização contra o mosquito vetor. Tendo por base as informações supracitadas, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo fitoquímico da espécie *Helicteres velutina*, buscando identificar os seus principais metabólitos secundários, isolar substâncias, avaliar seu teor de compostos fenólicos e posteriormente sua possível atividade larvicida. Para tal, foram utilizados métodos cromatográficos, espectroscópicos e espectrofotométricos. Como resultado, foi possível identificar a presença dos seguintes grupos de metabólitos secundários: esteroides, triterpenos e flavonoides, com isolamento e identificação do flavonoide tilirosídeo, relatado na literatura com importantes atividades farmacológicas. O teor de fenólicos presentes no extrato foi de 26,35 mg de EAG/g. O extrato etanólico de *Helicteres velutina* foi avaliado quanto ao seu potencial larvicida frente às larvas do *Aedes aegypti*, apresentando excelente resultado, que indica o seu potencial uso dessa espécie no controle da proliferação do mosquito. A realização deste estudo contribuiu para a ampliação do conhecimento acerca dos metabólitos secundários produzidos pela espécie, contribuindo com a quimiotaxonomia da família Sterculiaceae.

Palavras-Chave: *Helicteres velutina*; Sterculiaceae; Potencial larvicida; Fenólicos totais; Tilirosídeo.

## ABSTRACT

Plants have been a fundamental source of resources for humans and their great application is due the great diversity of molecules produced by cellular metabolism and by the ability to interact in several biological systems. Phytochemistry is a subarea of the Natural Products Chemistry that aims to isolate and identify plant metabolites through analytical methods. Brazil is a privileged country in research on natural product, due its great biodiversity. Dengue is a disease caused by a vírus transmitted by *Aedes aegypti* mosquito as well as Chikungunya and Zyka. These diseases cause fever, pain in the body, in the joints, vomiting, complications in fetal formation and can lead to death. There are reports in the literature of plants substances with larvicidal and insecticide activity that can be used against the mosquito. Based on these informations, the objective of this work to carry out a phytochemical study on *Helicteres velutina*, to evaluate, its phenolic content, the main secondary metabolites that are present in its extract, its antioxidant potential and its possible larvicidal activity. To accomplish our objectives, spectroscopic, spectrophotometric and chromatographic methods were used. As the result it was possible to identify the presence of steroids, triterpenes, flavonoids and tannins in its extract. The phenolic content was found as 26.35 mg EAG/g of extract and it was possible to isolate a flavonoid compound called tiliroside. The crude ethanolic extract of *Helicteres velutina* was evaluated as larvicidal against larvae of *Aedes aegypti*, showing great result that indicates its potential use to control the proliferation of the mosquito. This study contributed to the increase of the knowledge about the secondary metabolites produced by the species, also contributing to chemotaxonomy of the family Sterculiaceae.

Keywords: *Helicteres velutina*; Sterculiaceae; Potential larvicide; Total phenolics; Tiliroside.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.....	19
Figura 2: Unidades básicas de esteroides (A) e triterpenos (B) .....	21
Figura 3: Núcleo fundamental dos flavonoides.....	21
Figura 4: Flavonoides mais comuns encontrados na natureza .....	22
Figura 5: A solasodina (A) é um exemplo de pseudoalcaloide; a mescalina (B), exemplo de protocalcaloide .....	22
Figura 6: Exemplos de alcaloides propriamente ditos, com diferentes núcleos: (A) morfina, (B) nicotina, (C) ricinina, (D) quinoleína .....	24
Figura 7: Estrutura básica da Cumarina e seu precursor .....	24
Figura 8: Estruturas das (A) benzoquinonas, (B) naftoquinonas, (C) antraquinonas .....	25
Figura 9: Exemplo de tanino condensado: catequina.....	26
Figura 10: Exemplos de estruturas de saponinas (A) solasodina, (B) matesaponina .....	27
Figura 11: <i>Helicteres velutina</i> K SCHUM .....	32
Figura 12: Reação de identificação para esteroides e triterpenos.....	39
Figura 13: Reação para identificação de flavonoides pelo reagente de Shinoda.....	40
Figura 14: Espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, DMSO, 400 MHz) de <i>Hv</i> -1 .....	42
Figura 15: Expansão 1 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, DMSO, 400 MHz) de <i>Hv</i> -1 .....	42
Figura 16: Expansão 2 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, DMSO, 400 MHz) de <i>Hv</i> -1 .....	43
Figura 17: Expansão 3 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, DMSO, 400 MHz) de <i>Hv</i> -1 .....	43
Figura 18: Espectro de RMN <sup>13</sup> C (δ, DMSO, 100 MHz) .....	44
Figura 19: Estrutura elucidada: canferol-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> - (6''- <i>E</i> - <i>p</i> -coumaroil) glicosídeo, Tilirosídeo.....	46
Figura 20: Curva de calibração do ácido gálico.....	47
Quadro 1: Constituintes químicos isolados de plantas pertencentes a família Sterculiaceae: (1) Canferol, (2) Teobromina, (3) Chamaedrona, (4) Walteriona-A, (5) Ácido esterculico, (6) β-sitosterol, (7) Antidesmona, (8) Tilirosídeo, (9) Epicatequina, (10) Ácido mirístico, (11) Ácido palmítico, (12) Cafeína .....	30
Quadro 2: Algumas espécies de <i>Helicteres</i> e suas atividades farmacológicas relatadas na literatura .....	31
Quadro 3: Testes realizados para identificação de seus respectivos metabólitos secundários.....	34

Quadro 4: Identificação dos metabólitos secundários presentes na *Helicteres velutina* .....39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Unidades básicas para formação dos terpenoides.....	20
Tabela 2: Dados de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a substância Hv-1 comparados com os de Gomes et al 2011 .....	45
Tabela 3: Concentração de fenólicos totais do extrato etanólico bruto de <i>Helicteres velutina</i> .....	47
Tabela 4: Número médio de mortalidades de larvas de <i>A. aegypti</i> em diferentes concentrações de extrato etanólico bruto (EEB) de <i>H. velutina</i> .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBiotec – Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba

CCAD – Cromatografia em Camada Delgada Analítica

DMSO – Dimetilsufóxido

d – dubleto

dd – duplo dubleto

EAG – Equivalentes de Ácido Gálico.

HUNEB – Herbário da Universidade do Estado da Bahia.

RMN <sup>1</sup>H – Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

RMN <sup>13</sup>C – Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze

SNC – Sistema Nervoso Central

s - singleto

UV – Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Origem e considerações gerais acerca dos metabólitos secundários .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Considerações gerais acerca dos Terpenoides.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Considerações gerais acerca dos Flavonoides. ....</b>	<b>21</b>
<b>3.4 Considerações gerais acerca dos Alcaloides .....</b>	<b>22</b>
<b>3.5. Considerações gerais acerca das Cumarinas.....</b>	<b>24</b>
<b>3.6. Considerações gerais acerca das Quinonas .....</b>	<b>25</b>
<b>3.7. Considerações gerais acerca dos Taninos .....</b>	<b>26</b>
<b>3.8. Considerações gerais acerca das Saponinas .....</b>	<b>27</b>
<b>3.9. A necessidade pela busca de substâncias larvicidas. ....</b>	<b>28</b>
<b>3.10. Sobre a família Sterculiaceae .....</b>	<b>29</b>
<b>3.11. Informações acerca do gênero Helicteres e da espécie Helicteres velutina.....</b>	<b>31</b>
<b>4. METODOLOGIA .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1. Coleta e identificação botânica do material.....</b>	<b>33</b>
<b>4.2. Obtenção do Extrato Etanólico e suas Fases .....</b>	<b>33</b>
<b>4.3. Triagem fitoquímica .....</b>	<b>33</b>
4.3.1 Flavonoides .....	34
4.3.2 Alcaloides.....	34
4.3.3 Quinonas.....	35
4.3.4 Cumarinas.....	35
4.3.5 Esteroides e Triterpenos .....	35
4.3.6 Saponinas .....	35

4.3.7 Taninos .....	35
<b>4.4. Isolamento dos Constituintes Químicos e Identificação Estrutural.....</b>	<b>36</b>
<b>4.5. Determinação de fenólicos totais .....</b>	<b>37</b>
<b>4.7. Avaliação da atividade larvicida de H. velutina.....</b>	<b>37</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Resultados da triagem fitoquímica.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2. Identificação estrutural da substância Hv-1 .....</b>	<b>41</b>
<b>5.3. Resultados para determinação dos fenólicos totais .....</b>	<b>46</b>
<b>5.5 Avaliação do potencial larvicida do EEB de H. vetlutina .....</b>	<b>47</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas têm sido a principal fonte de recursos para a humanidade, sendo indispensáveis para o desenvolvimento das civilizações. Registros históricos revelam exemplos da utilização dos produtos naturais pelas civilizações Oriental e Ocidental que ao longo de sua história, utilizaram recursos naturais na medicina, no controle de praga e em mecanismos de defesa, o que foi indispensável para o avanço e desenvolvimento destas (HIKAL *et al.*, 2017; JAMSHIDI-KIA *et al.*, 2018).

A procura por alívio e cura de enfermidades a partir da ingestão de folhas, caules e flores podem ter sido uma das primeiras formas de serventia dos produtos naturais. A civilização chinesa merece destaque, pois sua medicina desenvolveu-se de tal forma, que até os dias atuais muitas espécies vegetais com fins medicinais utilizados em suas práticas são estudadas em busca pelo entendimento de seu mecanismo e ação e no isolamento de princípios ativos (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

A vasta aplicação dos vegetais ocorre devido a grande diversidade de moléculas produzidas pelo metabolismo celular e pela capacidade de interagir em diferentes sistemas biológicos. Existem diversos produtos naturais historicamente utilizados, como o ácido salicílico (*Salix alba*), usado como analgésico; morfina (*Papaver somniferum*), utilizada como anestésico; e o óleo de citronela, utilizado como repelente (DUARTE, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015; PAUMGARTTEN, 2016).

Há relatos de muitas substâncias de origem natural sendo sintetizadas desde o início do século passado, que vêm sendo utilizadas no desenvolvimento de bioprodutos tecnologicamente preparados, com eficácia comprovada e as mais diversas aplicações em diferentes áreas (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Desta forma, é de total importância que haja a realização de pesquisas multidisciplinares, envolvendo áreas de conhecimentos como Química de Produtos Naturais, Fitoquímica, Metodologias analíticas, Síntese Orgânica, Biotecnologia, Quimiotaxonomia, etc (BERLINCK *et al.*, 2017).

A Fitoquímica é uma subárea da Química de produtos naturais que tem por objetivo isolar metabólitos secundários, por meio de métodos cromatográficos e conhecer as estruturas destes, que são os responsáveis pelas atividades biológicas das plantas, por meio de análises com técnicas espectroscópicas (FERNANDES, 2004; PEREIRA, 2011).

O Brasil destaca-se por possuir uma mega biodiversidade em termos de plantas, muitas delas encontradas apenas em solo brasileiro. Isso o coloca numa posição privilegiada para o investimento de pesquisas em Química de Produtos Naturais (BERLINCK, et. al., 2017). Estima-se que o Brasil possua cerca de 55 mil espécies catalogadas (de um total estimado entre 350 mil e 550 mil), o que classifica como o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo (FONSECA, 2012). Dados como este nos mostram o quanto o nosso país possui potencial e recursos necessários para o investimento nas pesquisas em Produtos Naturais para o desenvolvimento de inseticidas, cosméticos, agroquímicos, etc.

A primeira epidemia de dengue documentada clínica e laboratorialmente em território brasileiro ocorreu nos anos de 1981 e 1982 e nas últimas décadas, o país sofreu quatro grandes epidemias nos anos de 1998, 2002, 2008 e 2010, respectivamente. No ano de 2015, 1.649.008 casos foram registrados no país, sendo 62,20% (1.026.226) destes notificados na região Sudeste. Trata-se de uma doença epidêmica que se propaga facilmente em ambientes urbanos e de difícil controle (ARAÚJO et al., 2017).

Nos anos de 1960 e 1990 o vírus CHIKV, transmissor da Chikungunya, foi isolado várias vezes durante surtos em países da África Central e do Sul. Em 2011 o vírus passou a se estabelecer nas Américas e em outros países, e em junho de 2014 surgiram os primeiros casos no Brasil. O Ministério da Saúde divulgou em 2015 que até a semana epidemiológica 15, foram confirmados 3.371 casos (AZEVEDO, OLIVEIRA e VASCONCELOS, 2015).

Casos isolados de Zika vírus foram detectados em 1970 em países africanos. Em fevereiro de 2014, foi confirmado pela primeira vez nas Américas e em 2015 foi detectado a presença do vírus no Nordeste brasileiro (NUNES e PIMENTA, 2016). Ainda em 2015, 18 países, fora o Brasil confirmaram a circulação autóctone do vírus (BRASIL, 2017).

Desde de 2016, nosso país enfrenta um dos maiores surtos de Febre Amarela, com maiores ocorrências na região Sudeste. Nos estados do Espírito Santo e do Rio de Janeiro, entre dezembro de 2016 e março de 2017, foram registrados 93 casos confirmados e 22 óbitos, e 3 casos confirmados e 1 óbito, respectivamente (CAVALVANTE e TAUIL, 2017).

Diante do problema de Saúde Pública relacionado aos vírus transmitidos pelo *A. aegypti* torna-se indispensável o desenvolvimento de pesquisas que contribuam para descoberta e desenvolvimento de novos agentes para controle da proliferação do mosquito vetor.

Há relatos do uso da espécie em estudo como repelente por uma tribo indígena no estado da Bahia. Tendo em vista que vários grupos de metabólitos vegetais têm sido relatados como larvicidas e inseticidas, busca-se isolar substâncias e verificar seu potencial uso no controle do *A. aegypti*.

Segundo Santos e colaboradores (2012) existem substâncias presentes em extratos vegetais de plantas que podem ajudar a combater os mosquitos vetores nos estágios adultos ou larvais e podem atuar como alternativas aos produtos sintéticos devido à sua rápida biodegradação e menor custo, sendo uma alternativa para combater o mosquito *Aedes aegypti* L. Apesar de já existir algumas substâncias naturais utilizadas como inseticidas, como o alcaloide nicotina, que pode ser encontrado em espécies do gênero *Nicotiniana*, o uso frequente acaba por provocar a resistência dos mosquitos, o que gera a necessidade de propor novas substâncias capazes de combater os mosquitos (GARCEZ et al., 2013).

## 2 OBJETIVOS

Tomando como base o potencial larvicida e inseticida de extratos da espécie *Helicteres velutina* K. Schum para agentes da espécie *Aedes aegypti*, o presente projeto busca:

### 2.1 Objetivo Geral:

A pesquisa propõe o estudo fitoquímico da espécie *Helicteres velutina*, enfatizando a busca por substância com potencial larvicida no combate ao mosquito *Aedes aegypti* L.

### 2.2 Objetivos Específicos:

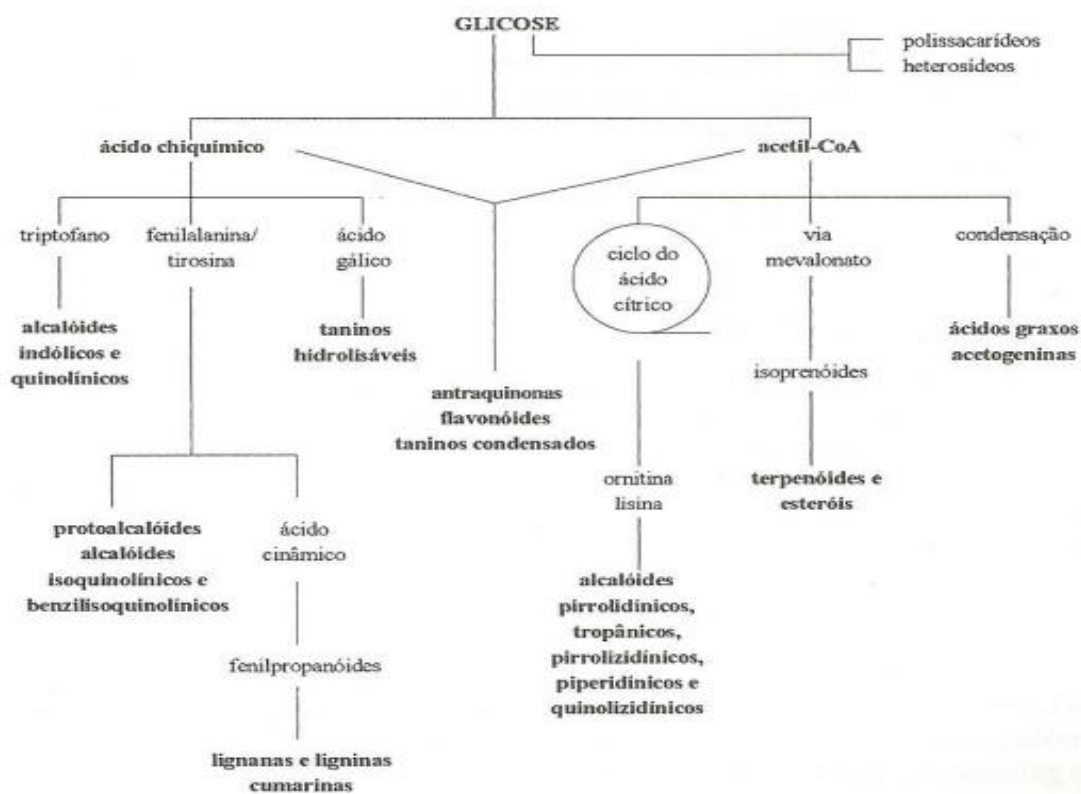
- Executar a extração e isolamento de metabólitos secundários encontrados na espécie *Helicteres velutina* K. Schum através de métodos extrativos e cromatográficos;
- Realizar triagem fitoquímica para identificação dos metabólitos secundários presentes no extrato da planta;
- Identificar as substâncias isoladas por meio de análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .
- Quantificar as concentrações de fenólicos totais presentes no extrato;
- Encaminhar amostras da substância isoladas para avaliação de suas atividades larvicida e repelente (Profa. Dra. Fabíola da Cruz Nunes – CBiotec - UFPB).

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Considerações gerais acerca dos metabólitos secundários

Metabolismo é o nome atribuído ao conjunto de reações químicas que estão constantemente acontecendo nas células dos organismos vivos. As enzimas que se fazem presente nestas reações estabelecem uma certa direção a estas, determinando o que se denomina rotas metabólicas. Essas reações visam, prioritariamente, aproveitar os nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais das células: energia, poder redutor e biossíntese das substâncias essenciais à sua sobrevivência. Os produtos dessas reações são chamados de metabólitos primários. Há também, vegetais, microorganismos e pequenos animais, que apresentam um arsenal metabólito capaz de produzir, transformar e armazenar diversas outras substâncias, que não estão relacionadas diretamente à manutenção da vida dos organismos que o produzem, mas a mecanismos de defesa, comunicação, entre outros. Estes são os denominados metabólitos secundários (SANTOS, 2010).

Figura 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários





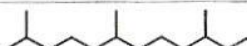




Fonte: Santos, 2010.

Santos (2010) comenta que a origem de todos os metabólitos secundários se resume ao metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato (Figura 1). Dessa forma, as rotas metabólicas dos metabólitos secundários não são tão abrangentes, podendo ser ativadas em certos estágios de crescimento, desenvolvimento ou em períodos de estresse. Os metabólitos secundários podem se apresentar na forma livre, sendo denominado genericamente de aglicona, ou ainda pode estar ligado a uma ou mais unidades de açúcares, dando origem aos denominados heterosídeos.

### 3.2. Considerações gerais acerca dos Terpenoides

Os terpenoides constituem uma grande e diversa família de produtos naturais, advindas de unidades isoprênicas. O nome atribuído a estes compostos, está diretamente relacionado a quantas unidades isoprênicas o compõem, podendo ser classificados como monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterterpenos (C25), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (Tabela 1). Os esteróides são triterpenóides modificados. Estes compostos constituem uma ampla variedade de substâncias vegetais, sendo esta derivada do ácido mevalônico (DEWICK, 2002; SIMÕES e SPITZER, 2010).

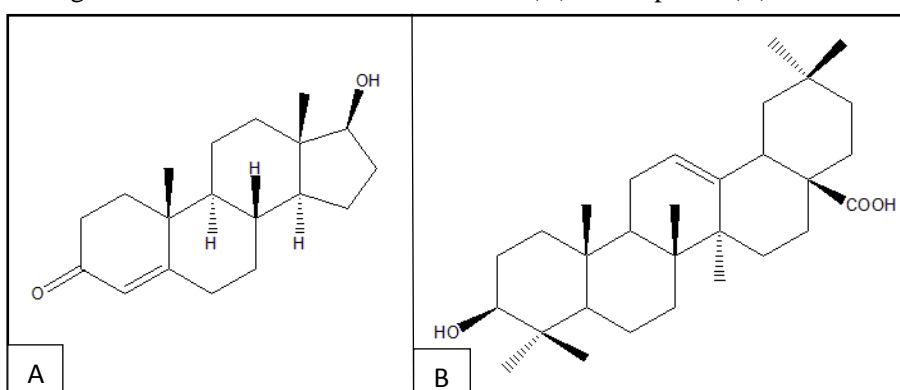
Tabela 1: Unidades básicas para formação dos terpenoides.

Nº de Unid.	Número de átomos de carbono	Nome ou classe
1	5	 isopreno
2	10	 monoterpenóides
3	15	 sesquiterpenóides
4	20	 diterpenóides
5	25	 sesterpenos
6	30	 triterpenóides
8	40	 tetraterpenóides
n	n	polisoprenóides

Fonte: SIMÕES e SPITZER, (2010).

A maneira como ocorre a formação dos terpenoides é fundamentalmente baseada na reatividade do carbocátion, os quais podem sofrer reações de adição ou eliminação de água, dando origem a compostos como álcoois, aldeídos, cetonas e mais raramente acetatos. Os esteróides e triterpenos são derivados dos terpenoides. Constituem as membranas de plantas, algas e fungos e afetam a sua permeabilidade. Na Figura 1 podemos visualizar suas unidades básicas (DEWICK, 2002). São solúveis em solventes orgânicos e óleos e insolúveis em água (SIMÕES e SPITZER, (2010)

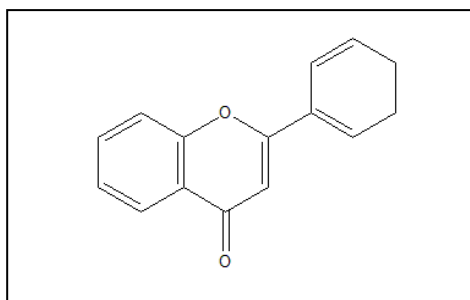
Figura 2. Unidades básicas de esteroides (A) e triterpenos (B).



### 3.3 Considerações gerais acerca dos Flavonoides.

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Trata-se de uma classe de compostos abundantemente distribuída no reino vegetal. Podem ser encontrados em diversas formas estruturais, porém a maioria deles possui uma unidade básica de 15 átomos de carbono (Figura 3), constituídos por duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Atualmente, são conhecidos cerca de 4200 flavonoides diferentes. Aqueles de origem natural, podem apresentar-se ligados a oxigênios ou a unidades de açúcares (flavonoides glicosilados) (ZUANAZZI e MONTANHA, 2010).

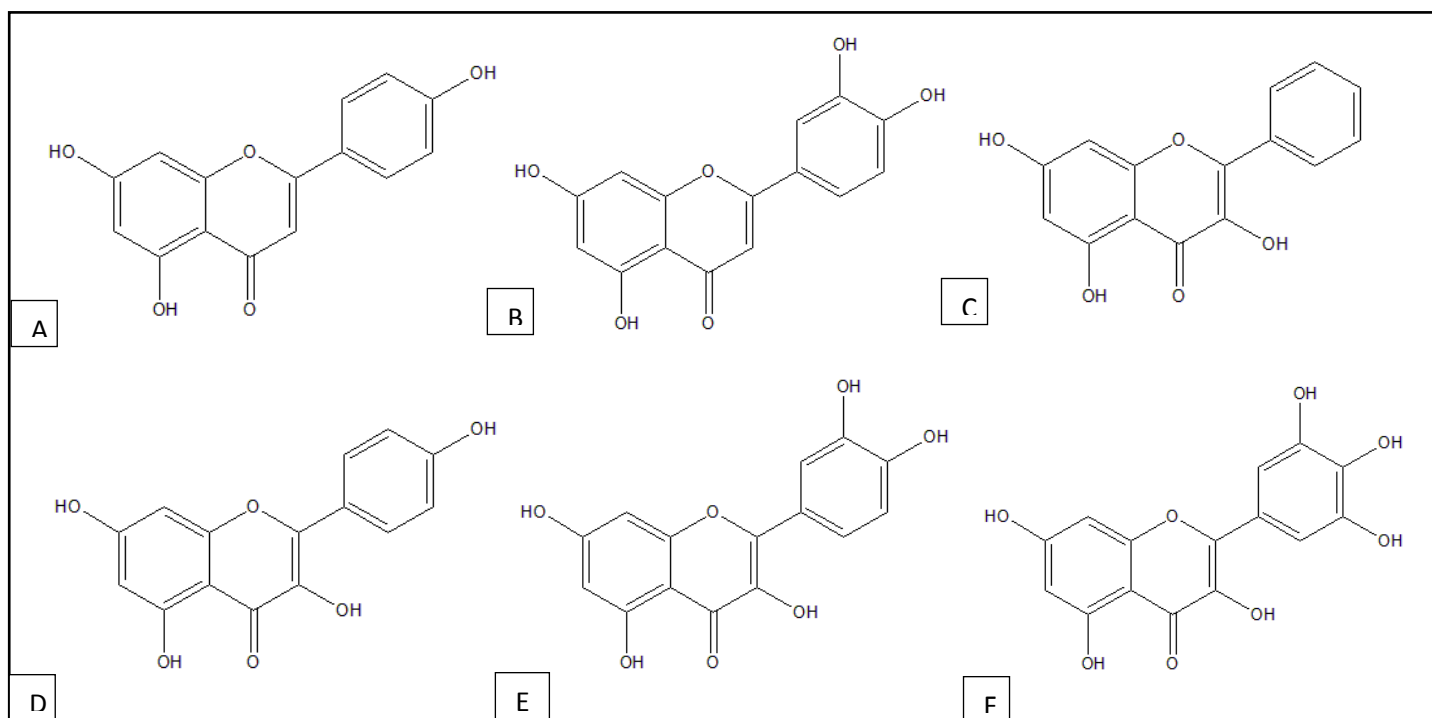
Figura 3: Núcleo fundamental dos flavonoides



Os flavonoides possuem funções diversas nas plantas, dentre as quais, podemos citar: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteger contra insetos, fungos, bactérias e vírus; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (ZUANAZZI e MONTANHA, 2010).

Quanto as suas propriedades físico-químicas, geralmente as agliconas aparecem sob a forma de cristais amarelos. Aqueles ligados a açúcares são solúveis em água e em álcoois diluídos, mas insolúveis em solventes orgânicos apolares. A posição ocupada pela porção de açúcar, o grau de instauração e o grau de natureza dos substituintes influem grandemente na solubilidade da molécula e na sua capacidade de precipitar metais. Os flavonoides mais comumente encontrados na natureza são (Figura 4): apigenina (A), luteolina (B) (estas primeiras, livres ou ligadas a açúcares), galangina (C), canferol (D), quercetina (E) e miricetina (F) (ZUANAZZI e MONTANHA, 2010).

Figura 4: Flavonoides mais comuns encontrados na natureza.



### 3.4 Considerações gerais acerca dos Alcaloides

Os alcaloides são um vasto grupo de metabólitos com uma diversidade estrutural similar a dos terpenoides. A grande maioria (70%) derivam de vegetais, porém, também

ocorrem em bactérias, fungos e animais. Trata-se de substâncias nitrogenadas de origem natural e distribuição restrita, com estruturas complexas e variadas. Podem ser encontrados em todas as partes dos vegetais, porém um órgão sempre irá acumular maior quantidade desta substância. Ocorrem preferencialmente em tecidos jovens. Nos vegetais, possui as funções de: proteção contra predadores, defesa contra invasão de microorganismos, funcionam como hormônios reguladores do crescimento e reserva de nitrogênio, reguladores do metabolismo e da reprodução, proteção contra raios UV (HENRIQUES et al, 2010).

Henriques et al (2010) relata que, quanto a sua rota biossintética, são derivados de aminoácidos que sofrem reações enzimáticas simples, podendo ser caracterizados como:

- Pseudoalcaloides: são aqueles resultantes da transaminação de um esqueleto isoprenoide, podendo ser um mono, sesqui, di, triterpeno ou esteroidal. Estes não são derivados de aminoácidos (Figura 5 (A)).
- Protoalcaloides: são aminas simples, cujo nitrogênio não se encontra no sistema heterocíclico. Se formam “in vivo”, a partir de aminoácidos (Figura 5 (B)).
- Alcaloides: são classificados de acordo com sua estrutura química do seu núcleo fundamental. (Figura 6).

Figura 5: A solasodina (A) é um exemplo de pseudoalcaloide; a mescalina (B), exemplo de protoalcaloide.

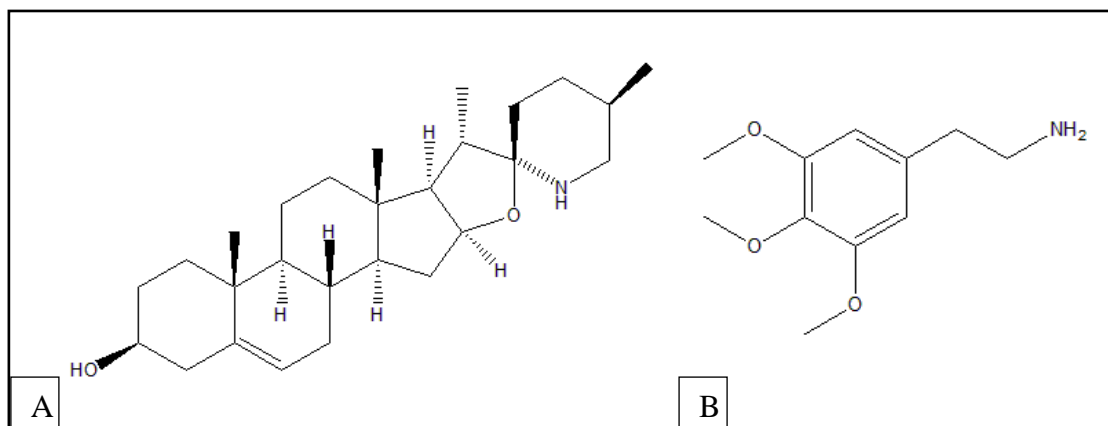
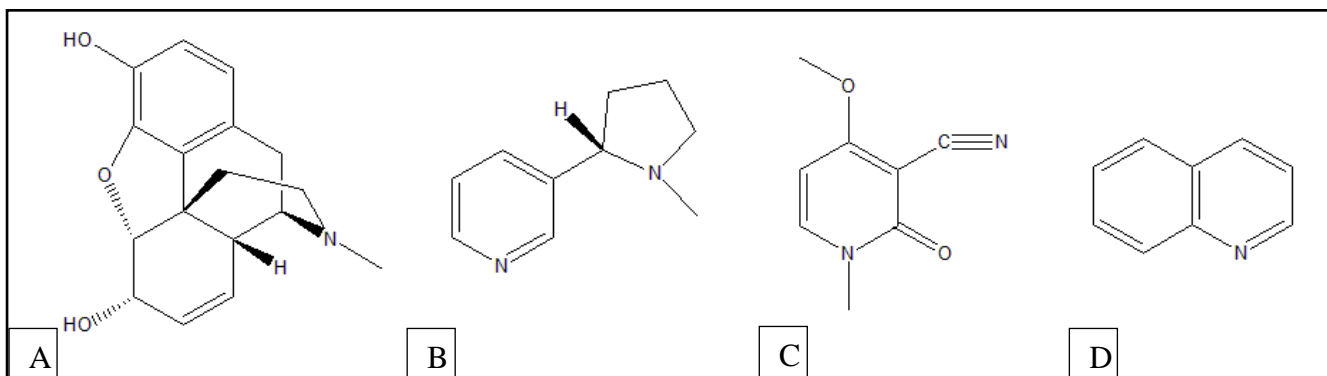


Figura 6: Exemplos de alcaloides propriamente ditos, com diferentes núcleos: (A) morfina, (B) nicotina, (C) ricinina, (D) quinoleína.

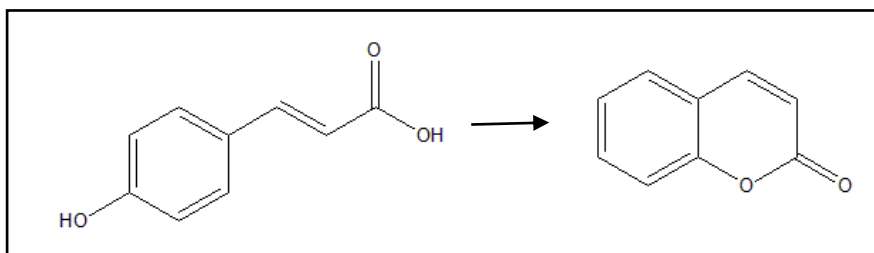


A maioria dos alcaloides não oxigenados, são líquidos a temperatura ambiente. Os demais são sólidos, cristalizáveis e raramente coloridos. São solúveis em solventes de baixa e média polaridade e álcool. Sua basicidade é muito variável, o que se deve a disponibilidade de elétrons livres do nitrogênio. Essas substâncias são também conhecidas devido suas propriedades alucinógenas e utilizadas como veneno. São também relatadas na literatura com propriedades farmacológicas, como: anti-hipertensivos, antitumorais, antimalárica, antitussígena, entre outras (HENRIQUES et al, 2010).

### 3.5. Considerações gerais acerca das Cumarinas

As cumarinas estão amplamente distribuídas nos vegetais, mas também podem ser encontradas em fungos e bactérias. Estruturalmente, são lactonas do ácido *o*-hidróxi-cinâmico (Figura 7). Em média, 1300 cumarinas já foram isoladas de origem natural. São derivadas do metabolismo da fenilalanina, e podem ocorrer em todas as partes da planta. A biogênese destas substâncias pode ser induzida em resposta a um estresse, por uma deficiência nutricional, ou por outros metabólitos (KUSTER e ROCHA, 2010).

Figura 7: Estrutura básica da Cumarina e seu precursor.



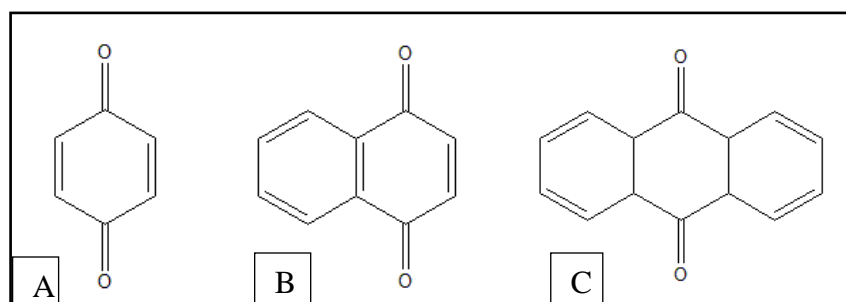
Podem ser classificadas como piranocumarinas ou furanocumarinas. Ocorrem sob a forma de cristais e possuem um odor característico. Trata-se de substâncias fluorescentes e comumente fotossensíveis. Quando em meio alcalino, ocorre a ruptura do seu anel lactônico (KUSTER e ROCHA, 2010).

Na indústria, são amplamente utilizadas para produção de cosméticos e produtos de limpeza, devido ao odor acentuado (em geral, agradável) e também por seu baixo custo. Já na indústria farmacêutica, são empregadas como anticoagulantes e também utilizada na síntese destes. Essas substâncias também são usadas no tratamento e prevenção de trombose (KUSTER e ROCHA, 2010).

### 3.6. Considerações gerais acerca das Quinonas

As quinonas são substâncias oxigenadas que podem ser derivadas da oxidação de compostos aromáticos. Estruturalmente, destacam-se pela presença do grupo 1,4-diceto-2,5-ciclohexadieno (p-quinona) ou 1,2-diceto-3,5-ciclohexadieno (orto-quinona). Há muitos anos, as quinonas são utilizadas devido as suas atividades biológicas ou como fonte de corantes naturais. Estas substâncias vêm apresentando uma grande variedade de atividades biológicas importantes. Podem ser classificadas como: benzoquinonas (recorrente em artrópodes), naftoquinonas (recorrente em vegetais) e antraquinonas (comuns em vegetais) (FALKENBERG, 2010).

Figura 8: Estruturas das (A) benzoquinonas, (B) naftoquinonas, (C) antraquinonas.



Estas substâncias se apresentam-se na forma cristalina de cor amarela ou vermelha, raramente, azuis, verdes ou pretas. Quanto as suas propriedades biológicas, possuem o papel de defesa contra outros organismos e patógenos. Apresentam atividade alelopática, ou seja, a

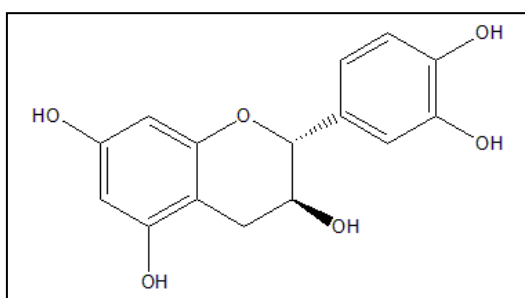
produção e excreção para o ambiente de substâncias capazes de inibir a germinação de outras espécies nas proximidades (FALKENBERG, 2010).

### 3.7. Considerações gerais acerca dos Taninos

Segundo Mello e Santos, (2010), os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água com alto peso molecular, variando entre 500 e 300 u.m.a., que são capazes de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. Estas substâncias são essenciais componentes gustativos, responsáveis pela adstringência de diversos frutos e produtos oriundos de vegetais. Ocorrem geralmente, em pele de frutas e casca de planta. Podem ser classificados como:

- Taninos hidrolisáveis: trata-se de ésteres de glicose (ou compostos semelhantes) e de ácidos fenólicos ácido gálico (taninos gálicos) ou ácidos hexahidroxidifênico e seus derivados (taninos elágicos). Podem ser hidrolisados por enzimas ou por ácidos.
- Taninos condensados (Figura 9): são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais unidades flavonoídicas. Estes não podem ser hidrolisados e não apresentam açúcares em sua composição (MELLO e SANTOS, 2010).

Figura 9: Exemplo de tanino condensado: catequina.



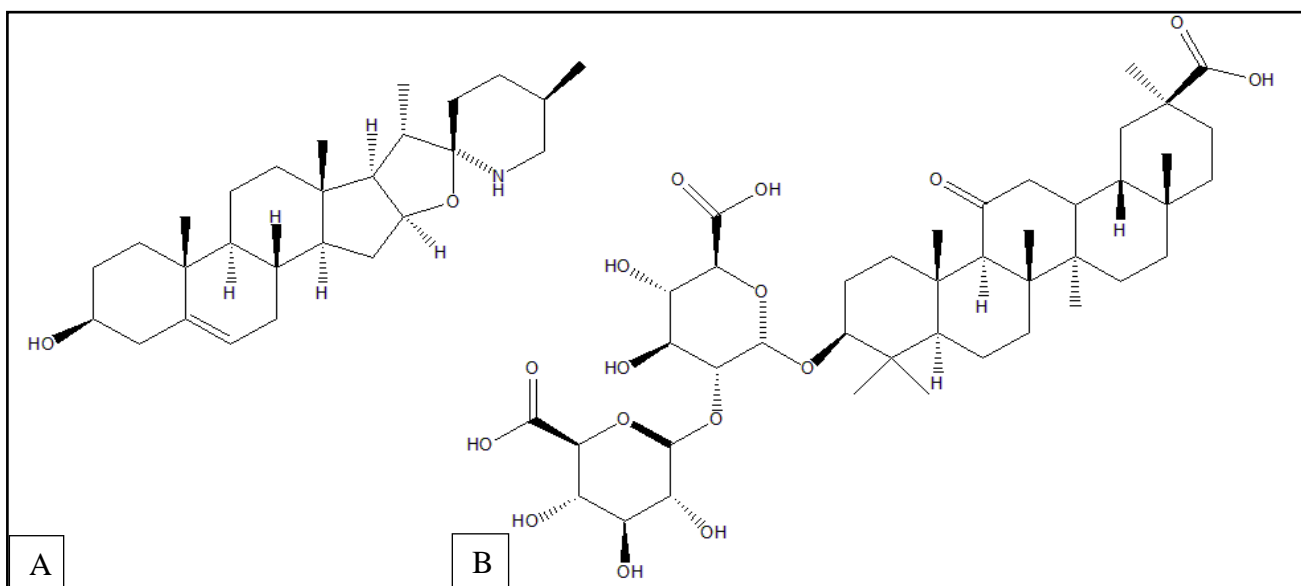
O papel biológico dessas substâncias está relacionado a defesa dos vegetais contra microorganismos patogênicos, defesa química das plantas contra o ataque de herbívoros, vertebrados ou invertebrados, diminuição da palatabilidade e da digestão dos predadores. Os taninos também possuem importantes atividades farmacológicas, tais como: capacidade de precipitar metais pesados e alcaloides, dando-lhes a característica de antídoto contra intoxicações; externamente, possuem ação cicatrizante, hemostáticos e reepitelizantes;

internamente, são antidiarreicos; devido a sua capacidade de precipitar proteínas, possuem um poder antimicrobiano e antifúngico (MELLO e SANTOS, 2010).

### 3.8. Considerações gerais acerca das Saponinas

Saponinas são glicosídeos oriundos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Assim como os taninos, são substâncias de elevado peso molecular (600 a 2000 u.m.a.) e ocorrem como misturas complexas pelo fato de estarem ligadas a diversas estruturas de açúcares ou ainda pela presença de muitas agliconas. São características por possuírem uma parte de sua estrutura lipofílica (esteroide ou triterpeno) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina ações detergente e emulsificante (Figura 10). Podem ser classificadas como saponinas: neutras (núcleo fundamental da aglicona é esteroidal), básicas (núcleo fundamental da aglicona, também é esteroidal) ou triterpênicas (núcleo fundamental da aglicona são triterpênicos) (SCHENKEL, GOSMAN e ATHAYDE, 2010).

Figura 10: Exemplos de estruturas de saponinas (A) solasodina, (B) matesaponina.



Estas substâncias formam espuma persistente e abundante em solução aquosa e são altamente solúveis em água. Apresentam-se como substâncias sólidas, brancas ou amareladas, geralmente amorfas, porém cristalizáveis e de sabor amargo. Quanto as suas propriedades biológicas e farmacológicas: são capazes de complexar esteroides, proteínas e fosfolipídeos

de membranas, o que aumenta a permeabilidade e o movimento de íons e água; possuem atividade antifúngica, antiviral e espermicida (SCHENKEL, GOSMAN e ATHAYDE, 2010).

### **3.9. A necessidade pela busca de substâncias larvicidas.**

O *Aedes aegypti* é um mosquito presente em todas as Unidades da Federação Brasileira, disseminado em torno de 4.523 municípios, sendo responsável pela transmissão da dengue (ZARA et. al., 2016). Estima-se que, em média, 2,5 milhões de pessoas está sob ameaça de ser acometido pela doença, e isso implica dizer 40% da população mundial. Dentre essas, 50 a 100 milhões são infectadas pelo vírus, 500.000 contraem o quadro de dengue hemorrágica, e aproximadamente 22.000 chegam a óbito (PAIXÃO, 2013). Nos anos de 2014 e 2015, outros dois vírus surgiram no país, também transmitidos pelo *Aedes aegypti*: o Chikungunya vírus (CHIKV) e o Zika vírus (ZKV). Os principais sintomas associados a estes vírus são febre, dores nas articulações, problemas neurológicos e má formação fetal, a exemplo da microcefalia (FERNANDES, 2017).

É notória a necessidade de estudos e investimentos na busca por novos inseticidas e larvicidas eficazes no controle do mosquito bem como de suas larvas. “As plantas produzem metabólitos secundários como os flavonoides, alcaloides e terpenoides que coevoluem com os insetos e micro-organismos, tornando-se fontes naturais de substâncias inseticidas” (GUARDA et. al., 2016, p. 244). Utilizar tais matérias primas a fim de preparar extratos para serem usados contra os mosquitos apresenta maior vantagem se comparados aos inseticidas sintéticos, pois os princípios ativos presentes são mais biodegradáveis e também menos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente (GUARDA et. al., 2016).

Há relatos na literatura de que as plantas são fontes promissoras de substâncias bioativas com diversidade estrutural e também variadas atividades contra insetos. Atualmente, os produtos naturais de origem vegetal têm sido estudados devido as suas propriedades larvicidas, pelo fato de haver maior facilidade de controlar a proliferação do mosquito vetor quando estes se encontram imóveis e acessíveis, pois os agentes larvicidas atuam no habitat de reprodução, antes que os mosquitos possam se dispersar (FERNANDES, 2017).

Garcez et al (2013), realizou um levantamento bibliográfico de substâncias isoladas de plantas, pertencentes a diversas classes de metabólitos secundários, entre elas, estão: quinonas, rotenoides, flavonoides, cromononas, estilbenos, fenilpropanoides, cumarinas,

lignananas, lactonas, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e saponinas, todas elas com atividade larvicidas comprovada contra o *Aedes aegypti*. Desta maneira, percebe-se que as plantas são uma fonte promissora de substâncias ativas contra o mosquito vetor.

Estudos já realizados com extratos do caule da espécie *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) e folhas da espécie *Croton argyrophyllus* mostraram que estas plantas possuem princípios ativos capazes de matar entre 55% a 65% das larvas, dentro de 24h (CRUZ et. al., 2015; SILVA et. al., 2014).

Estudos realizados com a espécie *Agave sisalana* mostram que o EBB das partes aéreas desta planta possui promissores resultados frente as larvas do quarto estágio (L4) de *Aedes aegypti* (NUNES, et al 2015).

Ante a importância dos metabólitos secundários vegetais na busca por substâncias bioativas, optou-se por escolher uma planta já bastante conhecida devido ao seu uso popular, pertencente à família Sterculiaceae, que se faz amplamente presente na flora nordestina.

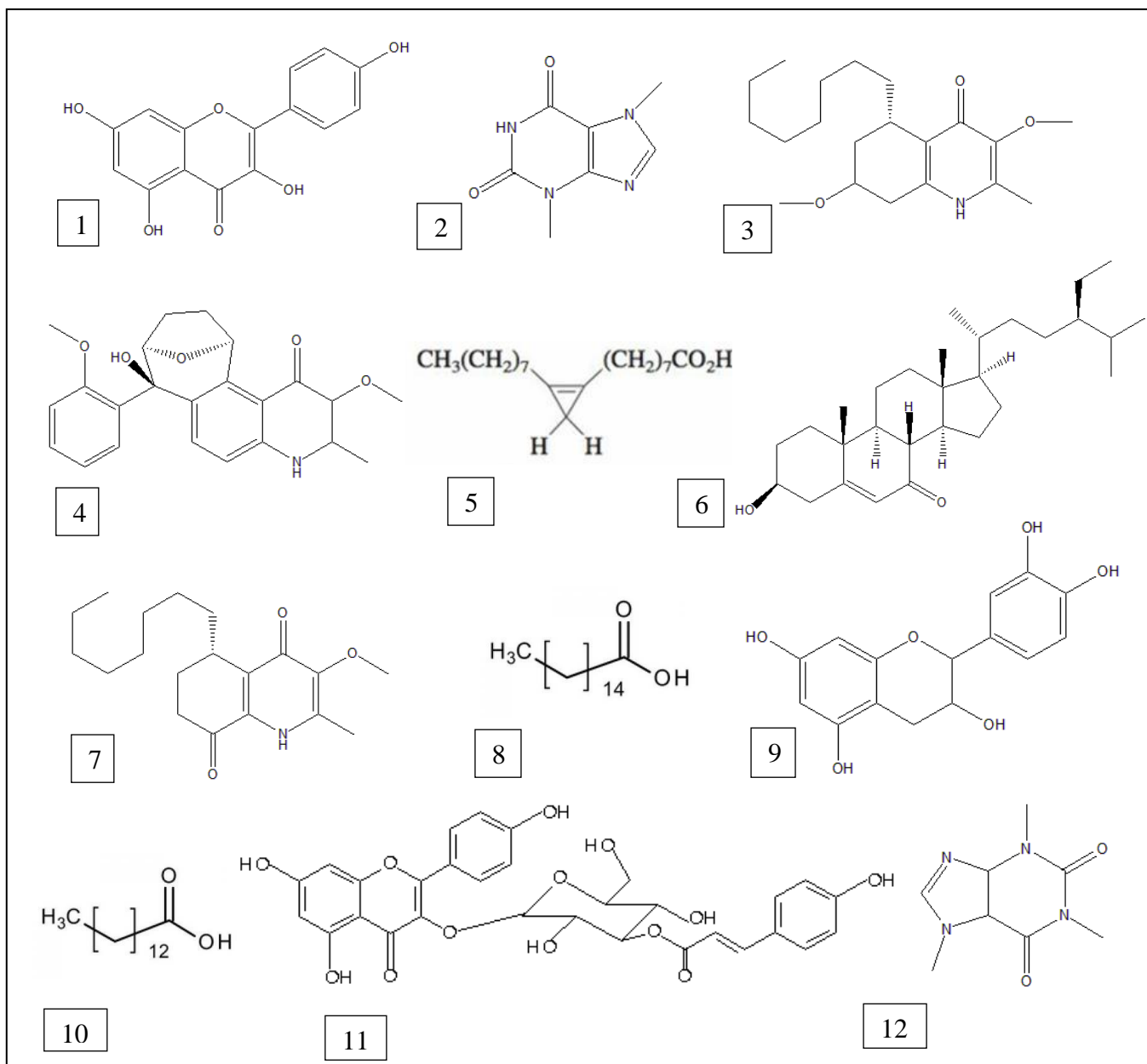
### **3.10. A família Sterculiaceae**

Formada atualmente por cerca de 70 gêneros e 1500 espécies, a família Sterculiaceae é composta por três famílias inferiores: Sterculioideae, Helicterioideae e Byttnerioideae, sendo que, a grande parte das espécies encontradas no Brasil está distribuída nas tribos Helicterereae, Byttnerieae, Theobromeae e Hermannieae. A maior ocorrência das Sterculiaceae se dá exclusivamente na África, Ásia e Oceania (APG, 2016). Ocorre também nos Estados Unidos e se estende até a América do Sul, contemplando todo o território brasileiro. Há relatos de utilização das plantas desta família para os mais diversos fins (GONÇALEZ, 2013).

A *Waltheria viscosíssima*, conhecida popularmente como “malva viscosa” é uma planta pertencente à família das Sterculiaceae e é utilizada na medicina popular por possuir propriedades emolientes, expectorantes e antitussígenas, além de ser usada para tratar úlceras mal curadas (ROLIM, 2015). Da *Guazuma ulmifolia* Lam, também pertencente a esta família, extrai-se o popular “óleo de mutamba”, utilizado para combater a queda de cabelos, caspa, seborreia e outras infecções no couro cabeludo (CARVALHO, 2007), a *Theobroma grandiflorum*, conhecida como cupuaçu é altamente rica em fenólicos, substâncias conhecidas por seu potencial antioxidante (PUGLIESE, 2010), além da *Theobroma cacao*, que possui atividade estimulante do SNC (FERNANDES, 2017).

Além destas espécies citadas acima, há uma vasta variedade de plantas que pertencem a família Sterculiaceae das quais já foram isolados metabólitos secundários das mais diversas classes, com atividades biológicas e farmacológicas comprovadas na literatura. No Quadro 1 abaixo, podemos visualizar alguns constituintes químicos isolados de plantas desta família.

Quadro 1. Constituintes químicos isolados de plantas pertencentes a família Sterculiaceae: (1) Canferol, (2) Teobromina, (3) Chamaedrona, (4) Walteriona-A, (5) Ácido esterculico, (6)  $\beta$ -sitosterol, (7) Antidesmona, (8) Ácido palmítico, (9) Epicatequina, (10) Ácido mirístico, (11) Tilirosídeo, (12) Cafeína.



Fonte: Adaptado de FERNANDES, (2017).

Todos estes constituintes químicos possuem atividades farmacológicas comprovadas na literatura, sendo elas (1) antioxidante; (2), (12) estimulante do SNC; (3), (4), (7), (10) antimicrobiana; (5) antifúngica; (6) hipoglicemiante; (11) hepatoprotetora; (9) hipotensor; (8) gastroprotetora (ALMEIDA, 2017; CHAVES et al, 2004; COSTA et al, 2010; DIAS, 2005; GALINA, 2005; GRESSLER, 2006; MOREIRA et al 2011; NAVARRO, 2010; OLIVEIRA, 2014; PUGLIESE, 2010; REID et al, 2005).

De acordo com Rahman (2012), um sesquiterpeno que foi isolado da espécie *Mansonia gagei* Drumm (Sterculiaceae) mostrou grande eficácia como larvicida, matando o *Aedes aegypti* com a mínima concentração do extrato de diclorometano. Fernandes et. al., (2017) relata que a espécie *Helicteres velutina* K. Schum da família Sterculiaceae, é utilizada na Bahia como inseticida e repelente de insetos.

### 3.11. Informações acerca do gênero *Helicteres* e da espécie *Helicteres velutina*.

Fernandes (2017) relata que o gênero *Helicteres* é um dos mais estudados da família Sterculiaceae, e vários de suas espécies são comprovadas com atividades medicinais. Podemos visualizar no Quadro 2 espécies estudadas deste gênero e suas respectivas atividades farmacológicas.

Quadro 2: Algumas espécies de *Helicteres* e suas atividades farmacológicas relatadas na literatura.

<u>Espécies</u>	<u>Atividades farmacológicas</u>
<i>Helicteres sacarolha</i>	Anti-hipertensiva, antiulcerogênica.
<i>Helicteres isora</i>	Antioxidante, anticâncer, antimicrobiana.
<i>Helicteres angustifolia</i>	Analgésica, antiinflamatória, antimicrobiana, anticâncer, atua contra hepatite B.
<i>Helicteres baruensise</i>	Antimicrobiana.
<i>Helicteres grazumifolia</i>	Antifúngica.

Fonte: adaptado de FERNANDES, 2017.

Popularmente conhecida como “pitó”, *Helicteres velutina* (Figura 10), é uma planta encontrada exclusivamente no Brasil, especificamente nas regiões Nordeste e Sudeste. Pode ser encontrada em solos arenosos ou rochosos, entre o Cerrado e a Caatinga (ESTEVEZ, 2015).

Estudos comprovam que o extrato etanólico bruto das raízes e do caule desta planta é capaz de matar larvas do *Aedes aegypti*. Além disso, a planta já é utilizada como repelente pela tribo indígena Pankaré, localizada no estado da Bahia. Em termos de substâncias presentes em seu metabolismo secundário, estudos fitoquímicos mostraram a presença apenas de: um triterpeno, três flavonoides e um esteroide da espécie, o que nos mostra ser necessário um estudo mais aprofundado dos metabólitos secundários de *H. velutina* (FERNANDES, 2017).

Figura 11: *Helicteres velutina* K SCHUM.



Fonte: FERNANDES, (2017).

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Coleta e identificação botânica do material**

As partes aéreas da espécie *Helicteres velutina*, foram coletadas no município de Jeremoabo, no estado Bahia. A identificação do material botânico foi realizada pela Professora Dra. Adilva de Souza Conceição (Universidade do Estado da Bahia), tendo uma exsicata depositada no Herbário da mesma instituição (HUNEB – Herbário da Universidade do Estado da Bahia; Coleção Paulo Afonso), sob o código 28709-1.

A presente pesquisa foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, sob código AE1E834.

### **4.2. Obtenção do Extrato Etanólico e suas Fases**

A planta (5000g) foi seca em estufa com ar circulante à 40°C por 72h. Posteriormente, foi triturada com auxílio de um moinho mecânico, e o pó obtido (1976g) submetido à extração por maceração. O extrato obtido foi levado ao rotaevaporador para ser concentrado sobre pressão reduzida, obtendo-se assim o extrato etanólico bruto (EBB). Em seguida, o EBB foi particionado pelo método líquido-líquido utilizando solventes orgânicos de diferentes polaridades: hexano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol, a fim de se obter as suas respectivas fases.

Os procedimentos de extrações e de particionamento foram realizados no laboratório de Fitoquímica do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPGPNSB) no Centro de Ciências da Saúde (UFPB – Campus I – João Pessoa-PB). Todos os demais procedimentos que serão descritos abaixo foram realizados nos laboratórios de Química Orgânica e Bioquímica no Centro de Ciências Agrárias (UFPB – Campus II – Areia-PB).

### **4.3. Triagem fitoquímica**

Esta etapa consiste na identificação dos grupos de metabólitos secundários majoritariamente presentes na composição do extrato da espécie, por meio de reações colorimétricas e de precipitação. O procedimento foi realizado seguindo a metodologia de

Matos (1997). Os testes realizados estão descritos a diante e podem ser observados no Quadro 3 abaixo.

Quadro 3: Testes realizados para identificação de seus respectivos metabólitos secundários

<i>Alcaloides</i>	<i>Cumarinas</i>	<i>Esteroides e Triterpenos</i>	<i>Flavonoides</i>	<i>Quinonas</i>	<i>Saponinas</i>	<i>Taninos</i>
Reações de Dragendorff e Mayer.	Fluorescência sob a luz UV (254nm).	Reação de Liebermann-Burchard.	Reações de Shinoda e $AlCl_3$ .	Reação de Bornträger.	Teste da espuma.	$FeCl_3$ e precipitação de proteínas.

#### 4.3.1 Flavonoides

Foram feitas duas reações para caracterização de flavonoides, a reação de Shinoda e a reação com Cloreto de Alumínio.

- Reação de Shinoda:

Pesou-se 30 mg da amostra e solubilizou-se em aproximadamente 3 mL de etanol. Em seguida foi colocado cerca de 2mL do extrato alcoólico em um tubo de ensaio, adicionou-se 4 fragmentos de Magnésio metálico e 0,5 mL de HCl concentrado, observando-se o desenvolvimento de coloração avermelhada.

*Resultado positivo → coloração rósea a vermelha.*

#### 4.3.2 Alcaloides

Para caracterização de alcaloides foram realizadas reações de precipitação com os reagentes de Dragendorff (solução de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto) e Mayer (solução de iodeto de potássio e cloreto de mercúrio).

- Reagente de Dragendorff:

Pesou-se 50 mg da amostra e solubilizou em etanol, em seguida foi adicionado 5 gotas de HCl concentrado à amostra e 10 gotas do reagente Dragendorff.

*Resultado positivo → presença de precipitado alaranjado.*

- Reagente de Mayer:

Pesou-se 50 mg da amostra e solubilizou em etanol, em seguida foi adicionado 5 gotas de HCl concentrado à amostra e 10 gotas do reagente Mayer.

*Resultado positivo → presença de precipitado branco.*

#### 4.3.3 Quinonas

Realizou-se a reação de Bornträger. Pesou-se 10 mg da amostra, solubilizou em 0,5 mL de metanol e adicionou 1,5 mL de água destilada. Em seguida transferiu-se a solução para um tubo de ensaio e adicionou 5mL de clorofórmio. Agitou e foi deixado em repouso por 10 minutos. Com uma pipeta foi retirada a fase clorofórmica e transferida para outro tubo de ensaio. Neste, foi adicionado 1mL de solução de NaOH a 10%.

*Resultado positivo → coloração rosa/púrpura na fase aquosa.*

#### 4.3.4 Cumarinas

Pesou-se 5 mg da amostra e solubilizou em 3 mL de metanol. Em seguida gotejou-se o extrato alcoólico em duas regiões diferentes de uma tira de papel de filtro. Sobre uma das regiões foi aplicada uma gota de solução de NaOH a 10% e comparou-se a fluorescência sob luz ultravioleta.

*Resultado positivo → desenvolvimento de fluorescência verde-amarelada ou azulada.*

#### 4.3.5 Esteroides e Triterpenos

Realizou-se a reação de Liebermann-Burchard (anidrido acético - ácido sulfúrico concentrado). Pesou-se 5 mg da amostra e solubilizou em 2 mL de clorofórmio. Em seguida transferiu-se a parte solúvel em clorofórmio para um tubo de ensaio e foi adicionado 1mL de anidrido acético e 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

*Resultado positivo → coloração verde azulada.*

#### 4.3.6 Saponinas

Pesou-se 5 mg da amostra e solubilizou em 2 mL de água destilada. Em seguida transferiu-se a parte solúvel em água para um tubo de ensaio com tampa. Agitou por 3 minutos. Deixou em repouso por 15 minutos.

*Resultado positivo → formação de espuma persistente.*

#### 4.3.7 Taninos

Foram realizadas duas reações para caracterização de taninos:

- Reação de coloração:

Pesou-se 10 mg da amostra e solubilizou em 1 mL de metanol. Em seguida foi adicionado 4 mL de água destilada e 5 gotas de solução de  $\text{FeCl}_3$  a 20%.

*Resultado positivo → coloração azul para taninos hidrolisáveis e coloração verde para taninos condensados.*

- Reação de precipitação de proteína:

Transferiu-se a 2 mL da solução da amostra com metanol e água destilada para um tubo de ensaio. Em seguida foram adicionadas 2 gotas de HCl concentrado e solução de proteína (albumina) a 2% gota a gota.

*Resultado positivo → formação de precipitado ou turvação.*

Na reação de coloração foi utilizado o cloreto férrico, que em solução, produz uma forte coloração azul para taninos hidrolisáveis, e coloração verde para taninos condensados. Porém esta reação não é específica para taninos, pois pode apresentar resultado positivo na presença de fenólicos em geral, então para confirmar a presença de taninos utilizou-se a reação de precipitação de proteínas (MELLO e SANTOS, 2010).

#### **4.4. Isolamento dos Constituintes Químicos e Identificação Estrutural**

Uma alíquota de 5 g da fase acetato de etila do EBB, foi submetida a cromatografia de coluna, utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária e metanol como fase móvel. Foram obtidas 20 frações no processo. As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), e as frações de 7-15 foram reunidas de acordo com os seus similares fatores de retenção e recromatografadas em Sephadex sucessivas vezes, até obter-se um pó amarelo, que se demonstrou como uma mancha única em CCDA.

Após a purificação da substância, caracterizada como *Hv-1*, esta foi submetida a CCDA novamente, a fim de ser comparada com padrões de flavonoides já conhecidos (quercetina, rutina e tilirosídeo), devido ao fato de esta ter apresentado características que dão indícios de que se trata de uma substância pertencente a esta classe de metabólitos.

Por fim, a amostra purificada foi submetida à análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  unidimensionais, para realização de sua elucidação estrutural.

#### 4.5. Determinação de fenólicos totais

Para quantificação dos fenólicos totais presentes no EEB, seguimos a metodologia de Gulcin et al (2004), pelo método espectrofotométrico, fazendo uso do ácido gálico como padrão de referência.

Foi elaborada uma curva padrão de ácido gálico, com as concentrações de 125; 62,5; 31,25; 15,125 e 7,5625 µg/mL.

A solução contendo o extrato para a leitura no espectrofotômetro (UV-Vis), foi preparada da seguinte maneira:

- 100µL da solução amostral (amostra a ser analisada ou padrão);
- 50µL do reagente de Folin-Ciocalteu;
- 6mL de água destilada;
- 2mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15%);
- Por fim, o volume foi aferido para 10 mL e todas as análises feitas em triplicata.

As amostras vegetais foram solubilizadas em metanol, para preparação de uma solução de 1000 mg/L (solução amostral). As soluções-teste permaneceram em repouso por 2h e, após este período, foi realizada a leitura das absorvâncias em espectrofotômetro, no comprimento de onda 760nm. Os resultados obtidos foram expressos em mg de EAG/g de extrato (equivalentes de ácido gálico por grama de extrato).

Após a realização das leituras, foi gerado o gráfico de regressão linear (Origin 6.0) e a equação da reta para a obtenção dos resultados em mg de EAG/ g de extrato.

#### 4.6. Avaliação da atividade larvicida de *H. velutina*

A atividade larvicida do EEB de *H. velutina* foi avaliada seguindo as recomendações da Organização Mundial de Saúde (1970). As larvas do quarto estágio do *A. aegypti* (L4) foram obtidas do Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba. O EEB foi diluído em água destilada (10 mL) em diferentes concentrações (0,1 a 10 mg/mL). Vinte larvas de estágio L4 foram transferidas para tubos Falcon contendo as soluções do EEB *H. velutina* em diferentes concentrações. Um grupo de controle foi preparado usando apenas água. Um grupo controle positivo foi preparado usando uma solução padrão dos inseticidas Imiprothrin 0,02%,

Permetrin 0,05% e Esbiothrin 0,1%. Os tubos foram incubados por 24 horas a  $28 \pm 4$  ° C, durante 12 horas de luz natural e 12 horas de escuridão. A mortalidade das larvas foi verificada após 24 h de incubação. Todos os testes foram realizados em triplicata. Utilizou-se o software GraphPad Prism 5.0 para calcular  $CL_{50}$ .

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Resultados da triagem fitoquímica

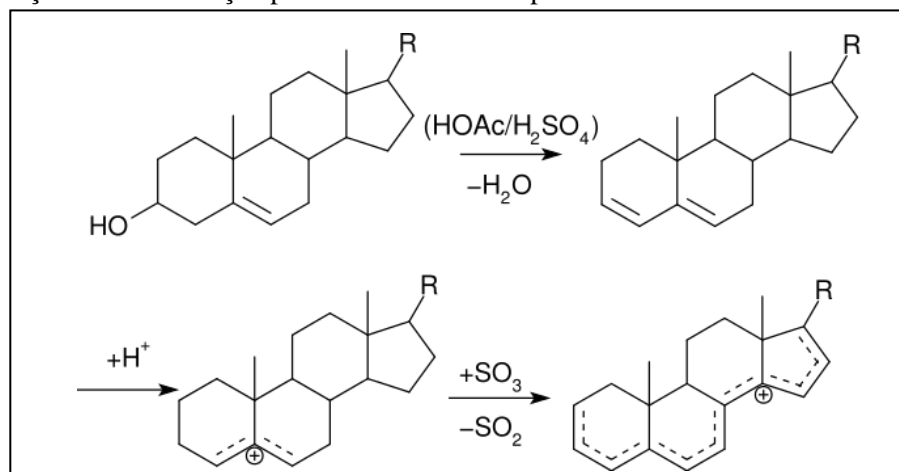
Os testes para identificação de metabólitos secundários foram positivos apenas para esteroides, triterpenos e flavonoides, descritas no Quadro 4 abaixo:

Quadro 4. Identificação dos metabólitos secundários presentes na *Helicteres velutina*

Metabólitos secundários	Resultado	Testes
<i>Alcaloides</i>	Negativo	Reação de Drangerdoff e Mayer
<i>Cumarinas</i>	Negativo	Fluorescência sob a luz UV (254nm).
<i>Esteroides e Triterpenos</i>	Positivo	Reação de Liebermann-Burchard
<i>Flavonoides</i>	Positivo	Reação de Shinoda
<i>Quinonas</i>	Negativo	Reação de Bornträger
<i>Saponinas</i>	Negativo	Teste da espuma
<i>Taninos</i>	Negativo	FeCl <sub>3</sub> e precipitação de proteínas.

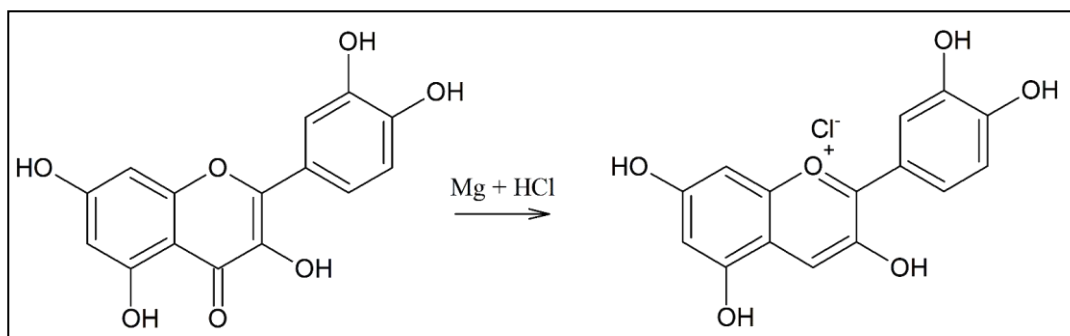
Como já descrito na metodologia, o resultado para presença de esteroides e triterpenos se dá pelo surgimento de coloração verde azulada, devido a perda da hidroxila e ativação do sistema conjugado do núcleo esteroidal (Figura 12).

Figura 12: reação de identificação para esteroides e triterpenos.



Já para a confirmação da presença de flavonoides pela reação de Shinoda, pode ser comprovada pelo surgimento de uma coloração rósea avermelhada, devido a ligação do íon  $\text{Cl}^-$  com o oxigênio do presente dentro do anel C do flavonoide (Figura 13).

Figura 13: Reação para identificação de flavonoides pelo reagente de Shinoda.



É natural que os metabólitos secundários tenham sua biossíntese restrita a algumas espécies, cuja importância biológica não está relacionada com o metabolismo básico, ou seja, estão relacionados com as estratégias de defesa ou sobrevivência da planta (SANTOS, 2010; SILVA et al, 2010). Desta forma, pode-se justificar o fato de algumas classes de metabólitos não se fazerem presente na espécie em estudo.

Os núcleos de esteroides e triterpenos possuem quase a mesma origem biossintética, justificando assim o fato de estes serem detectados em único teste. Constituem uma classe de substâncias com diversas propriedades farmacológicas relatadas na literatura e pelo fato de serem também substâncias de baixa toxicidade, despertam interesses em pesquisas (FERNANDES, 2017; ZUANAZZI e MONTANHA, 2010).

Estudos relatam que os triterpenos são responsáveis pela atividade no tratamento de queratose actínica, uma lesão na pele causada pelo sol que provoca manchas avermelhadas ou acastanhadas, com superfície áspera e são considerados inibidores do HIV (SILVA, DUARTE e VIEIRA FILHO, 2014). Apesar de serem compostos muito frequentes em plantas e possuírem inúmeras atividades biológicas, poucos compostos desta classe apresentam atividade contra larvas de *Aedes aegypti* (GARCEZ et al, 2013).

Estudos fitoquímicos previamente realizados confirmam a presença de flavonoides, esteroides e triterpenos na espécie *H. velutina* (FERNANDES, 2017).

Os flavonoides são substâncias abundantes em diversas frutas e hortaliças, fazendo-se muito presente na alimentação humana. São substâncias relatadas na literatura com atividades antivirais, antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, entre outras. Também são consideradas

substâncias com baixa toxicidade, constituindo-os um grupo de metabólitos secundários com grande potencial terapêutico e curativo (ZUZZANI e MOTANHA, 2010). Garcez et al (2013) também relata que compostos dessa classe de substâncias possuem potencial larvicida.

## 6.2. Identificação estrutural da substância Hv-1

A substância isolada apresentou-se como um pó amarelo. A análise do seu espectro de RMN  $^1\text{H}$ , realizada a 400MHz, tendo como solvente o DMSO, apresentou sinais entre  $\delta$  3,10 e  $\delta$  5,30, que corresponde a região em que aparecem açúcares e também  $\delta_{\text{H}}$  7,98 e  $\delta$  6,1, correspondente a região em que sinalizam substâncias fenólicas. Estes sinais podem ser observados na Figura 14.

Os sinais para dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,98 e  $\delta$  6,79, e  $J=8,9$  Hz observados na extensão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 15), indica um acoplamento *orto*, correspondente aos hidrogênios nas posições H-2'/H-6' e H-3'/H-5', respectivamente, indicando um sistema AA'BB'. Sinais similares foram relatados por Fernandes (2017), sendo estes sinais característicos da presença de um anel B, pertencente a um núcleo flavonoídico.

No entanto, ainda na expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 16), podemos observar sinais adicionais na região de hidrogênios oximetínicos, e ainda um dubleto com  $\delta$  5,43 ( $J=7,3$  Hz), indicando a presença de um carbono anomérico sendo estes associados à presença de uma unidade glicosídica, uma glicose, ligada a aglicona Canferol.

Foi perceptível ainda, a presença de mais um sistema AA'BB' no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , devido a presença de um outro par de dubletos em  $\delta$  7,35 ( $J=8,5$  Hz) e outro em  $\delta$  6,77 ( $J=8,5$  Hz). Associando este segundo sistema AA'BB' a dois dubletos em  $\delta$  7,33 e  $\delta$  6,09, (ambos  $J=16$  Hz), típicos de hidrogênios olefínicos em posição *trans*, pode-se afirmar que esta substância possui ainda uma unidade *p*-cumaroil em sua estrutura. Teles et al (2015) e Fernandes (2017) obtiveram resultados similares. Todas essas informações podem ser descritas na Figura 17 abaixo.

Quanto aos resultados da análise de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 18) para a substância Hv-1, os sinais obtidos apontaram para a presença de 30 átomos de carbono. Podemos observar a presença de dois carbonos carbonílicos, um em C-4 com um sinal de  $\delta$ 176,7 e outro com sinal de  $\delta$ 166,2 em C-9'''. Constatou-se ainda sinais de  $\delta$ 115,8 e  $\delta$ 130,1 relacionados a dois anéis aromáticos *para*-substituídos e um sinal de  $\delta$ 101,4 referente a um carbono anomérico C-1''.

Figura 14: Espectro de RMN  $^1\text{H}$   $\delta$ , DMSO, 400 MHz) de *Hv*-1.

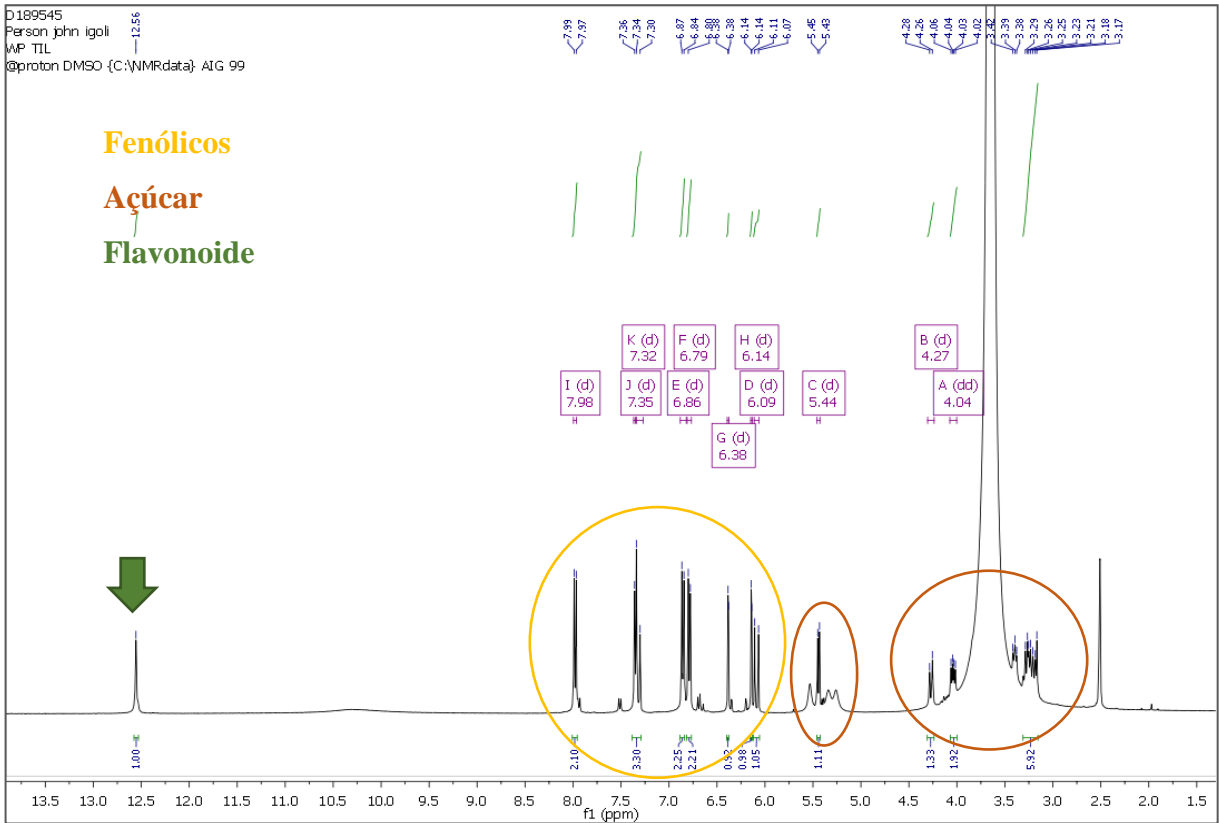


Figura 15: Expansão 1 do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO, 400 MHz) de *Hv*-1.

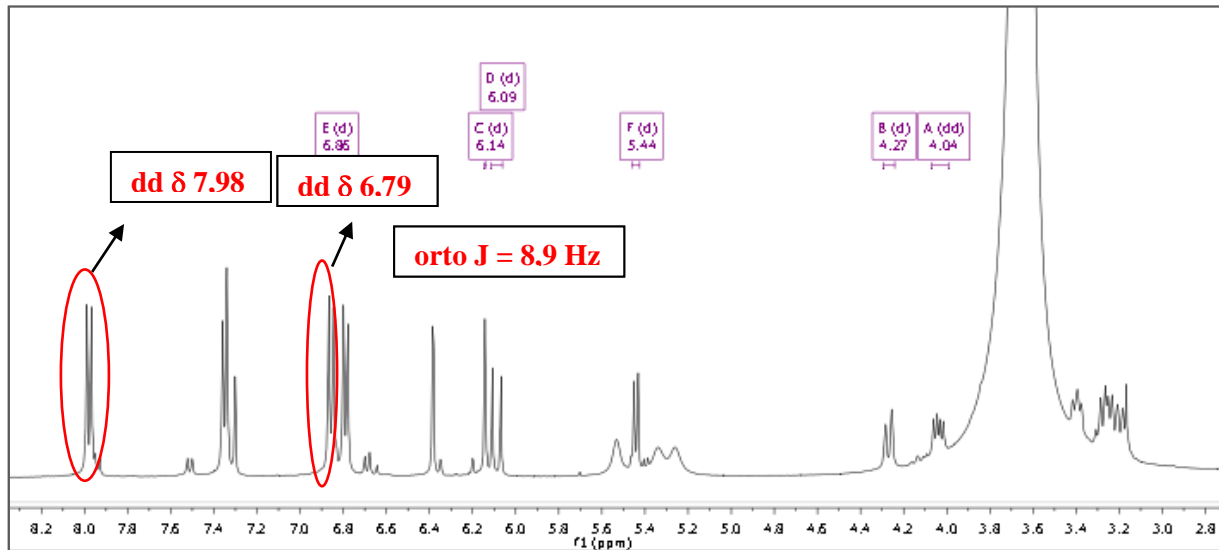


Figura 16: Expansão 2 do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO, 400 MHz) de *Hv-1*.

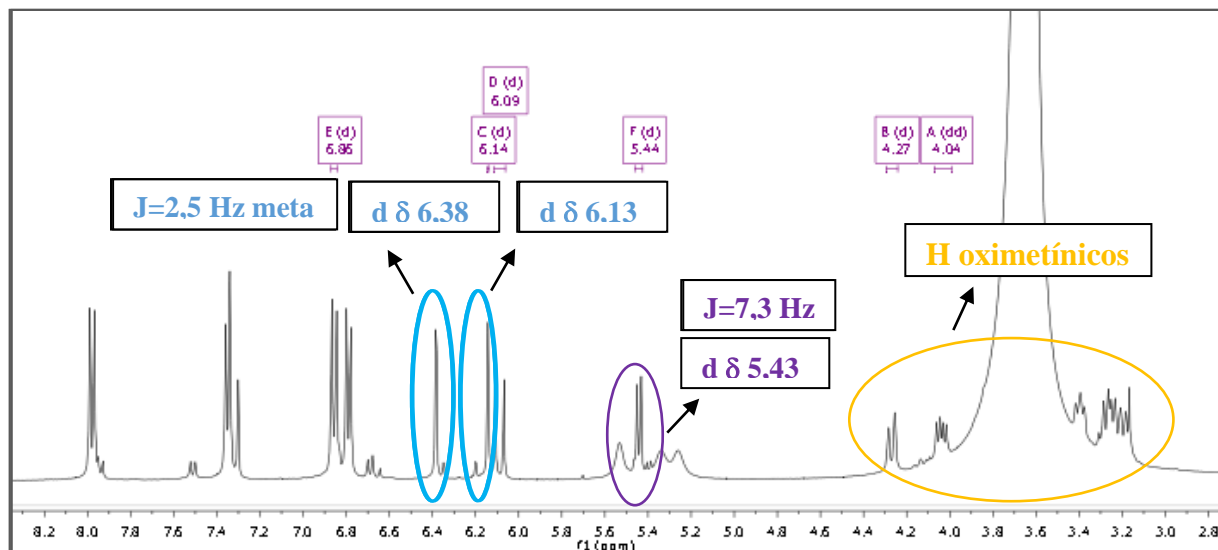


Figura 17: Expansão 3 do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO, 400 MHz) de *Hv-1*.

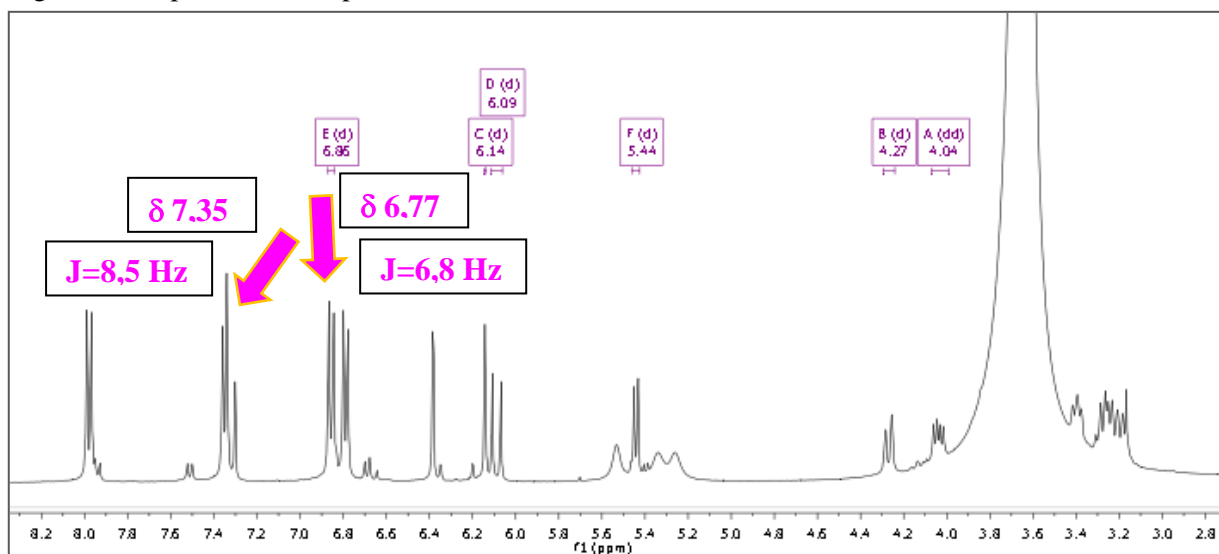
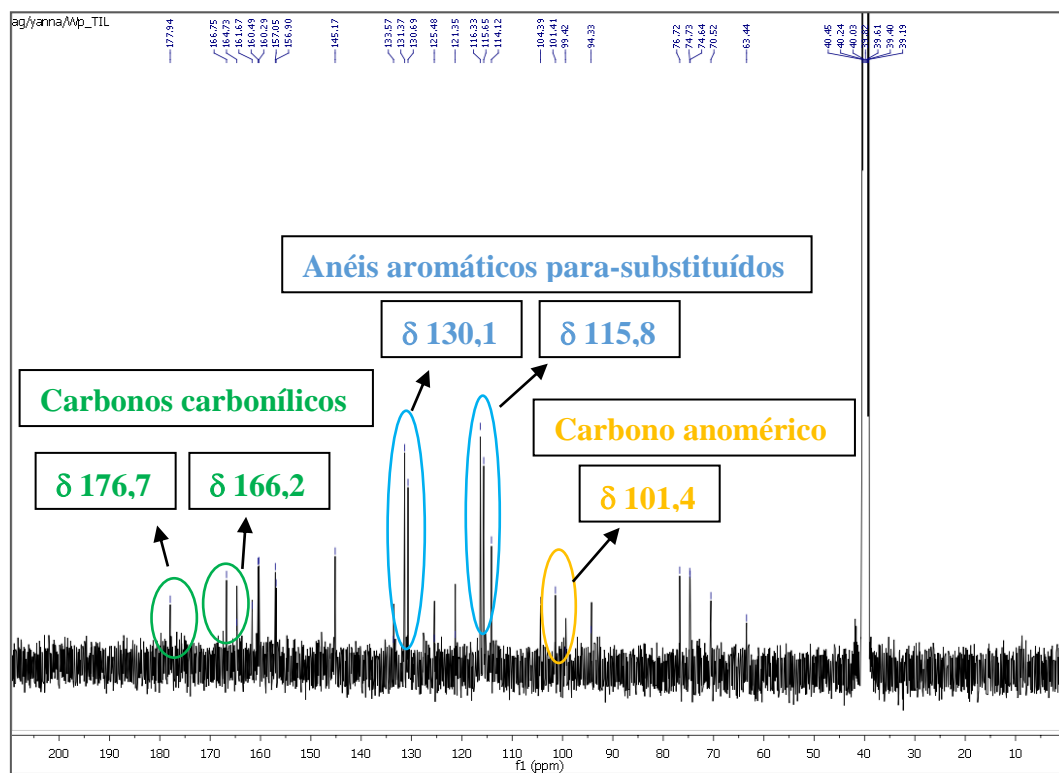


Figura 18: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO, 100 MHz).



Na Tabela 2, podemos observar os dados obtidos com as análises de RMN, comparados com os dados da literatura (Gomes et al, 2011).

Tabela 2. Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para a substância Hv-1 comparados com os de Gomes et al 2011.

C	Gomes et al 2011		Hv-1	
	$\delta_{\text{H}}$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$
2	-	157,1	-	156,6
3	-	133,5	-	132,9
4	-	177,9	-	176,7
5	-	161,7	-	161,0
6	6,13 (1H;d, J= 2)	99,3	6,12 (1H; d, J=2,0)	99,6
7	-	164,7	-	164,1
8	6,38 (1H; d, J= 2)	94,2	6,35 (1H; d, J=2,0)	94,1
9	-	156,9	-	155,8
10	-	104,3	-	102,5
1'	-	121,3	-	120,7
2'	7,98 (2H; d, J= 8,8)	131,3	7,97 (2H; d, J= 8,9)	130,1
3'	6,79 (2H; d, J= 8,8)	116,3	6,84 (2H; d, J= 8,9)	115,8
4'	-	160,5	-	160,0
5'	6,79 (2H; d, J= 8,8)	116,3	6,84 (2H; d, J= 8,9)	115,8
6'	7,98 (2H; d, J= 8,8)	131,3	7,97 (2H; d, J= 8,9)	130,1
1''	5,43 (1H; d, J=7,3)	101,4	5,43 (1H; d, J=7,5)	101,4
2''	3,22-3,40 (m)	74,8	3,35 – 3,19 (m)	74,2
3''	3,28 (m)	76,7	3,35 – 3,19 (m)	76,3
4''	3,18 (m)	70,5	3,16 (m)	69,9
5''	3,40 (m)	74,6	3,25 (m)	74,1
6''	4,04 (d, J= 11) - 4,27 (dd, J= 11 e 6,6)	63,4	4,27 (1H; dd, J=2,0 e 11,8) e 4,02 (1H; dd, J=6,4 e 11,8)	62,9
1'''	-	125,4	-	124,7
2''' e 6'''	7,34 (2H; d, J= 8,5)	130,7	7,35 (2H; d, J=8,5)	130,6
3''' e 5'''	6,78 (2H; d, J= 8,5)	115,6	6,77 (2H; d, J=8,5)	115,0
4'''	-	160,3	-	159,9
7'''	7,32(1H; d, J=16)	145,2	7,33 (1H; d, J=16,0) -	144,6
8'''	6,09 (1H; d, J=16)	114,1	6,09 (1H; d, J=16,0)	113,5
9'''	-	166,7	-	166,2
OH-5	12,55 (s)	-	12,59 (s)	-

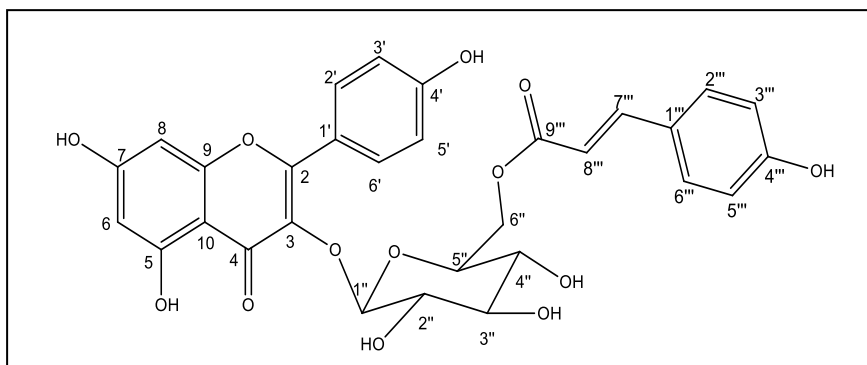
Fonte: Adaptado de Gomes et al, 2011.

Diante das informações obtidas por meio dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ , juntamente com os dados da literatura, podemos afirmar que a substância isolada, trata-se de um canferol-3-*O*- $\beta$ -D- (6''-*E*-*p*-coumaroil) glicosídeo (Figura 19), também conhecido como tilirosídeo.

O tilirosídeo é um flavonoide glicosilado ligado a um grupo coumaroil, que já foi reportado em diversas outras espécies da família Sterculiaceae (CARIDADE et al, 2018; FERNANDES, 2017; GOMES, 2011; ROLIM, 2015; TELES et al, 2015), o que faz dessa substância um marcador taxonômico desta família.

Na literatura, esta substância já foi relatada com diversas atividades farmacológicas, tais como: vasorelaxante, antibacteriana, antioxidante, hipolipidêmica, analgésica, antiinflamatória e antiparasitária (FALCÃO-SILVA et al., 2009; SCHINELLA et al., 2007).

Figura 19: Estrutura elucidada: canferol-3-*O*-β-D- (6''-*E*-*p*-coumaroil) glicosídeo, Tilirosídeo.



Amostras desta substância juntamente com os demais extratos da espécie em estudo, estão sendo avaliados quanto a atividade larvicida e repelente, pela Profa. Dra. Fabíola da Cruz Nunes (CBiotec – UFPB – Campus I).

### 6.3. Resultados para determinação dos fenólicos totais

O Reagente de Folin-Ciocalteu, utilizado para determinação dos fenólicos totais, consiste de mistura dos ácidos fomalbídico e fosfotungstico, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI) (caracterizado pela cor amarela no complexo  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); no entanto, quando em contato com agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis, cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (Figura 9) (AGBOR et al., 2014).

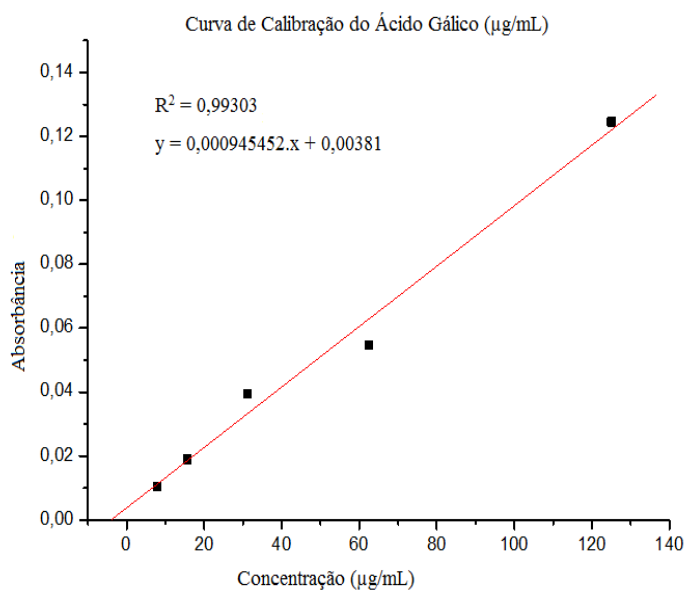
Na Tabela 3 podemos visualizar os resultados para as médias das absorvâncias obtidas das amostras testadas.

Tabela 3: Concentração de fenólicos totais do extrato etanólico bruto de *Helicteres velutina*.

Concentração do extrato (mg/L)	Absorbância (1ª amostra)	Absorbância (2ª amostra)	Absorbância (3ª amostra)	Média e desvio padrão	Concentração de fenólicos (mg de EAG/g de extrato)
1000	0,019	0,026	0,027	0,024 ±0,002	26,35

O valor quantificado de fenólicos totais foi calculado a partir da equação da reta obtida pela curva de calibração do padrão de ácido gálico (Figura 20), sendo este de 26,35mg de EAG/g de extrato. Os valores obtidos para as espécies *Sida micranthum* e *Wissadula periplocifolia*, plantas pertencentes a mesma família da foram de 39,37 mg de EAG/g, e 45,68 mg de EAG/g (OLIVEIRA et al, 2012).

Figura 20: Curva de calibração do ácido gálico.



Um grande número de efeitos benéficos à saúde tem sido atribuído aos compostos fenólicos, que podem ser encontrados em frutas, vegetais, chás e vinhos. Estudos epidemiológicos, clínicos e in vitro retratam diversos efeitos biológicos diretamente ligados aos compostos fenólicos da dieta, tais como: atividades antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (ABE et al, 2007).

Os compostos fenólicos encontrados nos vegetais podem possuir estruturas variadas, como os ácidos fenólicos, derivados da cumarina, taninos e flavonoides, que atuam no organismo como agentes redutores, sequestrantes de radicais livres, quelantes de metais ou

desativadores do oxigênio. De acordo com os órgãos de saúde pública como OMS, fazer uso contínuo de antioxidantes sintéticos pode ser associado com aparecimento de doenças. Sendo assim, a pesquisa por antioxidantes naturais tem crescido no mercado farmacêutico e industrial, pelo fato de estes compostos estarem associados a manutenção das propriedades organolépticas dos alimentos e também pelo consumo destas substâncias estarem diretamente ligados a melhor qualidade de vida (FERREIRA et al, 2016).

### 6.5 Avaliação do potencial larvicida do EEB de *H. velutina*

A mortalidade média das larvas de *A. aegypti* (L4) em cada concentração de extrato etanólico bruto (EEB) é mostrada na Tabela 4. A concentração de 10,0 mg / mL foi capaz de matar 100% das larvas. Concentrações de 7,5, 5,0, 3,5, 2,5, 1,0 e 0,1 mg / mL causaram a morte de 80,0%, 77,5%, 68,3%, 26,6, 11,6% e 0%, respectivamente. A concentração letal para 50% das larvas (CL<sub>50</sub>) calculada de EEB foi de 2,983 mg/mL.

Tabela 4: Número médio de mortalidades de larvas de *A. aegypti* em diferentes concentrações de extrato etanólico bruto (EEB) de *H. velutina*.

<i>Concentração de EEB mg/mL</i>	<i>Média de mortalidade e desvio padrão</i>	<i>Percentual</i>
0,1	0	0
1	2,3±0,57	11,6%
2,5	5,3±1.15	26,6%
3,5	13,6±1.52	68,3%
5	15,5±1.29	77,5%
7,5	16±1.26	80,0%
10	20±0	100,0%
Controle +	20	100,0%
Controle -	0	0

Os bioensaios foram realizados utilizando a concentração de 0,1 mg/mL, onde nenhuma atividade foi observada. A concentração foi gradualmente aumentada para atingir uma concentração mortal satisfatória. As larvas apresentaram comprometimento da mobilidade e letargia, seguidas de paralisia completa. Este resultado tornou-se mais intenso e rápido quando a concentração da EEB foi aumentada. Resultados semelhantes foram descritos por outros estudos com as espécies *Swinglea glutinosa*, *Copaifera reticulata* e *Copaifera langsdorfii* (Leguminosae) (FERNANDES et al., 2018).

A CL<sub>50</sub> de 2,983 mg/mL obtida no ensaio foi muito menor do que a relatada em estudos anteriores avaliando a atividade larvicida de outros extratos vegetais, como o *Croton linearifolius* (Euphorbiaceae), que apresentou um valor de CL<sub>50</sub> de 17,420 mg / mL e *Trichilia pallida* (Meliaceae) com uma CL<sub>50</sub> de 4,660 mg / mL (FERNANDES et al., 2018).

A atividade larvicida do EEB de *H. velutina* em baixas concentrações aponta para sua possível aplicação como larvicida doméstico para combater a proliferação do mosquito vetor *A. aegypti*. Além do extrato se mostrar muito potente, existe a vantagem de este não ser halogenado, como a maioria dos inseticidas, que acabam apresentando uma toxicidade muito alta, devido a presença destas substâncias.

## 6 CONCLUSÕES

Com o desenvolvimento do trabalho foi possível identificar a produção dos seguintes metabólitos secundários pela espécie *H. velutina*: esteroides, triterpenos e flavonoides. Com o estudo fitoquímico foi possível isolar e identificar o flavonoide Tilirosídeo, já relatado em diversas espécies da família Sterculiaceae, conhecido por possuir uma ampla variedade de atividades farmacológicas.

Foi possível determinar que a espécie é produtora de alto teor de fenólicos, sendo quantificados 26,35mg de EAG/g de extrato. Há muito interesse nos compostos fenólicos tendo em vista que esses compostos são conhecidos por sua ação antioxidante.

A atividade larvívica demonstrada pelo EEB de *H. velutina* em baixas concentrações aponta para sua possível aplicação como larvívica doméstico para combater a proliferação do mosquito vetor *A. aegypti*. Futuros ensaios para avaliar a atividades larvívica da substância isolada serão realizados.

A realização deste estudo contribuiu para a ampliação do conhecimento acerca dos metabólitos secundários e possíveis aplicações da espécie *H. velutina*, contribuindo para a quimiotaxonomia da família Sterculiaceae.

## REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 02, p. 394-400, 2007.
- APG – An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 181, p. 1-20, 2016.
- AGBOR, G A; VINSON, J A; DANNELLY, P. E. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal Food Science Nutrition Diet*, v. 03, n. 08, p. 147-156, 2014.
- ALMEIDA, B. C. Metabólitos secundários como potenciais inibidores de CDK8 (proteína quinase humana). 140f. 2017. (Programa de Pós-graduação em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo – SP.
- ARAÚJO, V. E. M. et al. Aumento da carga de dengue no Brasil e unidades federadas, 2000 e 2015: análise do Global Burden of Disease Study 2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, p. 206-216, 2017.
- AZEVEDO, R. S. S.; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. C. Risco do Chikungunya para o Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 49, p. 58-64, 2015.
- BERLINCK, R. G. S. et. al. A Química de Produtos Naturais do século XXI. *Química Nova*, v. 40, n. 06, p. 706-710. 2017.
- BRASIL. *Vírus Zika no Brasil: a resposta do SUS*. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.
- CARIDADE, T. N. et al. Chemical composition of four different species of the *Waltheria* genus. *Biochemical systematics and ecology*, v. 80, p. 81-83, 2018.
- CARVALHO, P. E. R. *Mutamba Guazuma ulmifolia: taxonomia e nomenclatura*. Circular técnica. Colombo: Embrapa, 2007.
- CAVALCANTE, K. R. L. J.; TAUIL, P. L. Risco de reintrodução de febre amarela urbana no Brasil. *Epidemiologia e serviços de saúde*, v. 26, n. 03, p. 617-620, 2017.
- CHAVEZ, M. H. Caracterização química do óleo de amêndoa de *Sterculia striata*. St. Hill et Naud. *Química Nova*, v. 27, n. 03, p. 404-408, 2004.
- COSTA, D. A. et al. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hill Naudin. *Acta amazônica*, v. 40, n. 01, p. 207-212, 2010.

CRUZ, R. C. D. et. al. Avaliação da atividade larvicida de extratos aquosos e do hidrolato obtidos das folhas de *Croton argyrophyllus* sobre o *Aedes aegypti*. *Enciclopédia Biosfera*, v. 11, n. 21, p. 2835-2841. 2015.

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach*. 2nd Edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd, 2002.

DIAS, G. O. C. *Estudo fitoquímico da raiz de da espécie Melochia chamaedris St. Hill*. 2005. Tese de Doutorado em Química – Universidade de Santa Maria, RS, 2005.

DUARTE, D. F. Uma breve história do Ópio e dos Opioides. *Revista Brasileira Anestesiologia*, v. 55, n. 01, p. 135-146. 2005.

ESTEVES, G. *Helicteres in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9075>. Acesso em: 21 dez. 2017.

FALCÃO-SILVA, V. S. et al. Triterpenes and phenolic compounds isolated from the aerial partes of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,4- dihydroxy-3,6,7,8,3-pentamehoxyflavone as a modulator os bacterial drug resistance. *Pharmaceutical Biology*, v. 47, p. 279-284, 2009.

FALKENBERG, M. B. Quinonas. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

FERREIRA, T. S. et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em ervaíras sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 02, p. 588-596, 2016.

FERNANDES, D. A. *Estudo fitoquímico de Helicteres velutina K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra Aedes aegypti L. (Diptera: Culicidae)*. 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB.

FERNANDES, D. A. et al. New sulphated flavonoids and larvicidal activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). *Molecules*, v. 23, n. 11, 2018.

FERNANDES, D. A. et. al. Constituintes químicos isolados da *Helicteres velutina* K. Schum. (STERCULIACEAE). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 6. 2017. Juazeiro. *Anais eletrônicos...* Juazeiro: Universidade Federal do Vale do São Francisco, 2017. Disponível em: [http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos\\_anais\\_2017/Qum1931.pdf](http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos_anais_2017/Qum1931.pdf). Acesso em: 21 dez. 2017.

FERNANDES, T. M. *Plantas Mediciniais: memória da ciência no Brasil*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2004. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/bg6yw/pdf/fernandes-9788575413487.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2017.

FONSECA, M. C. M. *Epamig pesquisa, produção de Plantas Mediciniais para Aplicação no SUS*. Espaço para o produtor, Viçosa, 2012. Disponível em:

<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=26083&secao=Agrotema>. Acesso em 19 dez. 2017.

GALINA, K. J. et al. Contribuição do estudo farmacognóstico de mutamba (*Guazuma ulmifolia* – Sterculiaceae). *Acta Farmacêutica Bonaerense*, v. 24, n. 02, p. 225-233, 2005.

GARCEZ, W. S. et al. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. *Revista Virtual de Química*, v. 05, n. 03, p. 363-393. 2013.

GOMES, R. A. et al. Phenolic compounds from *Sidastrum micrathum* (A St-Hill) Fryxell and evaluation of acacetin and 7,4-di-*O*-methylisoscutearein as modulator os bacterial drug resistance. *Química Nova*, v. 34, p. 1385-1388, 2011.

GONÇALEZ, V. M. *Melochia L. (Byttnerioideae, Malvaceae) na região Sudeste do Brasil*. 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Instituto de Botânica da Secretária de Estado do Meio Ambiente, São Paulo – SP.

GRESSLER, V. *Estudo fitoquímico e da atividade antimicrobiana de Waltheria douradinha Saint Hilare*. 2006. Dissertação (Química) – Universidade de Santa Maria, RS, 2006.

GUARDA C. et al. Atividade larvicida de Produtos Naturais e avaliação da susceptibilidade ao inseticida Temefós no controle do *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Interciência*, v. 41, n. 04, p. 243-247. 2016.

GULCIN, I. et al. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllatathunb*) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, v. 87, p. 393-400. 2004.

HENRIQUES, A. T. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. . In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

HIKAL W. M. et al. Botanical insecticide as simple extractives for pest control. *Cogent Biology*, n. 03, p. 1-16, 2017.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology*, n. 7, p. 1-7, 2018.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

MATOS, F. J. A. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Monografia da espécie Salix alba (Salgueiro branco)*. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/11/Monografia-Salix-alba.pdf>. Acesso em 19 dez. 2017.

MOREIRA, P. F. S. D. et al. A bioquímica do candomblé – possibilidades didáticas de aplicação da Lei Federal 10639/03. *Química Nova na Escola*, v. 33, n. 02, p. 85-92, 2011.

NAVARRO, B. O. E. *Análisis fitoquímico y bioactividad de la planta Melochia tomentosa (Sterculiaceae)*. Doutorado (Departamento de Química – Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 2010.

NUNES, F. C. et al. The larvicidal activity of *Agave sisalana* against L4 larvae of *Aedes aegypti* is mediated by internal necrosis and inhibition of nitric oxide production. *Parasitology Research*, v. 114, p. 523-549, p. 2015.

NUNES, J.; PIMENTA, D. N. A epidemia de Zika e os limites da saúde global. *Lua Nova*, n. 98, p. 21-46, 2016.

OLIVEIRA, A. M. F. et al. Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species. *Antioxidants*, v.01, p.33-43, 2012.

OLIVEIRA, J. C. S. *Isolamento de constituintes químicos e síntese de flavonoides encontrados em Poincinella pyramidalis (Fabaceae) e análise fitoquímica de Theobroma cacao (Malvaceae.)* 2014. Tese de doutorado (Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2014.

PAIXÃO, E. S. *Tendência temporal e fatores associados à mortalidade por dengue no Brasil*. 2013. 68f. Dissertação (Mestrado em Saúde Comunitária). Universidade Federal da Bahia, Programa de Pós-graduação em Saúde coletiva, Salvador – BA.

PAUMGARTTEN, F. J. R.; DELGADO, I. F. Repelentes de mosquitos, eficácia para a prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. *Vigilância Sanitária em debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia*, v. 04, n.02, p. 97-104. 2016.

PEREIRA, L. R. A. B. *Contribuição ao estudo fitoquímico de Richardia grandiflora (Cham & Schltdl) Steud. (RUBIACEAE)*. 2011. 74f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB.

PUGLIESE, A. G. *Compostos fenólicos de cupuaçu (Theobroma grandiflorum) e do cupulate: composição e possíveis benefícios*. 2010. 146f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia), Universidade de São Paulo, Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, São Paulo – SP.

RAHMAN, A. *Estudos em Química de Produtos Naturais*, 1ª ed. Amsterdã: Elsevier, 2012. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&id=Nhqwg4YvysQC&dq=Mansonia+gagei+Drumm+%28Sterculiaceae%29+larvicida&>

q=Mansonia+gagei+Drumm+%28Sterculiaceae%29#v=snippet&q=Mansonia%20gagei%20Drumm%20(Sterculiaceae)&f=false. Acesso em: 21 dez. 2017.

REID, K. A. et al. Phytochemical and pharmacological screening of Sterculiaceae species and isolation of antibacterial compounds. *Journal of ethnopharmacology*, v. 97, n. 01, p 285-291, 2005.

ROLIM, Y. M.; *Alcaloides e glicosídeo flavonoídico de Waltheria viscosíssima A. St. Hil – Malvacea*. 2015. 85 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB.

SANTOS, E. A. et. al. Bioactivity Evaluation of Plant Extracts Used in Indigenous Medicine against the Snail, *Biomphalaria glabrata*, and the Larvae of *Aedes aegypti*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 01, n. 01, p. 1-9. 2012.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

SCHENZEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org). *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

SCHINELLA, G. R. et al. Tiliroside and gnaphaliin inhibit human low density lipoprotein oxidation. *Fitoterapia*, v. 78, n. 01, p. 1-6, 2007.

SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A. Celastráceas: Fontes de Triterpenos Pentacíclicos com Potencial Atividade Biológica. *Revista Virtual Química*, v. 06, n. 05, p. 1205-1220, 2014.

SILVA, M. L. C., et al. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 03, p. 669-682, 2010.

SILVA, S. L. C. et. al. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Biotemas*, v. 27, n. 02, p. 79-85. 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SPTIZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org) *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.

TELES, Y. C. F. et al. New sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). *Molecules*, v. 20, p. 20172-20175, 2015.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal. *Química Nova*, v. 29, n. 02, p. 326-337. 2006.

ZARA, A. L. S. A. et. al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 25, n. 02, p. 391-404. 2016.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org) *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2010.