



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
INSTITUTO DE PESQUISA EM FÁRMACOS E MEDICAMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS  
E SINTÉTICOS BIOATIVOS



DIÉGINA ARAÚJO FERNANDES

Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)

JOÃO PESSOA - PB

2017

**DIÉGINA ARAÚJO FERNANDES**

**Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)**

*Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.*

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria de Fátima Vanderlei de Souza**

**JOÃO PESSOA - PB**

**2017**

F363e      Fernandes, Diégina Araújo.  
Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum  
(Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra  
*Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) / Diégina Araújo  
Fernandes. -  
João Pessoa, 2017.  
136 f. : il. -

Orientadora: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS

1. *Helicteres velutina* K. Schum. - Repelente natural.  
2. Estudo fitoquímico. 3. Sterculiaceae. 4. Atividade  
biológica. 5. *Aedes aegypti* L.. I. Título.

UFPB/BC

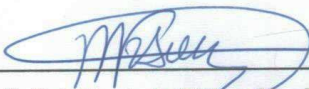
CDU: 661.168.2(043)

DIÉGINA ARAÚJO FERNANDES

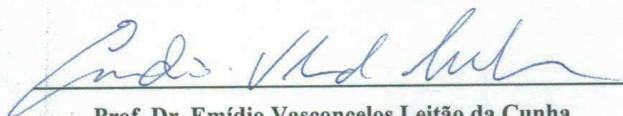
Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)

Aprovada em: 22/02/2017

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr.ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza  
(Orientadora)



Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha  
(Examinador interno)



Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa  
(Examinador externo)

JOÃO PESSOA - PB

2017

*Dedico esta dissertação a **Deus** por ser meu guia e companheiro de todas as horas e aos meus pais (Maria de Fátima Fernandes Araújo e Daniel Araújo da Silva) que nunca mediram esforços para realizarem meus sonhos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por ter me fortalecido nos momentos de fraqueza.

Aos meus pais, **Maria de Fátima Fernandes Araújo** e **Daniel Araújo da Silva**, pela confiança depositada em mim e pelo apoio incondicional mesmo frente às dificuldades.

Aos meus irmãos, **Daniery Fernandes Araújo**, **Francisca Flávia Araújo Fernandes**, **Daniela Araújo Fernandes**, **Danilo Fernandes Araújo** e **Fernanda Araújo Fernandes**, que mesmo não tendo a oportunidade que eu tive de continuar os estudos, sempre me ajudaram nos momentos em que precisei me apoiando durante toda a minha jornada.

Aos meus sobrinhos, **Lucas Silva Fernandes**, **Kauan Felipe Fernandes da Silva**, **Arthur Luiz Fernandes de Oliveira** e **Laryssa Silva Fernandes**, sempre que pensei em desistir ao longo do caminho, eles me serviram de incentivo, espero poder guia-los e ajuda-los nas suas escolhas, para que todos um dia possam ter as mesmas oportunidades que eu tive.

Aos meus queridos amigos e colegas de laboratório: **Anderson Angel**, **Amanda Amona**, **Jeferson Barbosa**, **Jessica Marcelino**, **Patrícia Oliveira**, **Renata Barros**, **Maria do Socorro Alves**, **Maria Denise**, **Micaelly Oliveira**, **Milen Maria**, **Luiz André**, **Nayara Cristina**, **Otemberg Chaves**, **Yngred Mangueira**, **Sallett Rocha**, **Sany Delany** e **Waldecir Júnior** que sempre estiveram ao meu lado, tanto nos momentos de alegria como nos de maior dificuldade, sendo fundamentais principalmente nessa etapa final.

À minha orientadora **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria de Fátima Vanderlei de Souza**, pela confiança depositada em mim e por ter se mostrado sempre solícita quando precisei, admiro muito sua dedicação e comprometimento com a pesquisa.

À minha eterna professora **Dr.<sup>a</sup> Danielly Albuquerque da Costa**, por ter acreditado no meu potencial e ter me impulsionado a seguir mais essa árdua jornada, sem seu apoio eu não teria chegado até aqui.

À **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabiola da Cruz Nunes** por sua contribuição na parte biológica deste trabalho e pela paciência em me passar um pouco dos seus conhecimentos.

À **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adilva de Souza Conceição** por sua contribuição na identificação botânica da espécie estudada.

Ao **Dr. Vicente Carlos Oliveira Costa** e ao **Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha**, pela disponibilidade em avaliar o trabalho e pelas contribuições com o mesmo.

Aos demais professores desta pós-graduação pelos ensinamentos transmitidos, e por terem me norteado quanto aos meus futuros passos como profissional, sendo pra mim verdadeiros exemplos de ética e comprometimento.

À todos os funcionários deste programa: **Glória, Raimundo Nonato, Carol Manguiera, Alexsandro Carlane e Evandro Ferreira** e toda a equipe da limpeza, que de forma direta ou indireta, me ajudaram nessa trajetória.

À CAPES por ter financiado a pesquisa.

E por fim, aos que mesmo distantes torcem pelo meu sucesso.

**A Todos Vocês,  
Meus Sinceros Agradecimentos.**

*“A natureza pode suprir todas as necessidades do homem, exceto a sua ganância.”*

***(Mahatma Gandhi)***



## RESUMO

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

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais com intuito de alívio e cura de diversos males, tendo o conhecimento etnofarmacológico das espécies vegetais despertado interesse em pesquisas voltadas para descoberta de moléculas bioativas. O surgimento de novas doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti* L., atrelado a resistência a larvicidas e inseticidas existentes no mercado, tornam necessário a busca por alternativas de combate ao vetor. Neste contexto o Brasil se destaca por possuir um grande potencial de recursos naturais que levam ao desenvolvimento de bioprodutos a partir da flora nativa. Dentro desta diversidade buscou-se através de um estudo pioneiro do ponto de vista químico e biológico do extrato etanólico bruto obtido das partes aéreas da espécie *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae), conhecida popularmente no Brasil como “pitó” e usada tradicionalmente pela tribo indígena Pankararé na Bahia, como repelente de insetos, isolar e identificar seus constituintes químicos, bem como avaliar o seu potencial larvicida. Para o estudo fitoquímico, o extrato etanólico bruto foi solubilizado em EtOH:H<sub>2</sub>O (7:3) e particionado com Hex.; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; AcOEt; n-BuOH, obtendo-se suas respectivas fases, além da fase hidroalcoólica. 8,0 g da fase diclorometano foi submetida a cromatografia em coluna utilizando como fases estacionárias sílica flash e/ou Sephadex-LH 20. Este processo cromatográfico levou ao isolamento de cinco constituintes químicos, cujas estruturas químicas foram definidas por interpretação dos espectros de Infravermelho, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e bidimensionais, além de comparações com modelos da literatura. As substâncias isoladas foram três flavonoides: **Hv-1** - 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona (Canferol); **Hv-2** - Canferol-3-O-β-D-(6''-E-p-cumaroil) glicopiranosídeo (Tiliosídeo); **Hv-3** - 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfatoflavona (Isoscutelareina sulfatada); um triterpeno da série oleanano - **Hv-4** - Ácido 3β-hidroxi-olean-12-en-28-óico (Ácido oleanólico); e um esteroide - **Hv-5** - Sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (β-Sitosterol glicosilado). Um ensaio preliminar para avaliar a atividade larvicida do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Helicteres velutina* demonstrou excelente atividade frente a larvas no estágio L4 de *Aedes aegypti*, sendo a dose de 10.000 ppm capaz de matar 100% das larvas após 24 h de exposição e a CL<sub>50</sub> estimada em 2.983 ppm segundo teste de Tukey, caracterizando-se, portanto, em uma alternativa promissora para ser utilizada em um sistema de controle integrado desse vetor, o que demanda a continuidade dos seus estudos.

**Palavras-chave:** *Helicteres velutina* K. Schum; Sterculiaceae; Estudo fitoquímico; Atividade biológica; *Aedes aegypti* L.

## ABSTRACT

FERNANDES, Diégina Araújo. **Phytochemical study of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) and evaluation of its larvicidal potential against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae).** 136 p. Master's Thesis (Graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactive) – Center of Health Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2017.

Natural products have been used by humankind since immemorial times to relieve and cure several diseases, and the ethnic-pharmacology knowledge of plant species has aroused interest in research aimed at the discovery of bioactive molecules. The emergence of new diseases transmitted by *Aedes aegypti* L., linked to resistance to larvicides and insecticides in the market, makes it necessary to search for alternatives to vector combat. In this context the Brazil stands out because it has a great potential of natural resources that lead to the development of native flora bioproducts. Within this diversity was sought through a pioneering study from view point chemical and biological of the ethanolic extract gross obtained from the aerial parts of the species *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae), commonly know in Brazil as “pitó” is popularly used by the tribe indigenous Pankararé in Bahia, as insect repellent, isolate and identify their chemical constituents, as well evaluate their larvicidal potential. For the phytochemical study, the ethanolic extract gross was solubilized in EtOH:H<sub>2</sub>O (7:3) and partitioned with Hex.; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; AcOEt; n-BuOH, obtaining their respective phases, in addition to the hydroalcoholic phase. 8g of the dichloromethane phase was subjected to column chromatography using silica flash and/or Sephadex-LH 20 as stationary phases. This chromatographic process led to the apartness of five chemical constituents, whose chemical structures were defined by the interpretation of infrared, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C spectra and 2D, as well as comparisons with literature models. The isolated substances were three flavonoids: **Hv-1** - 3,5,7,4'-tetrahydroxyflavone (Kaempferol); **Hv-2** - Kaempferol-3-O-β-D-(6''-E-p-coumaroyl) glucopyranoside (Tiliroside); **Hv-3** - 7,4'-di-O-methyl-8-O-sulphateflavone (Isoscutellarein sulphate); one triterpene from the series oleanane - **Hv-4** – Acid 3β-hydroxy-olean-12-en-28-oic (Oleanolic acid); and a steroid - **Hv-5** - Sitosterol-3-O-D- glucopyranoside (β-sitosterol glycosylated). A preliminary study to evaluate the larvicidal activity of the ethanolic extract gross of the aerial parts of *Helicteres velutina* demonstrated excellent activity against larvae in the L4 stage of *Aedes aegypti*, with the 10.000 ppm dose dose of killing 100% of the larvae after 24 h of exposure and the CL<sub>50</sub> was estimated to be 2.983 ppm according to Tukey's test, thus characterizing itself as a promising alternative to be used in an integrated control system of this vector, which demands the continuity of its studies.

**Keywords:** *Helicteres velutina* K. Schum; Sterculiaceae; Phytochemical study; Biological activity; *Aedes aegypti* L.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

**ANOVA:** Análise de Variância

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**APA:** Área de Proteção Ambiental

**APG:** Angiosperma Phylogeny Group

**APT:** Attached Proton Test

**BB:** Broad Band

**BTI:** *Bacillus turinghiensis israelensis*

**CAPES:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

**CCDA:** Cromatografia em Camada Delgada Analítica

**CENAUREMN:** Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear

**CHIKV:** Chikungunya Vírus

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:** Diclorometano

**CD<sub>3</sub>OD:** Metanol deuterado

**C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N:** Piridina Deuterada

**CL<sub>50</sub>:** Concentração Letal Média

**DMSO-*d*<sub>6</sub>:** Dimetilsulfóxido deuterado

**d:** Dupleto

**dd:** Duplo dupleto

**EEB:** Extrato Etanólico Bruto

**EtOH:** Etanol

**FeCl<sub>3</sub>:** Cloreto férrico

**HMBC:** Heteronuclear Multiple Bond Spectroscopy

**HMQC:** Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy

**HSQC:** Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy

**Hz:** Hertz

**IV:** Infravermelho

**J:** Constante de acoplamento

**L1, L2, L3, L4:** Estágios larvais

**LAFAM:** Laboratório de Análises Farmacêuticas e Moleculares

**LPAVET:** Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores

**LMCA:** Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise

***m:*** *meta*

**m:** Multiplete

**MeOH:** Metanol

**MHz:** Megahertz

**n-BuOH:** n-butanol

**NP:** Difenilboriloxietilamina

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

***o:*** *orto*

***p:*** *para*

**ppm:** Partes Por Milhão

**s:** Singleto

**t:** Tripleto

**RMN <sup>1</sup>H:** Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

**RMN <sup>13</sup>C:** Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze

**ZKV:** Zika Vírus

**δ:** Deslocamento químico em ppm

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Sistemática da família Sterculiaceae	29
<b>Esquema 2.</b> Obtenção do EEB de <i>Helicteres velutina</i>	55
<b>Esquema 3.</b> Particionamento do EEB de <i>Helicteres velutina</i>	57
<b>Esquema 4.</b> Fracionamento cromatográfico da fração 24/30 da fase Diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>H. velutina</i>	59
<b>Esquema 5.</b> Fracionamento cromatográfico das frações 41/42 e 43/59 da fase Diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>H. velutina</i>	60
<b>Esquema 6.</b> Fracionamento cromatográfico da fração 31/40 da fase Diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>H. velutina</i>	61

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Classificação filogenética das Angiospermas	27
<b>Figura 2.</b> Distribuição geográfica da família Malvaceae <i>s.l.</i>	28
<b>Figura 3.</b> Distribuição geográfica da família Sterculiaceae	30
<b>Figura 4.</b> Distribuição geográfica do gênero <i>Helicteres</i>	33
<b>Figura 5.</b> Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Helicteres</i>	34
<b>Figura 6.</b> Distribuição geográfica da espécie <i>Helicteres velutina</i> K. Schum	35
<b>Figura 7.</b> <i>Helicteres Velutina</i> K. Schum	35
<b>Figura 8.</b> Localização da tribo indígena Pankararé na Bahia	36
<b>Figura 9.</b> Biossíntese de flavonoides	37
<b>Figura 10.</b> Núcleo fundamental dos flavonoides e sua numeração	38
<b>Figura 11.</b> Diferentes estruturas de flavonoides	38
<b>Figura 12.</b> Caminho biossintético dos constituintes químicos mevalônicos	40
<b>Figura 13.</b> Estrutura de substâncias mevalônicas	42
<b>Figura 14.</b> Exemplo de esteroides e triterpenos isolados de plantas	42
<b>Figura 15.</b> Adulto fêmea do <i>Ae. aegypti</i> (A); Adulto fêmea do <i>Ae. albopictus</i> (B)	43
<b>Figura 16.</b> Ciclo de vida de espécies do gênero <i>Aedes</i>	44
<b>Figura 17.</b> Distribuição mundial do <i>Ae. aegypti</i> L., com probabilidade de ocorrência (zero em azul e um em vermelho).	44
<b>Figura 18.</b> Distribuição mundial do dengue vírus tipo de 1-4	45
<b>Figura 19.</b> Distribuição mundial do vírus Chikungunya	46
<b>Figura 20.</b> Distribuição mundial Zika vírus	46
<b>Figura 21.</b> Criadouros do mosquito <i>Ae. aegypti</i> , locais propícios a sua proliferação	47
<b>Figura 22.</b> Localização da APA Serra Branca-BA	52
<b>Figura 23.</b> Peso das diferentes concentrações da substância teste	64
<b>Figura 24.</b> Modelo experimental de suscetibilidade ao EEB de <i>Helicteres veutina</i> sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i>	64
<b>Figura 25.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, CD <sub>3</sub> OD, 500 MHz) de <i>Hv-1</i>	71
<b>Figura 26.</b> Primeira expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, CD <sub>3</sub> OD, 500 MHz) de <i>Hv-1</i>	71
<b>Figura 27.</b> Segunda expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H (δ, CD <sub>3</sub> OD, 500 MHz) de <i>Hv-1</i>	72
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (δ, CD <sub>3</sub> OD, 125 MHz) de <i>Hv-1</i>	72
<b>Figura 29.</b> Espectro de HMBC (δ, CD <sub>3</sub> OD, 500 e 125 MHz) de <i>Hv-1</i>	73

<b>Figura 30.</b> Primeira expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , CD <sub>3</sub> OD, 500 e 125 MHz) de <i>Hv-1</i>	73
<b>Figura 31.</b> Segunda expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , CD <sub>3</sub> OD, 500 e 125 MHz) de <i>Hv-1</i>	74
<b>Figura 32.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) de <i>Hv-2</i>	79
<b>Figura 33.</b> Primeira expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) de <i>Hv-2</i>	79
<b>Figura 34.</b> Segunda expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) de <i>Hv-2</i>	80
<b>Figura 35.</b> Terceira expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) de <i>Hv-2</i>	80
<b>Figura 36.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	81
<b>Figura 37.</b> Primeira expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	81
<b>Figura 38.</b> Segunda expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	82
<b>Figura 39.</b> Espectro HMQC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 e 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	82
<b>Figura 40.</b> Primeira expansão do espectro HMQC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 e 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	83
<b>Figura 41.</b> Segunda expansão do espectro HMQC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 e 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	83
<b>Figura 42.</b> Espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 e 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	84
<b>Figura 43.</b> Primeira expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 e 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	84
<b>Figura 44.</b> Segunda expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 e 125 MHz) de <i>Hv-2</i>	85
<b>Figura 45.</b> Espectro de IV (cm <sup>-1</sup> , KBr) de <i>Hv-3</i>	91
<b>Figura 46.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 MHz) de <i>Hv-3</i>	92
<b>Figura 47.</b> Primeira expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 MHz) de <i>Hv-3</i>	92
<b>Figura 48.</b> Segunda expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 MHz) de <i>Hv-3</i>	93
<b>Figura 49.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	93
<b>Figura 50.</b> Primeira expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	94
<b>Figura 51.</b> Segunda expansão do espectro de RMN <sup>13</sup> C ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	94
<b>Figura 52.</b> Espectro HSQC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 e 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	95
<b>Figura 53.</b> Primeira expansão do espectro HSQC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 e 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	95
<b>Figura 54.</b> Segunda expansão do espectro HSQC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 e 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	96
<b>Figura 55.</b> Espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 e 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	96
<b>Figura 56.</b> Primeira expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 e 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	97
<b>Figura 57.</b> Segunda expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 e 75 MHz) de <i>Hv-3</i>	97
<b>Figura 58.</b> Espectro de IV (cm <sup>-1</sup> , KBr) de <i>Hv-4</i>	102
<b>Figura 59.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N, 500 MHz) de <i>Hv-4</i>	103
<b>Figura 60.</b> Primeira expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N, 500 MHz) de <i>Hv-4</i>	103
<b>Figura 61.</b> Segunda expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H ( $\delta$ , C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N, 500 MHz) de <i>Hv-4</i>	104

<b>Figura 62.</b> Terceira expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de <i>Hv-4</i>	104
<b>Figura 63.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de <i>Hv-4</i>	105
<b>Figura 64.</b> Primeira expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de <i>Hv-4</i>	105
<b>Figura 65.</b> Segunda expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de <i>Hv-4</i>	106
<b>Figura 66.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de <i>Hv-5</i>	110
<b>Figura 67.</b> Primeira expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de <i>Hv-5</i>	110
<b>Figura 68.</b> Segunda expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de <i>Hv-5</i>	111
<b>Figura 69.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de <i>Hv-5</i>	111
<b>Figura 70.</b> Primeira expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de <i>Hv-5</i>	112
<b>Figura 71.</b> Segunda expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de <i>Hv-5</i>	112
<b>Figura 72.</b> Observação das alterações morfológicas das larvas, 24 horas após exposição a diferentes concentrações da solução teste e posterior contagem dos espécimes mortos	113
<b>Figura 73.</b> Atividade larvicida das diferentes concentrações do EEB de <i>H. velutina</i> sobre <i>Ae. aegypti</i> , após 24 horas de exposição. <b>CN</b> = Controle Negativo; <b>CP</b> = Controle Positivo. (*) Resultados diferem significativamente dos controles	114
<b>Figura 74.</b> Percentual de larvas mortas após 24 horas de exposição ao EBB de <i>H. velutina</i>	115



## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Sterculiaceae e suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura	31
<b>Quadro 2.</b> Alguns constituintes químicos isolados de espécies de Sterculiaceae, citados na Quadro 1.	32
<b>Quadro 3.</b> Classificação dos terpenos segundo o número de unidades isoprênicas	40
<b>Quadro 4.</b> Larvicidas para tratamento focal	49
<b>Quadro 5.</b> Triagem fitoquímica do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres velutina</i> K. Schum	56
<b>Quadro 6.</b> Frações obtidas e reunidas após fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres velutina</i>	62
<b>Quadro 7.</b> Eluentes utilizados no fracionamento da fração 24/30 da fase diclorometano de <i>Helicteres velutina</i>	62
<b>Quadro 8.</b> Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Helicteres velutina</i> K. Schum	67

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv*-1 ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 e 125 MHz) (BARRETO et al., 2013) e Mo-2 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 400 MHz e 100 MHz) (TELES et al., 2015) 70
- Tabela 2.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv*-2 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 500 MHz e 125 MHz) com modelos da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015) e Mo-2 ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 200 e 50 MHz) (COSTA et al., 2007) 77
- Tabela 3.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv*-3 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 300 MHz e 75 MHz) com modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015), com *Hv*-1 ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 e 125 MHz) e Mo-3 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 500 MHz e 125 MHz) (GOMES et al., 2011) 88
- Tabela 4.** Compilação dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC de *Hv*-3 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 300 MHz e 75 MHz) 90
- Tabela 5.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv*-4 ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz e 125 MHz) com modelo da literatura ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 600 e 200 MHz) (SEEBACHER et al., 2003), Mo-2 ( $\alpha$  amirina) e Mo-3 ( $\beta$  amirina) ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 500 e 125 MHz) (PEREIRA JUNIOR, 2008) 100
- Tabela 6.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv*-5 ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 e 125 MHz) (HOSSAIN et al., 2016) e Mo-2 ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz e 150 MHz) (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012) 108
- Tabela 7.** Mortalidade média das larvas (L4) expostas a diferentes concentrações de EEB de *H. velutina* 116
- Tabela 8.** Concentração letal ( $\text{CL}_{10}$ ,  $\text{CL}_{50}$  e  $\text{CL}_{90}$ ) do EEB de *Helicteres velutina*, sobre larvas de *Aedes aegypti*, após 24h de exposição, em comparação com dados da literatura (SANTOS et al., 2012) 117

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	23
<b>2.1. Objetivo geral</b> .....	24
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	24
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	25
<b>3.1. Pesquisa em produtos naturais</b> .....	26
<b>3.2. Aspectos gerais da família Malvaceae <i>sensu lato</i></b> .....	27
<b>3.3. Aspectos gerais da família Sterculiaceae</b> .....	29
<b>3.4. Aspectos gerais do gênero <i>Helicteres</i></b> .....	33
<b>3.5. Considerações botânica e etnofarmacológica da espécie <i>Helicteres velutina</i></b> .....	34
<b>3.6. Considerações gerais sobre flavonoides</b> .....	36
<b>3.7. Considerações gerais sobre terpenoides e esteroides</b> .....	39
<b>3.8. Considerações sobre o gênero <i>Aedes</i> e arboviroses</b> .....	43
3.8.1. Formas de combate ao <i>Aedes aegypti</i> L.....	46
3.8.1.1. Controle mecânico.....	47
3.8.1.2. Controle Biológico e Químico de larvas.....	48
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	51
<b>4.1. Levantamento bibliográfico</b> .....	52
<b>4.2. Coleta do material botânico</b> .....	52
<b>4.3. Identificação botânica do material</b> .....	53
<b>4.4. Estudo fitoquímico</b> .....	53
4.4.1. Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Helicteres velutina</i> ....	53
4.4.2. Caracterização estrutural das substâncias isoladas.....	53
4.4.3. Processamento da planta.....	54
4.4.4. Obtenção do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres velutina</i> .....	54
4.4.5. Prospecção fitoquímica do EEB.....	55
4.4.6. Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres velutina</i> .....	56

<b>4.5. Processamento cromatográfico da fase diclorometano do EBB das partes aéreas de <i>H. velutina</i>.....</b>	<b>57</b>
<b>4.6. Bioensaios.....</b>	<b>62</b>
4.6.1. Obtenção e manutenção das larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	62
4.6.2. Ensaio da atividade larvicida do extrato etanólico bruto.....	63
4.6.3. Análise estatística.....	65
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>5.1. Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Helicteres velutina</i> K. Schum....</b>	<b>70</b>
<b>5.2. Caracterização estrutural das substâncias isoladas de <i>H. velutina</i> K. Schum.....</b>	<b>71</b>
5.2.1. Caracterização estrutural de <i>Hv-1</i> .....	71
5.2.2. Caracterização estrutural de <i>Hv-2</i> .....	74
5.2.3. Caracterização estrutural de <i>Hv-3</i> .....	85
5.2.4. Caracterização estrutural de <i>Hv-4</i> .....	98
5.2.5. Caracterização estrutural de <i>Hv-5</i> .....	106
<b>5.3. Avaliação da atividade do EEB de <i>Helicteres velutina</i> frente a larvas L4 de <i>Aedes aegypti</i>.....</b>	<b>113</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>119</b>
<b>7. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>121</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>123</b>

# *1. Introdução*

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais, sendo a evolução do homem acompanhada por um valioso conhecimento de plantas medicinais, onde todas as suas partes são empregadas com fins terapêuticos, na busca do alívio e cura de males (VIEGAS Jr.; BOLZANI; BARREIRO, 2006; CARNEIRO et al., 2014).

As espécies vegetais revelam desde o início do século passado que são importantes fontes de novos bioprodutos, fato que se confirma através das pesquisas científicas, especialmente nas áreas de química e farmacologia de produtos naturais (SILVA, 2012, McDONALD; SCHEIDT, 2015).

A biodiversidade terrestre é considerada uma fonte inigualável de substâncias com diversidade funcional e estrutural sendo, portanto, de grande utilidade para a descoberta de novos fármacos (FUNARI et al., 2013) e nesta biodiversidade inúmeras fontes naturais ainda estão disponíveis em abundância, possibilitando a descoberta de substâncias de interesse terapêutico (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

A fitoquímica, subárea da química de produtos naturais, vislumbra o conhecimento dos metabólitos secundários das espécies vegetais, através do isolamento e determinação das suas estruturas químicas adotando, para tanto, os métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente (PEREIRA, 2011). Estes metabólitos apresentam estruturas complexas e se destacam nas espécies vegetais por serem substâncias essenciais aos seus processos biológicos de regulação celular, comunicação química, equilíbrio e defesa. O homem as utiliza como fonte de fármacos, alimentos, fragrâncias, cosméticos e agroquímicos (FUNARI et al., 2013; BOLZANI, 2016).

Estimativas relatam que aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis no mercado foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de substâncias naturais, sendo a maioria destas isoladas de espécies vegetais. Frente a estes dados, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considera prioridade a investigação farmacológica de plantas medicinais utilizadas de forma empírica pela população para o tratamento de doenças (OLIVEIRA; GILBERT; VILLAS-BÔAS, 2013; ASSIS et al., 2015).

Dentro deste contexto o Brasil se caracteriza como o país detentor de uma das maiores biodiversidades do planeta e com maior potencial para pesquisa com espécies vegetais, pois detém a maior e mais rica diversidade genética do mundo possuindo aproximadamente 60.000 espécies, o que corresponde a cerca de 20% de toda a flora mundial e 75% de todas as espécies vegetais existentes nas grandes florestas (OLIVEIRA et al., 2006; SILVA, 2012; CARNEIRO et al., 2014). Todavia os bioprodutos de grande impacto, capazes

de gerar riqueza e contribuir para a balança econômica nacional ainda estão no plano dos desejos (BOLZANI, 2016).

Dentre os principais problemas de saúde pública que acometem a população humana, em nível nacional e mundial na atualidade, destacam-se a dengue, zika e chikungunya, cujo principal transmissor dos respectivos vírus é o *Aedes aegypti* L. Para a redução da densidade populacional desse vetor, recomenda-se o controle integrado e, como parte deste controle, o tratamento das formas imaturas do mosquito, denominado pelo Ministério da Saúde como tratamento focal, que tem como alvo o combate às formas larvais. O uso de inseticidas químicos tem levado à seleção de populações de insetos resistentes. Diante deste fato, faz-se necessário buscar métodos alternativos que sejam mais seguros, eficazes, com preços acessíveis e biodegradáveis (SILVA et al., 2014; BRASIL, 2016a; NUNES, 2013, GARCEZ et al., 2013).

As plantas são fontes importantes de substâncias bioativas com diversidade estrutural e variadas atividades contra insetos. Uma das tendências atuais nesse contexto é a prospecção de produtos naturais de origem vegetal com propriedades larvicidas, visto que é mais fácil controlar os mosquitos quando os mesmos encontram-se imóveis e acessíveis, o que maximiza a eficácia da aplicação de pesticidas e minimiza o uso generalizado de inseticidas, devido os agentes larvicidas atuarem no habitat de reprodução antes que os mosquitos possam desenvolver e dispersar (GARCEZ et al., 2013; EPA, 2012). Uma das espécies mais estudadas neste sentido é a *Agave sisalana*. O seu extrato etanólico bruto das folhas apresentou resultados promissores frente a larvas do quarto estágio (L4) de *Aedes aegypti* (NUNES et al., 2015).

Diante da grande importância da pesquisa de novos agentes farmacologicamente ativos a partir de extratos de plantas, e sendo necessário o estudo das drogas de origem vegetal, tanto para atender critérios de qualidade, eficácia e segurança do seu uso pela população quanto na busca de novos bioprodutos, inúmeras pesquisas precisam ser desenvolvidas. Fundamentados neste contexto explorou-se neste estudo os potenciais fitoquímico e larvicida, frente a larva L4 de *Aedes aegypti*, da espécie *Helicteres velutina* K. Schum, família Sterculiaceae (Malvaceae *sensu lato*), vislumbrando, desse modo, contribuir para os conhecimentos fitoquímico e biológico da referida família.

## *2. Objetivos*



## 2.1. Objetivo Geral

Contribuir para o conhecimento fitoquímico e biológico da família Sterculiaceae, através de estudos das partes áreas de *Helicteres velutina* K. Schum.

## 2.2. Objetivos específicos

- Isolar, purificar e identificar ou caracterizar os constituintes químicos das partes aéreas de *Helicteres velutina*, buscando-se conhecer o perfil de metabólitos secundários produzidos pela espécie, através de métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente;
- Explorar o potencial larvicida do extrato etanólico bruto de *Helicteres velutina*, determinando a mortalidade das larvas (L4) de *Aedes aegypti* L. expostas a diferentes concentrações de solução;
- Disponibilizar frações, substâncias isoladas e caracterizadas estruturalmente para realização de testes farmacológicos.

### *3. Fundamentação teórica*

### 3.1. Pesquisa em produtos naturais

As populações humanas convivem com uma grande diversidade de espécies vegetais, desenvolvendo maneiras particulares de explorá-las e usá-las para distintas finalidades e também como alternativa de sobrevivência. Dentre estas, destaca-se o conhecimento sobre a utilização de plantas para fins terapêuticos (OLIVEIRA, BARROS, MOITA NETO, 2010).

Dentre as áreas envolvidas nas pesquisas com plantas medicinais, se pode citar a fitoquímica, que responde pelo isolamento, purificação e caracterização dos seus constituintes químicos e a farmacologia, que estuda os efeitos farmacológicos dos seus extratos e constituintes químicos isolados. Não se pode esquecer que estas descobertas são possíveis porque se toma como premissa os conhecimentos advindos da etnobotânica e a etnofarmacologia, que buscam informações a partir do conhecimento de diferentes povos e etnias (ALBUQUERQUE & HANAZAKI, 2006).

O estudo etnodirigido consiste na seleção de espécies de acordo com a indicação de grupos populacionais específicos no que se refere aos seus recursos naturais e a aplicação destes em seus sistemas de saúde e doença. Duas razões básicas tornam este caminho utilizado atualmente: o tempo e o baixo custo envolvidos na coleta dessas informações (SANTOS et al., 2012). No Brasil, nos últimos anos, várias pesquisas foram realizadas com contribuições relevantes sobre o assunto, não só quanto a aspectos fitoquímicos, mas também quanto à atividade biológica de espécies vegetais existentes nos diferentes ecossistemas brasileiros e utilizadas tradicionalmente pela população (ALBUQUERQUE, HANAZAKI, 2006).

A sociedade indígena pode ser considerada ainda a maior e mais confiável fonte do conhecimento empírico existente sobre as atividades das plantas medicinais, porque ela detém grande quantidade de informações inexploradas pela ciência oficial sobre as formas de como lidar com ambiente biologicamente diversificado facilitando a compreensão do funcionamento destes ecossistemas e contribuindo para o desenvolvimento de atividades produtivas menos predatórias. As potencialidades e aplicações de várias plantas com interesse medicinal, aromático e alimentício surgiram recentemente com um interesse renovado na revitalização do conhecimento tradicional da população indígena que reside nas aldeias (SANTOS, ARAÚJO, BATISTA, 2010; SANTOS et al., 2012).

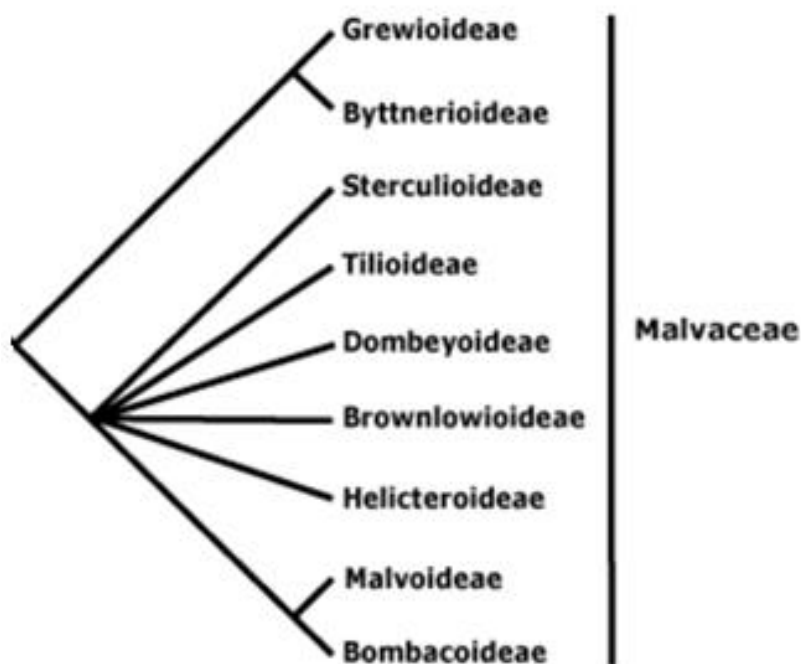
Além dos estudos etnomonitorados, a escolha da planta pode ser realizada através das características quimiotaxonômicas ou filogenéticas, que consiste na seleção de espécies de uma família ou gênero, para as quais se tenha algum conhecimento fitoquímico de ao menos

uma espécie do grupo. Neste contexto cita-se a família Malvaceae, cujas espécies vegetais vêm despertando grande interesse no meio científico (ALBUQUERQUE, HANAZAKI, 2006) e se destacam por sua importância econômica, medicinal, industrial, alimentícia e ornamental. Dentre elas cita-se o algodão (*Gossypium* ssp.), cujos produtos derivados tem grande valor econômico na indústria têxtil (PORDEUS, 2016); bem como espécie com fins terapêuticos, como a malva-amarela (*Wissadula periplocifolia*), cujo estudo confirmou atividade antimicrobiana (TELES, 2015) e mata-pasto (*Sida rhombifolia*) com comprovada ação hipotensora (CHAVES et al., 2013; CHAVES et al, 2017); o quiabo (*Abelmoschus esculentus*), muito apreciado na culinária brasileira (LIMA & CONCEIÇÃO, 2013); além das espécies de *Hibiscus* ssp, utilizadas com finalidade ornamental (ALVES et al., 2011).

### 3.2. Aspectos gerais da família Malvaceae *sensu lato*

A família Malvaceae *sensu lato* (*s.l.*) de acordo com o Sistema APG I (Angiosperm Phylogeny Group) (1998), aprimorado e revisado posteriormente pelos Sistemas APG II (2003), APG III (2009) e APG IV (2016), engloba nove subfamílias (Bombacoideae, Brownlowioideae, Byttnerioideae, Dombeyoideae, Grewioideae, Helicteroideae, Malvoideae, Sterculioideae e Tilioideae) (Figura 1, pág. 27).

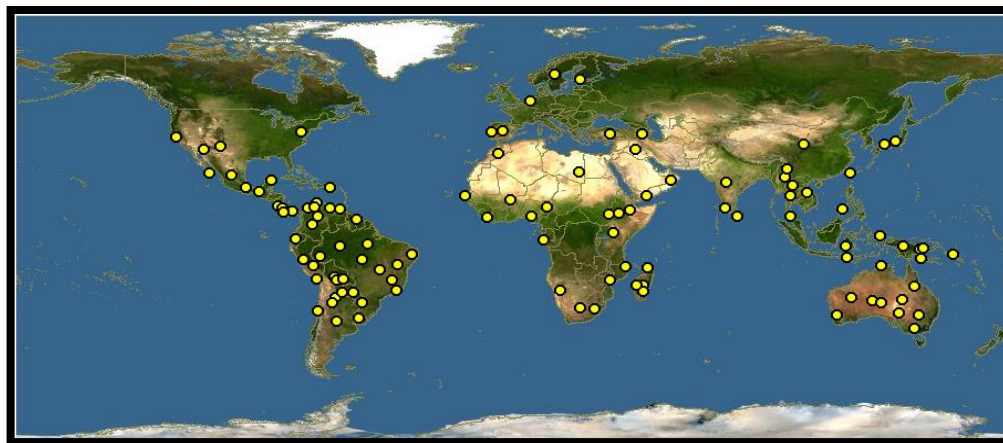
**Figura 1.** Classificação filogenética das Angiospermas



**Fonte:** APG III, 2009.

A família *Malvaceae s.l.*, possui distribuição predominantemente pantropical (Figura 2, pág. 28), incluindo cerca de 250 gêneros e 4200 espécies (ALVES, et al., 2011, BRANDÃO, 2014).

**Figura 2.** Distribuição geográfica da família *Malvaceae s.l.*



**Fonte:** [http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make\\_map](http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map) (Acessado 09/08/2016).

Das subfamílias citadas Malvoideae merece destaque por ser a mais representativa, compreendendo os gêneros tratados como *Malvaceae sensu stricto*, esta família reúne, atualmente, cerca de 110 gêneros e 1.800 espécies com distribuição pantropical, estimando-se que 65% dos gêneros desta família estejam concentrados nas Américas (PORDEUS, 2016). O Brasil possui 70 gêneros, sendo nove endêmicos e, 765 espécies, das quais 406 são endêmicas, com distribuição geográfica por todo o território (BOVINI et al., 2015).

No Brasil, os principais trabalhos sobre a família foram elaborados por Alves et al. (2011), que inventariou a família *Malvaceae s.l.* no agreste paraibano, encontrando nove gêneros em 15 espécies; Silva (2014) estudou a família no Estado do Minas Gerais, registrando 23 espécies pertencentes a 11 gêneros; Bovini (2010) estudou a família *Malvaceae s.str.* no Estado do Rio de Janeiro, registrando 13 espécies distribuídas em seis gêneros. A partir dessas análises, um grande número de táxons tem sido descritos, revisados, expandidos, reduzidos, segregados ou reinterpretados (BRANDÃO NETO, 2014).

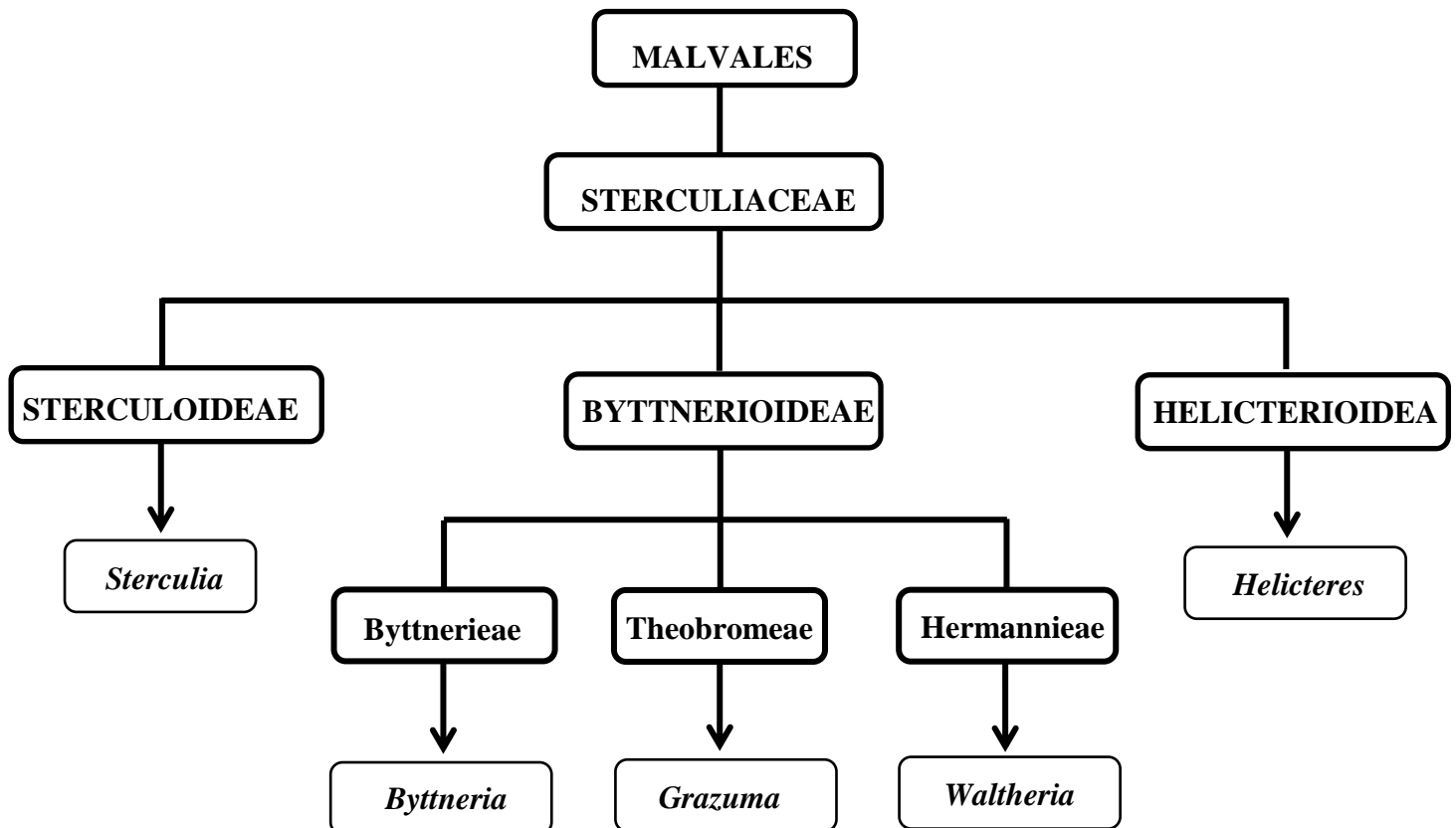
Estudos fitoquímicos realizados pela equipe da Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza/UFPB com espécies da família permitiram o isolamento de diversos constituintes químicos, sendo o tilirosídeo isolado de 11 espécies dessa família e uma espécie da grande *Malvaceae*, levando a sugerir que essa substância trata-se de um marcador químico de *Malvaceae* (SILVA et al., 2005; SILVA et al., 2006; COSTA et al., 2007; COSTA et al.,

2009; CAVALCANTI et al., 2010; GOMES et al., 2011; CASIMIRO Jr. et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; MAZZOTI et al., 2015; TELES et al., 2015; TELES, 2015; CHAVES et al., 2016; CHAVES et al., 2017 e ROLIM, 2015).

### 3.3. Aspectos gerais da família Sterculiaceae

Os gêneros delimitados nas famílias Bombacaceae, Malvaceae *sensu stricto*, Sterculiaceae e Tiliaceae constituem a maior família da ordem Malvales (SILVA, 2014). Três subfamílias compõe a família Sterculiaceae: Sterculioideae, Helicterioideae e Byttnerioideae (Esquema 1, pág. 29), ressaltando que a maioria das espécies brasileiras pertencentes a esta família encontram-se distribuídas nas seguintes tribos: Helicterereae, Byttnerieae, Theobromeae e Hermannieae (APG IV, 2016; GONÇALEZ, 2013; GALINA, 2005).

**Esquema 1.** Sistemática da família Sterculiaceae



**Fonte:** Adaptado de APG IV, 2016.

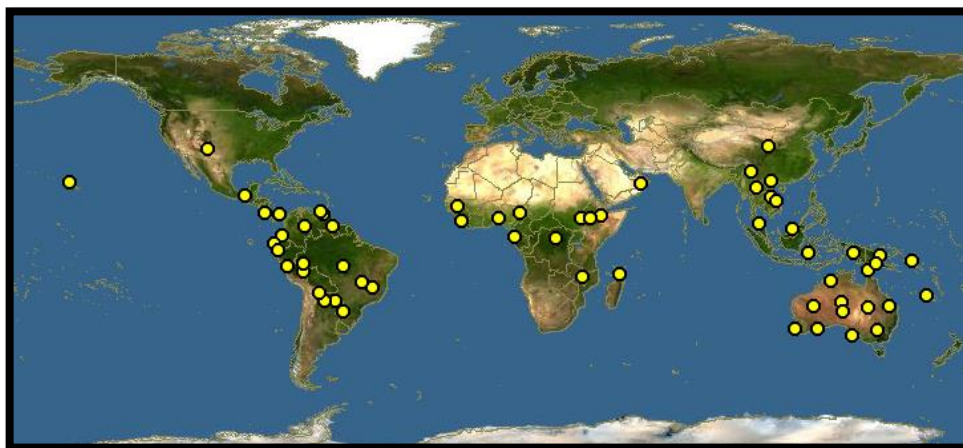
Os gêneros desta família são utilizados com inúmeras finalidades, sendo as raízes, folhas, flores e cascas de várias espécies de *Cola*, *Helicteres*, *Melochia*, *Waltheria* e *Guazuma*

amplamente utilizadas na medicina popular. Dos frutos de *Guazuma ulmifolia* Lam. é preparado o "óleo de mutamba", usado na região Nordeste do Brasil no combate à queda de cabelo e nas infecções do couro cabeludo. As sementes de algumas espécies de *Cola* e *Sterculia* produzem mucilagem com valor emoliente e suas cascas fornecem um tipo de goma que é utilizado industrialmente na fabricação de guloseimas (CRUZ, 2007).

Dentre as espécies de valor econômico expressivo para o Brasil destacam-se *Theobroma cacao* L. (cacau) e *Theobroma grandiflorum* L. (cupuaçu), que ocorrem principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, onde seus produtos derivados são encontrados em grande abundância e empregados vastamente na indústria alimentícia (SILVA, LIMA, LANDA, 2007, GONÇALEZ, 2013).

A família Sterculiaceae é formada atualmente por 70 gêneros e 1.500 espécies, com predominância na região paleotropical e endemismo elevado na África, Ásia e Oceania. Na região neotropical ocorre desde o sul dos Estados Unidos até a América do Sul e se distribui por todo o território brasileiro, onde são encontrados aproximadamente 14 gêneros e 165 espécies (Figura 3, pág. 30) (MUQARRABUN & AHMAT, 2015; CRUZ & ESTEVES, 2009).

**Figura 3.** Distribuição geográfica da família Sterculiaceae



**Fonte:** [http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make\\_map](http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map) (Acessado 09/08/2016).

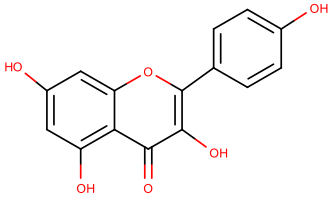
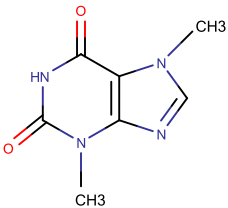
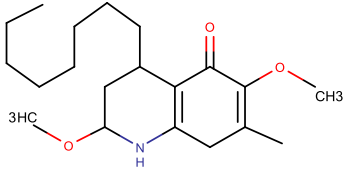
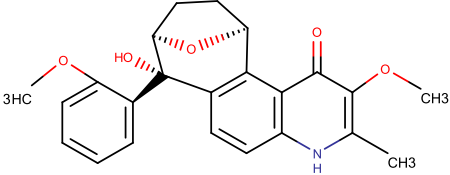

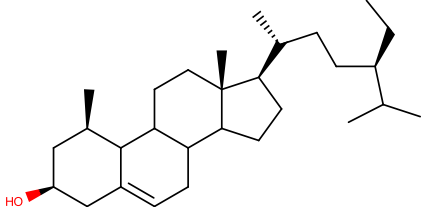
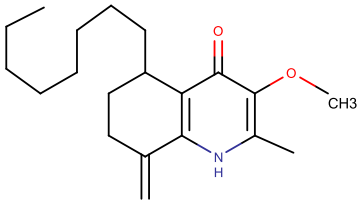
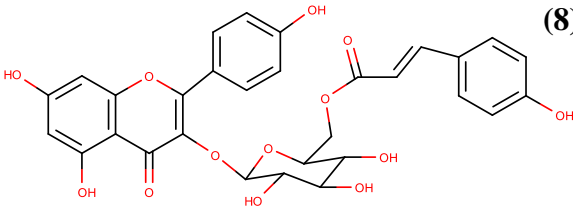
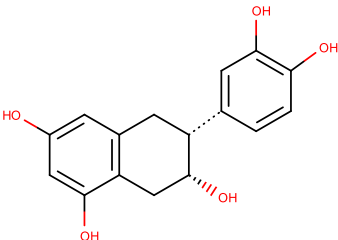
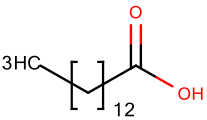
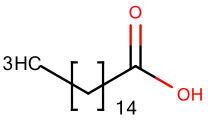
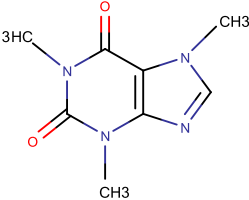
No que se refere aos seus metabólitos, é bastante diversificada (Quadro 1, pág. 31) (Quadro 2, pág. 32), todavia apresenta algumas classes em maior abundância, como por exemplo, alcaloides, terpenos, flavonoides e ácidos graxos. Entre os gêneros mais estudados merecem destaque o *Helicteres*, *Waltheria* e *Melochia*, por reportar importantes atividades medicinais (NAVARRO, 2010; MUQARRABUN & AHMAT, 2015).

**Quadro 1.** Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Sterculiaceae e suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura

<b>NOME CIENTÍFICO / NOME VULGAR</b>	<b>PARTE DA PLANTA</b>	<b>CONSTITUINTE QUÍMICO</b>	<b>ATIVIDADE FARMACOLÓGICA</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
<i>Theobroma grandiflorum</i> (Cupuaçu)	Fruto	Canferol (1)	Antioxidante	PUGLIESE, 2010
<i>Theobroma Cacao</i> (Cacau)	Fruto	Teobromina (2)	Estimulante do SNC	OLIVEIRA, 2014
<i>Melochia chamaedry</i> (Douradinha)	Raiz	Chamaedrona (3)	Antimicrobiana	DIAS, 2005
<i>Melochia tomentosa</i> (Malva rosa)	Raiz	Walteriona-A (4)	Antimicrobiana	NAVARRO, 2010
<i>Sterculia apetala</i> (Manduvi)	Casca	Ácido esterculico (5)	Antifúngica	CHAVES et al., 2004 FONTOURA, 2013
<i>Sterculia striata</i> (Chicá)	Semente	$\beta$ -sitosterol (6)	Hipoglicemiante	CHAVES et al., 2004, COSTA et al., 2010
<i>Waltheria douradinha</i> (Douradinha do campo)	Raiz	Antidesmona (7)	Antimicrobiana	GRESSLER, 2006
<i>Waltheria viscosíssima</i> (Malva viscosa)	Partes aéreas	Tiliosídeo (8)	Hepatoprotetora	ROLIM, 2015
<i>Guazuma ulmifolia</i> (Mutamba)	Casca	Epicatequina (9)	Hipotensor	GALINA, 2005
<i>Hermannia depressa</i> (Hermannia vermelha)	Folha	Ácido mirístico (10)	Antimicrobiana	REID et al., 2005
<i>Dombeya burgesiae</i> (Dombeya rosa)	Folha	Ácido palmítico (11)	Gastroprotetora	REID et al., 2005
<i>Cola vera</i> (Semente de cola)	Semente	Cafeína (12)	Estimulante do SNC	MOREIRA et al., 2011



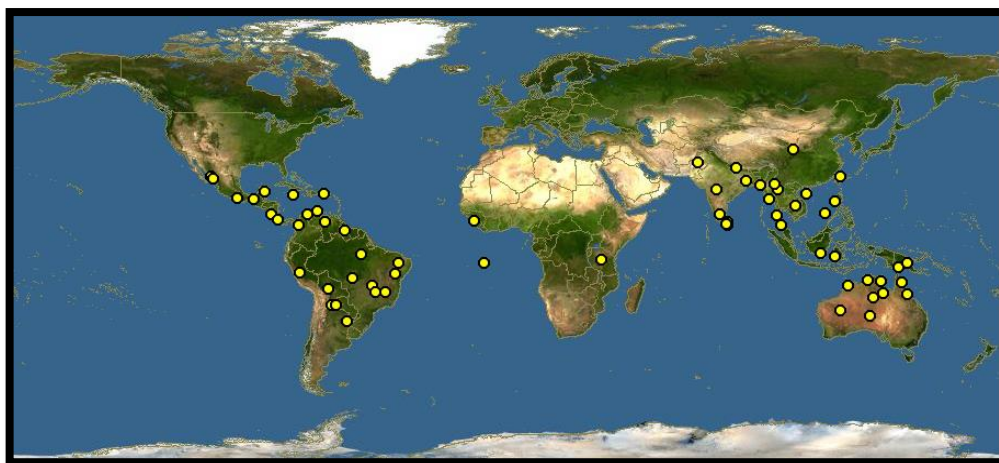
**Quadro 2.** Alguns constituintes químicos isolados de espécies de Sterculiaceae, citados no Quadro 1.

 <p>(1)</p>	 <p>(2)</p>	 <p>(3)</p>
 <p>(4)</p>	 <p>(5)</p>	 <p>(6)</p>
 <p>(7)</p>	 <p>(8)</p>	 <p>(9)</p>
 <p>(10)</p>	 <p>(11)</p>	 <p>(12)</p>

### 3.4. Aspectos gerais do gênero *Helicteres*

O gênero *Helicteres* L. possui distribuição pantropical na América e Ásia, compreendendo aproximadamente 60 espécies, sem nenhuma espécie comum aos dois continentes. Na América ocorrem 38 espécies, desde o México até a Argentina, não sendo relatada sua presença no Equador e Chile. O Brasil é seu centro de diversidade, onde são encontradas cerca de 31 espécies, destas, 23 são exclusivas do cerrado, caatinga e florestas secas (Figura 4, pág. 33) (CRUZ, 2007).

**Figura 4.** Distribuição geográfica do gênero *Helicteres*



**Fonte:** [http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make\\_map](http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map) (Acessado em 09/08/2016).

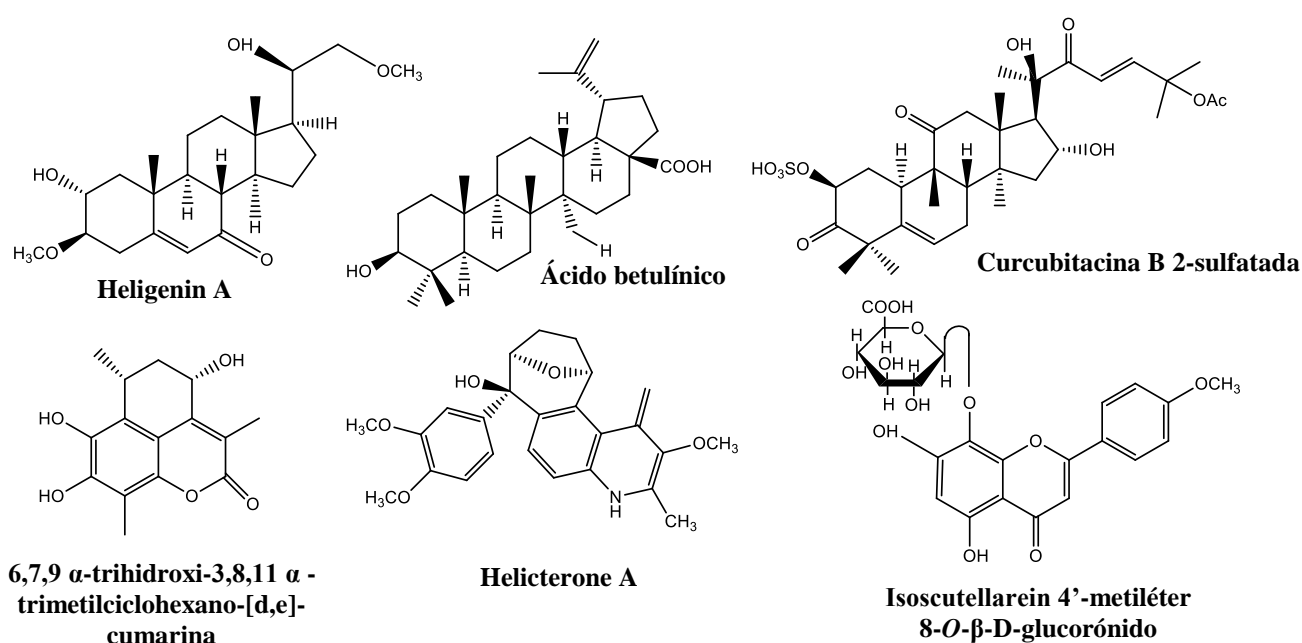
As espécies de *Helicteres* L. se caracterizam morfologicamente por apresentarem flores vistosas, zigomorfas, pediceladas, geralmente pêndulas e inodoras. O androginóforo é longo, com 10 estames transversais enxertados em uma corola de cor amarela a vermelho (SILVA, et al., 2010).

Estudos fitoquímicos realizados com espécies deste gênero permitiram isolar metabólitos (Figura 5, pág. 34) das classes dos triterpenos (Curcubitacinas); esteroides (Pregnano- Heligenin A-B), e alcaloides (Quinolínico) (CHEN, et al., 2006; CHEN-ZONG, LEE, CHEN-CHIU, 2006; WANG, et al., 2012), flavonoides e saponinas (KUMAR & SINGH, 2014), além de diversos outros compostos fenólicos, entre eles flavonoides sulfatados (KAMIYA, et al., 2001; BALOUNG et al, 2014).

Dentre os gêneros da família Sterculiaceae, *Helicteres* é um dos mais estudados comprovando-se que algumas das suas espécies apresentam propriedades medicinais, como

por exemplo, *H. sacarolha*, com ação antihipertensiva e antiulcerogênica (BALOUNG et al., 2014). *H. isora* apresenta ação antioxidante, anticâncer, antimicrobiana, antiplasmídica, antinociceptiva e hepatoprotetora (KUMAR & SINGH, 2014; LOGANAYAKI, SIDDHURAJU, MANIAN, 2013). Huang et al. (2013), mostrou que *H. angustifolia* possui atividade analgésica, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticâncer e atua contra hepatite B. Estudos realizados com *H. baruensis* e *H. grazumifolia* revelaram ação antimicrobiana e antifúngica, respectivamente (NAVARRO, 2010).

**Figura 5.** Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*

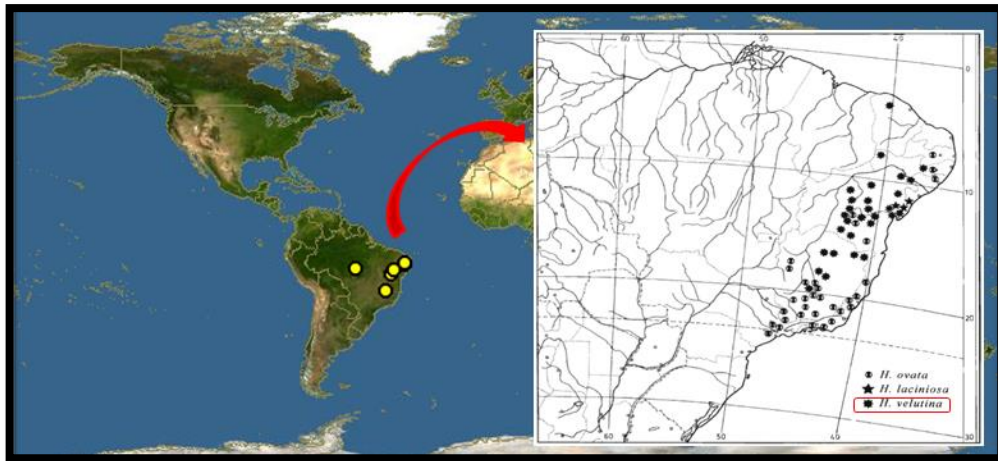


**Fonte:** KAMIYA, et al., 2001; CHEN, et al., 2006; CHEN-ZONG, LEE, CHEN-CHIU, 2006; WANG, et al., 2012.

### 3.5. Considerações botânica e etnofarmacológica da espécie *Helicteres velutina*

A espécie *Helicteres velutina* K. Schum, popularmente conhecida como Pitó, é endêmica do Brasil, estando presente nos estados do Nordeste e Sudeste. Em Pernambuco é encontrada na caatinga alterada, com solo arenoso. Na Bahia ela habita em solo arenoso ou entre rochas do cerrado, e na transição entre cerrado e caatinga. No estado de Minas Gerais habita campos rupestres muitas vezes formando parte da vegetação ribeirinha (Figura 6, pág. 35) (SANTOS et al., 2012).

**Figura 6.** Distribuição geográfica da espécie *Helicteres velutina* K. Schum



**Fonte:** Adaptado de [http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make\\_map](http://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map); CRISTÓBAL, 2006.

Em relação às características botânicas da espécie, *Helicteres velutina* K. Schum possui porte arbustivo ereto, podendo chegar a 2m de altura. Suas folhas são bicolors e as flores são inclinadas para baixo; o seu cálice é tubular, de cor vermelha com a base amarela. As pétalas são espatuladas, superior ao cálice, variando de rosa a roxo e o seu fruto velutino apresenta-se amarelo em espiral (Figura 7, pág. 35) (CRISTÓBAL, 2006).

**Figura 7.** *Helicteres Velutina* K. Schum



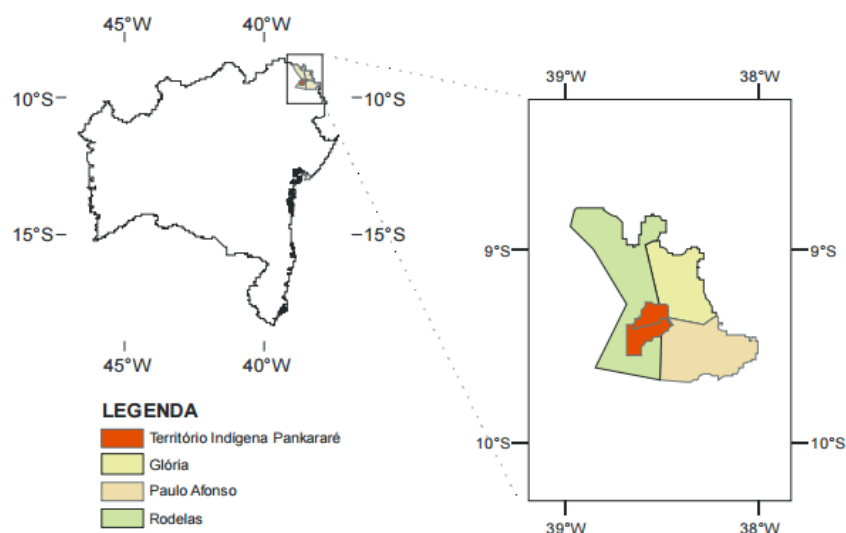
**Fonte:** CRISTÓBAL, 2001.

De acordo com a etnofarmacologia *H. velutina* é utilizada como repelente, pela tribo indígena Pankararé da estação ecológica Raso da Catarina na Bahia. Estudo preliminar comprovou que o EEB das raízes e caule atua contra larvas do *Aedes aegypti* (COLAÇO,

2006; SANTOS et al., 2012). Não foram encontradas na literatura outras informações sobre estudos fitoquímicos ou farmacológicos da espécie.

A Terra Indígena Pankararé ocupa uma área de 45.600 hectares no nordeste do estado da Bahia situada dentro da região denominada Raso da Catarina, no quadrilátero formado pelas cidades de Paulo Afonso, Jeremoabo, Canudos e Macururé, sua vegetação é do tipo caatinga arbórea e arbustiva (Figura 8, pág. 36) (COLAÇO, 2006).

**Figura 8.** Localização da tribo indígena Pankararé na Bahia



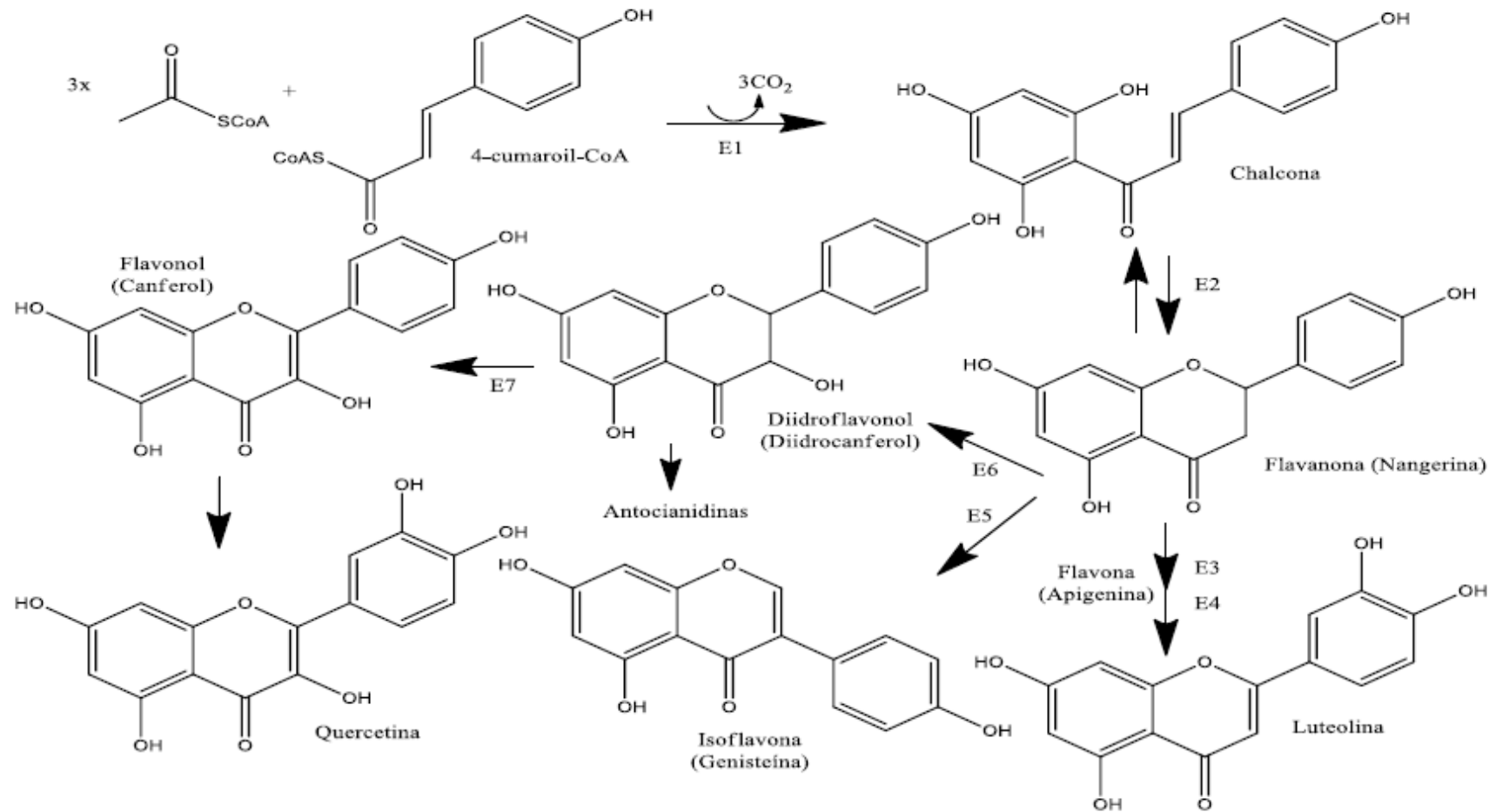
**Fonte:** COLAÇO, 2006.

### 3.6. Considerações gerais sobre flavonoides

Os flavonoides, compostos fenólicos amplamente distribuídos no reino vegetal, representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos naturais (SIMÕES et al., 2010).

Estes metabólitos secundários são oriundos da rota biossintética mista, sendo uma parte do núcleo flavonoídico derivado do ácido chiquímico e a outra do acetyl-CoA (PEREIRA, RODRIGUES, VEGA, 2016). A chalcona é o precursor de todas as classes dos flavonoides. Este precursor após a reação da chalcona isomerase dá origem a uma flavanona que pela ação de várias outras enzimas que atuam durante o caminho biossintético origina as demais formas derivadas desta, além das isoflavonoides e neoflavonoides (Figura 9, pág. 37) (DEWICK, 2009).

**Figura 9.** Biossíntese de flavonoides

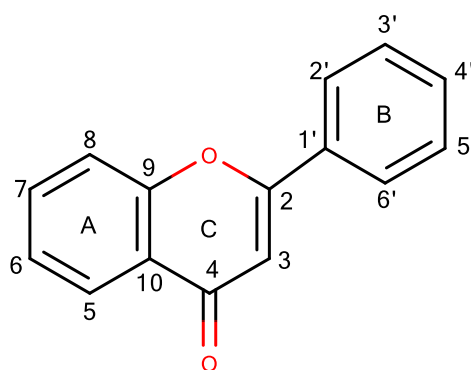


**E1** – Chalcona sintase, **E2** – Chalcona isomerase, **E3** – Flavona sintase, **E4** – Flavona sintase II, **E5** – Isoflavona sintase, **E6** – Flavanona-3-hidroxilase e **E7** – Flavonol sintase.

Fonte: DEWICK, 2009.

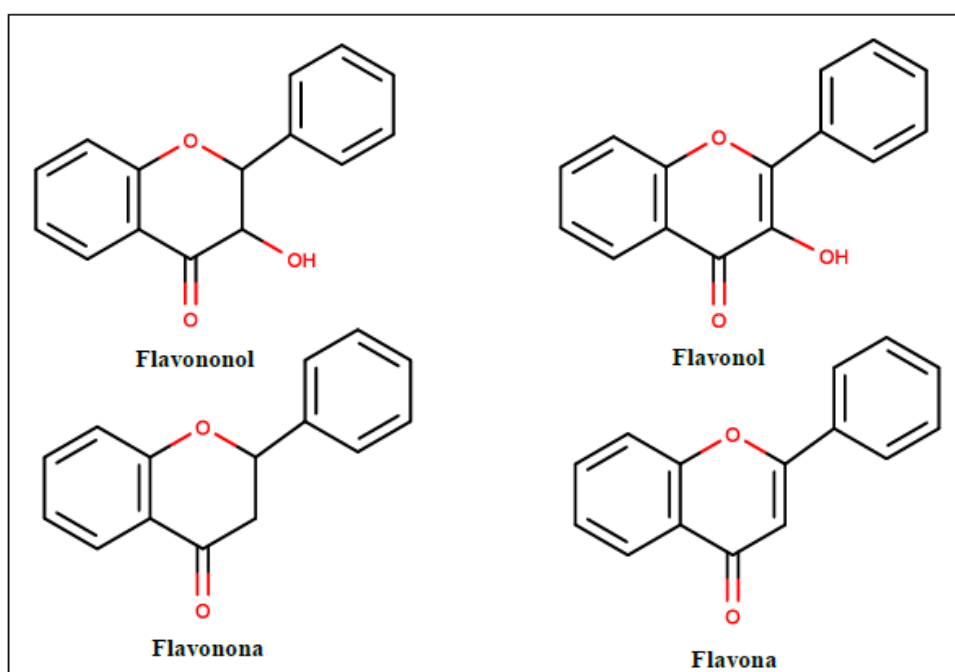
O esqueleto básico dos flavonoides (Figura 10, pág. 38) é composto por 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, apresentando um núcleo característico C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (REGINATO, SILVA, BAUERMANN, 2015).

**Figura 10.** Núcleo fundamental dos flavonoides e sua numeração



Os processos oxidativos, originam diferentes classes de flavonoides, entre elas os flavonoides propriamente dito como: flavanonas, flavonas, flavonol e flavonol (Figura 11, pág. 38), de acordo com a presença do oxigênio no átomo de carbono 4, ligação dupla entre os átomos de carbono 2 e 3 ou a presença de um grupo hidroxila na posição 3 do anel C. A grande diversidade estrutural que os flavonoides possuem os confere vasto número de propriedades biológicas (REGINATO, SILVA, BAUERMANN, 2015).

**Figura 11.** Diferentes estruturas de flavonoides



Para o isolamento de flavonoides de plantas, usualmente são utilizados solventes em polaridade crescente, sendo que os solventes de caráter apolar facilitam a retirada de gorduras, para posterior obtenção de metabólitos secundários polares. Após a extração, métodos cromatográficos podem ser utilizados para a purificação, tendo como fase estacionárias: Sephadex LH-20, sílica gel, Cromatografia em Camada Delgada Preparativa, entre outras. A identificação se dá por métodos espectroscópicos e espectrométricos (SIMÕES et al., 2010).

Nas plantas, estes metabólitos secundários estão envolvidos em uma variedade de processos biológicos, protegendo os vegetais contra os raios ultravioleta; insetos, fungos, vírus e bactérias; auxiliam na atração de animais para a polinização; possuem atividade antioxidante; controlam a ação de hormônios vegetais; são agentes alelopáticos e inibem enzimas. Também podem ser utilizados como marcadores taxonômicos devido à especificidade em algumas espécies (SIMÕES et al., 2010).

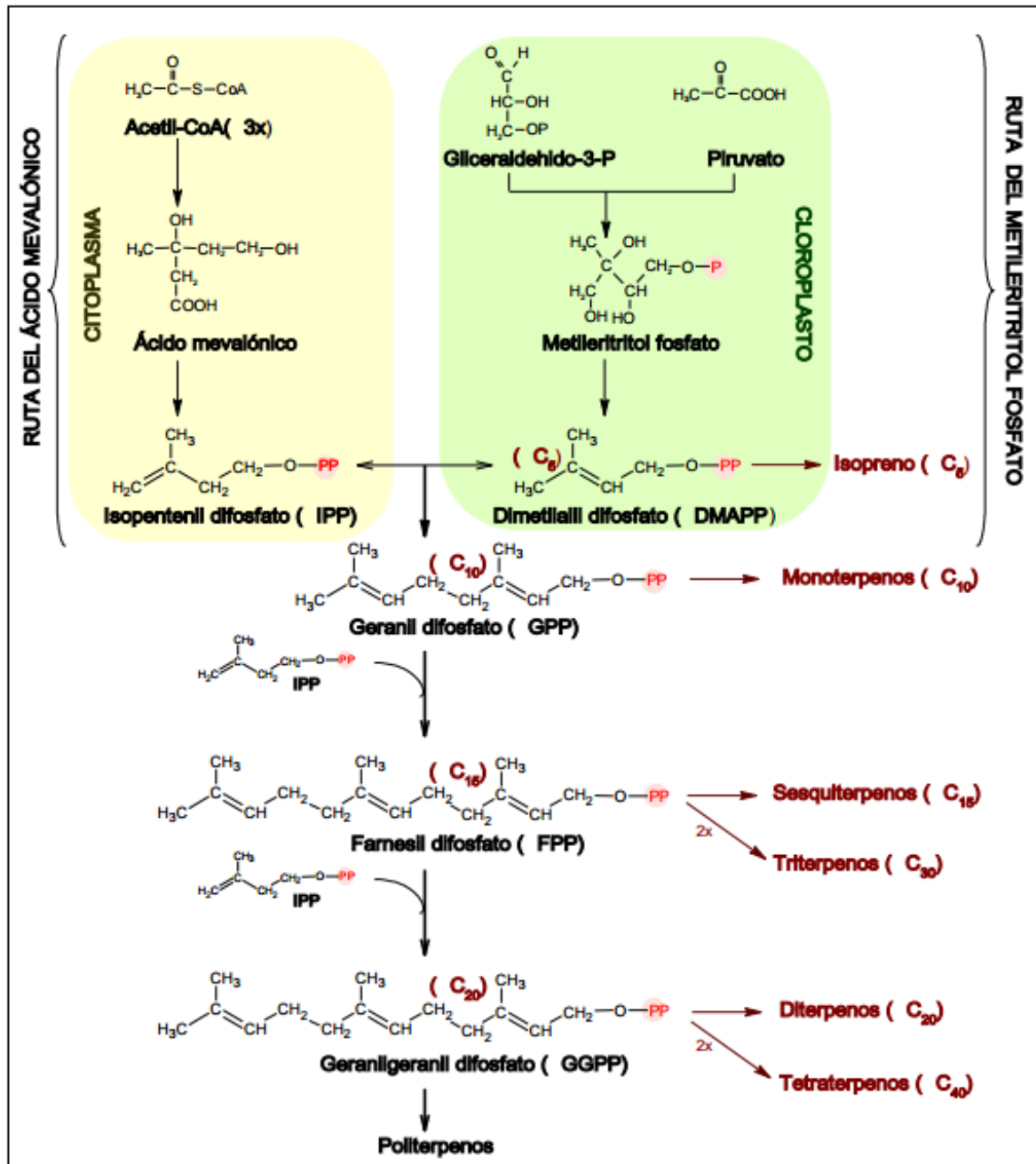
Além de suas funções em plantas, os flavonoides são importantes para a saúde humana sendo atribuídas a eles propriedades antiinflamatórias, antioxidantes, antiateroscleróticas, antitumorais, antimicrobianas, entre outras (JOHANN, 2003; SIMÕES et al., 2010; FLAMBÓ, 2013). Estudos vêm demonstrando que muitos flavonoides isolados de diferentes plantas apresentam atividade antimicrobiana *in vitro* como os presentes na própolis da cera de abelha, essa atividade deve-se, provavelmente, à sua capacidade em formar complexos com proteínas solúveis e com a parede celular das bactérias (JOHANN 2003; OLIVEIRA et al., 2012a).

### **3.7. Considerações gerais sobre terpenoides e esteroides**

Os terpenoides formam uma grande e estruturalmente diversa família de produtos naturais, são metabolitos resultantes da condensação do pirofosfato de isopentenila (PIP) e do pirofosfato de dimetilalila (PPDMA), que são constituintes da via do mevalonato (MVA) ou via alternativa metileritrol fosfato (MEP) (Figura 12, pág. 40). Todos os terpenos são oriundos da união de unidades isoprênicas, constituídas por uma cadeia acíclica de cinco carbonos (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). Dependendo da quantidade de unidades isoprênicas, os compostos terpênicos tem diferentes classificações (Quadro 3, pag. 40) (FAUSTINO, 2015; DEWICK, 2009).



Figura 12. Caminho biossintético dos constituintes químicos mevalônicos



Fonte: GARCIA & CARRIL, 2009.

Quadro 3. Classificação dos terpenos segundo o número de unidades isoprênicas

Classes de terpenos	Fórmula molecular	Nº de unidades
Monoterpenos	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2
Sesquiterpenos	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3
Diterpenos	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	4
Sesterterpenos	C <sub>25</sub> H <sub>40</sub>	5
Triterpenos	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub>	6
Tetraterpenos	C <sub>40</sub> H <sub>64</sub>	8
Politerpenos	C <sub>5n</sub> H <sub>8n</sub>	N

Os triterpenóides são derivados do esqualeno, possuem esqueletos carbônicos que podem ser tetracíclicos, que incluem os damaranos, lanostanos, cicloartanos, cucurbitanos e tirucalanos, e pentacíclicos, por exemplo, os oleananos, ursanos, lupanos e fridelano (SANTOS, 2010).

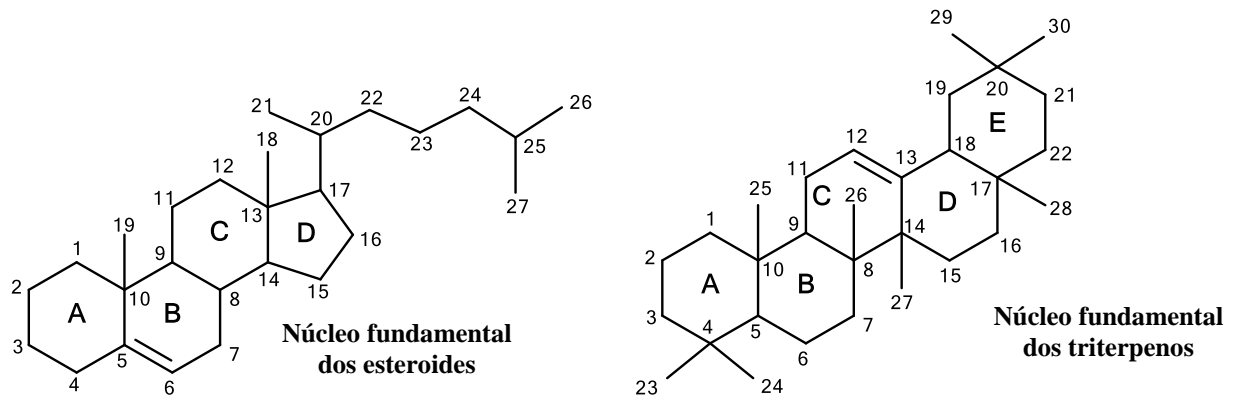
Os núcleos dos triterpenos e esteroides (Figura 13, pág. 42) têm a mesma origem biossintética até a formação do 2,3-epóxido esqualeno (Figura 14, pág. 42). A partir desse intermediário, o 2,3-epóxido esqualeno é ciclizado formando vários confôrmeros, que quando associado a algumas reações de rearranjo de metila ou de hidrogênios, geram cadeias carbônicas específicas comuns aos triterpenos. Os esteróides são triterpenóides modificados, formados por um esqueleto de 27-29 carbonos dispostos num sistema tetracíclico, encontrados como álcool livre ( $3\beta$ -OH), esterificados a partir ácidos graxos ou como glicosídeos (SILVA, 2013; ARAÚJO, 2013).

Os fitoesteróides são substâncias esteroideais extraídas de espécies vegetais, sendo os mais comuns o  $\beta$ -sitosterol, campesterol e estigmasterol. Possuem o esqueleto carbônico formado pelo anel ciclopentanoperidrofenantrênico, onde podem ser encontradas duplas ligações, principalmente na posição C5-C6 (SANTOS, 2010).

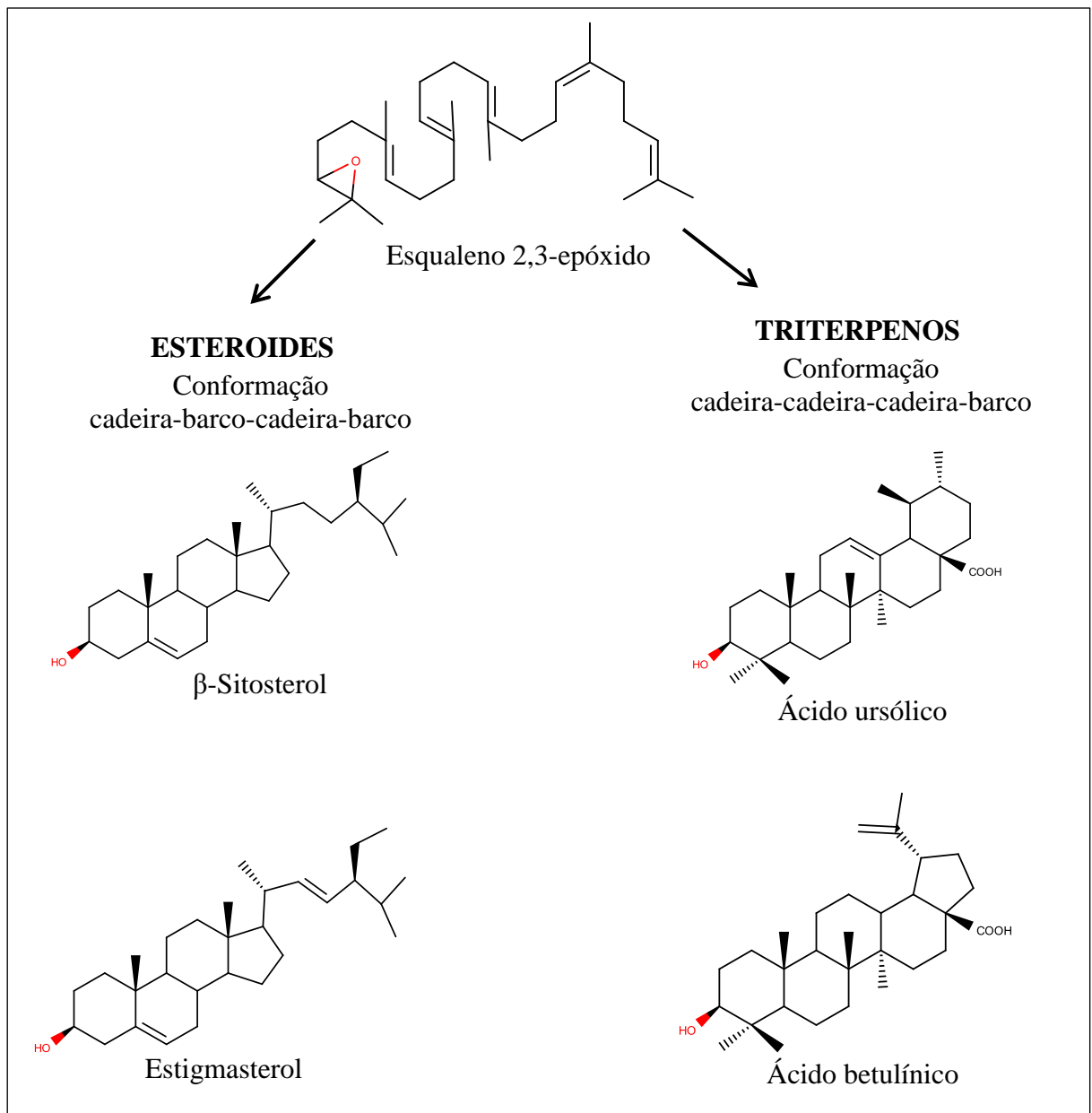
Os triterpenos e esteroides constituem classes de substâncias promissoras com inúmeras propriedades biológicas já relatadas na literatura. Seus efeitos farmacológicos, combinados com uma toxicidade reduzida, despertam interesses em pesquisas. Vários estudos têm apresentado resultados importantes da ação dos triterpenóides em diferentes atividades biológicas, mais especificamente, em doenças anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, antidiabéticas, hepatoprotetoras e antitumorais (FAUSTINO, 2015, SANTOS, 2011).

Entre os triterpenos com atividades biológicas promissoras, pode-se destacar o ácido betulínico, ácido ursólico, lupeol, além das  $\alpha$  e  $\beta$  amirinas. Alguns esteroides podem também ser citados, como o  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol, e derivados análogos que apresentam atividades antiviral e anticâncer (SANTOS, 2015a).

**Figura 13.** Estruturas de substâncias mevalônicas



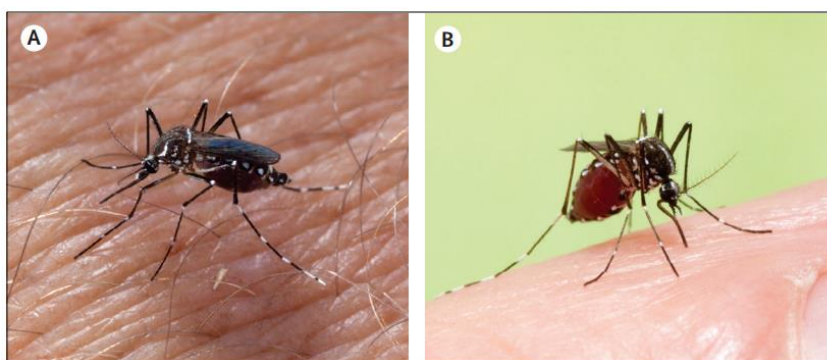
**Figura 14.** Exemplo de esteroides e triterpenos isolados de plantas



### 3.8. Considerações sobre o gênero *Aedes* e arboviroses

Há duas espécies principais de mosquitos do gênero *Aedes* capazes de transmitir, além da dengue, outras arboviroses para o homem, como chikungunya, zika e febre amarela: *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Figura 15, pág. 43). Estas espécies pertencem ao ramo Arthropoda, classe Hexapoda, ordem Diptera e família Culicidae, estando os mosquitos presentes nos trópicos e subtropicais, em praticamente todo o continente americano, no Sudeste da Ásia, e em toda a Índia (ZARA et al., 2016; ABED et al., 2007, BRASIL, 2001, KRAEMER et al., 2015; BRAGA & VALLE, 2007).

**Figura 15.** Adulto fêmea do *Ae. aegypti* (A); Adulto fêmea do *Ae. albopictus* (B)

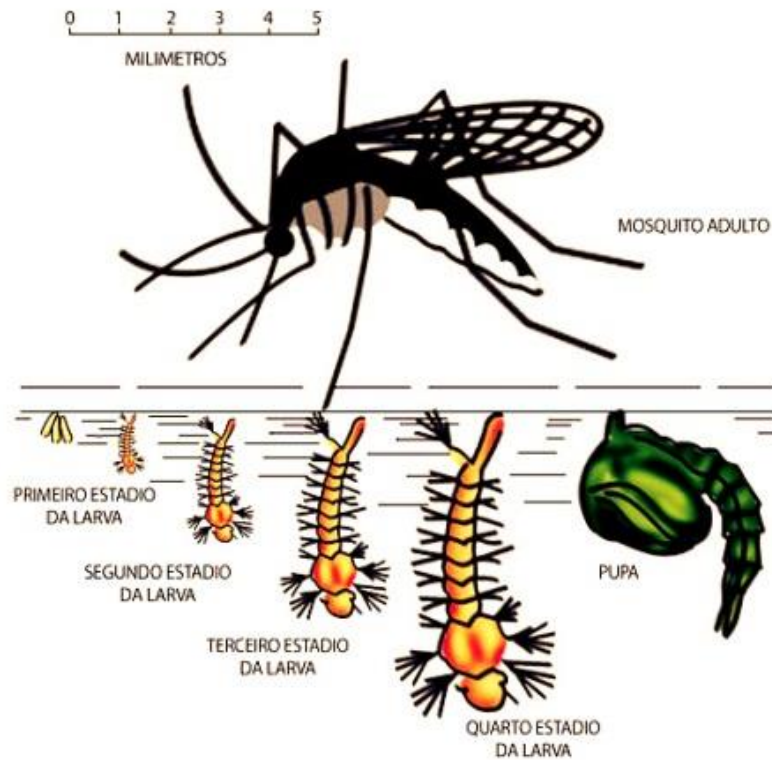


**Fonte:** SCHAFFNER & MATHIS, 2014.

Ambas são espécies exóticas que chegaram ao continente americano após desenvolverem, em seus ambientes primários (Ásia e África), grau significativo de sinantropia. A ocorrência de epidemias de arboviroses está diretamente relacionada com a presença e a densidade de seus vetores. Atualmente, eles são encontrados em uma larga faixa do continente americano, que se estende do Uruguai até o sul dos Estados Unidos da América (EUA), com a ocorrência de surtos importantes de dengue em vários países, como Venezuela, Cuba, Brasil e Paraguai (BRAGA & VALLE, 2007).

Os mosquitos se desenvolvem através de metamorfose completa e o ciclo de vida, que dura entre 10-15 dias, compreende quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 16, pág. 44). As fêmeas do mosquito depositam seus ovos nas paredes de recipientes que possam acumular água. Esses ovos eclodem quando imersos em água, se transformando em larvas, desenvolvendo-se em pupas no período de cinco dias, que por sua vez, se transformam em mosquitos após 2-3 dias. O tempo de vida do mosquito adulto é de poucas semanas, podendo chegar a 45 dias (BRASIL, 2008, CDC, 2016a).

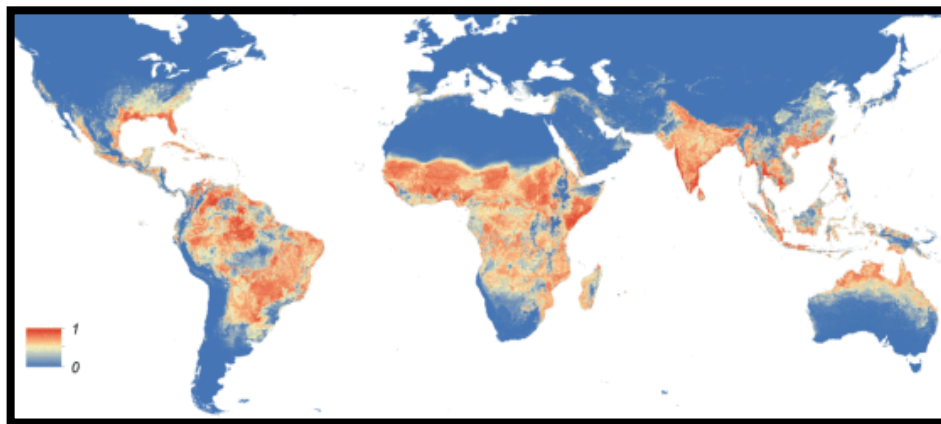
**Figura 16.** Ciclo de vida de espécies do gênero *Aedes*



**Fonte:** BRASIL, 2008.

No Brasil, o *Ae. aegypti* está presente em todas as Unidades da Federação, distribuído em, aproximadamente, 4.523 municípios (Figura 17, pág. 44) (ZARA et al., 2016).

**Figura 17.** Distribuição mundial do *Ae. aegypti* L., com probabilidade de ocorrência (zero em azul e um em vermelho)



**Fonte:** KRAEMER et al., 2015.

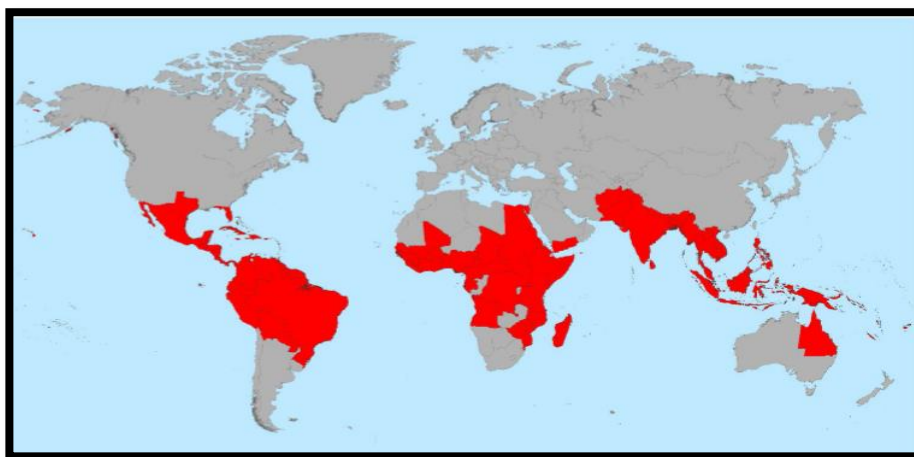
A dengue é considerada um dos principais problemas de saúde pública no mundo, sendo transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Ae. aegypti*, infectado com o vírus do gênero Flavivírus, estima-se que 50 milhões de pessoas sejam infectadas anualmente, com cerca de 550.000 hospitalizações e 20.000 óbitos (SILVA et al., 2014). A seguir nós temos um mapa de distribuição da dengue no mundo (Figura 18, pág. 45).

Em 2014 e 2015, além do aumento da incidência da dengue no Brasil, dois novos vírus transmitidos pelo *Ae. aegypti* foram introduzidos em nosso país: o Chikungunya vírus (CHIKV) (Figura 19, pág. 46) e o Zika vírus (ZKV) (Figura 20, pág. 46) (BRASIL, 2016a).

A chikungunya pode evoluir em três fases: aguda, subaguda e crônica. Após o período de incubação inicia-se a fase aguda ou febril, que dura até o décimo dia. Alguns pacientes evoluem com persistência das dores articulares após a fase aguda, caracterizando o início da fase subaguda, com duração de até três meses, atingindo a fase crônica (BRASIL, 2015).

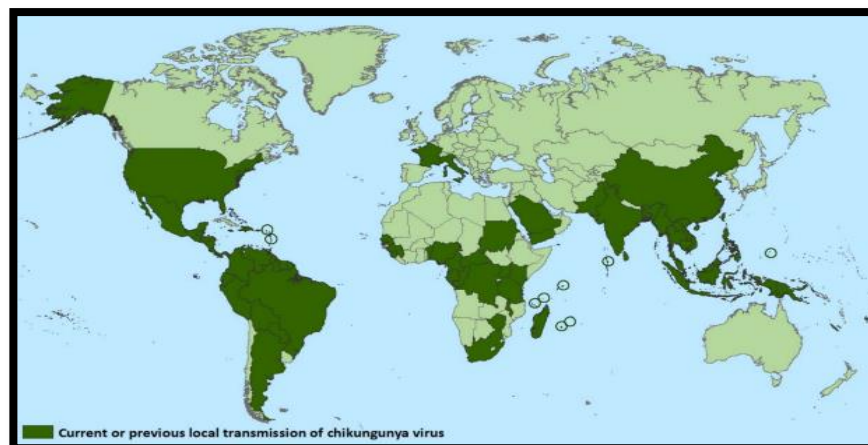
A Zika tem sido associada com sintomas neurológicos e malformações fetais, como a microcefalia. A principal forma de contágio pelo ZKV é pela picada de mosquitos do gênero *Aedes*, suspeita-se que também pode acontecer por meio de relação sexual, aleitamento, entre outras formas que estão sendo investigadas pelo Ministério da Saúde (RODRIGUEZ et al., 2015; BRASIL, 2016a).

**Figura 18.** Distribuição mundial do dengue vírus tipo de 1-4



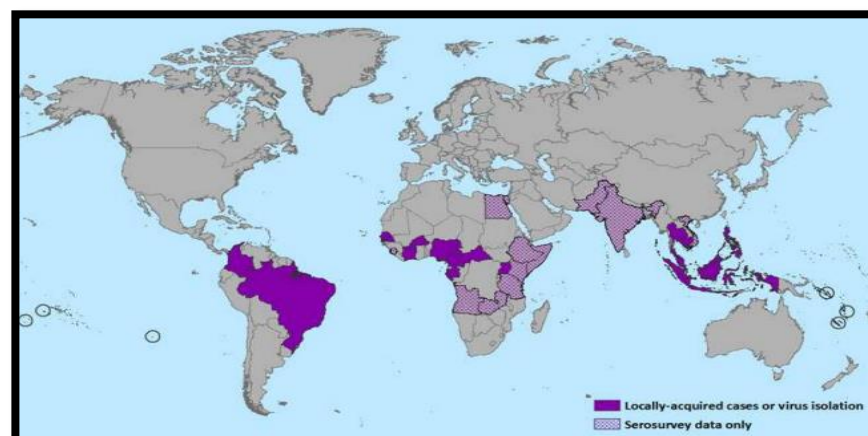
**Fonte:** BHATT et al., 2013.

**Figura 19.** Distribuição mundial do Chikungunya vírus



Fonte: CDC, 2016b.

**Figura 20.** Distribuição mundial Zika vírus



Fonte: HADDOW, 2012.

Segundo o Ministério da Saúde, no período de Janeiro a Setembro de 2016, foram confirmados no Brasil 824.218 casos de dengue, resultando em 563 óbitos; 116.523 casos de febre chikungunya, com registro de 120 óbitos; e 109.596 casos de Zika, com três óbitos confirmados (BRASIL, 2016b), o MS registrou até o dia 3 de Dezembro de 2016, 2.228 casos de microcefalia e/ou alteração do SNC sugestivos de infecção congênita (BRASIL, 2016c).

### 3.8.1. Formas de combate ao *Aedes aegypti* L.

Apesar do recente desenvolvimento de uma vacina contra a dengue, a principal forma de combate das arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti* ainda é o controle do



mosquito vetor, uma vez que a vacina possui limitações e não protege contra zika e chikungunya (GARCEZ et al., 2013; BRASIL, 2016a). Dessa forma o controle dos mosquitos do gênero *Aedes* tem constituído um importante desafio, especialmente nos países em desenvolvimento. Aspectos relacionados a problemas de infraestrutura das cidades tais como baixas coberturas na coleta de lixo e intermitência no abastecimento de água e focos de água parada, são fatores que comprometem a efetividade dos métodos tradicionais de controle do *Aedes* (ZARA et al., 2016, BRASIL, 2016a).

O principal objetivo da maioria dos programas de controle do *Ae. aegypti* é reduzir a densidade populacional do vetor, utilizando métodos que incluem a eliminação ou controle de criadouros, o controle químico das larvas, o uso de agentes biológicos, bem como a aplicação de adulticidas (SILVA et al., 2014; COELHO, De PAULA, ESPÍNDOLA, 2009).

#### 3.8.1.1. Controle mecânico

O controle mecânico consiste na utilização de medidas que dificultem o desenvolvimento do ciclo de vida do inseto ou que possam contribuir para diminuir o contato homem/vetor, como por exemplo, a remoção de criadouros no ambiente domiciliar e a coleta do lixo urbano regular. Atualmente, o mosquito *Ae. aegypti* é altamente dependente dos recipientes manufaturados pelo homem, localizados normalmente em quintais ou pátios que coletam água da chuva ou recipientes que são preenchidos pelo próprio homem onde o inseto pode se desenvolver (Figura 21, pág. 47) (CDC, 2012).

**Figura 21.** Criadouros do mosquito *Ae. aegypti*, locais propícios a sua proliferação



**Fonte:** Adaptado de CDC, 2012.



### 3.8.1.2. Controle Biológico e Químico de larvas

Uma das principais estratégias para o controle do vetor é o tratamento dos focos de mosquito, denominado pelo Ministério da Saúde como tratamento focal, que tem como alvo o combate às formas larvais. O tratamento focal consiste na aplicação de um produto larvicida nos depósitos de água contendo formas imaturas de mosquitos, que não possam ser eliminados mecanicamente (NUNES, 2013).

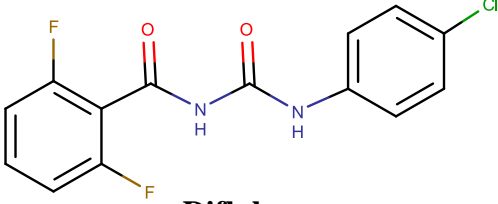
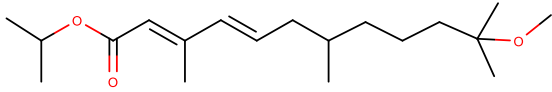
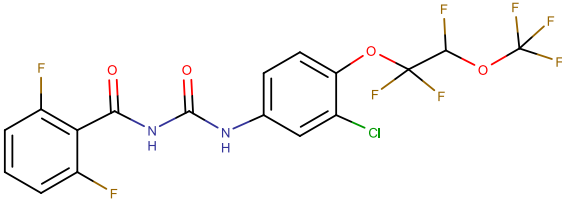
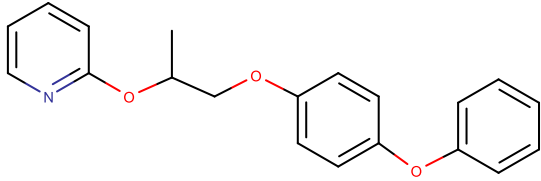
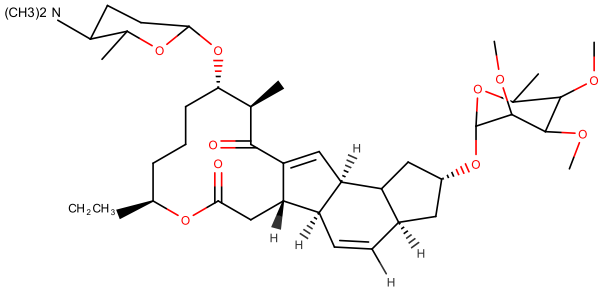
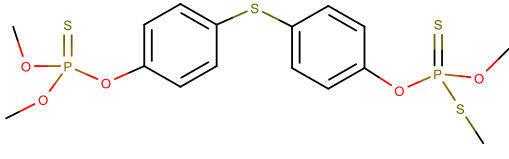
As técnicas de controle biológico de vetores consistem em utilizar algum tipo de inimigo natural específico, tais como invertebrados aquáticos ou peixes que predam larvas e pupas, além de microrganismos como os fungos, bactérias e parasitas. Já o controle químico das larvas consiste na aplicação dos bioinseticidas (BRAGA & VALLE, 2007).

Os larvicidas avaliados e autorizados para tratamento focal, segundo a OMS são: diflubenzurom (A), metopreno (B), novalurom (C), piriproxifem (D) espinosade (E), temefós (F) (Quadro 4, pág.49), além do *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI). Esses seis inseticidas são aprovados pela Organização Mundial da Saúde para uso em água de consumo humano, por suas características de inocuidade. Apesar de amplamente difundidos e utilizados para garantir controle dos focos, os inseticidas ambientais são considerados potencialmente perigosos para os trabalhadores que manipulam esses produtos frequentemente (ANDRADE, 2006; BASTOS et al., 2016).

No Brasil, o comércio de larvicidas é regulamentado pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) e alguns produtos apresentam autorização para o uso em água potável. A recomendação do uso de larvicidas em água para consumo humano deve considerar o risco de expor a população a um produto com uma segurança frágil, mas sem evidências de dano, e os riscos pela exposição as doenças transmitidas pelos vetores. A utilização dos larvicidas em água potável é sempre complementar ao manejo mecânico, sob controle rigoroso e mantendo em vigilância a população exposta (BASTOS et al., 2016).

As larvas dos mosquitos, sempre aquáticas, têm aspecto vermiforme e coloração que varia entre o esbranquiçado, esverdeado, avermelhado ou mesmo enegrecido. A forma larval apresenta ainda 4 estágios (L1 a L4). A maioria das larvas de mosquitos alimenta-se indistintamente do microplâncton presente em seus habitats, constituído de algas, rotíferos, bactérias, esporos de fungos, ou quaisquer partículas de matéria orgânica. A ingestão não seletiva de partículas por parte das larvas facilita a utilização de larvicidas por ação digestiva (NUNES, 2013).

**Quadro 4.** Larvicidas para tratamento focal

 <p style="text-align: center;"><b>Diflubenzurom</b></p> <p style="text-align: right;"><b>(A)</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>Metropeno</b></p> <p style="text-align: right;"><b>(B)</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>Novalurom</b></p> <p style="text-align: right;"><b>(C)</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>Piriproxifem</b></p> <p style="text-align: right;"><b>(D)</b></p>
 <p style="text-align: center;"><b>Espinosade</b></p> <p style="text-align: right;"><b>(E)</b></p>	 <p style="text-align: center;"><b>Temefós</b></p> <p style="text-align: right;"><b>(F)</b></p>

Os inseticidas químicos são os mais utilizados no combate ao vetor, atuando por diferentes mecanismos de ação, tendo destaque os pertencentes ao grupo dos organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides. No que diz respeito à vigilância entomológica, o uso contínuo de inseticidas tem levado a seleção de populações de insetos resistentes (SILVA et al., 2014; COELHO, De PAULA, ESPÍNDOLA, 2009, GARCEZ et al., 2013).

O surgimento de populações de mosquitos resistentes revela a necessidade de mudanças nas ações de controle e manejo destes produtos e, nesse contexto, diversas espécies vegetais com potencial inseticida, poderiam vir a contribuir de maneira significativa para o controle do *Ae. aegypti* (OLIVEIRA et al., 2014). Dessa forma, a busca por métodos alternativos para serem usados no controle dos vetores, que sejam eficientes, economicamente viáveis, biodegradáveis e mais seletivos torna-se essencial. Como uma alternativa de controle

químico, alguns compostos naturais, como óleos essenciais de plantas, têm sido investigados quanto a sua atividade larvicida (SILVA et al., 2014; ZARA et al., 2016).

Os derivados de planta, extratos e óleos, são amplamente conhecidos pela sua diversidade química e pela sua variada aplicação na indústria. As plantas possuem uma rica fonte de bioativos químicos que podem ajudar no controle de pragas. O conhecimento popular sobre o uso e a eficácia das plantas contribui de forma relevante para a divulgação de suas propriedades, despertando o interesse de pesquisadores de diferentes áreas do conhecimento (GUARIDO, 2009). Esta linha de pesquisa vem despertando muito interesse, tendo em vista que é necessário produzir meios de controle eficazes e seguros para a população e para o meio ambiente (ZARA et al., 2016).

A utilização de inseticidas a partir de plantas pode ser vantajosa em relação aos sintéticos. Como são provenientes de recursos renováveis e por serem uma mistura de vários compostos ativos agindo sinergicamente, a seleção de resistentes pode ocorrer em menor intensidade (OLIVEIRA et al., 2014). Para Garcez et al., (2013) os inseticidas botânicos podem reduzir os riscos do aparecimento de populações de insetos resistentes, em virtude da sua complexidade molecular, bem como minimizar os riscos à saúde humana e ao ambiente.

Diversas pesquisas voltadas para o potencial da flora têm sido realizadas, apresentando resultados promissores em relação ao controle do *Ae. aegypti*. Estudo realizado com extrato metanólico de folhas de *Atlantia monophylla* (Rutaceae) e extrato etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* (Sapindaceae), apresentaram atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (GUARIDO, 2009). Cruz et al. (2015), relata que estudos realizados com caules e folhas de *Croton zehntneri*, *Croton nepetaefolius* e *Croton argyrophyloides* (Euphorbiaceae), espécies endêmicas da caatinga, ocasionaram 100% de mortalidade de larvas do *Ae. aegypti*.

A escolha da espécie *Helicteres velutina* para esta dissertação foi alicerçada pela linha de pesquisa da equipe, sua utilização na medicina popular e ausência de estudos científicos no que tange a fitoquímica e farmacologia.

## *4. Metodologia*

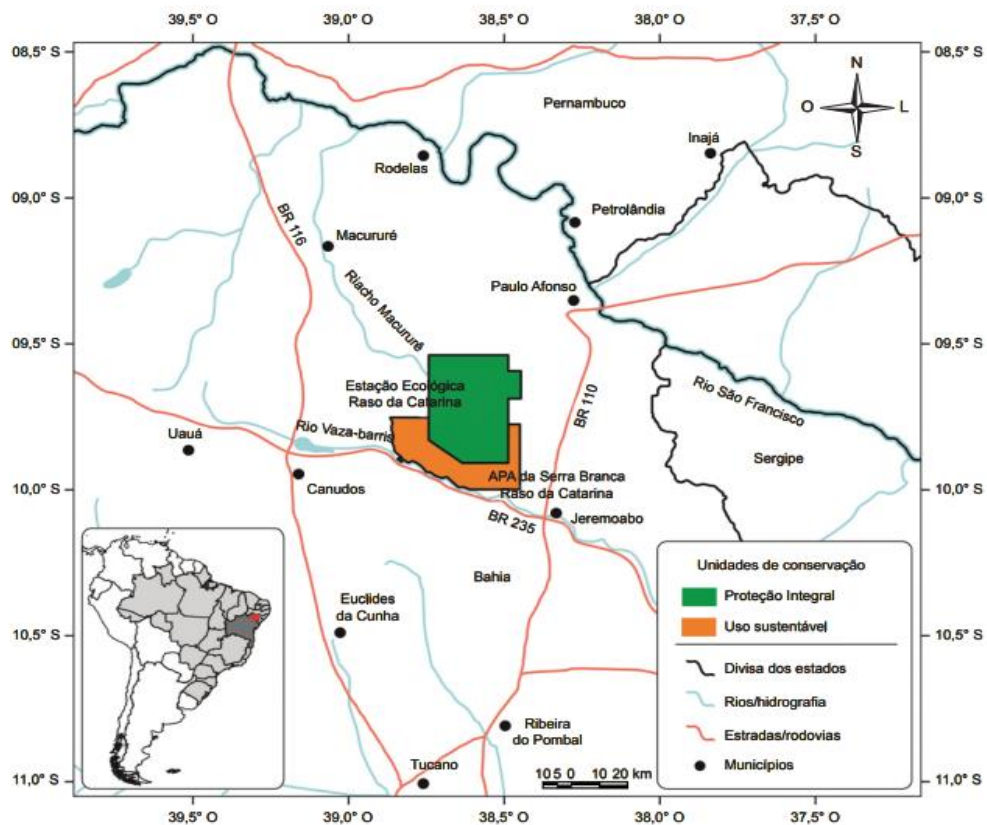
#### 4.1. Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado, no decorrer de todo o estudo, no *Chemical Abstracts*, *Biological Abstracts*, através de anais de eventos nacionais e internacionais, Portal periódicos CAPES, *SciFinder*, além de outras fontes disponíveis na Internet.

#### 4.2. Coleta do material botânico

As partes aéreas da espécie *Helicteres velutina* K. Schum foram coletadas em Fevereiro de 2015 na Área de Proteção Ambiental Serra Branca/Raso da Catarina, localizada no município de Jeremoabo, nordeste da Bahia, cujas coordenadas são 09°53'15.5" a 09°44'34.6" S e 38°49'36,1" a 38°52'20.4" W (VARJÃO, JARDIM, CONCEIÇÃO, 2013) (Figura 22, pág. 52). Durante o processo de coleta, foram preparadas exsicatas para identificação do material coletado.

**Figura 22.** Localização da APA Serra Branca-BA



**Fonte:** VARJÃO, JARDIM, CONCEIÇÃO, 2013

### 4.3. Identificação botânica do material

O material botânico, partes aéreas, da espécie *Helicteres velutina*, foi coletado, identificado e cedido pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adilva de Souza Conceição/UNEB, sendo uma exsicata depositada no Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB, Coleção Paulo Afonso), sob o código 28709-1.

### 4.4. Estudo fitoquímico

O estudo fitoquímico foi realizado nas dependências do Laboratório de Fitoquímica Prof. Dr. Raimundo Braz Filho; LAFAM; LMCA, todos pertencentes ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB.

#### 4.4.1. Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Helicteres velutina*

O isolamento dos constituintes químicos foi realizado através de métodos cromatográficos, como: Cromatografia em Coluna com sílica gel 60 (Merck), sílica flash e/ou Sephadex LH-20 (Merck), tendo como suportes colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Os solventes comerciais P.A. foram utilizados como fase móvel. Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna.

As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e reveladas por meio de impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo, que coram substâncias insaturadas, também foram utilizados reveladores como NP (difenilboriloxietilamina), para compostos fenólicos e Anisaldeído, para terpenos e esteroides.

#### 4.4.2. Caracterização estrutural das substâncias isoladas

A identificação ou elucidação estrutural das substâncias isoladas foi realizada através de métodos espectroscópicos, tais como: Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C, respectivamente) e bidimensionais (HMQC, HSQC e HMBC), bem como através de comparações com modelos da literatura.

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho da FISATOM (Modelo 431D), com termômetro que afere na faixa de 50 a 300 ° C.

- *Infravermelho*

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750, na UFPB, utilizando-se de 1 mg da amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em  $\text{cm}^{-1}$ .

- *Ressonância Magnética Nuclear*

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das substâncias isoladas foram obtidos utilizando o espectrômetro VARIAN-SYSTEM a 500 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) do LMCA-UFPB e utilizando espectrômetro VARIAN-GEMINI a 300 MHz ( $^1\text{H}$ ) e 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ), nas dependências do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da UFC. Os solventes utilizados na dissolução das amostras foram metanol, dimetilsulfóxido e piridina deuterados ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{DMSO-d}_6$  e  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$  respectivamente), Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

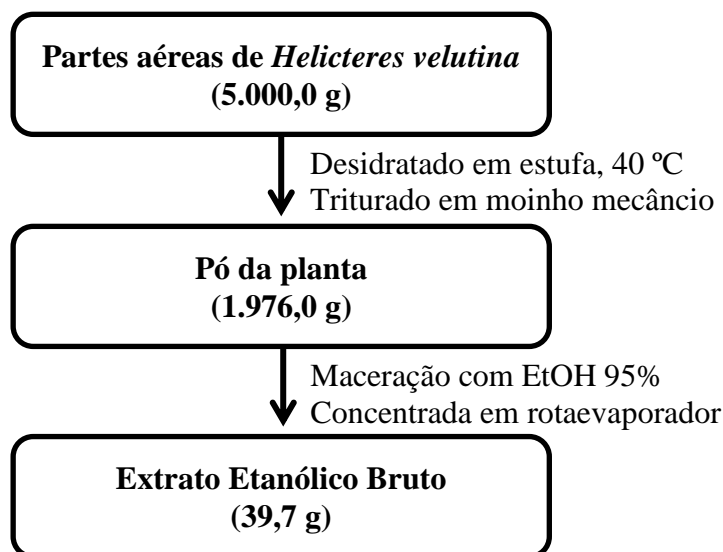
#### 4.4.3. Processamento da planta

O material botânico (5.000,0 g) da espécie *Helicteres velutina* foi desidratado em estufa com ar circulante à 40°C durante 72 horas. Em seguida, o material seco foi triturado com auxílio de moinho mecânico, fornecendo 1.976,0 g do pó.

#### 4.4.4. Obtenção do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres velutina*

O pó da planta (1.976,0 g) foi submetido à maceração durante 72 horas, utilizando-se como líquido extrator etanol a 95%, sendo tal processo repetido até extração dos seus constituintes químicos. A solução extrativa resultante foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se 39,7 g do extrato etanólico bruto (Esquema 2, pág. 55).

**Esquema 2.** Obtenção do EEB de *Helicteres velutina*.



#### 4.4.5. Prospecção fitoquímica do EEB

A triagem fitoquímica do EEB das partes aéreas de *Helicteres velutina* foi realizada por meio de técnicas clássicas, com intuito de detectar a presença de determinados grupos de metabólitos, para um melhor direcionamento da pesquisa, as frações do extrato etanólico bruto foram testadas com diferentes reagentes (Quadro 5, pág. 56) (MATOS, 2009).

As análises foram realizadas baseando-se nas metodologias adaptadas de Matos (2009) na busca de direcionar os estudos. Para detectar alcaloides no extrato, seguiu-se a metodologia descrita por Souza & Silva (2006).

As análises permitiram sugerir a presença de flavonoides, taninos, esteroides e triterpenos no referido extrato, além da ausência de saponinas e alcaloides. Os resultados obtidos corroboraram com dados da literatura que afirmaram que no campo da fitoquímica de espécies da família Sterculiaceae, os metabólitos mais identificados são os flavonoides, esteroides e triterpenoides. Enquanto a presença de alcaloides varia a depender do gênero e/ou espécie (GONÇALEZ, 2013; NAVARRO, 2010).



**Quadro 5.** Triagem fitoquímica do EEB das partes aéreas de *Helicteres velutina* K. Schum

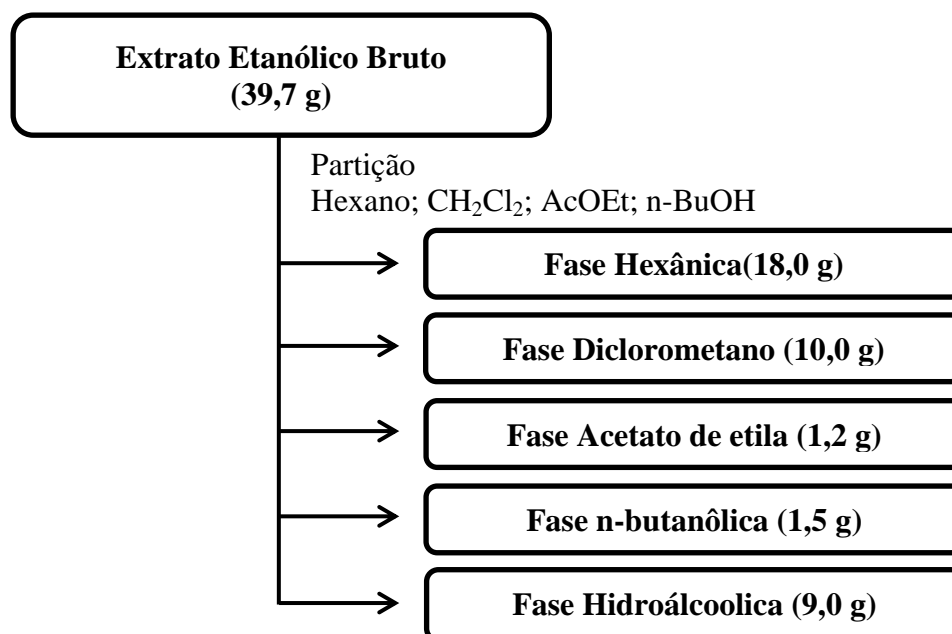
<b>METABOLITO SECUNDÁRIO</b>	<b>REAÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO</b>	<b>RESULTADO</b>
Flavonoide	Shinoda	(+) Coloração vinho intensa
Saponina	Formação de espuma	(-) Formação de espuma não persistiu após 10 min de repouso
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	(+) Coloração verde permanente
Esteróide	Liebermann-Buchard	(+) Coloração azul
Triterpeno	Liebermann-Buchard	(+) Coloração vermelha
Alcaloide	Dragendorff, Mayer, Bertrand e Bouchardat	(-) Não ocorreu formação de precipitado

Com base nesses resultados e tendo em vista a presença de compostos polares e apolares presentes no extrato, optamos em dar continuidade ao nosso trabalho com a fase diclorometano, rica em constituintes de polaridade intermediária, seguindo uma metodologia descrita por Chen et al. (2006), que trabalhou com a mesma fase, estudando a espécie *Helicteres angustifolia*, de onde conseguiu isolar 12 substâncias, entre elas esteroides, triterpenos e flavonoides.

#### 4.4.6. Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres velutina*

O extrato etanólico bruto das partes aéreas de *H. velutina* (39,7 g) foi solubilizado em uma solução de EtOH: H<sub>2</sub>O (7:3), obtendo-se uma solução hidroalcoólica que foi submetida sequencialmente a um fracionamento com hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. As respectivas soluções foram concentradas sob pressão reduzida, fornecendo 18,0 g da fase hexânica; 10,0 g da fase diclorometano; 1,2 g da acetato de etila e 1,5 g da fase n-butanólica, além de 9,0 g da fase hidroalcoólica (Esquema 3, pág. 57).

**Esquema 3.** Particionamento do EEB de *Helicteres velutina*



#### 4.5. Processamento cromatográfico da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de *H. velutina*

Uma amostra de 8,0 g da fase diclorometano foi submetida a uma separação por cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com éter de petróleo, diclorometano, metanol e água mili-q sozinhos ou em misturas binárias (Quadro 6, pág. 62), de onde foram coletadas 60 frações de 70mL cada, que foram concentradas em rotaevaporador e reunidas através de análise em CCDA, segundo semelhança do perfil cromatográfico (Esquema 4, pág. 59).

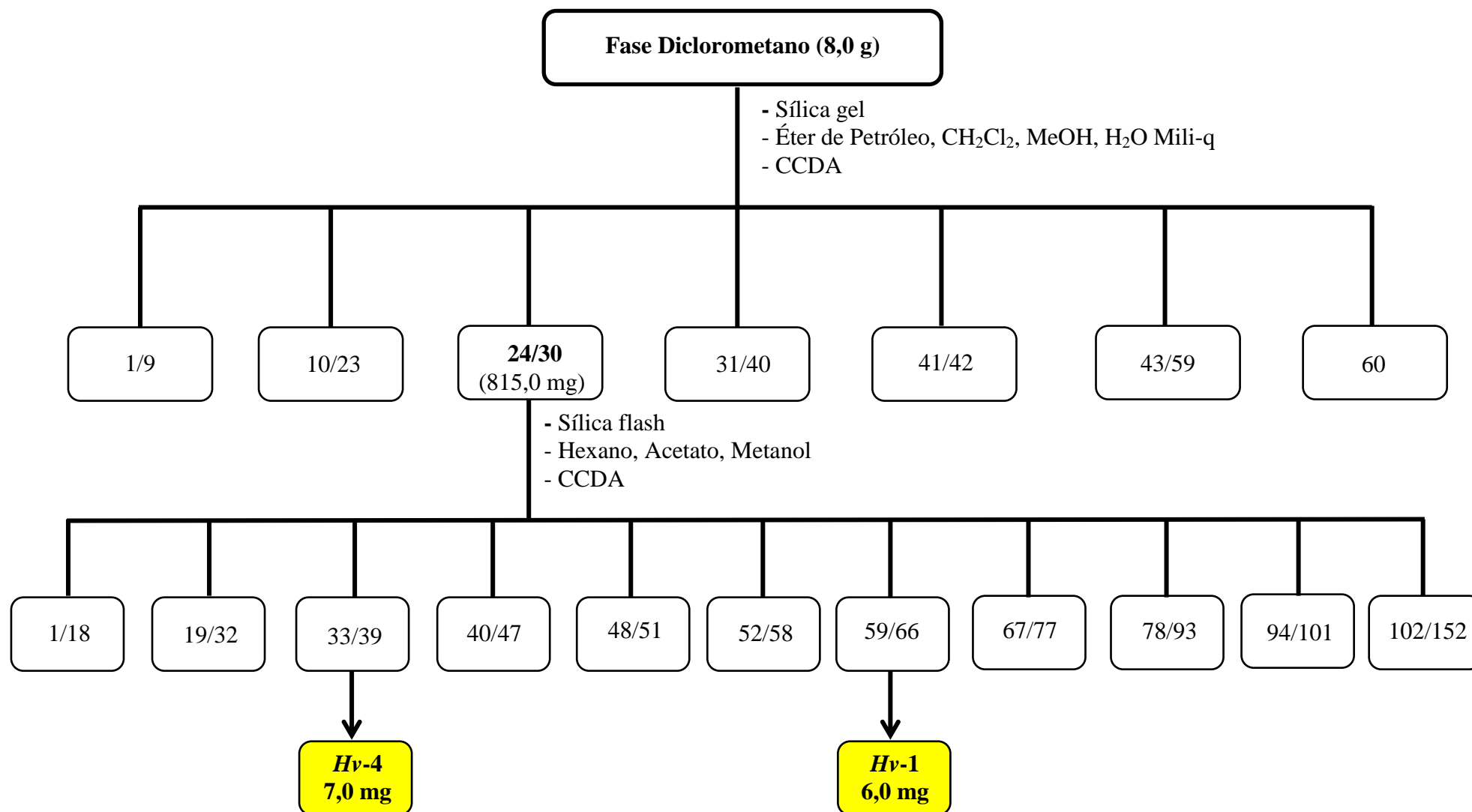
A fração 24/30 (815,0 mg), foi analisada em CCDA e se mostrou promissora, devido observação de manchas isoladas, sendo submetida à processo cromatográfico em sílica flash, cujo sistema de eluição foi hexano, acetato de etila e metanol. Este fracionamento resultou em 152 frações de 15 mL cada, que foram concentradas em rotaevaporador, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seu perfil cromatográfico em 11 sub-frações (Esquema 4, pág. 59; Quadro 7, pág. 62). A sub-fração 33/39 (7,0 mg), apresentou-se em forma de cristal branco, enquanto a sub-fração 59/66 (6,0 mg) apresentou a forma de um pó amarelo-escuro, consideradas puras quando analisadas por CCDA em vários sistemas de solventes, passando a serem identificadas como *Hv-4* e *Hv-1*, respectivamente (Esquema 4, pág. 59).

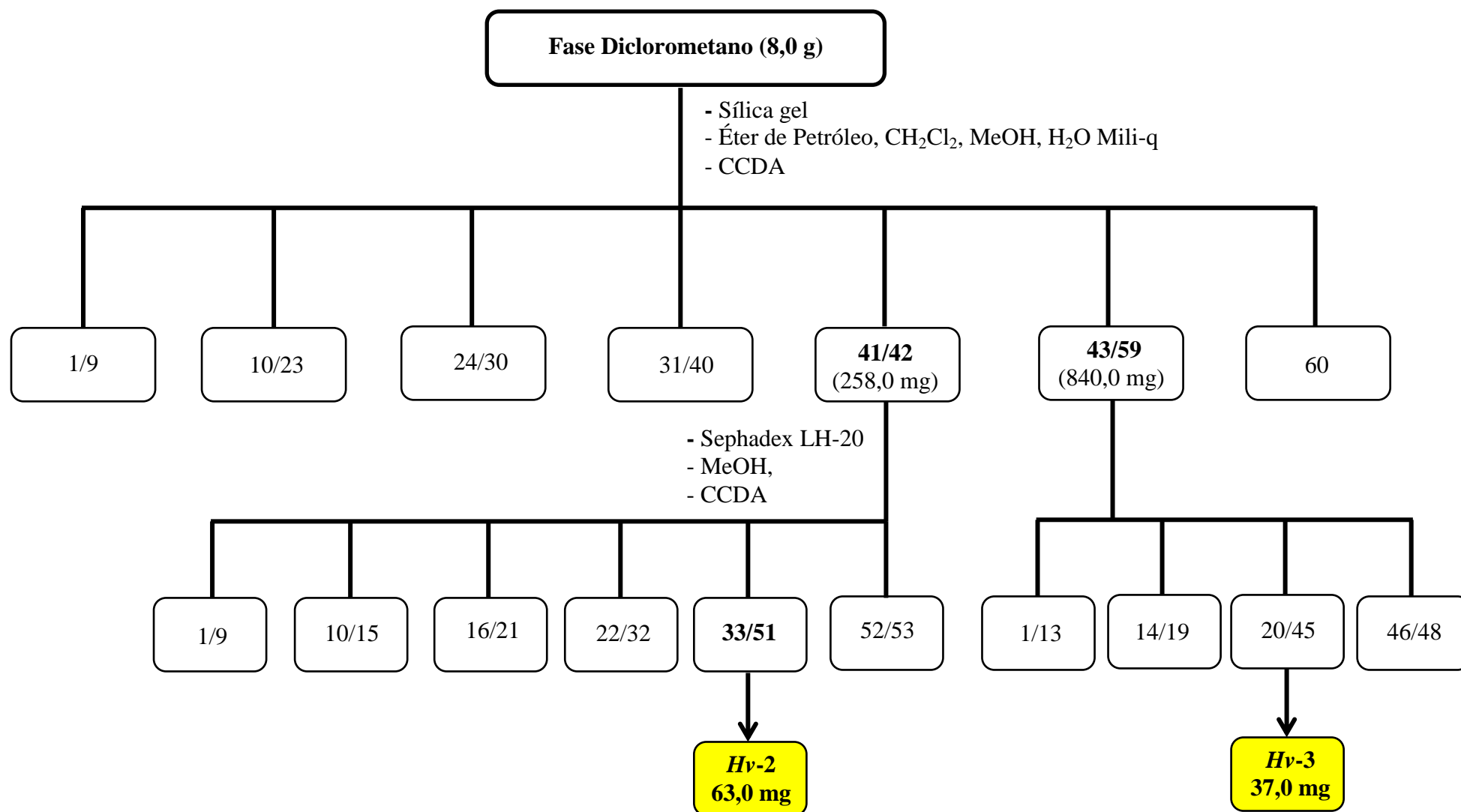
A fração 41/42 (258,0 mg), (Esquema 5, pág. 60) foi aplicada em coluna cromatográfica usando como fase estacionária Sephadex LH-20 e como fase móvel o metanol. A sub-fração 33/51, obtida deste processo cromatográfico, forneceu 63,0mg de um pó amarelo, que foi codificada como **Hv-2** (Esquema 5, pág. 60).

A fração 43/59 (840,0 mg), oriunda do fracionamento cromatográfico da fase diclorometano, foi submetida a cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 e eluída com metanol e MeOH:CHCl<sub>3</sub>(1:1) (Esquema 5, pág. 60), obtendo-se 48 frações de 20mL cada, que foram reunidas em 4 grupos de acordo com suas semelhanças de eluição na CCDA. O grupo 20/45 (27,0 mg), em forma de pó amarelo, foi definida como pura, após eluição em vários sistemas de solvente e codificada com **Hv-3** (Esquema 5, pág. 60).

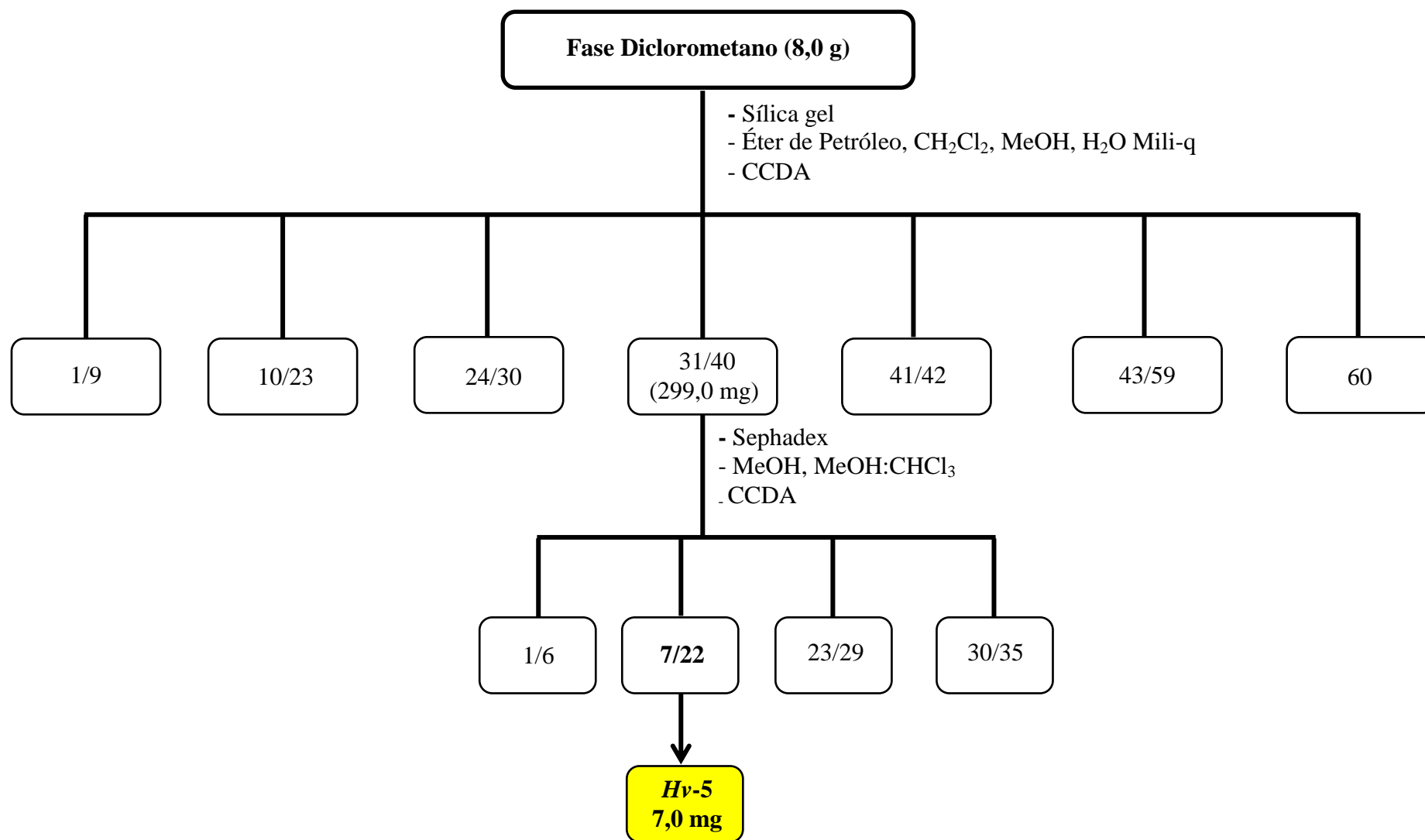
A fração 31/40 (299,0 mg) da fase diclorometano foi submetida a uma cromatografia em coluna adotando a metodologia utilizada no processo cromatográfico usado para a fração 43/59 e resultou em 35 sub-frações, que foram analisadas e reunidas de acordo com seus perfis cromatográficos, observados em CCDA. A sub-fração nomeada 7/22 (7,0 mg) mostrou-se na forma de cristais brancos, foi considerada pura e codificada como **Hv-5** (Esquema 6, pág. 61).

As substâncias foram enumeradas com base na classe de metabólitos nas quais se encaichavam e com base na complexidade estrutural, sendo descritos inicialmente os flavonoides, seguido do triterpeno e esteroide.

**Esquema 4.** Fracionamento cromatográfico da fração 24/30 da fase Diclorometano do EEB das partes aéreas de *H. velutina*

**Esquema 5.** Fracionamento cromatográfico das frações 41/42 e 43/59 da fase Diclorometano do EEB das partes aéreas de *H. velutina*

**Esquema 6.** Fracionamento cromatográfico da fração 31/40 da fase Diclorometano do EEB das partes aéreas de *H. velutina*



**Quadro 6.** Frações obtidas e reunidas após fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de *Helicteres velutina* (Esquema 4, pág. 59)

ELUENTE	FRAÇÕES OBTIDAS
Éter de petróleo	1 – 4
Éter de petróleo : CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	5 – 20
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	21 – 24
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH	25 – 59
H <sub>2</sub> O Mili-q	60

FRAÇÕES REUNIDAS	
1 – 9	31 – 40
10 – 23	41 – 42
24 – 30	43 – 59
60	

**Quadro 7.** Eluentes utilizados no fracionamento da fração 24/30 da fase diclorometano de *Helicteres velutina* (Esquema 4, pág. 59)

ELUENTE	FRAÇÕES OBTIDAS
Hexano	1 – 4
Hexano : AcOEt	5 – 140
AcOEt	141 – 144
AcOEt : MeOH	145 – 152

FRAÇÕES REUNIDAS	
1 – 18	52 – 58
19 – 32	59 – 66
33 – 39	67 – 77
40 – 47	78 – 93
48 – 51	94 – 101
102 – 152	

#### 4.6. Bioensaios

A análise exploratória das atividades em estudo foi realizada nas dependências do Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores (LAPAVET), com parceria e coordenação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fabíola da Cruz Nunes, no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

##### 4.6.1. Obtenção e manutenção das larvas de *Aedes aegypti*

As larvas de *Aedes aegypti* da linhagem Rockefeller João Pessoa, foram obtidas de uma colônia cíclica mantida a mais de cinco anos no LAPAVET.

As populações da cepa Rockefeller, são caracterizadas como uma linhagem padrão de mosquito, susceptível á classe de inseticidas químicos derivados de produtos naturais. Estes

são utilizados como referência em estudos de monitoramento de resistência comparados com os mosquitos existentes nas cidades brasileiras (FRANÇA, 2015).

Papeis filtros contendo ovos de *Ae. aegypti* foram imersos em uma bandeja plástica, de formato retangular, com cerca de um litro de água da torneira, a qual acrescentou-se 0,5 g de ração para cachorro triturada à água para auxiliar no crescimento das larvas. Após a eclosão, as larvas foram acompanhadas até que atingissem o quarto estágio de desenvolvimento (L4), São necessários de quatro a cinco dias para que as larvas atinjam o tamanho ideal para os ensaios, optou-se por trabalhar com larvas L4 pela maior facilidade de visualização e por serem mais resistentes em relação aos estágios mais imaturos de vida do mosquito (PEREIRA et al., 2014).

As larvas foram mantidas em condições climáticas padronizadas, em uma sala com temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $80 \pm 10 \%$  e fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro (WHO, 2013; RODRIGUEZ et al., 2015). A utilização de condições normalizadas de manutenção do ciclo de vida do mosquito para ensaios laboratoriais é essencial para garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos dados (WHO, 2013).

#### 4.6.2. Ensaio da atividade larvicida do extrato etanólico bruto

A atividade larvicida do EEB de *H. velutina* foi testada em larvas do mosquito *Ae. aegypti*, de acordo com a metodologia descrita pela WHO (1970).

Vinte larvas saudáveis (L4) de *Ae. aegypti*, foram contadas e transferidas com auxílio pipeta Pasteur de plástico, para tubos falcon, com capacidade para 50 mL, contendo 10 mL da solução teste nas concentrações 100 ppm (A), 1.000 ppm (B), 2.500 ppm (C), 3.000 ppm (D), 3.500 ppm (E), 5.000 ppm (F), 7.500 ppm (G) e 10.000 ppm (H) (sendo 1 ppm = 0,001mg/mL) (Figura 23, pág. 64). Os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando 60 larvas por concentração.

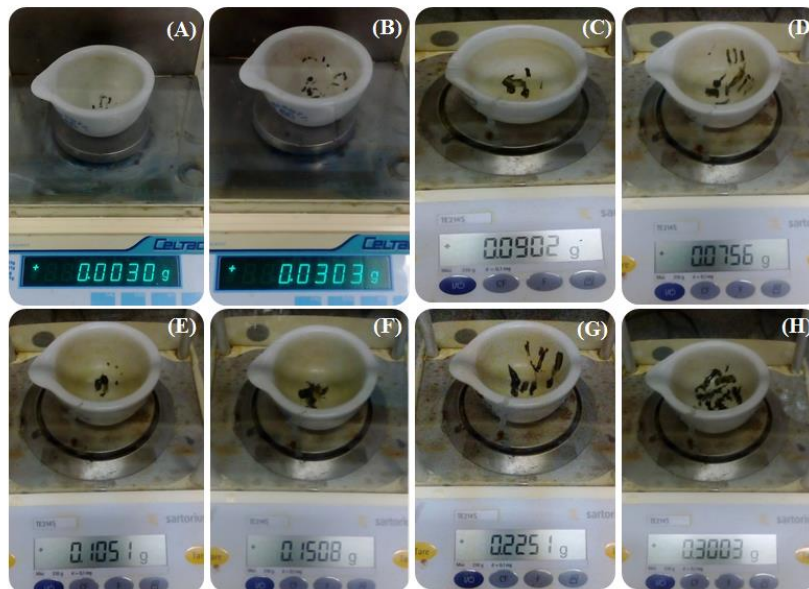
O EEB foi pesado em balança analítica e diluído em 30 mL de água destilada. As larvas foram mantidas a temperatura de  $28^\circ\text{C}$ , com um fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro. O grupo controle negativo foi composto por 20 larvas L4 expostas apenas a água destilada. Se houvesse pupação de mais de 10% no controle ou mortalidade acima de 20% no período de 24 horas, o experimento seria descartado e deveria ser repetido (TRINDADE, 2012). O grupo controle positivo foi composto por 20 larvas L4 expostas a 1 mL de um inseticida comercial, possuindo a seguinte composição: Imiprotrina 0,02%, Permetrina 0,05% e Esbiotrina 0,1% (Figura 24, pág. 64).



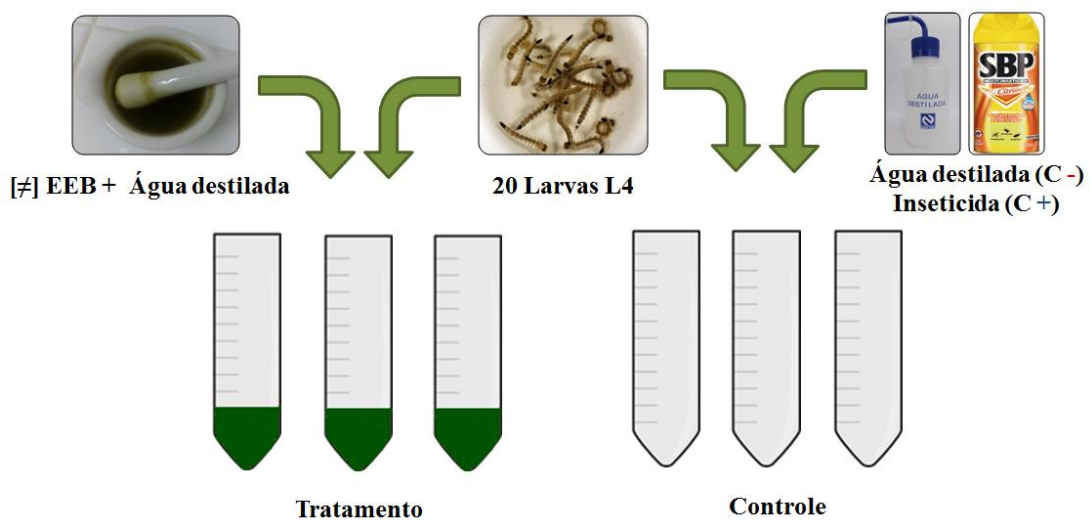
A mortalidade das larvas foi verificada 24 horas após exposição ao extrato, para contagem, as mesmas foram transferidas para placas de petri, sendo consideradas sem vida quando observada ausência total de movimentos e por meio da estimulação mecânica (pipetas Pasteur), ao fim dos experimentos as larvas vivas, foram mortas com solução detergente e descartadas.

A atividade das substâncias testadas foi estabelecida com base na percentagem média de mortalidade das larvas após 24 horas (> 75% [resultado promissor], 50-75% [parcialmente promissor], 25-50% [fracamente promissor], e <25% [inativo]) (SANTOS, 2012).

**Figura 23.** Peso das diferentes concentrações da substância teste para os testes em triplicata



**Figura 24.** Modelo experimental de suscetibilidade ao EEB de *Helictes veutina* sobre larvas de *Aedes aegypti*



#### 4.6.3. Análise estatística

A análise estatística e o cálculo da  $CL_{50}$  foram realizadas usando o programa GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Diferenças significativas entre os grupos foram analisadas por ANOVA e pós-teste de Tukey ( $P < 0.05$ ).

## *5. Resultados e Discussão*

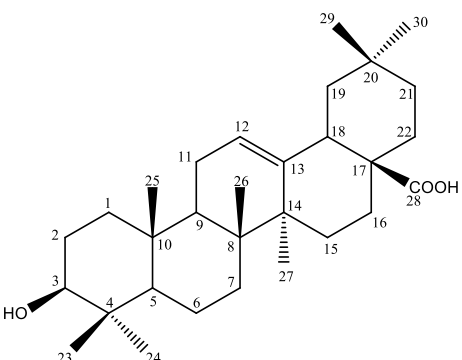
### 5.1. Substâncias isoladas das partes aéreas de *Helicteres velutina* K. Schum

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Helicteres velutina* conduziu ao isolamento de cinco constituintes químicos: 3,5,7,4'- tetrahidroxiflavona (Canferol/*Hv-1*), Canferol-3-*O*- $\beta$ -D-(6''-*E-p*-coumaroil) glicopiranosídeo (Tilirosídeo/*Hv-2*), 7,4'-di-*O*-metil-8-*O*-sulfatoflavona (Isoescutelareína sulfatada/*Hv-3*), Ácido 3 $\beta$ -hidroxi-olean-12-em-28-óico (Ácido oleanólico/*Hv-4*) e o Sitosterol-3-*O*-D-glicopiranosídeo ( $\beta$ -Sitosterol glicosilado/*Hv-5*) (Quadro 8, pág. 67).

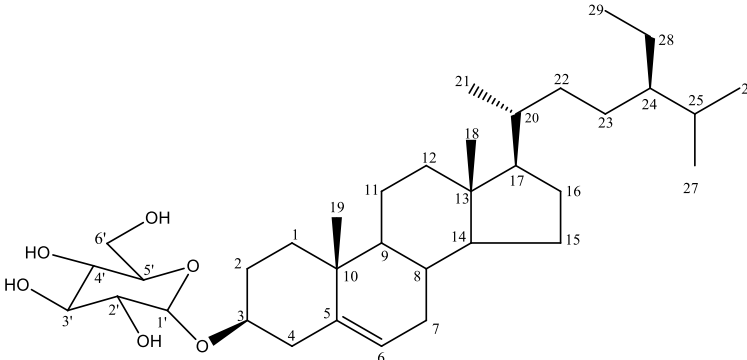
**Quadro 8.** Substâncias isoladas das partes aéreas de *Helicteres velutina* K. Schum

Constituintes químicos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona <b>Canferol (<i>Hv-1</i>)</b>	H	OH	H	OH	OH
Canferol-3- <i>O</i> - $\beta$ -D-(6''- <i>E-p</i> -coumaroil) glicopiranosídeo <b>Tilirosídeo (<i>Hv-2</i>)</b>	H	OH	H	<i>O</i> -glicosil-6''- <i>p</i> -coumaroil	OH
7,4'-di- <i>O</i> -metil-8- <i>O</i> -sulfatoflavona <b>Isoescutelareína sulfatada (<i>Hv-3</i>)</b>	OSO <sub>3</sub> H	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>



**Ácido 3 $\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-óico**  
**Ácido oleanólico (*Hv-4*)**



**Sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo**  
 **$\beta$ -Sitosterol glicosilado (*Hv-5*)**

## 5.2. Caracterização estrutural das substâncias isoladas de *H. velutina* K. Schum

### 5.2.1. Caracterização estrutural de *Hv-1*

A substância codificada como *Hv-1*, apresentou-se na forma de um pó amarelo, com Ponto de Fusão em 275,0 °C a 277,0 °C.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e suas expansões (Figuras 25 a 27, págs. 71 e 72) apresentou absorções para hidrogênios na região de aromáticos entre  $\delta_{\text{H}}$  6,17 e  $\delta_{\text{H}}$  8,09 (GOMES et al., 2011). Com destaque para dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,90 e  $\delta_{\text{H}}$  8,08 (Figura 26, pág. 71) com  $J = 6,9$  Hz e 7,0 Hz, respectivamente, ambos com integral para 2H cada, indicando acoplamento *orto* e condizentes com hidrogênios de um sistema AA'BB' de um núcleo flavonoídico (CHAVES, et al., 2017).

A presença de dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,38 e  $\delta_{\text{H}}$  6,18 (Figura 27, pág. 72) com  $J = 2,0$  Hz, ambos com integral para 1H, referiu-se ao acoplamento *meta* com substituições nas posições 5 e 7 do anel A de um núcleo benzopirano flavonoídico (TELES et al., 2015) (Tabela 1, pág. 70).

A ausência de um singleto na região de  $\delta_{\text{H}}$  6,63 (1H) (Figura, 25, pág. 71), que é atribuído ao hidrogênio na posição 3 do núcleo de uma flavona (GOMES et al., 2011; CHAVES et al., 2013), levou a inferir que esta posição em *Hv-1* estaria substituída (Tabela 1, pág. 70).

A ausência de absorções de hidrogênios de grupos metoxílicos e carbinólicos no espectro de RMN  $^1\text{H}$  de *Hv-1* indicou que os substituintes nos anéis A, B e C tratavam-se de grupos hidroxilas.

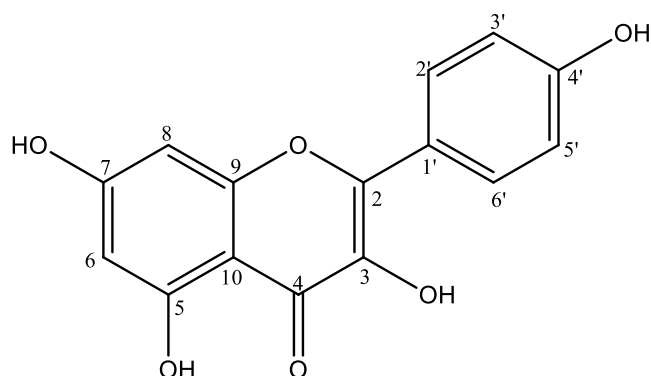
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de *Hv-1*, utilizando a técnica APT (Figura 28, pág. 72) demonstrou cinco sinais equivalentes a sete átomos de carbono que, juntamente com a amplitude dos sinais  $\delta_{\text{C}}$  130,7 e  $\delta_{\text{C}}$  116,3, fortaleceram a proposta de um sistema AA'BB' referentes aos carbonos C-2'/C-6' e C-3'/C-5', respectivamente (CHAVES, 2016).

O espectro de mapa de contorno bidimensional HMBC (Figuras 29 a 31, págs. 73 e 74), foi obtido com o intuito de avaliar a presença dos demais carbonos do núcleo flavonoídico, este por sua vez apresentou a correlações a três ligações ( $^3\text{J}$ ) por meio de mapas de contornos entre: H-2' com C-2, C-4' e C-6' e H-3' com C-1' referentes aos H/C do anel B e C-2 do anel C; As correlações  $^3\text{J}$  dos hidrogênios do anel A do H-8 com os carbonos C-6 e C-10, como também do H-6 com os C-8 e C-10. Estes espectros evidenciaram ainda as

correlações a duas ligações ( $^2J$ ) entre o H-6 com C-5 e do H-8 com C-7 e C-9 do anel A e anel C. Estas correlações confirmam que *Hv*-1 possui o núcleo de um flavonol (Tabela 1, pág. 70).

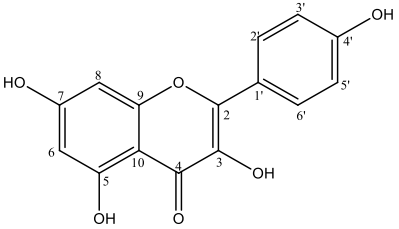
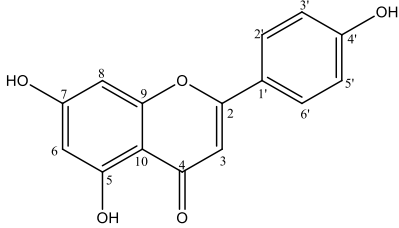
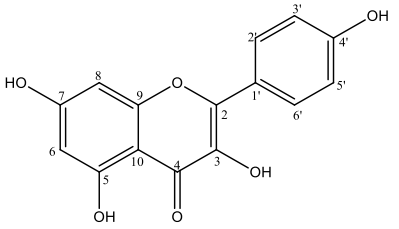
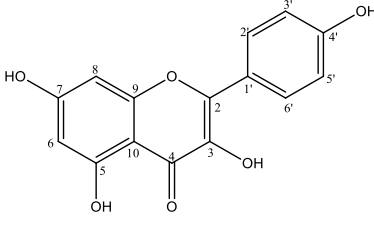
Não foi possível observar nos espectros os sinais dos carbonos nas posições 3 e 4, ligados a uma hidroxila e carbonila, respectivamente, o que pode ter ocorrido devido a pouca quantidade de amostra ou porque os núcleos não relaxaram por tempo suficiente (PAVIA et al., 2010).

Após comparações dos dados obtidos por RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$  e do HMBC de *Hv*-1 com informações encontradas na literatura (Tabela 1, pág. 70) e com padrões químicos de laboratório, concluiu-se que a substância trata-se do 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona (canferol), substância isolada anteriormente de *Herissantia crispera* (COSTA et al., 2009) e *Sida rhombifolia* (CHAVES et al., 2017), e relatada pela primeira vez no gênero *Helicteres*.

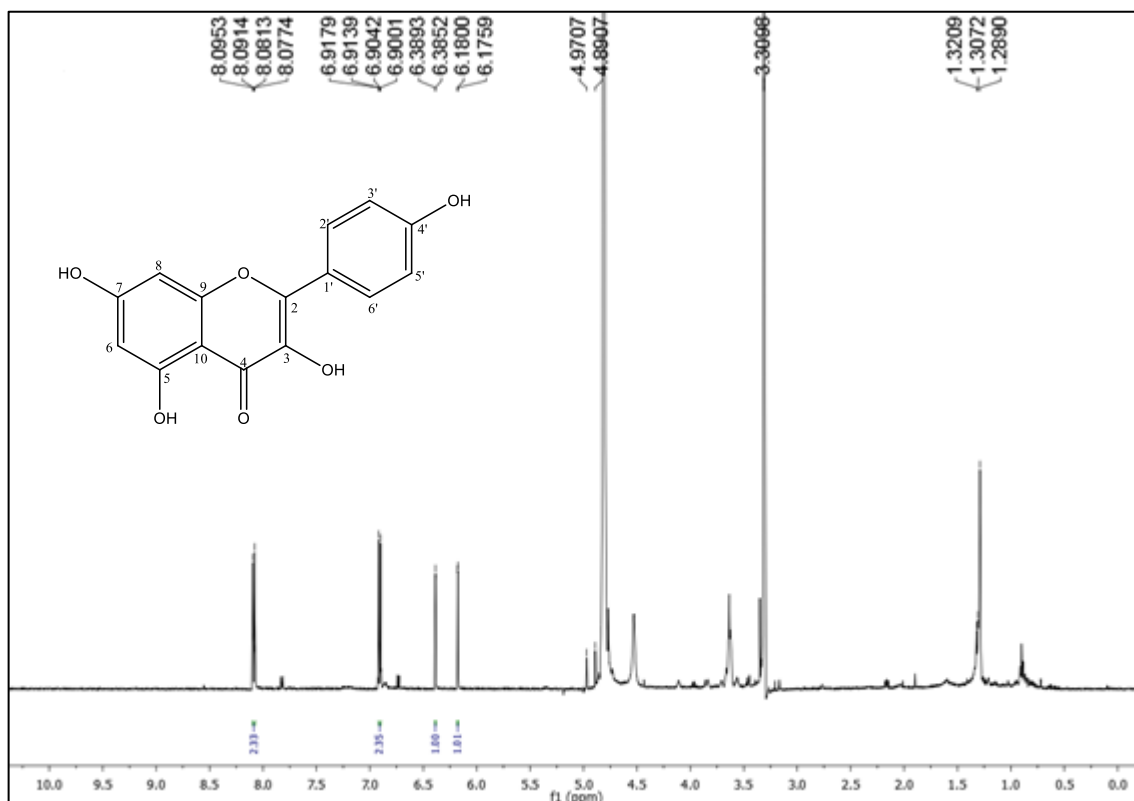


***Hv*-1:** 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona (Canferol)

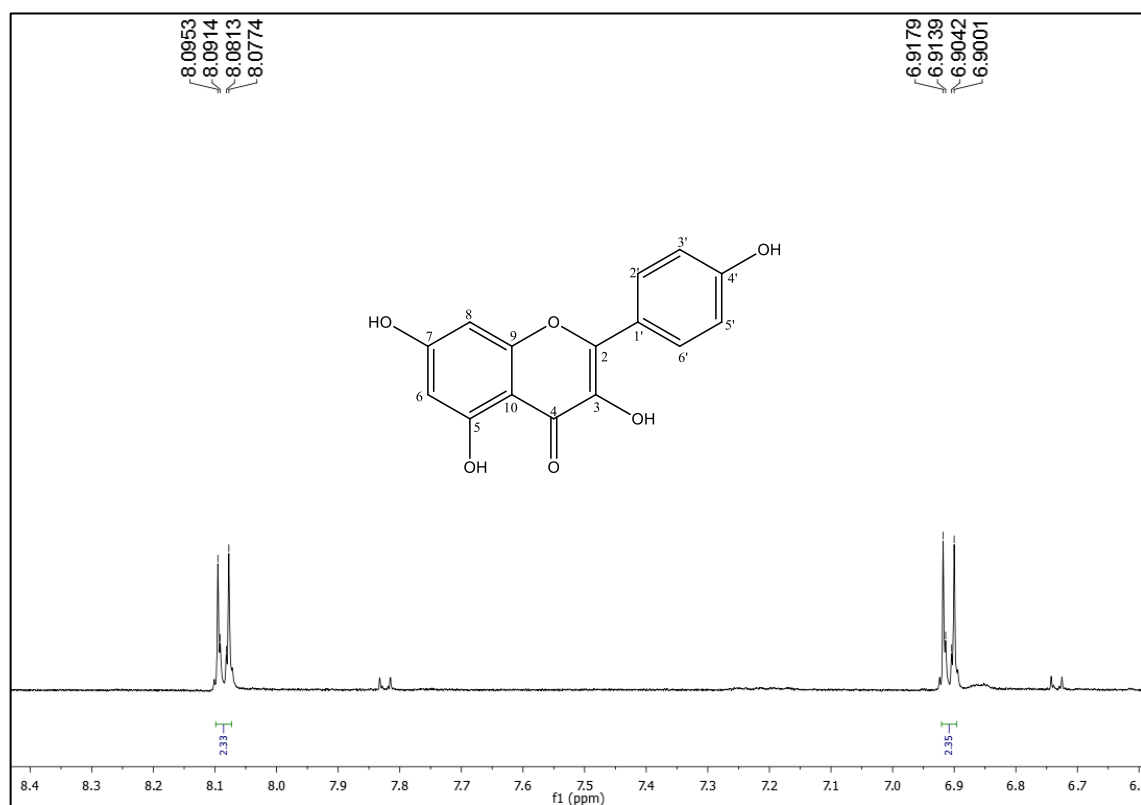
**Tabela 1.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-1* ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 e 125 MHz) (BARRETO et al., 2013) e Mo-2 ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015)

Mo-1 (Canferol)			Mo-2 (Apigenina)		<i>Hv-1</i>		HMBC de <i>Hv-1</i>	
								
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$^2\text{J}$	$^3\text{J}$
2	-	148,2	-	164,3	-	148,0	-	C-6',
3	-	137,3	6,63 (s, 1H)	103,4	-	Ausente	-	-
4	-	177,5	-	182,3	-	Ausente	-	-
5	-	162,7	-	162,1	-	162,6	-	-
6	6,17 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	99,4	6,21 (d, $J=1,75$ Hz, 1H)	99,4	6,18 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	99,3	C-5	C-10
7	-	165,7	-	164,7	-	165,6	-	-
8	6,39 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	94,6	6,46 (d, $J=1,75$ Hz, 1H)	94,5	6,38 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	94,5	C-7, C-9	C-6, C-10
9	-	158,4	-	157,8	-	158,4	-	-
10	-	104,7	-	104,2	-	104,6	-	-
1'	-	123,9	-	121,7	-	123,7	-	-
2'	8,09 (d, $J=9,0$ Hz, 2H)	130,9	7,94 (d, $J=9,0$ Hz, 2H)	129,0	8,08 (d, $J=7,0$ Hz, 2H)	130,7	-	C-2, C-4', C-6'
3'	6,90(d, $J=9,0$ Hz, 2H)	115,7	7,08 (d, $J=9,0$ Hz, 1H)	116,5	6,90(d, $J=6,9$ Hz, 2H)	116,3	-	C-1', C-5'
4'	-	160,7	-	161,7	-	160,5	-	-
5'	6,90(d, $J=9,0$ Hz, 2H)	115,7	7,08 (d, $J=9,0$ Hz, 1H)	116,5	6,90(d, $J=6,9$ Hz, 2H)	116,3	-	C-1', C-3'
6'	8,09 (d, $J=9,0$ Hz, 2H)	130,9	7,94 (d, $J=9,0$ Hz, 2H)	129,0	8,08 (d, $J=7,0$ Hz, 2H)	130,7	-	C-2, C-2', C-4'

**Figura 25.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) de *Hv-1*

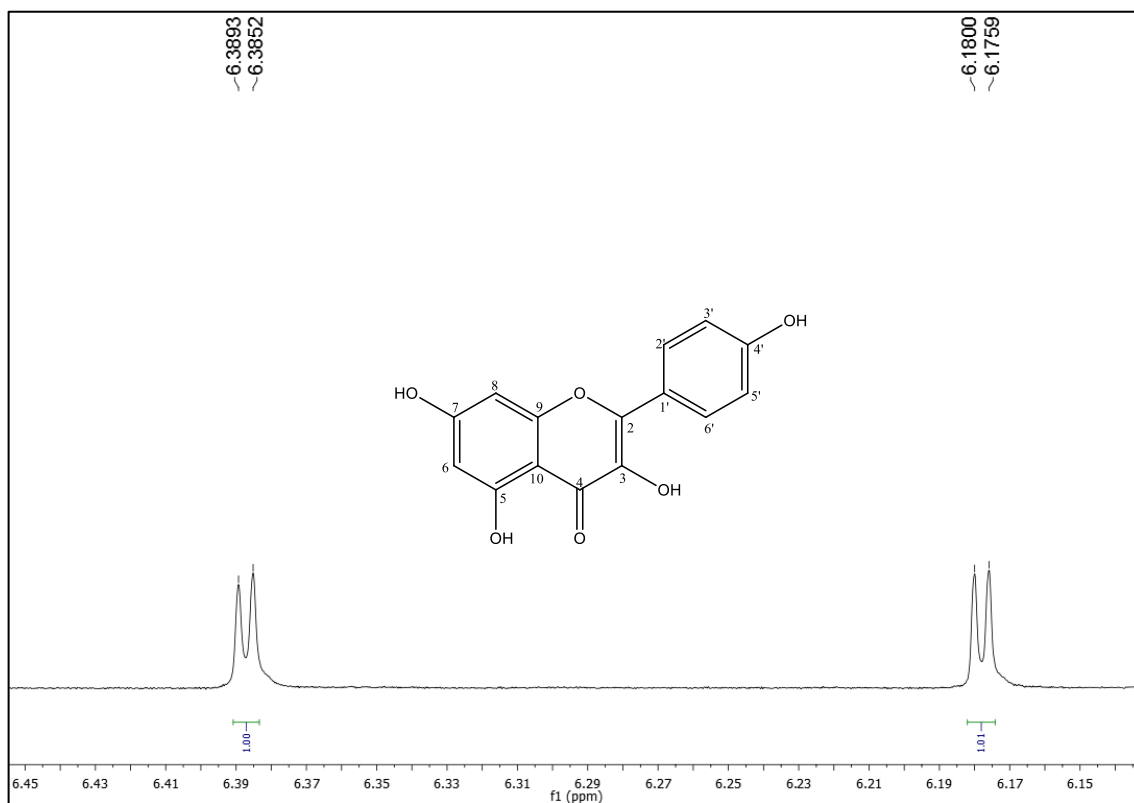


**Figura 26.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) de *Hv-1*

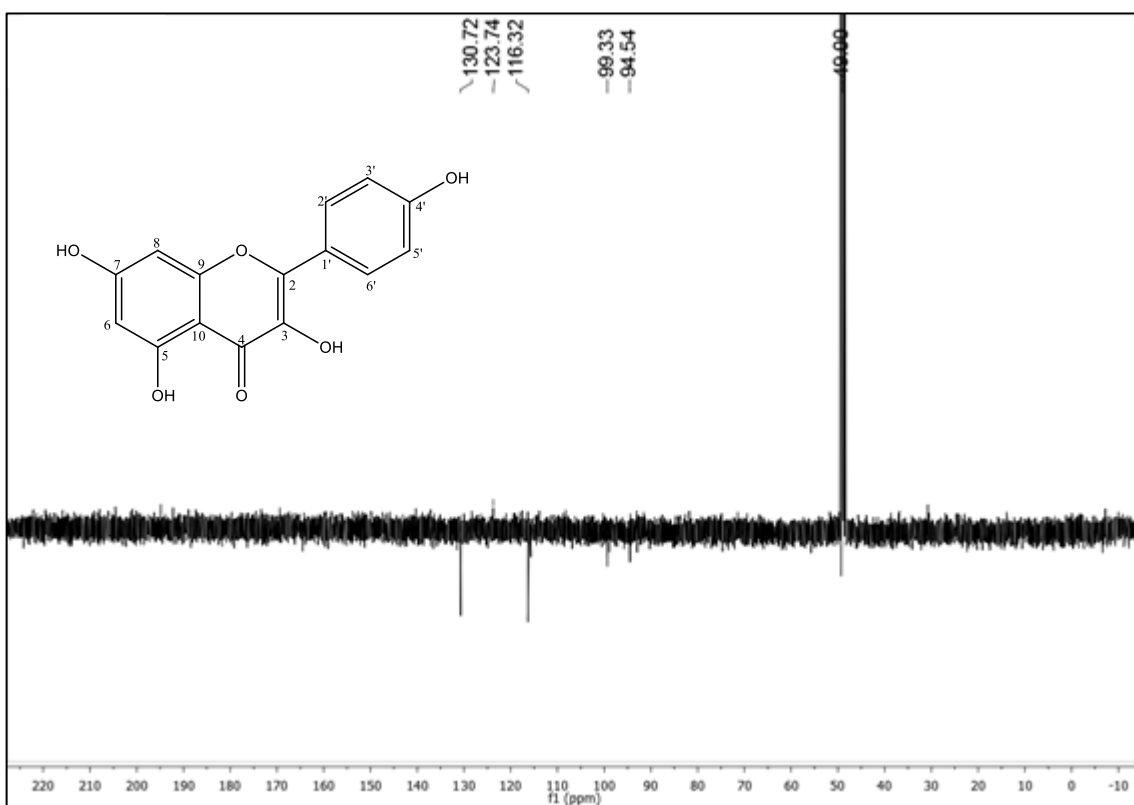




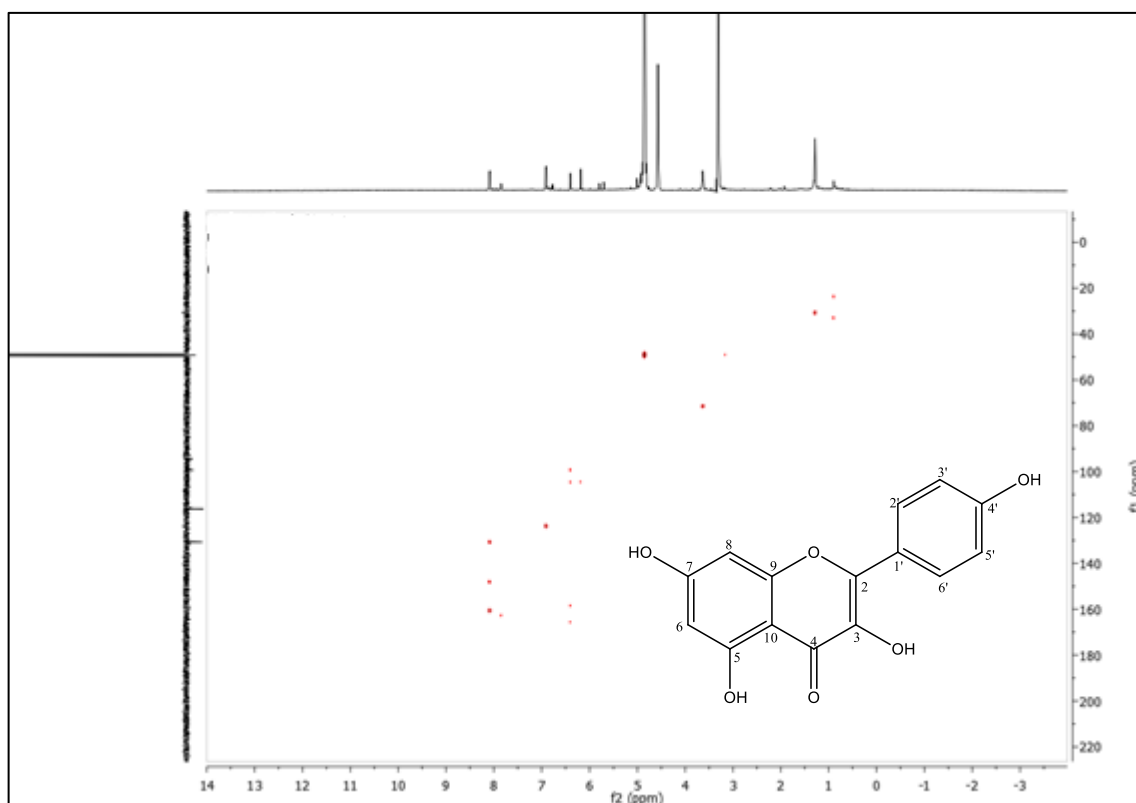
**Figura 27.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) de *Hv-1*



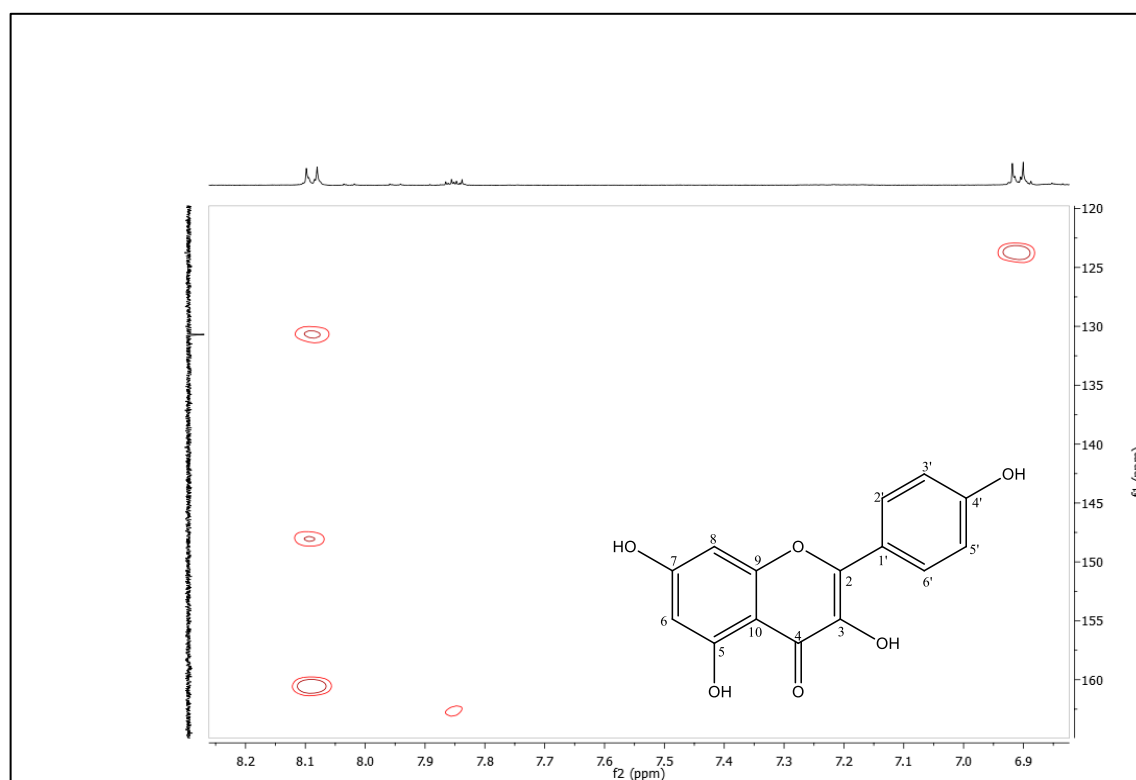
**Figura 28.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) de *Hv-1*



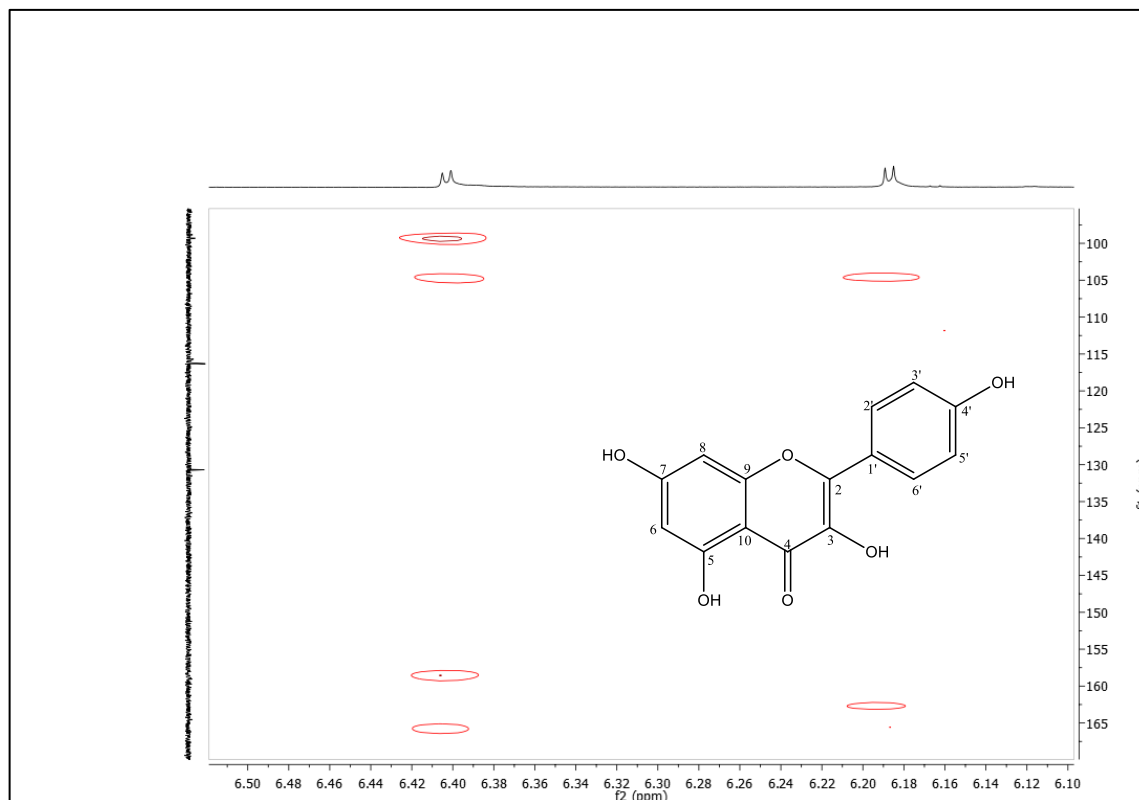
**Figura 29.** Espectro HMBC ( $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz e 125 MHz) de *Hv*-1



**Figura 30.** Primeira expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD, 500 e 125 MHz) de *Hv*-1



**Figura 31.** Segunda expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD, 500 e 125 MHz) de *Hv-1*



### 5.2.2. Caracterização estrutural de *Hv-2*

A substância codificada como *Hv-2* apresentou-se na forma de pó amarelo, tendo ponto de Fusão entre 264,0 °C e 265,0 °C. A análise do seu espectro de <sup>1</sup>H (Figuras 32 a 35, págs. 79 e 80), realizado em 500 MHz e tendo o DMSO como solvente, apresentou absorções na região de aromáticos entre  $\delta_H$  6,11 a  $\delta_H$  7,98 e absorções na região de açúcar entre  $\delta_H$  3,15 a  $\delta_H$  5,43.

Absorções para dois dubletos em  $\delta_H$  7,97 e  $\delta_H$  6,84 (Figuras 33 e 34, págs. 79 e 80) com  $J = 6,9$  Hz, foram observados no espectro de RMN <sup>1</sup>H, ambos com integral para 2H cada, sugerindo acoplamento *orto* e condizentes com hidrogênios nas posições H-2'/H-6' e H-3'/H-5', respectivamente, de um sistema AA'BB' do anel B de um núcleo flavonoídico como relatado para o composto *Hv-1*.

As análises dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H sugeriram que *Hv-2* possui um esqueleto flavonoídico 5,7-disubstituído ao mostrar dois dubletos em  $\delta_H$  6,12 e  $\delta_H$  6,35, ambos com  $J = 2,0$  Hz e integração para um hidrogênio cada, indicaram acoplamento *meta*, sendo condizentes com hidrogênios nas posições 6 e 8 do anel A (GOMES et al., 2011).

Como em *Hv-1*, não foi observado em *Hv-2* a presença de um singlete na região de  $\delta_H$  6,6 (1H) referente ao hidrogênio na posição 3 do núcleo de uma flavona (GOMES et al., 2011; CHAVES et al., 2013), sugerindo que em *Hv-2* esta posição está substituída.

Uma absorção em  $\delta_H$  12,54 com integral para 1H foi observada no espectro de RMN  $^1H$  (Figura 32, pág. 79), característico de hidroxila quelada na posição 5 do anel A (TELES et al., 2015).

No espectro de RMN  $^1H$  ainda foi possível observar a presença de um dubleto em  $\delta_H$  5,43 com  $J = 7,5$  Hz, referente a um hidrogênio anomérico, sugerindo que *Hv-2* possuiria uma unidade osídica. Esta sugestão foi fortalecida pela presença de dois sinais em  $\delta_H$  4,02 e  $\delta_H$  4,27 (Figura 35, pág. 80), atribuídos aos hidrogênios H-6'' da unidade osídica (TELES et al., 2015), fato que permitiu sugerir que esta trata-se de uma glicose. Todavia esta unidade deve estar ligada a outro grupo uma vez que quando o C-6'' da unidade de glicose possui hidroxila livre, seus hidrogênios absorvem em campo mais alto ( $\delta_H$  3,80-3,30) (COSTA et al., 2007).

Como mencionado acima, a ausência de um singlete em aproximadamente  $\delta_H$  6,6 Hz característico do hidrogênio da posição 3 de flavonas sugere que a unidade osídica pode estar ligada ao núcleo flavonoídico na posição C-3 (TELES et al., 2015).

Um outro sistema AA'BB' foi detectado no espectro de RMN  $^1H$  da substância pela presença de um outro par de dubletos em  $\delta_H$  7,35 com  $J = 8,5$  Hz integrando para 2H e o outro em  $\delta_H$  6,77 com  $J = 6,8$  Hz integrando para 2H (Figuras 33 e 34, págs. 79 e 80). A presença de outro sistema AA'BB' aliada a dois dubletos em  $\delta_H$  6,09 com  $J = 16,0$  Hz e  $\delta_H$  7,31 com  $J = 15,5$  Hz integrando para 1H cada, típicos de hidrogênios olefínicos em configuração *trans*, sugeriram que esta substância também possui em sua estrutura uma unidade *p*-cumaroil.

Estes dados permitiram fortalecer a sugestão de que a unidade cumaroil encontra-se ligada ao oxigênio do CH<sub>2</sub> (C-6'') da glicose (COSTA et al., 2007; TELES et al., 2015).

As análises e comparações com a literatura (TELES et al., 2015) levaram a propor para *Hv-2* a estrutura do tilirosídeo, isolado anteriormente de *Wissadula periplocifolia* e amplamente distribuído em espécies da família Malvaceae (SILVA et al., 2006; COSTA et al., 2007; COSTA et al., 2009; CAVALCANTE et al., 2010; GOMES et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012b; ROLIM, 2015;).

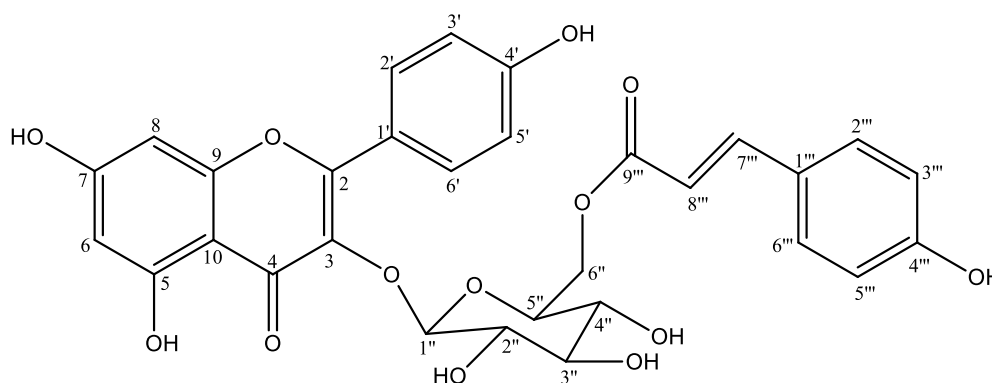
Os espectros de RMN  $^{13}C$  de *Hv-2* (Figuras 36 a 38, pág. 81 a 82) apresentaram 26 sinais equivalentes a 30 átomos de carbono. Comprovou-se a presença de um grupo carbonílico em C-4 ao observar um sinal em  $\delta_C$  177,3, bem como, a presença de substituintes oxigenados nos carbonos C-3 ( $\delta_C$  133,0), C-5 ( $\delta_C$  161,1), C-7 ( $\delta_C$  164,5), C-4' ( $\delta_C$  159,9) e C-4''' ( $\delta_C$  159,7). Comparações realizadas com dados da literatura (Tabela 2, págs. 77 e 78)

(COSTA et al., 2007; TELES et al., 2016), demonstraram semelhança dos valores observados para *Hv-2* com o tilirosídeo.

Os espectros bidimensionais de HMQC (Figuras 39 a 41, págs. 82 e 83) e HMBC (Figuras 42 a 44, págs. 84 e 85) apresentaram mapas de contorno que deram subsídios para confirmação estrutural da molécula proposta.

O espectro de correlação heteronuclear de HMBC apresentou correlação entre H-1''/ C-3 a  $^3J$ , confirmando que a unidade de glicose se encontrava ligado na posição 3 do anel C. A correção entre os H-6''/ C-9''' a  $^3J$  comprovou que a unidade cumaroil encontrava-se ligada na posição 6'' da glicose.

Desta forma, a compilação dos dados dos espectros uni e bidimensionais permitiram ratificar a estrutura de *Hv-2* como sendo o canferol-3-*O*- $\beta$ -D-(6''-*E*-*p*-cumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo) (Tabela 2, págs 77 e 78), substância isolada anteriormente de *Helicteres angustifolia* (CHEN et al., 2006), e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres velutina*.



***Hv-2***: canferol-3-*O*- $\beta$ -D-(6''-*E*-*p*-cumaroil) glicopiranosídeo (Tiliosídeo)

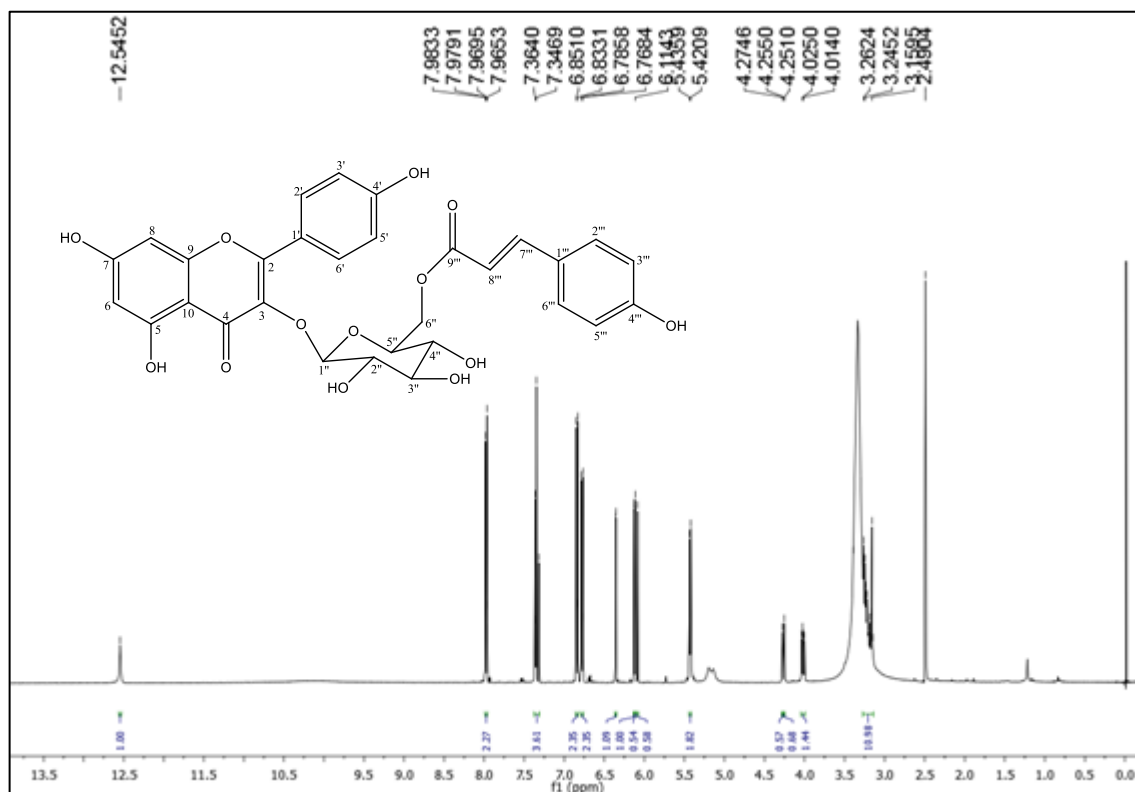
**Tabela 2.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-2* ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz e 125 MHz) com modelos da literatura Mo-1 ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015) e Mo-2 ( $\delta$ , CD $_3$ OD, 200 e 50 MHz) (COSTA et al., 2007)

Mo-1(Tilirosídeo)			Mo-2 (Isoquercetina)		<i>Hv-2</i>	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	156,6	-	159,0	-	156,4
3	-	132,9	-	135,6	-	133,0
4	-	176,7	-	179,4	-	177,3
5	-	161,0	-	163,0	-	161,1
6	6,12 (d, $J=2,0$ Hz; 1H)	99,6	6,21(d, $J= 1,8$ Hz; 1H)	99,8	6,11 (d, $J=2,0$ Hz; 1H)	98,8
7	-	164,1	-	166,0	-	164,5
8	6,35 (d, $J=2,0$ Hz; 1H)	94,1	6,40 (d, $J= 1,8$ Hz; 1H)	94,6	6,35 (d, $J=2,0$ Hz; 1H)	93,7
9	-	155,8	-	158,4	-	156,3
10	-	102,5	-	105,7	-	103,7
1'	-	120,7	-	123,0	-	120,7
2'	7,97 (d, $J= 8,9$ Hz; 2H)	130,1	7,71 (d, $J= 1,8$ Hz; 1H)	117,5	7,97 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	130,1
3'	6,84 (d, $J= 8,9$ Hz; 2H)	115,8	-	145,9	6,84 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	115,7
4'	-	160,0	-	149,8	-	159,9
5'	6,84 (d, $J= 8,9$ Hz; 2H)	115,8	6,86 (d, $J= 8,5$ Hz; 1H)	116,0	6,84 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	115,7

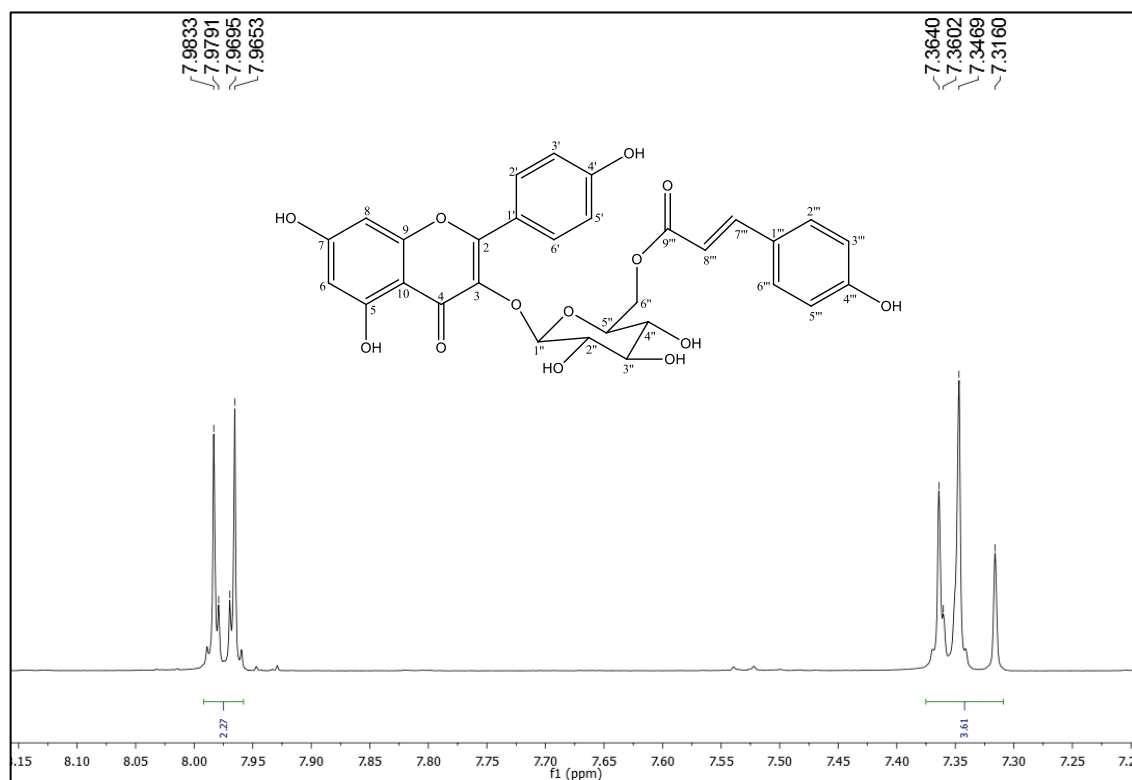
**Tabela 2 (Continuação).** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-2* ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz e 125 MHz) com modelos da literatura Mo-1 ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015) e Mo-2 ( $\delta$ , CD $_3$ OD, 200 e 50 MHz) (COSTA et al., 2007).

Mo-1(Tilirosideo)			Mo-2 (Isoquercetina)		<i>Hv-2</i>	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
6'	7,97 (d, $J= 8,9$ Hz; 2H)	130,1	7,58 (dd, $J= 8,5$ e 1,8 Hz; 2H)	123,1	7,97 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	130,1
1''	5,43 (d, $J=7,5$ Hz; 1H)	101,4	5,24 (d, $J= 7,9$ Hz; 1H)	104,2	5,43 (d, $J=7,5$ Hz; 1H)	101,0
2''	3,35 – 3,19 (m)	74,2	3,29 – 3,80 (m)	75,7	3,26 – 3,14 (m)	74,2
3''	3,35 – 3,19 (m)	76,3	3,29 – 3,80 (m)	78,4	3,26 – 3,14 (m)	76,2
4''	3,16 (m)	69,9	3,29 – 3,80 (m)	71,1	3,16 (m)	69,9
5''	3.25 (m)	74,1	3,29 – 3,80 (m)	78,1	3.26 (m)	74,1
6''	4,27 (dd, $J=2,0$ e 11,8 Hz; 1H) e 4,02 (dd, $J=6,4$ e 11,8 Hz; 1H)	62,9	3,29 – 3,80 (m)	62,5	4,27 (dd, $J=2,0$ e 12,0 Hz; 1H) e 4,02 (dd, $J=6,5$ e 12,0 Hz; 1H)	62,9
1'''	-	124,7	-	-	-	124,9
2''' e 6'''	7,35 (d, $J=8,5$ Hz; 2H)	130,6	-	-	7,35 (d, $J=8,5$ Hz; 2H)	130,7
3''' e 5'''	6,77 (d, $J=8,5$ Hz; 2H)	115,0	-	-	6,77 (d, $J=6,8$ Hz; 2H)	115,0
4'''	-	159,9	-	-	-	159,7
7'''	7,33 (d, $J=16,0$ Hz; 2H)	144,6	-	-	7,33 (d, $J=15,5$ Hz; 1H)	144,5
8'''	6,09 (d, $J=16,0$ Hz; 2H)	113,5	-	-	6,09 (d, $J=16,0$ Hz; 1H)	113,6
9'''	-	166,2	-	-	-	166,1
OH-5	12,55 (s)	-	-	-	12,54 (s)	-

**Figura 32.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de *Hv-2*

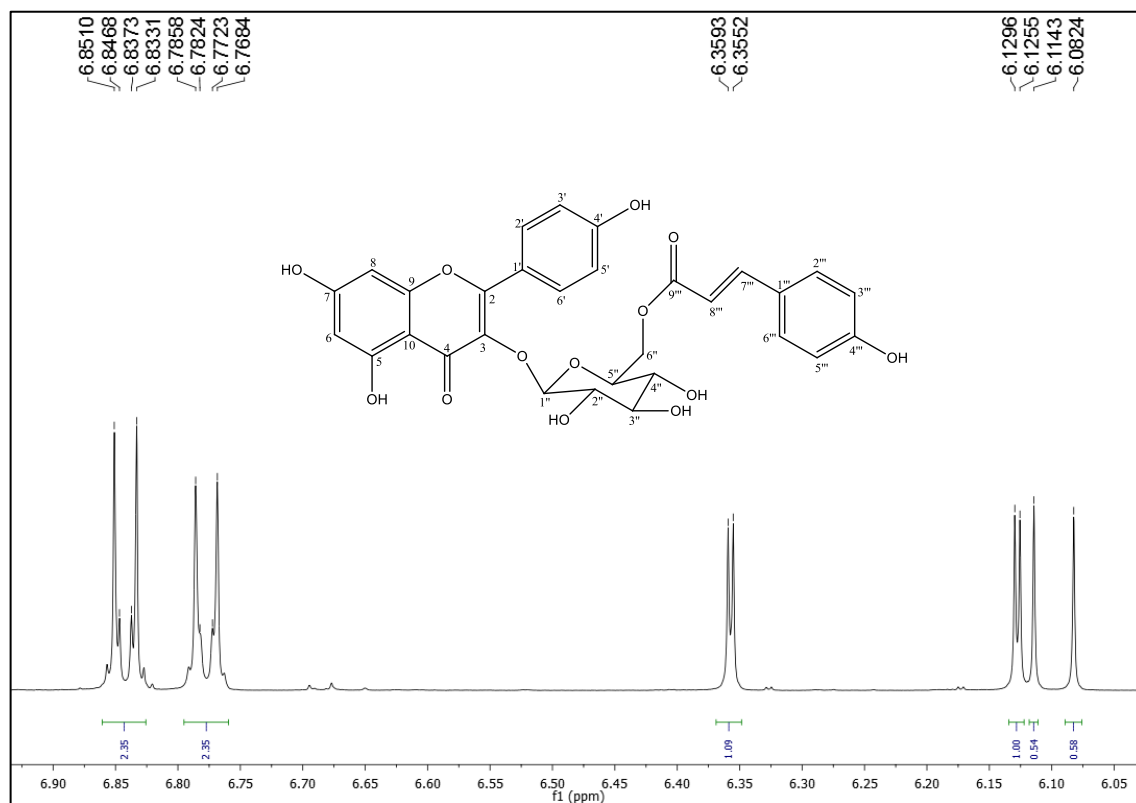


**Figura 33.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de *Hv-2*

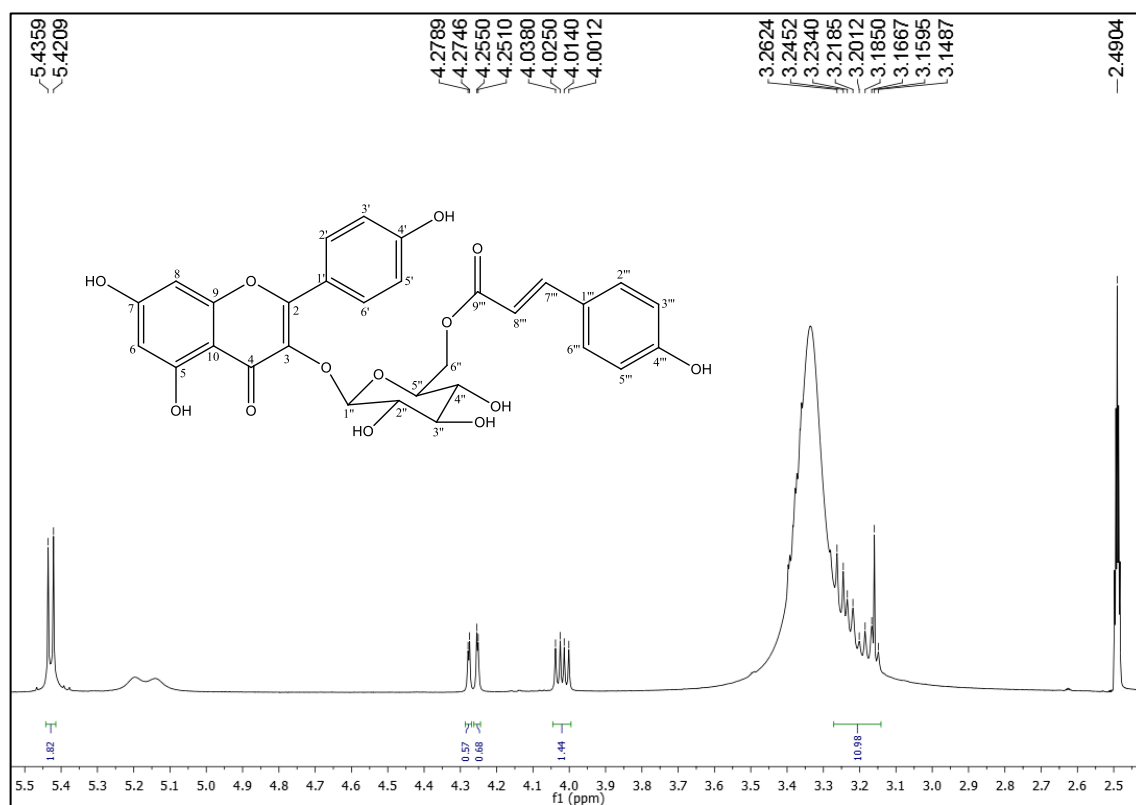




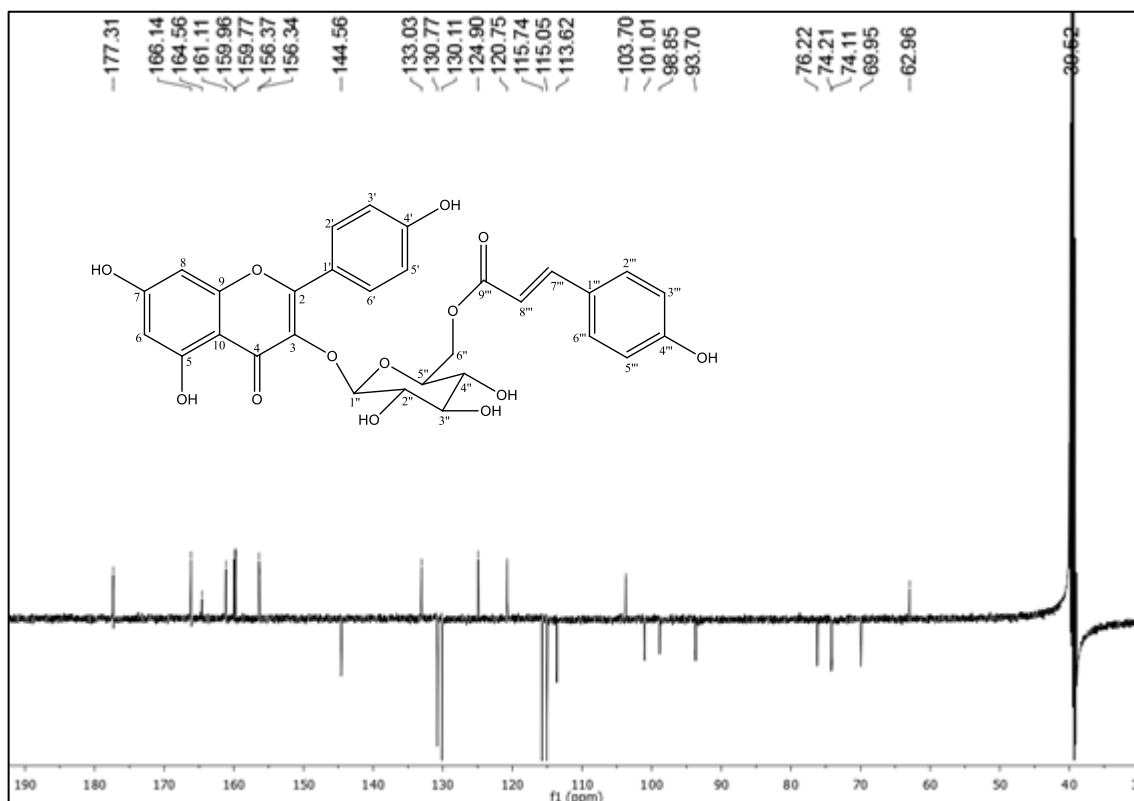
**Figura 34.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de *Hv-2*



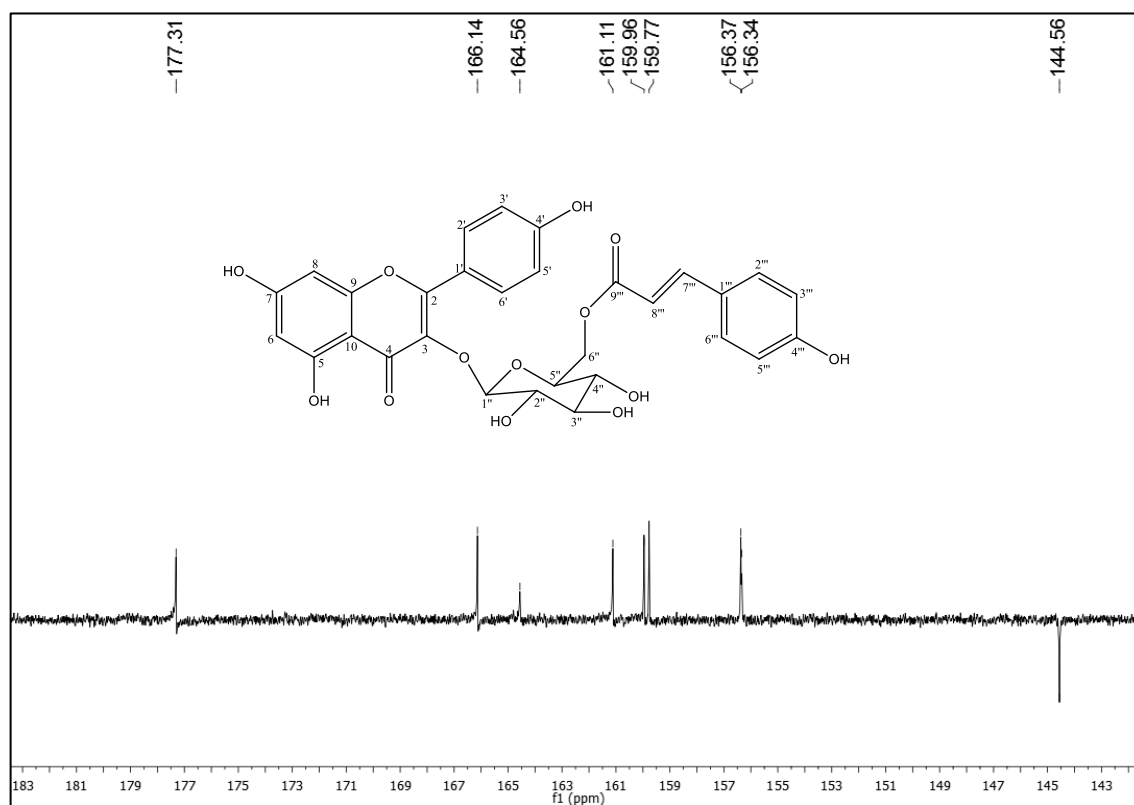
**Figura 35.** Terceira expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de *Hv-2*



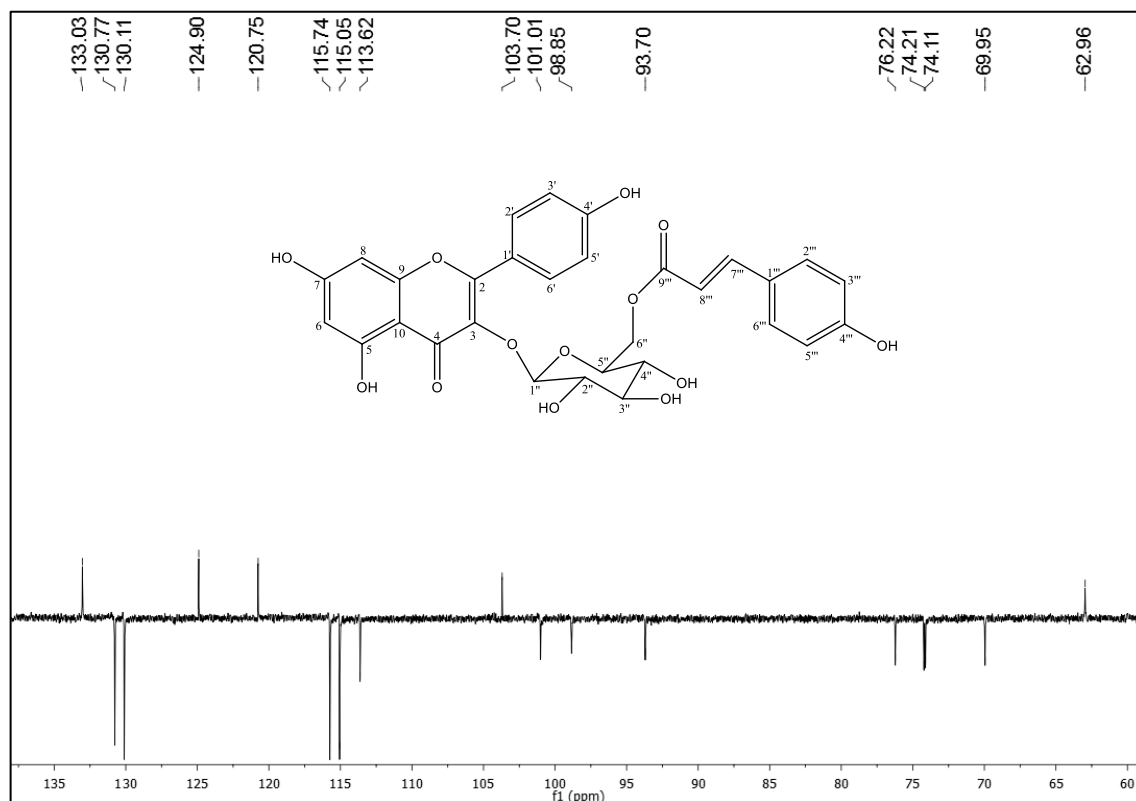
**Figura 36.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de *Hv-2*



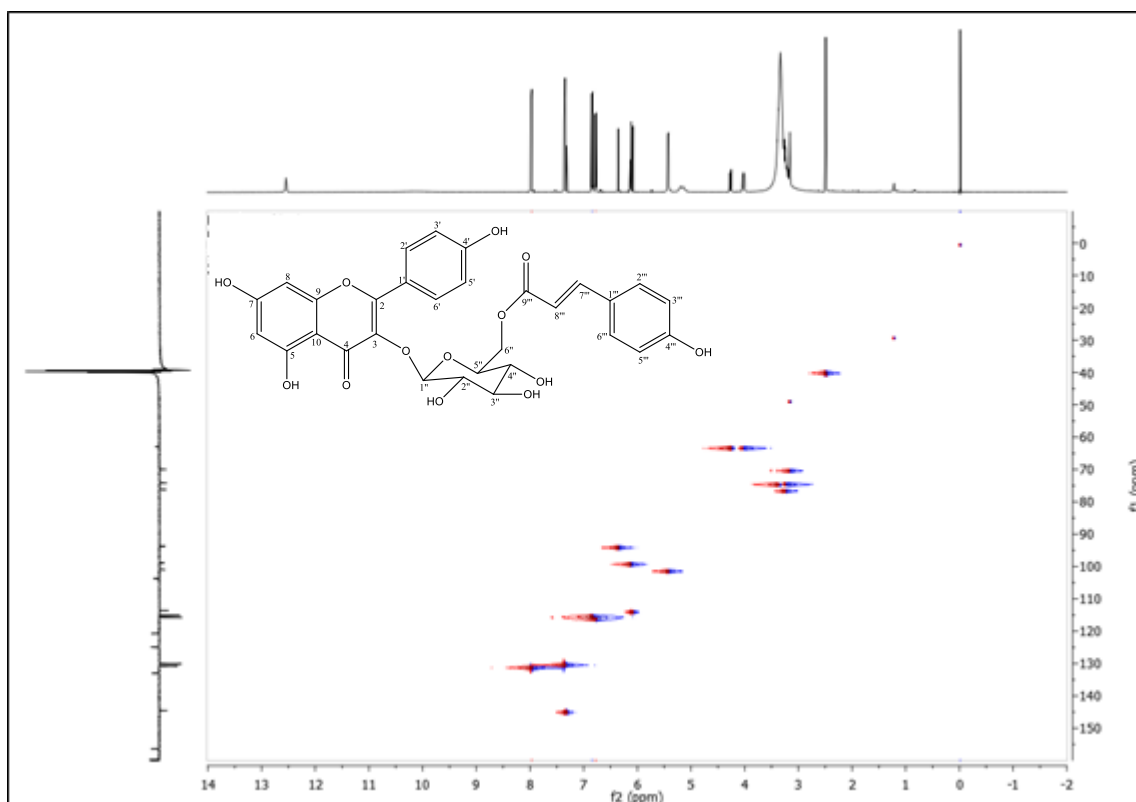
**Figura 37.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de *Hv-2*

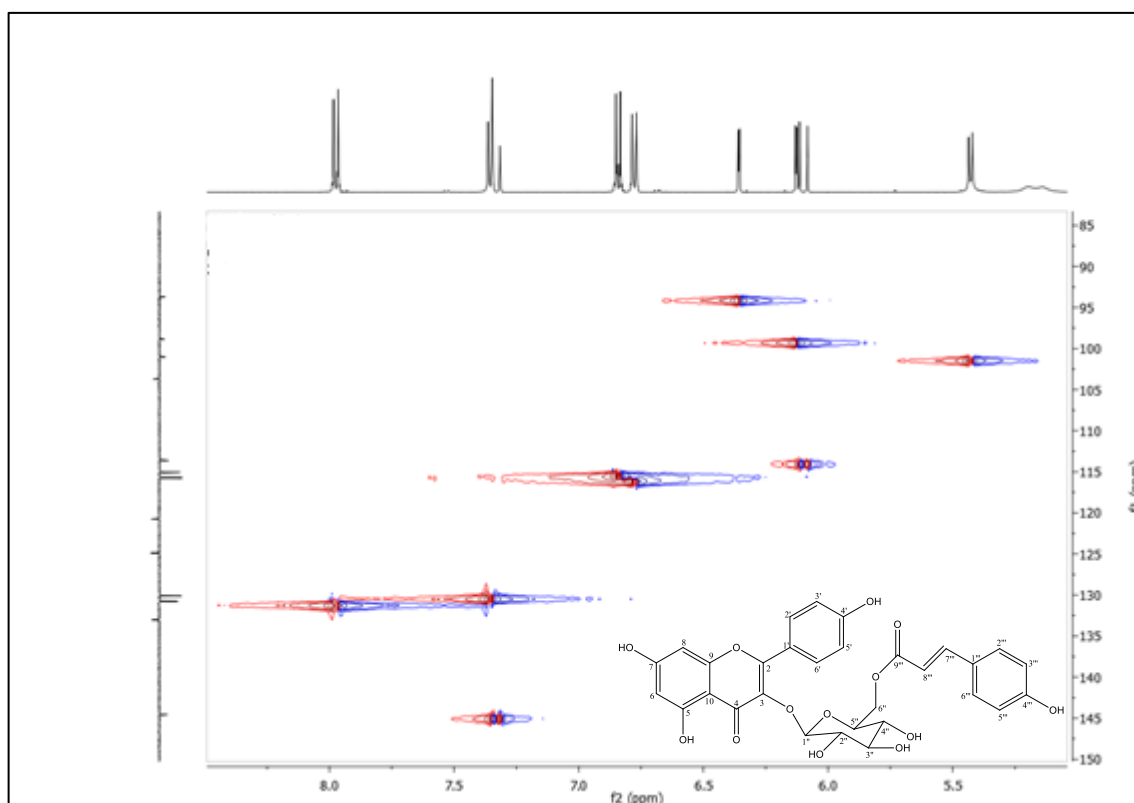
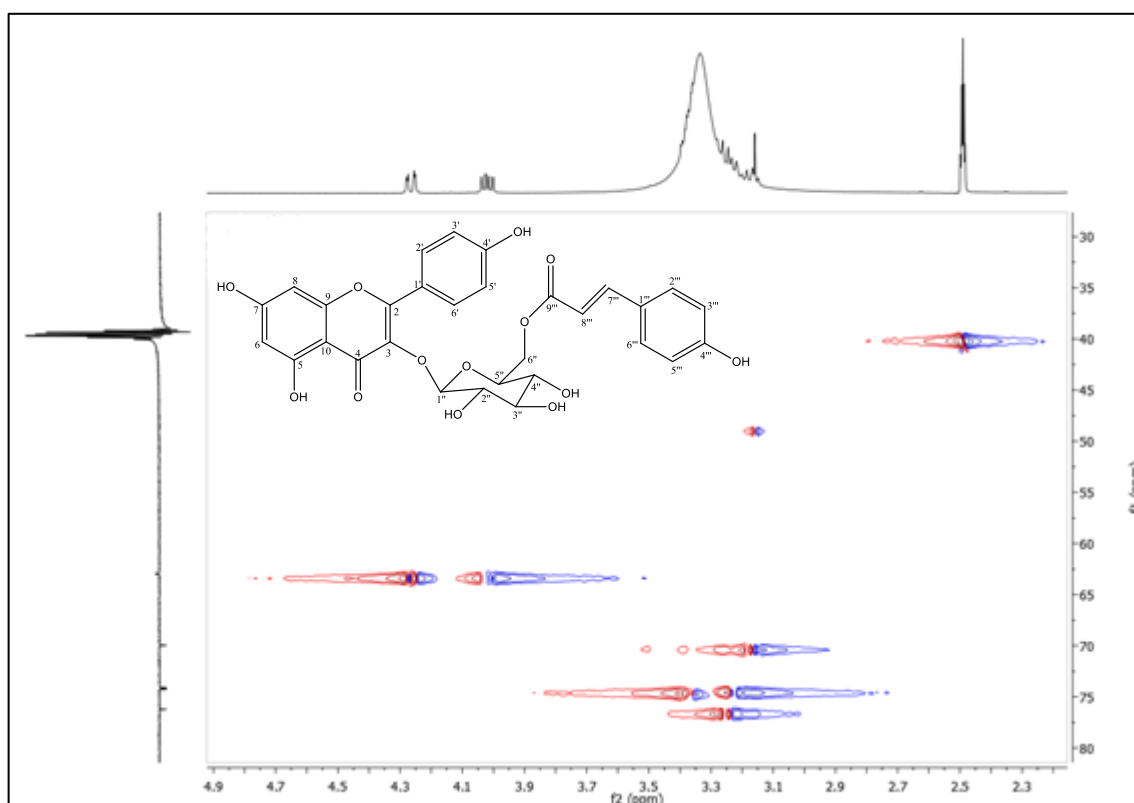


**Figura 38.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de *Hv-2*

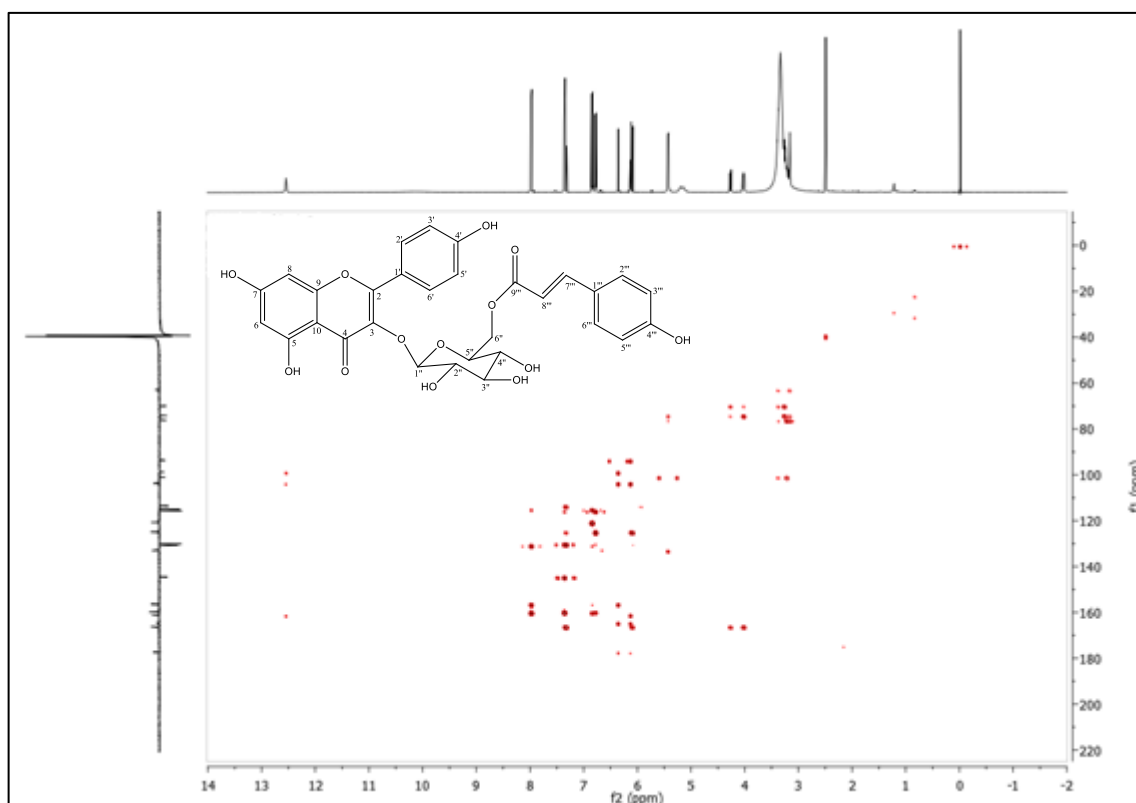


**Figura 39.** Espectro HMQC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 e 125 MHz) de *Hv-2*

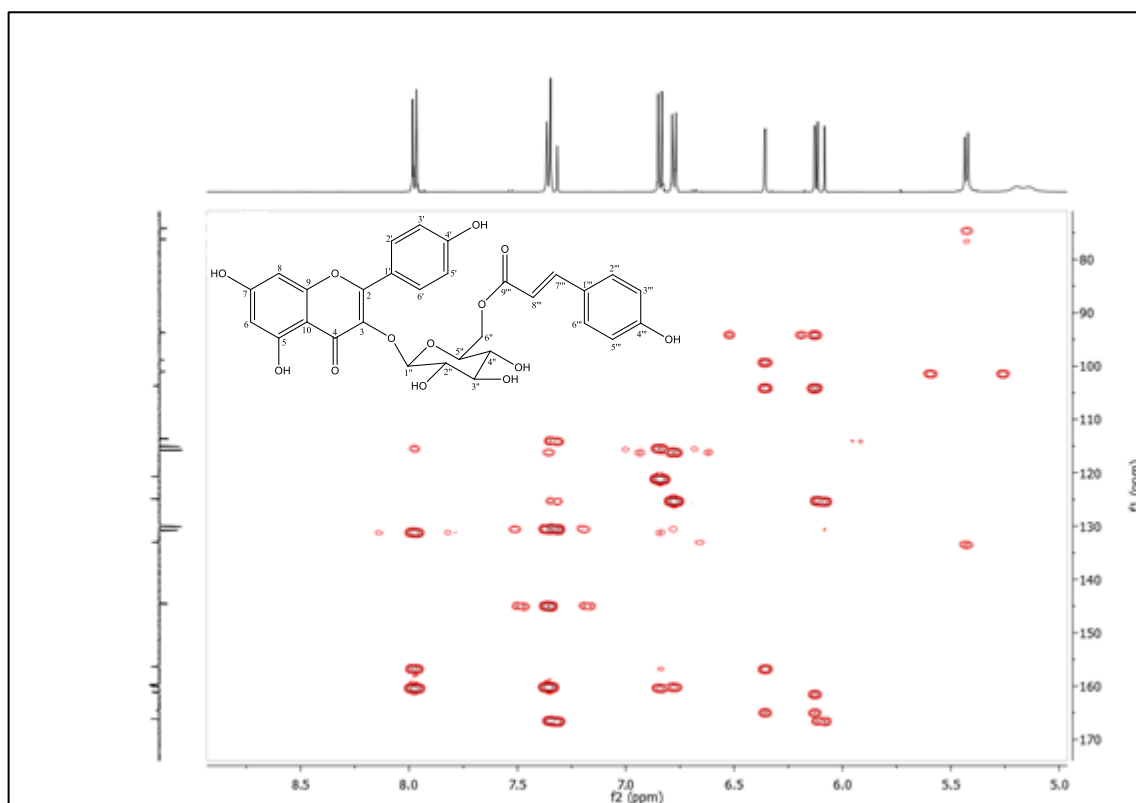


**Figura 40.** Primeira expansão do espectro HMQC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 e 125 MHz) de *Hv-2***Figura 41.** Segunda expansão do espectro HMQC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 e 125 MHz) de *Hv-2*

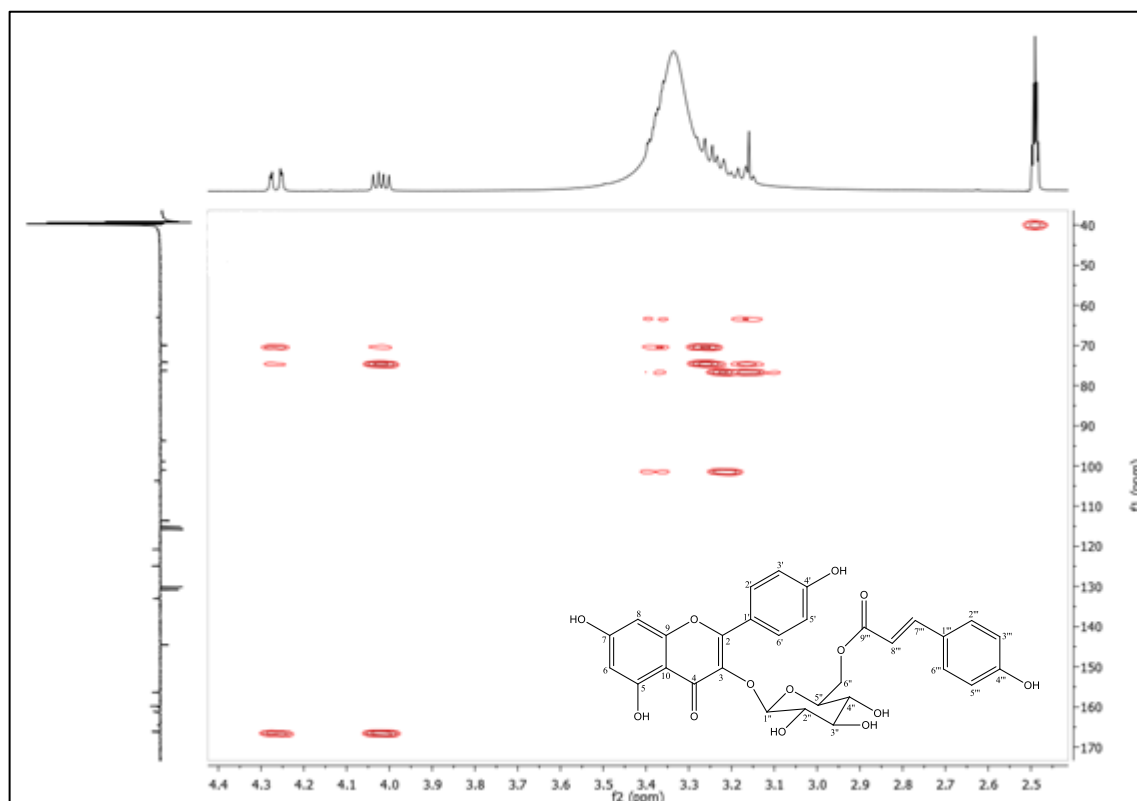
**Figura 42.** Espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 e 125 MHz) de *Hv-2*



**Figura 43.** Primeira expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 e 125 MHz) de *Hv-2*



**Figura 44.** Segunda expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 e 125 MHz) de *Hv-2*



### 5.2.3. Caracterização estrutural de *Hv-3*

Assim como os demais flavonoides até então relatados neste trabalho, a substância *Hv-3* se apresentou na forma de um pó amarelo, com um Ponto de Fusão de 280,3 °C e 280,8 °C.

O espectro de infravermelho (Figura 45, pág. 91) registrou bandas em  $3442\text{ cm}^{-1}$  típicas de deformação axial de hidroxila e na região de  $2848\text{ cm}^{-1}$  característico de ligação C-H (metínico, metilênicos e metílicos) o que nos levou a sugerir a existência de metoxila na molécula (TELES et al., 2015). Ainda foi possível observar absorções atribuídas a compostos aromáticos em  $1660\text{ cm}^{-1}$  (C=O) e  $1575\text{ cm}^{-1}$  (C=C). Diversas absorções nos chamaram atenção pela sua localização e intensidade, um estiramento assimétrico em  $1373\text{ cm}^{-1}$  e um estiramento simétrico em  $1186\text{ cm}^{-1}$  sugeriram a presença de um grupo S=O e estes juntamente com absorções na região de  $1054$  a  $762\text{ cm}^{-1}$  atribuídas a uma ligação S-O, nos levaram a propor a existência de um grupo sulfato na estrutura (PAVIA et al., 2010).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  e suas expansões (Figuras 46 a 48, págs. 92 e 93), obtido em 300 MHz e utilizando o DMSO como solvente, evidenciou, assim como em *Hv-1* e *Hv-2*, absorções na região de hidrogênios aromáticos entre  $\delta_{\text{H}}$  6,52 a  $\delta_{\text{H}}$  8,29. A presença de dois

dubletos com integração para dois hidrogênios cada em  $\delta_H$  7,07 e  $\delta_H$  8,27 (Figura 47, pág. 92) ambos com  $J = 8,9$  Hz, indicando acoplamento *orto* e condizentes com hidrogênios nas posições H-3'/H-5' e H-2'/H-6', respectivamente, do anel B de um núcleo flavonoídico com um sistema AA'BB' (GOMES et al., 2011).

A presença de um singlete em  $\delta_H$  6,86 (Figura 47, pág. 92) indicou que a posição C-3 do anel C não possui substituinte, permitindo propor que a substância em análise possui núcleo flavona (CHAVES et al., 2013).

Uma absorção em  $\delta_H$  12,85 (Figura 46, pág. 92) com integral para 1H observada neste espectro de RMN  $^1H$ , caracteriza a presença de uma hidroxila no C-5 que se encontra em ponte com a C=O no C-4 do anel C, este dado fortalece a proposta que *Hv-3* trata-se de uma flavona (TELES et al., 2015).

O singlete em  $\delta_H$  6,52 (Figura 47, pág. 92), atribuído ao H-6 do anel A do núcleo flavonoídico, permitiu sugerir que ele é pentasubstituído. A presença de dois singletos em  $\delta_H$  3,86 e  $\delta_H$  3,85 foram observados e atribuídos a duas metoxilas existentes na molécula (Figura 48, pág. 93) (SILVA et al., 2006).

O espectro de RMN  $^{13}C$  e suas expansões (Figuras 49 a 51, págs. 93 e 94) mostrou sinais para 17 carbonos. O sinal em  $\delta_C$  182,1 (Figura 51, pág. 94) pode ser atribuído a uma carbonila (C=O) de flavona que não possui oxigênio na posição C-3, dado que fortalece a existência do sinal em  $\delta_H$  6,86 atribuído ao H-3.

Os sinais em  $\delta_C$  55,5 e  $\delta_C$  56,4 (Figura 50, Pág. 94) confirmam que a molécula possui dois grupos metoxilas. A intensidade das absorções em  $\delta_C$  129,1 e 114,2 (Figura 51, Pág. 94) são equivalentes aos carbonos das posições 2'/6' e 3'/5' do anel B, respectivamente, fato que ratifica a existência do sistema AA'BB' (GOMES, et al., 2011) (Tabela 3, págs. 88 e 89).

O espectro de correlação direta heteronuclear (HSQC) e suas expansões (Figuras 52 a 54, págs. 95 e 96) mostraram todas as correlações entre hidrogênios e seus respectivos carbonos (Tabela 4, pág. 90).

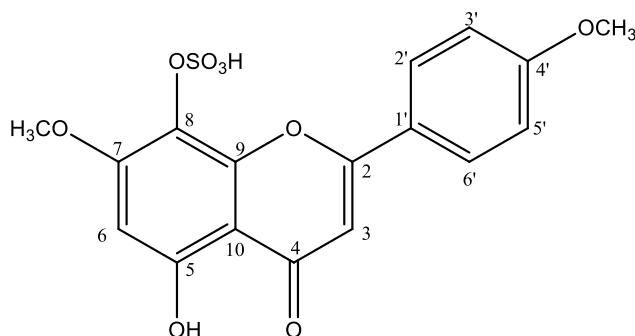
As análises do espectro heteronuclear HMBC e suas expansões (Figuras 55 a 57, págs. 96 e 97) permitiram ratificar a localização das metoxilas e do grupo sulfato na molécula, as metoxilas nas posições C-7 e C-4' foram consolidadas pelas correlações a três ligações ( $^3J$ ) entre os hidrogênios  $\delta_H$  3,85 com  $\delta_C$  159,1 (H-OCH<sub>3</sub>-7/C-7) e  $\delta_H$  3,86 com  $\delta_C$  162,3 (H-OCH<sub>3</sub>-4'/C-4') (Tabela 4, pág. 90).

Uma análise comparativa entre os deslocamentos químicos dos carbonos C-5; C-7; C-8 e C-9 de *Hv-3* com estes mesmos carbonos em *Mo-2* mostrou que na molécula em análise o C-8 se encontra protegido enquanto C-5, C-7 e C-9 estão desprotegidos. Essas diferenças de

deslocamentos químicos levaram a sugerir que *Hv-3* poderia possuir um substituinte sulfatado na posição C-8. Esta sugestão foi fortalecida por comparações com dados da literatura (TELES et al., 2015) (Tabela 4, pág. 90).

A localização do grupo sulfato na posição C-8 pode ser definida pela correlação  $^3J$  entre o H-6  $\delta_H$  6,52 e o C-8  $\delta_C$  122,7 (Tabela 4, pág. 90). As comparações deste dado com a substância *Hv-1*, onde C-8 não possui substituinte e com Mo-1, cujo substituinte em C-8 é um grupo hidroxila permitiram ratificar que *Hv-3* possui um grupo sulfato na posição C-8 (Tabela 4, pág. 90).

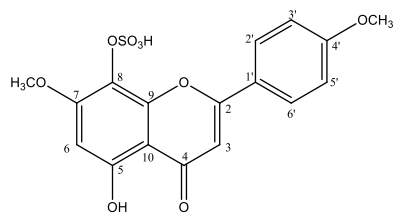
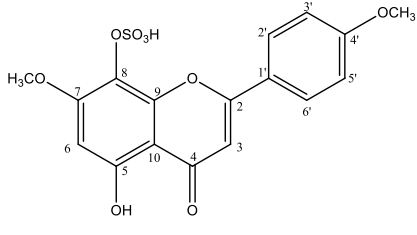
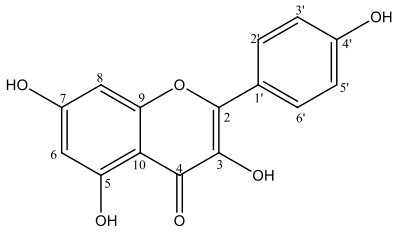
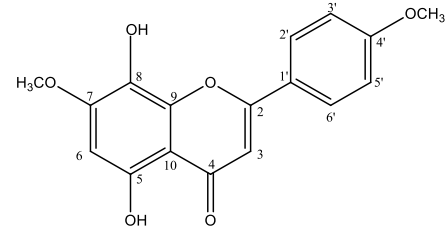
A compilação das informações obtidas nos espectros de infravermelho e RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  uni e bidimensionais, juntamente com dados observados na literatura, permitiram identificar *Hv-3* como sendo a flavona 7,4'-di-*O*-metil-8-*O*-sulfato-isoscutelareina, isolada anteriormente de *Wissadula periplocifolia* (TELES et al., 2015) e *Sidastrum micranthum* (BUCHHOLZ et al., 2007) ambos pertencentes a família Malvaceae e relatada pela primeira vez na família Sterculiaceae.



***Hv-3***: 7,4'-di-*O*-metil-8-*O*-sulfato-isoscutelareina



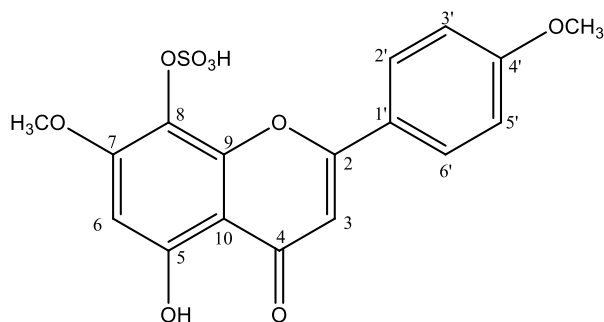
**Tabela 3.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-3* ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 MHz e 75 MHz) com modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015), com *Hv-1* ( $\delta$ , CD $_3$ OD, 500 e 125 MHz) e Mo-2 ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz e 125 MHz) (GOMES et al., 2011)

Mo-1 (Isoescutelareina sulfatada)			<i>Hv-3</i>		<i>Hv-1</i> (Canferol)		Mo-2 (7,4'-Di-O-methylisoscutelarein)	
								
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	-	164,4	-	164,0	-	148,0	-	163,5
3	6,88 (s, 1H)	103,3	6,86 (s, 1H)	102,7	-	Ausente	6,84 (s, 1H)	103,0
4	-	182,7	-	182,1	-	Ausente	-	182,4
5	-	157,6	-	156,9	-	162,6	-	153,0
6	6,53 (s, 1H)	96,6	6,52 (s, 1H)	96,0	6,18 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	99,3	6,53 (s, 1H)	95,7
7	-	159,7	-	159,1	-	165,6	-	154,3
8	-	123,3	-	122,7	6,38 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	94,5	-	126,2
9	-	149,9	-	149,4	-	158,4	-	144,4
10	-	104,3	-	103,7	-	104,6	-	103,9

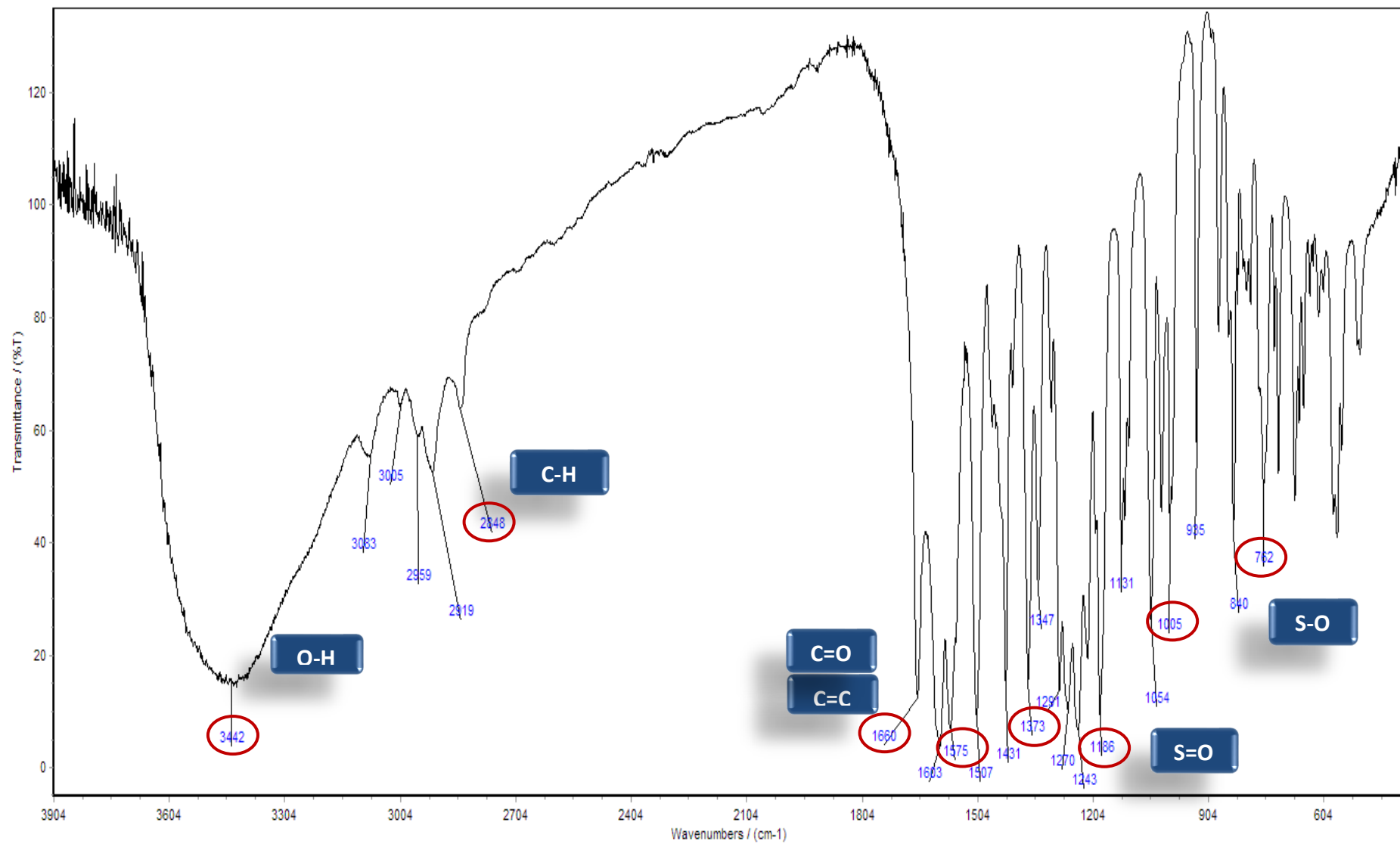
**Tabela 3 (Continuação).** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-3* ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 MHz e 75 MHz) com modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 e 100 MHz) (TELES et al., 2015), com *Hv-1* ( $\delta$ , CD $_3$ OD, 500 e 125 MHz) e Mo-2 ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 500 MHz e 125 MHz) (GOMES et al., 2011)

Mo-1 (Isoescutelareina sulfatada)			<i>Hv-3</i>		<i>Hv-1</i> (Canferol)		Mo-2 (7,4'-Di-O-methylisoscutelarein)	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1'	-	123,7	-	123,1	-	123,7	-	123,0
2'	8,28 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,7	8,27 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	129,1	8,08 (d, $J=7,0$ Hz, 2H)	130,7	8,09 (dd, $J=7,0$ e 2,0 Hz, 2H)	128,5
3'	7,08 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	114,9	7,07 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	114,3	6,90 (d, $J=6,9$ Hz, 2H)	116,3	7,12 (dd, $J=7,0$ e 2,0 Hz, 2H)	114,5
4'	-	162,8	-	162,3	-	160,5	-	162,4
5'	7,08 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	114,9	7,07 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	114,3	6,90 (d, $J=6,9$ Hz, 2H)	116,3	7,12 (dd, $J=7,0$ e 2,0 Hz, 2H)	114,5
6'	8,28 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,7	8,27 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	129,1	8,08 (d, $J=7,0$ Hz, 2H)	130,7	8,09 (dd, $J=7,0$ e 2,0 Hz, 2H)	128,5
OCH $_3$ -4'	3,86 (s, 3H)	56,1	3,86 (s, 3H)	55,5	-	-	3,85 (s, 3H)	55,6
OCH $_3$ -7	3,85 (s, 3H)	57,0	3,85 (s, 3H)	56,4	-	-	3,88 (s, 3H)	56,3
OH - 5	12,87 (s, 1H)	-	12,85 (s, 1H)	-	-	-	-	-

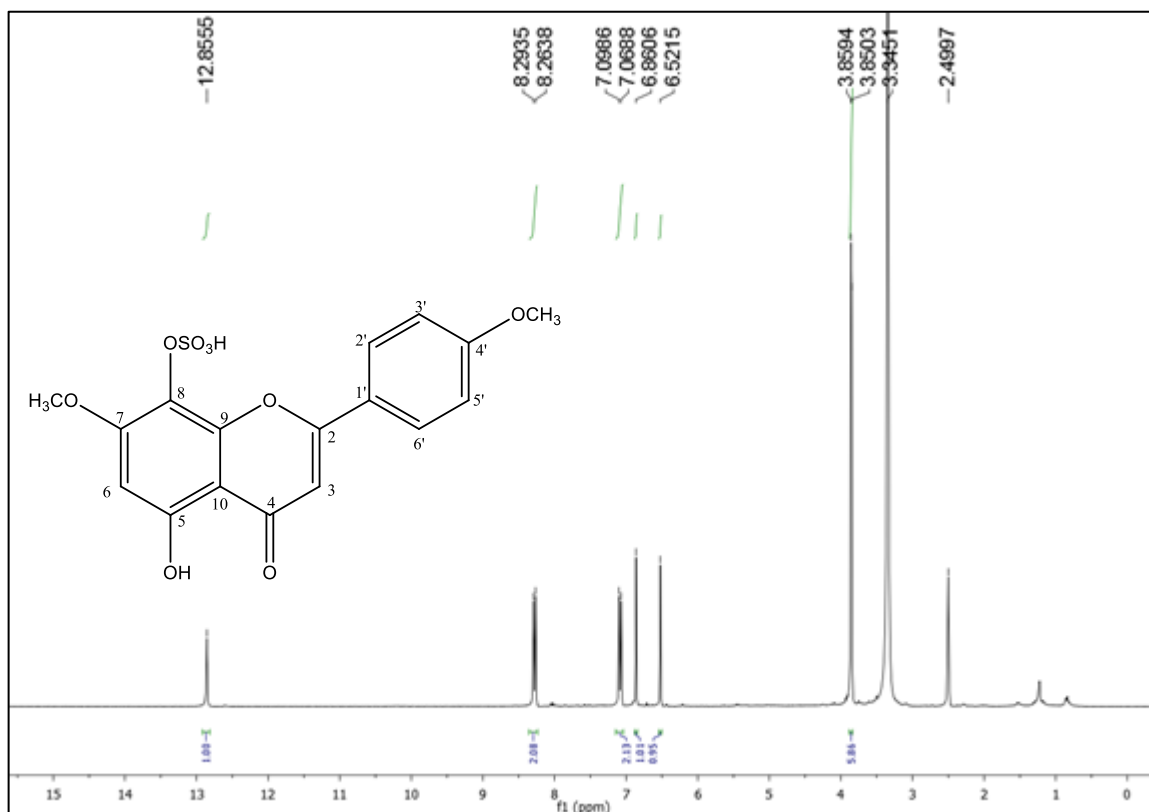
**Tabela 4.** Compilação dos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC de *Hv-3* ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 MHz e 75 MHz)



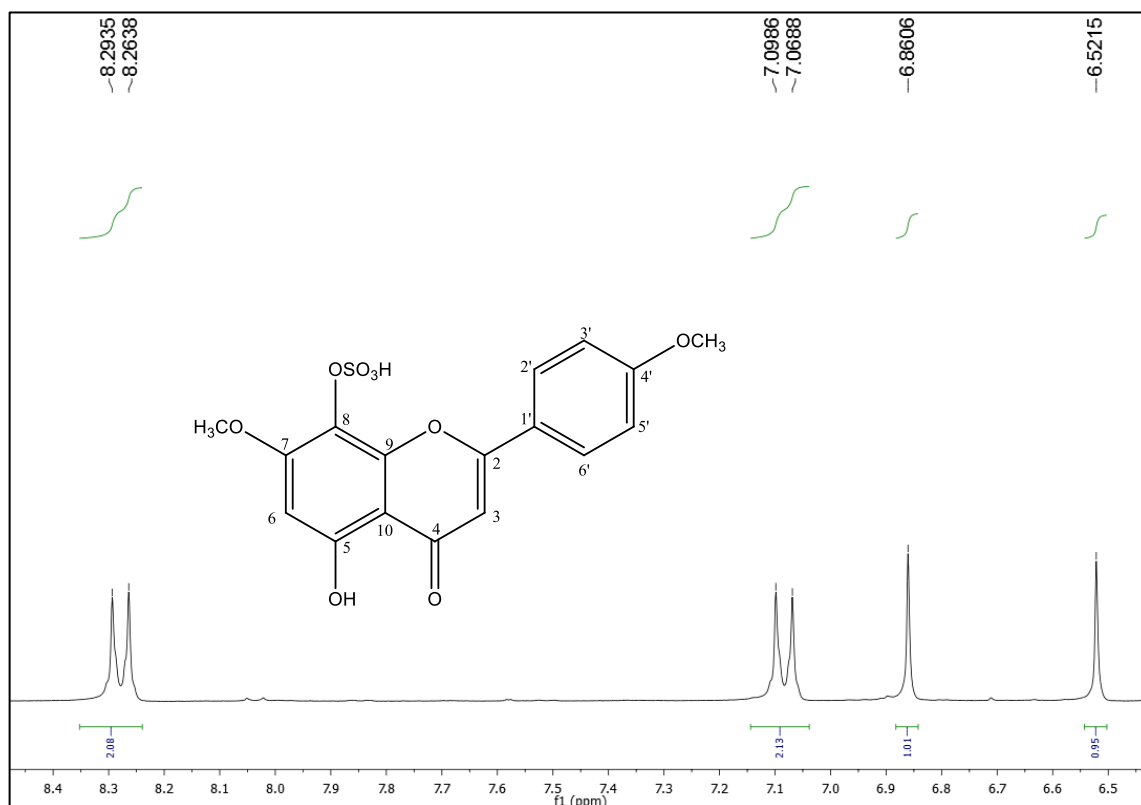
C	HSQC		HMBC	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$^2\text{J}$	$^3\text{J}$
2	-	164,0	-	-
3	6,86 (s, 1H)	102,7	C-2, C-4	C-1', C-10
4	-	182,1	-	-
5	-	156,9	-	-
6	6,52 (s, 1H)	96,0	C-5, C-7	C-8, C-10
7	-	159,1	-	-
8	-	122,7	-	-
9	-	149,4	-	-
10	-	103,7	-	-
1'	-	123,1	-	-
2'	8,27 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	129,1	-	C-4', C-6', C-2
3'	7,07 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	114,3	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	162,3	-	-
5'	7,07 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	114,3	C-4'	C-1', C-3'
6'	8,27 (d, $J=8,9$ Hz, 2H)	129,1	-	C-4', C-2', C-2
OCH <sub>3</sub> -4'	3,86 (s, 3H)	55,5	-	C-4'
OCH <sub>3</sub> -7	3,85 (s, 3H)	56,4	-	C-7
OH - 5	12,85 (s, 1H)	-	-	-

**Figura 45.** Espectro de IV ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr) de *Hv-3*

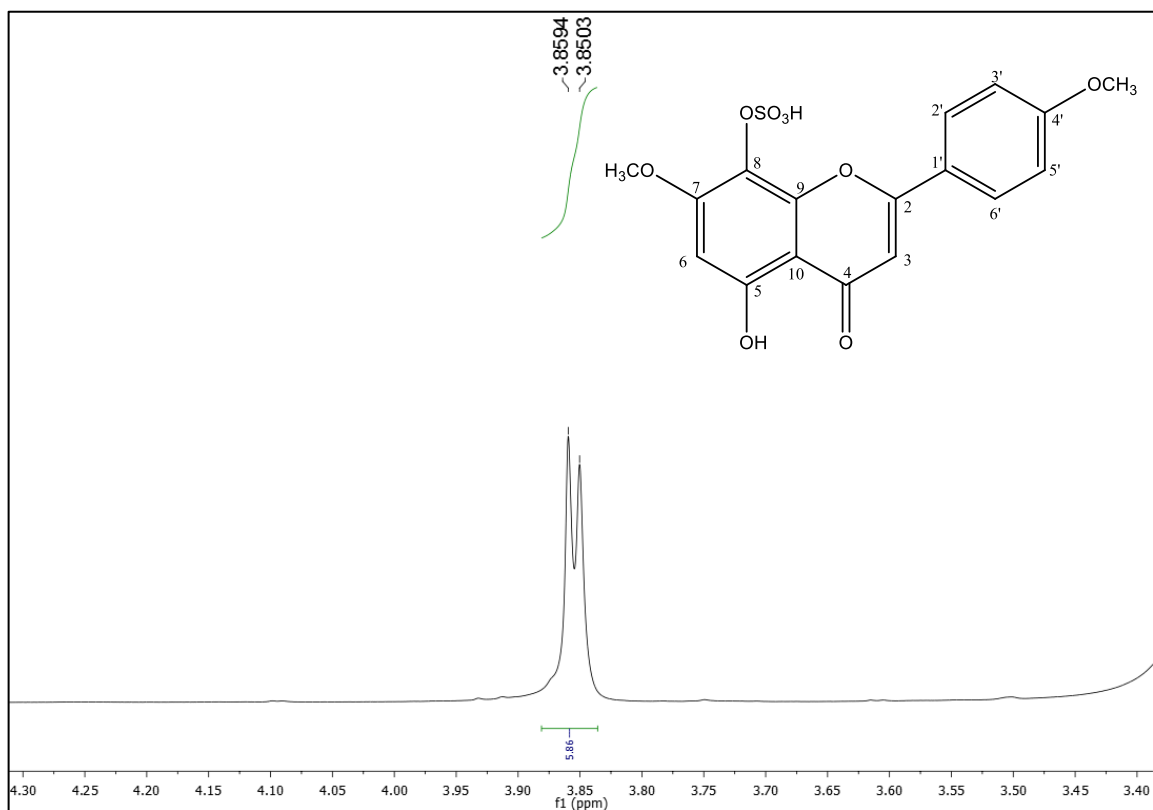
**Figura 46.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 MHz) de *Hv-3*



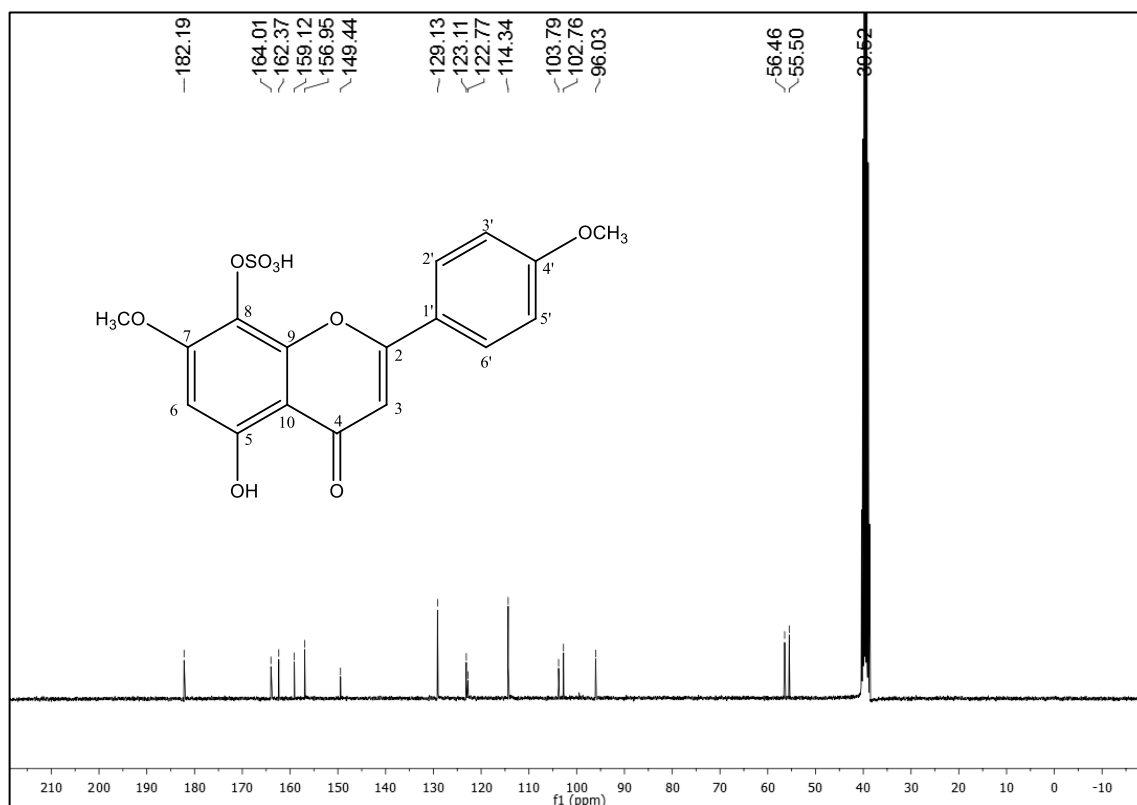
**Figura 47.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 MHz) de *Hv-3*



**Figura 48.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 MHz) de *Hv-3*



**Figura 49.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 75 MHz) de *Hv-3*



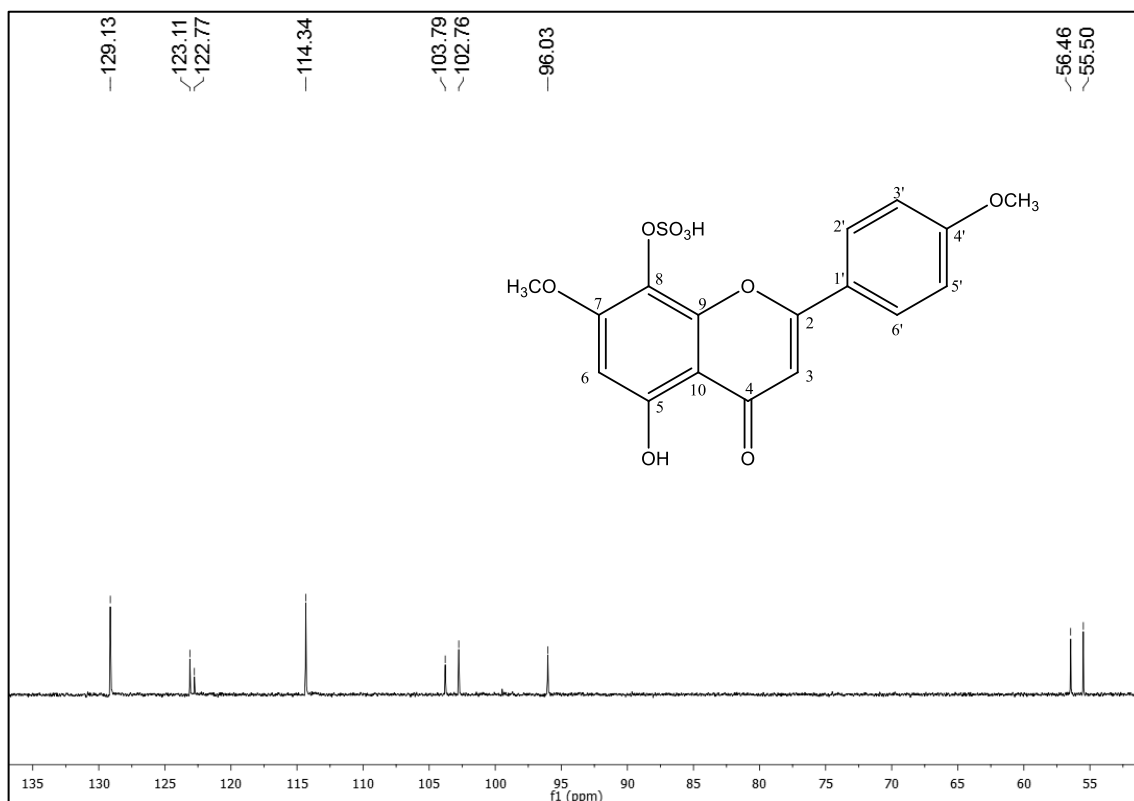
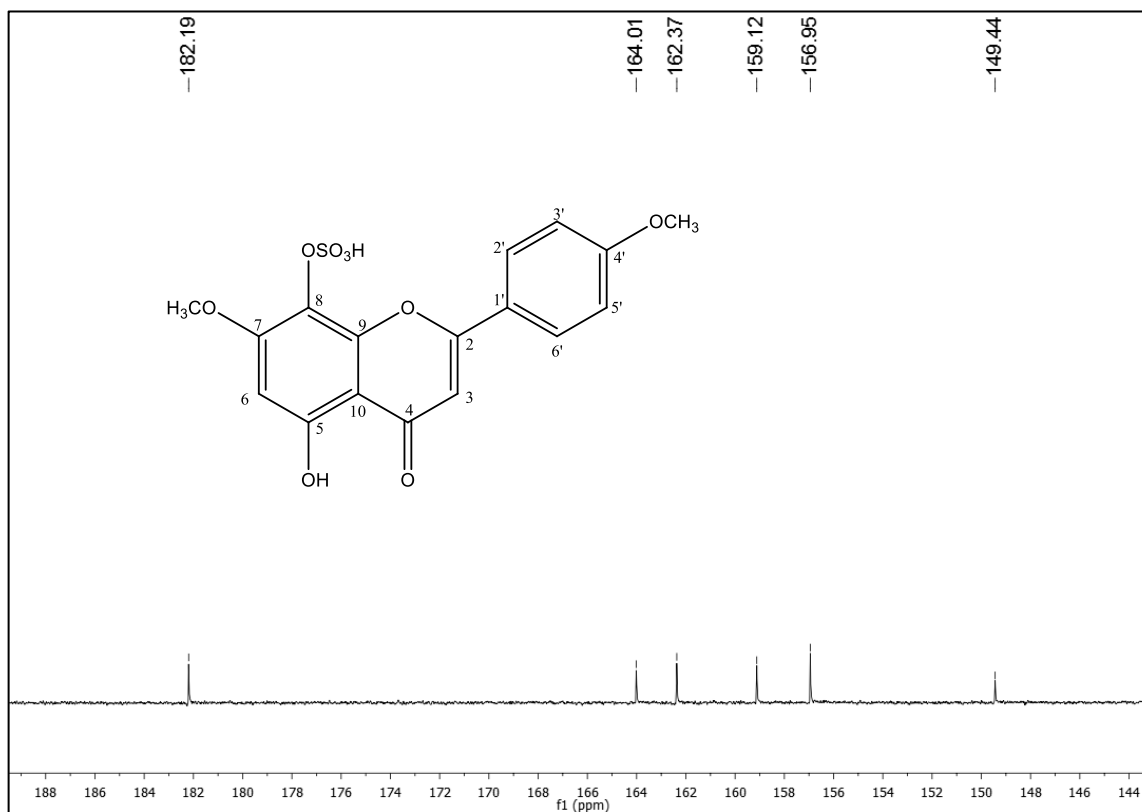
**Figura 50.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 75 MHz) de *Hv-3***Figura 51.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 75 MHz) de *Hv-3*

Figura 52. Espectro HSQC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 e 75 MHz) de *Hv-3*

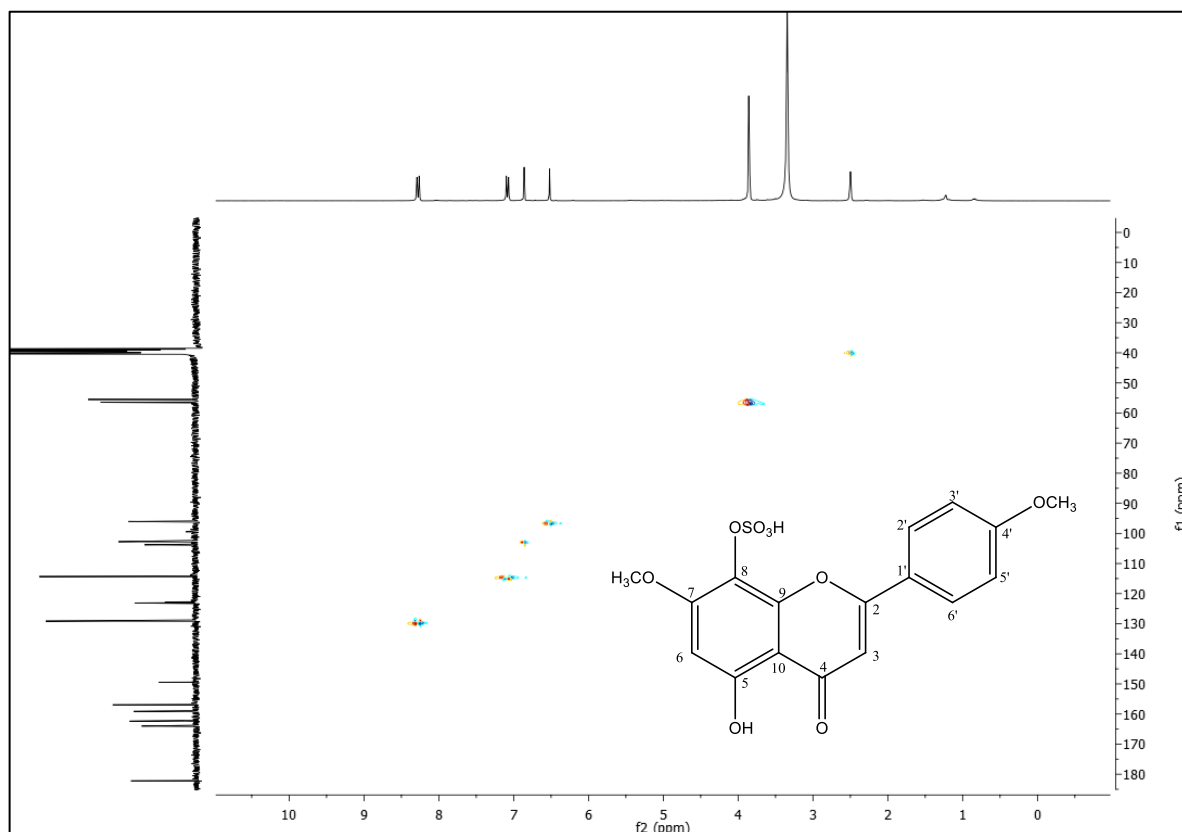
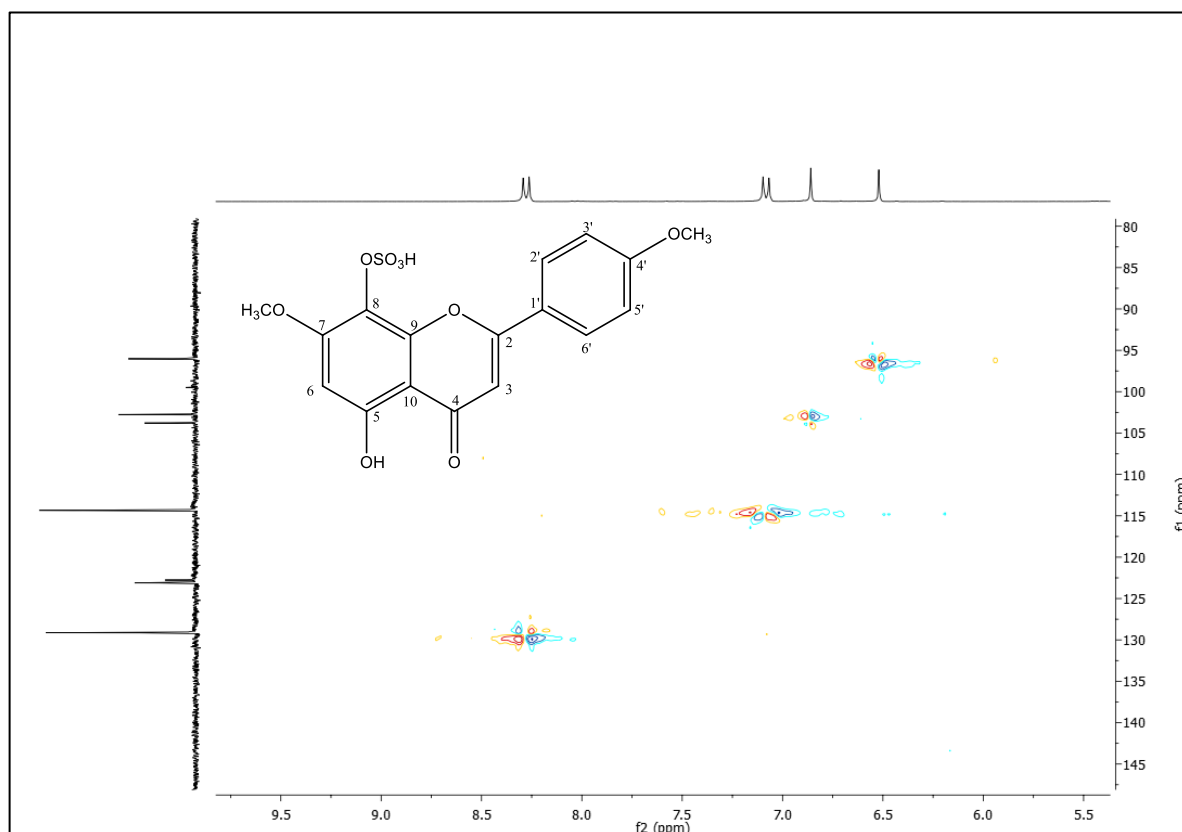
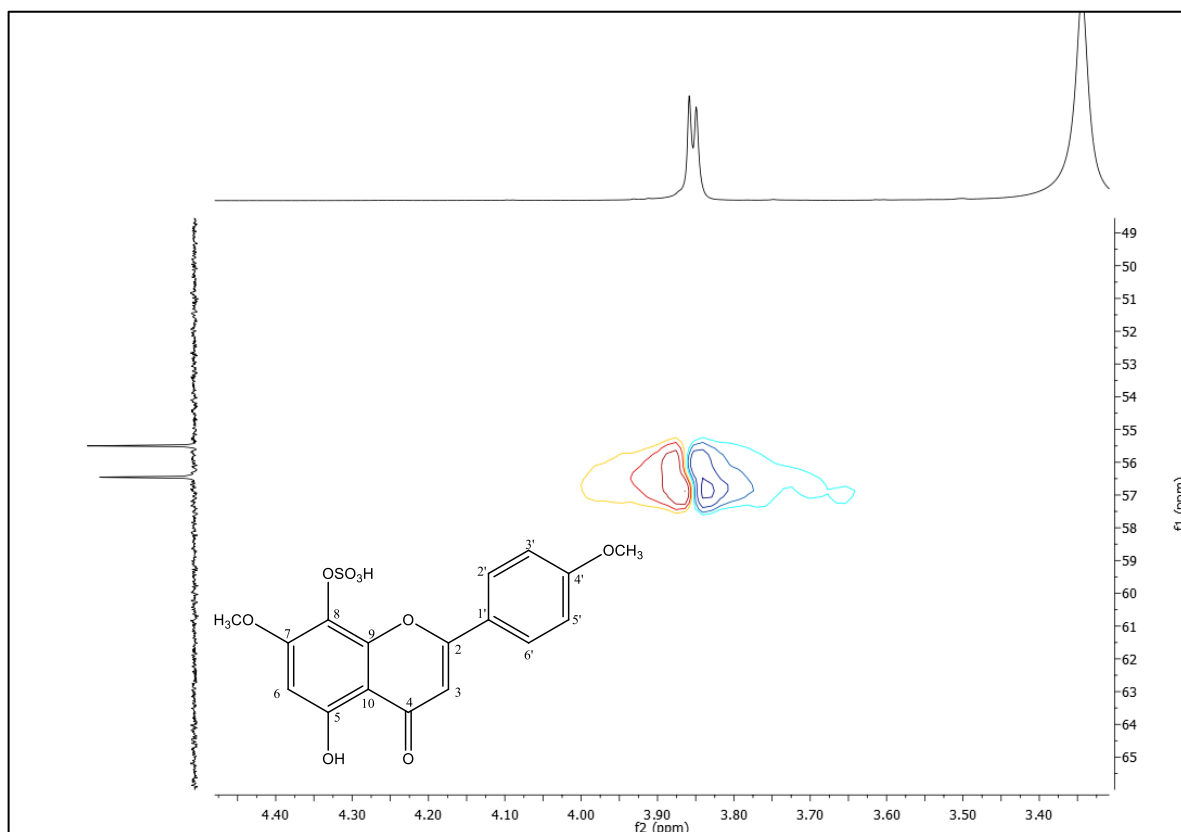
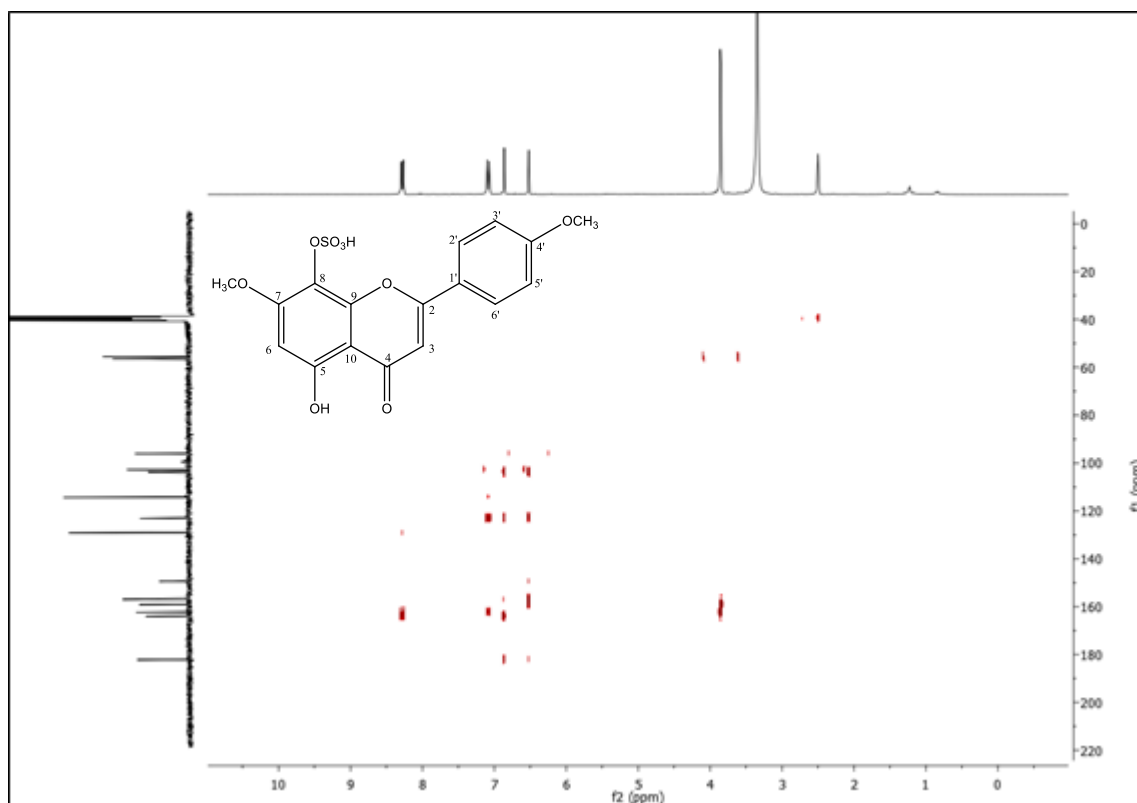


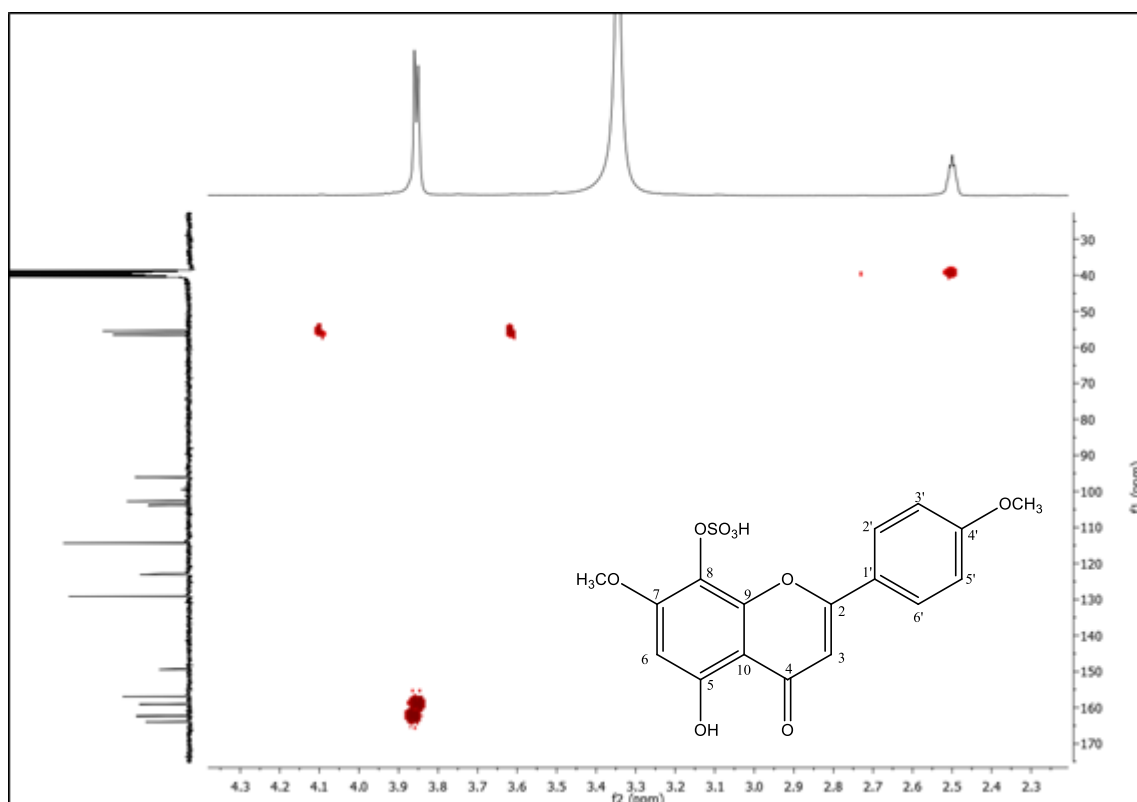
Figura 53. Primeira expansão do espectro HSQC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 e 75 MHz) de *Hv-3*



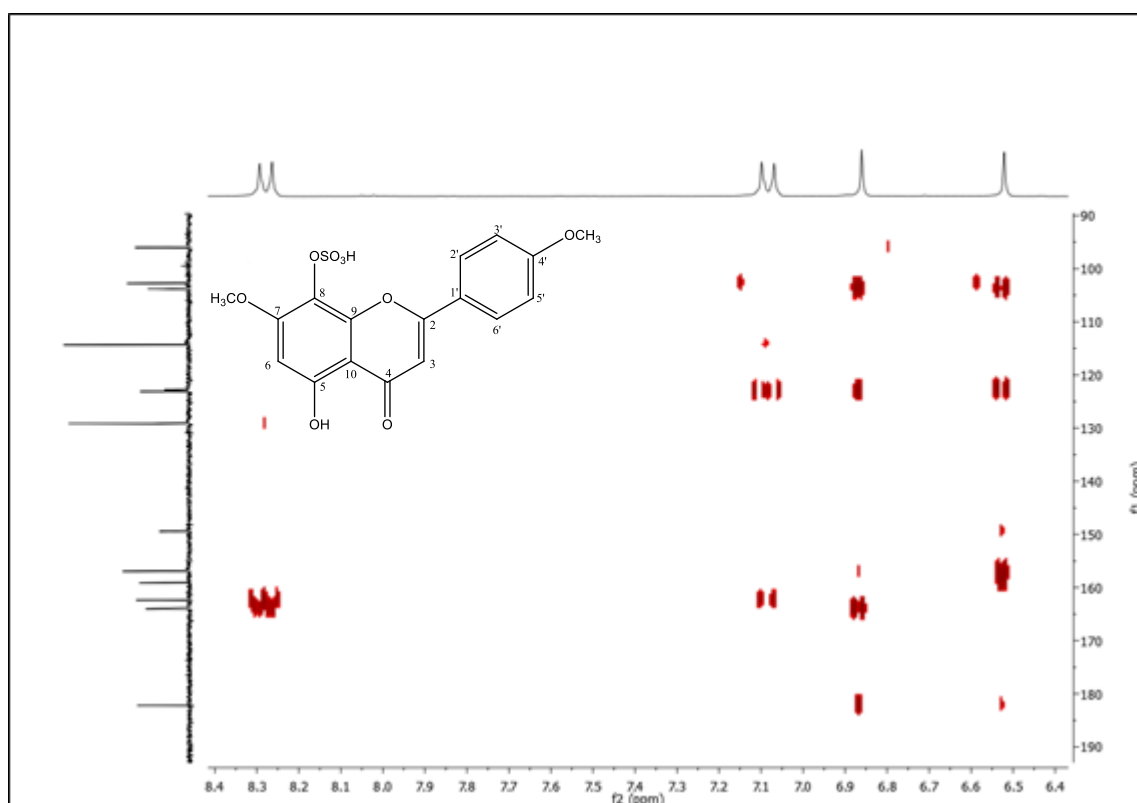


**Figura 54.** Segunda expansão do espectro HSQC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 e 75 MHz) de *Hv-3***Figura 55.** Espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 e 75 MHz) de *Hv-3*

**Figura 56.** Primeira expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 e 75 MHz) de *Hv-3*



**Figura 57.** Segunda expansão do espectro HMBC ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 300 e 75 MHz) de *Hv-3*



#### 5.2.4. Caracterização estrutural de *Hv-4*

A substância *Hv-4* foi isolada na forma de cristais brancos, apresentando ponto de fusão entre 282,0 °C e 284,0 °C.

Seu espectro de infravermelho (Figura 58, pág. 102) registrou bandas intensas nas regiões de 2936  $\text{cm}^{-1}$  a 2871  $\text{cm}^{-1}$ , característico de ligação C-H de grupos metínicos, metilênicos e metílicos. Uma absorção intensa observada em 3435  $\text{cm}^{-1}$  típica de hidroxilas, juntamente com uma em 1690  $\text{cm}^{-1}$  característica de ligação C=O de ácido, sugeriram que *Hv-4* possui uma função ácido carboxílico. Ainda foi possível observar absorções na região de 1270  $\text{cm}^{-1}$  que são atribuídas à ligação C=C de olefínicos (PAVIA, 2010; SOUZA, 2013). Este perfil do espectro nos levou a propor que a substância poderia se tratar de um terpenoide.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figuras 59 a 62, págs. 103 e 104) foi realizado em 500 MHz, tendo como solvente a  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ . A sua análise apresentou um envelope de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,88 e 1,26, característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, sugestivo de substâncias que comportam um esqueleto triterpênico ou esteroidal (SOUZA, 2013). Foram observados seis sinais, equivalentes a sete metilas em  $\delta_{\text{H}}$  0,88; 0,93; 0,99; 1,01; 1,01; 1,22 e 1,26, condizentes com as metilas H-23, H-24, H-25, H-26, H-27, H-29 e H-30, desse tipo de esqueleto.

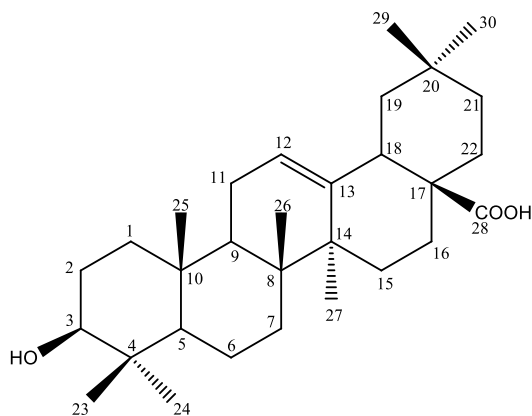
O espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 63 a 65, págs. 105 e 106) apresentou sinais para 30 átomos de carbono, corroborando com os dados até então obtidos, que *Hv-4* trata-se de um triterpeno.

A presença de um duplo duplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,43 com  $J = 5,6$  Hz e 10,5 Hz, com integral para 1H (Figura 61, pág. 103), juntamente com sinais  $\delta_{\text{C}}$  78,0 (C-3),  $\delta_{\text{C}}$  55,7 (C-5),  $\delta_{\text{C}}$  38,8 (C-1) e  $\delta_{\text{C}}$  16,5 (C-23), observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , permitiram sugerir que a substância *Hv-4* possui uma hidroxila equatorial no C-3 (Figura 65, pág. 106) (Tabela 5, pág. 100) (SOUZA, 2013).

Ainda observando os espectros de hidrogênio e carbono de *Hv-4*, pode-se observar um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  5,48 ( $J=3,4$ ) (Figura 62, pág. 104), juntamente com os sinais de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  122,5 (C-12) e  $\delta_{\text{C}}$  144,8 (C-13) corroboram com a proposta inicial, uma vez que caracterizam a dupla ligação entre o carbono C-12 e C-13 de triterpenos da série oleanano (Figura 64, pág. 103).

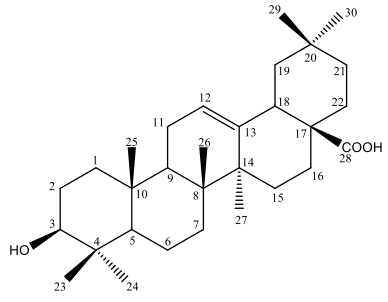
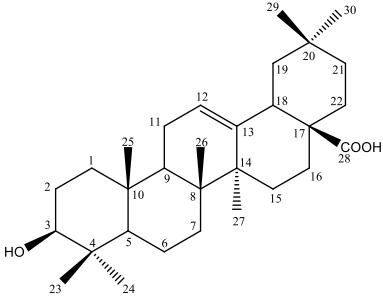
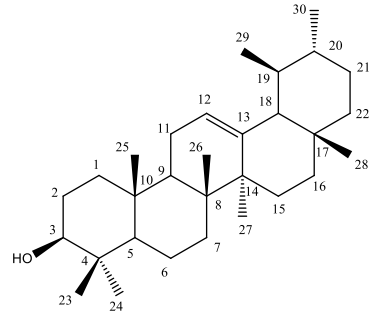
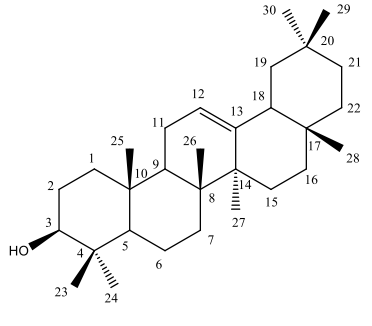
Destacou-se ainda os sinais de carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}}$  55,7 (C-5),  $\delta_{\text{C}}$  48,0 (C-9) e  $\delta_{\text{C}}$  41,9 (C-18) compatíveis com triterpenos da série oleanano (MENDES *et al.*, 1999). Adicionalmente o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  180,2 foi atribuído ao grupo carboxílico C-28, típico de triterpenos ácidos, que foi confirmada pela presença  $\delta_{\text{C}}$  41,9 (C-18) (Tabela 5, pág. 100).

Após análise dos espectros de IV e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  unidimensionais, além da comparação com modelos da literatura (Tabela 5, pág. 100), permitiram identificar *Hv-4* como sendo um triterpeno da série oleanano, o ácido 3 $\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-óico (ácido oleanólico). Esta substância foi isolada anteriormente de *Helicteres angustifolia* (CHEN, *et al.*, 2006) e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres velutina*.



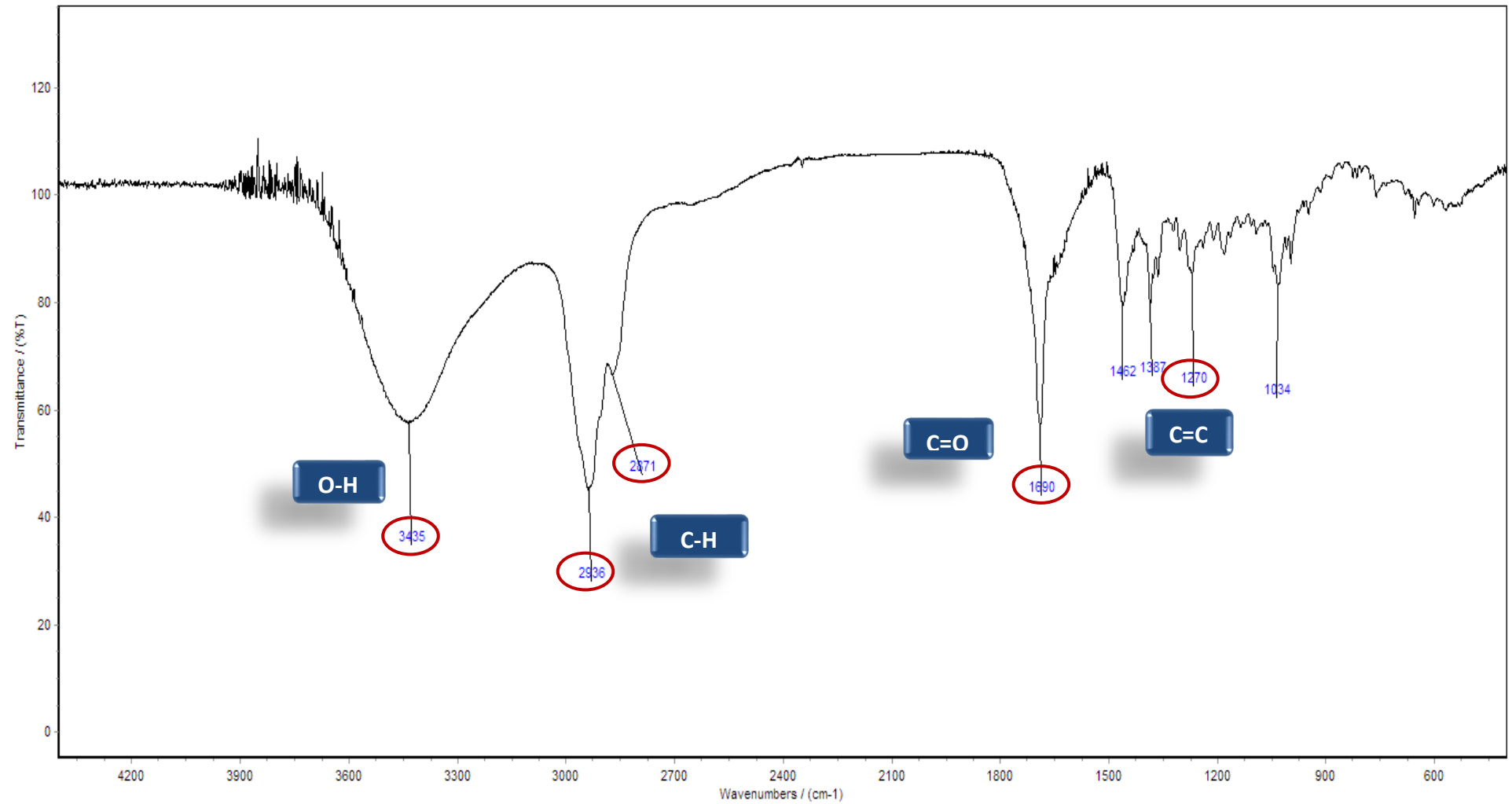
***Hv-4***: Ácido 3 $\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-óico  
(Ácido oleanólico)

**Tabela 5.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv*-4 ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz e 125 MHz) com modelo da literatura ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 600 e 200 MHz) (SEEBACHER et al., 2003), Mo-2 ( $\alpha$  amirina) e Mo-3 ( $\beta$  amirina) ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 500 e 125 MHz) (PEREIRA JUNIOR, 2008)

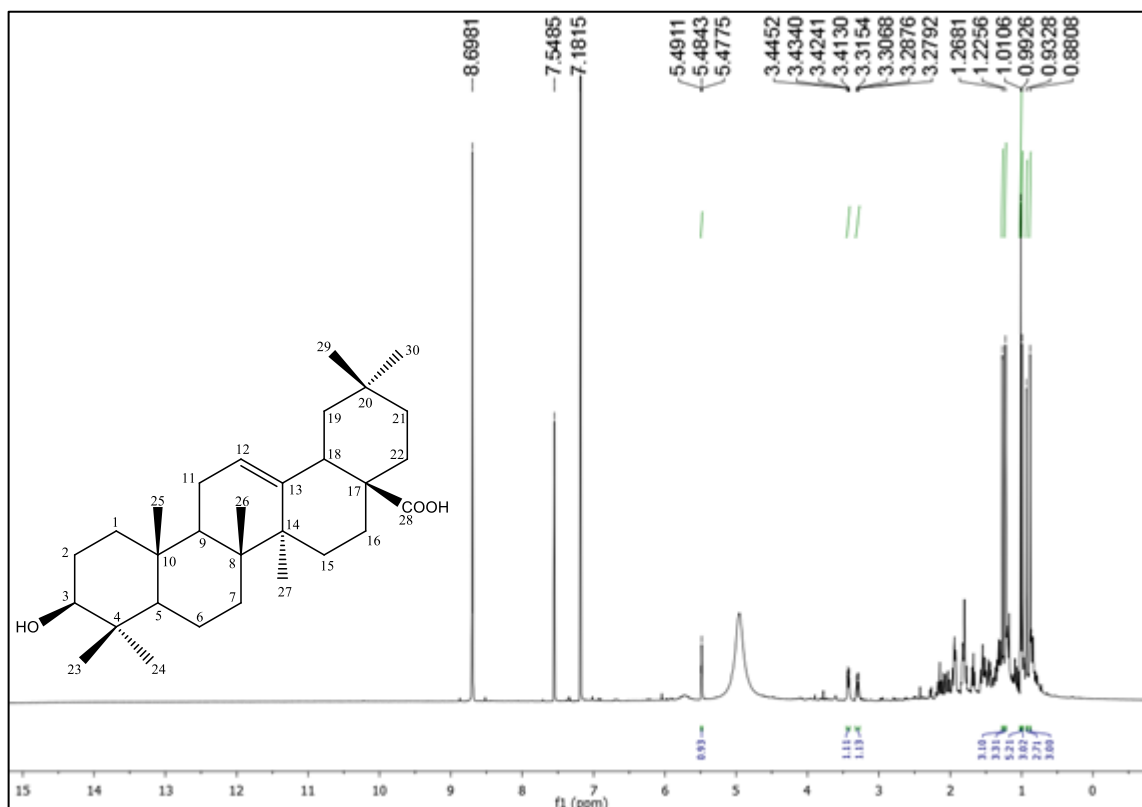
Mo-1 (Ácido oleanólico)			<i>Hv</i> -4		Mo-2 ( $\alpha$ amirina)		Mo-3 ( $\beta$ amirina)	
								
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	1,02 (m, 1H) $\alpha$ 1,57 (m, 1H) $\beta$	39,0	1,04 (m, 1H) $\alpha$ 1,54 (m, 1H) $\beta$	38,8	-	38,8	-	38,9
2	1,82 (m, 1H) $\alpha$ 1,82 (m, 1H) $\beta$	28,1	1,82 (m, 1H) $\alpha$ 1,82 (m, 1H) $\beta$	28,0	-	27,1	-	27,4
3	3,44 (dd, 1H)	78,2	3,43 (dd, $J= 5,6$ e $10,5$ Hz, 1H)	78,0	-	79,2	-	79,2
4	-	39,4	-	39,3	-	38,8	-	38,8
5	0,88 (d, 1H)	55,9	0,84 (d, 11,1 Hz 1H)	55,7	-	55,4	-	55,4
6	1,58 (m, 1H) $\alpha$ 1,39 (m, 1H) $\beta$	18,8	1,57 (m, 1H) $\alpha$ 1,39 (m, 1H) $\beta$	18,7	-	18,6	-	18,5
7	1,53 (m, 1H) $\alpha$ 1,36 (m, 1H) $\beta$	33,4	1,54 (m, 1H) $\alpha$ 1,36 (m, 1H) $\beta$	33,2	-	32,8	-	32,8
8	-	39,8	-	39,7	-	40,2	-	39,8
9	1,71 (t, 1H)	48,2	1,67 (t, $J= 9,0$ Hz, 1H)	48,0	-	47,9	-	47,8
10	-	37,4	-	37,7	-	37,1	-	37,1
11	1,96 (m, 1H) $\alpha$ 1,96 (m, 1H) $\beta$	23,8	1,96 (m, 1H) $\alpha$ 1,94 (m, 1H) $\beta$	23,6	-	23,4	-	23,5

**Tabela 5 (Continuação).** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-4* ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz e 125 MHz) com modelo da literatura ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 600 e 200 MHz) (SEEBACHER et al., 2003), Mo-2 ( $\alpha$  amirina) e Mo-3 ( $\beta$  amirina) ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 500 e 125 MHz) (PEREIRA JUNIOR, 2008)

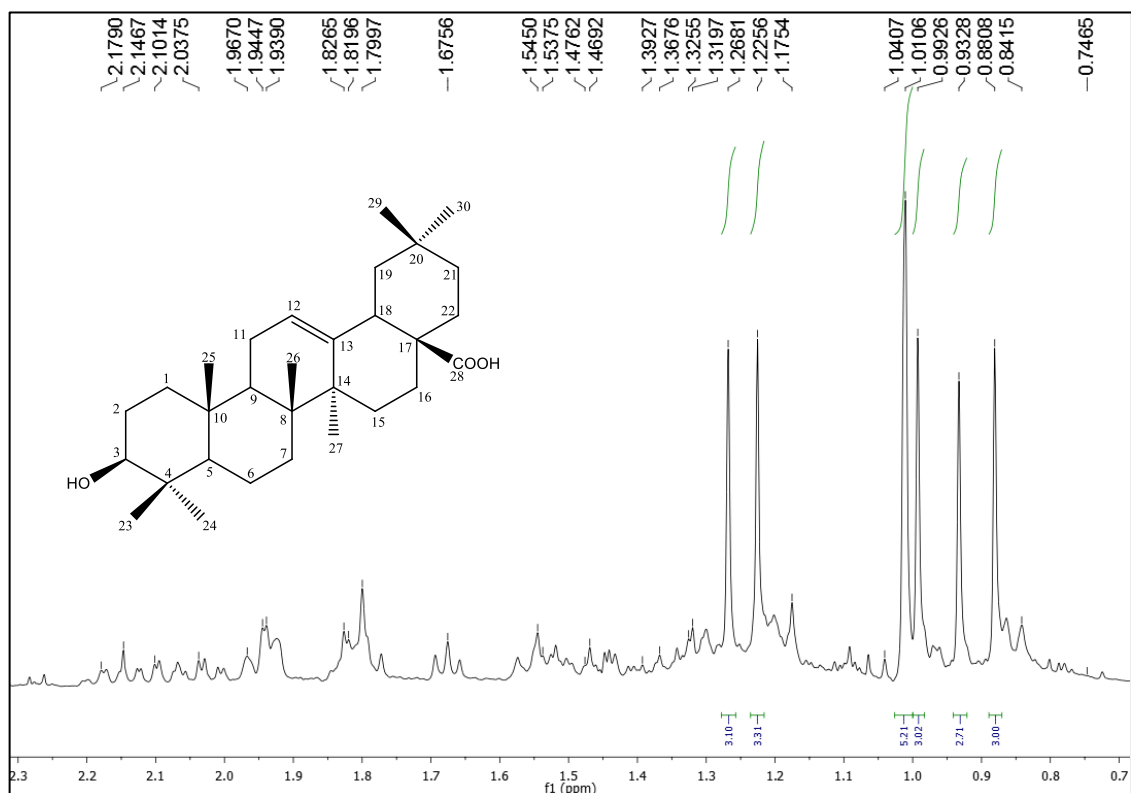
Mo-1 (Ácido oleanólico)			<i>Hv-4</i>		Mo-2 ( $\alpha$ amirina)		Mo-3 ( $\beta$ amirina)	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
12	5,49 (s, 1H)	122,6	5,48 (t, $J= 3,4$ Hz, 1H)	122,5	5,13 (t, $J= 3,6$ Hz, H-12 $\alpha$ )	124,6	5,18 (H-12 $\beta$ )	121,9
13	-	144,8	-	144,8	-	139,7	-	145,3
14	-	42,2	-	42,1	-	42,2	-	41,7
15	1,22 (m, 1H) $\alpha$ 2,19 (m, 1H) $\beta$	28,4	1,22 (m, 1H) $\alpha$ 2,18 (m, 1H) $\beta$	28,2	-	26,8	-	26,3
16	2,12 (t, 1H) $\alpha$	23,8	2,10 (m, 1H) $\alpha$	23,7	-	38,6	-	27,1
17	1,96 (m, 1H) $\beta$		1,93 (m, 1H) $\beta$					
	-	46,7	-	46,6	-	33,5	-	31,4
18	3,30 (dd, 1H)	42,1	3,29 (dd, 1H)	41,9	-	59,3	-	47,4
19	1,83 (m, 1H) $\alpha$ 1,32 (m, 1H) $\beta$	46,6	1,82 (m, 1H) $\alpha$ 1,32 (m, 1H) $\beta$	46,4	-	39,8	-	47,0
20	-	31,0	-	30,9	-	39,8	-	31,2
21	1,46 (m, 1H) $\alpha$ 1,23 (m, 1H) $\beta$	34,3	1,47 (m, 1H) $\alpha$ 1,23 (m, 1H) $\beta$	34,1	-	31,2	-	34,9
22	1,82 (m, 1H) $\alpha$ 2,04 (m, 1H) $\beta$	33,2	1,82 (m, 1H) $\alpha$ 2,04 (m, 1H) $\beta$	33,1	-	41,7	-	37,1
23	1,02 (s, 3H)	16,5	1,01 (s, 3H)	16,5	0,97 (s, 3H)	28,3	0,97 (s, 3H)	28,3
24	1,24 (s, 3H)	28,8	1,22 (s, 3H)	28,7	0,80 (s, 3H)	15,7	0,80 (s, 3H)	15,8
25	0,93 (s, 3H)	15,6	0,93 (s, 3H)	15,5	0,96 (s, 3H)	15,7	0,96 (s, 3H)	15,8
26	1,04 (s, 3H)	17,5	0,99 (s, 3H)	17,4	1,00 (s, 3H)	17,0	1,00 (s, 3H)	17,0
27	1,30 (s, 3H)	26,2	1,26 (s, 3H)	26,1	1,08 (s, 3H)	23,4	1,08 (s, 3H)	26,2
28	-	180,0	-	180,2	0,80 (s, 3H)	28,3	0,80 (s, 3H)	28,3
29	0,97 (s, 3H)	33,4	0,88 (s, 3H)	33,1	0,81 (s, 3H)	17,6	0,81 (s, 3H)	33,5
30	1,02 (s, 3H)	23,8	1,01 (s, 3H)	23,7	0,93 (s, 3H)	21,6	0,93 (s, 3H)	23,9

**Figura 58.** Espectro de IV ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr) de *Hv-4*

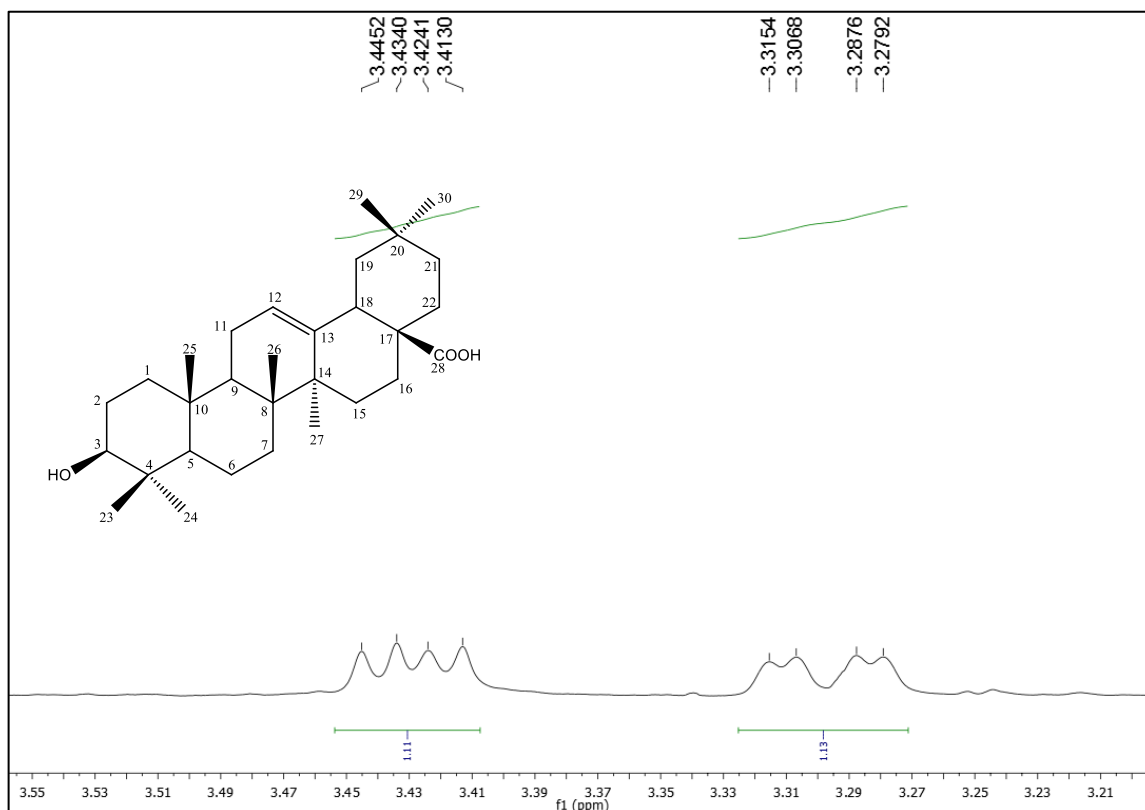
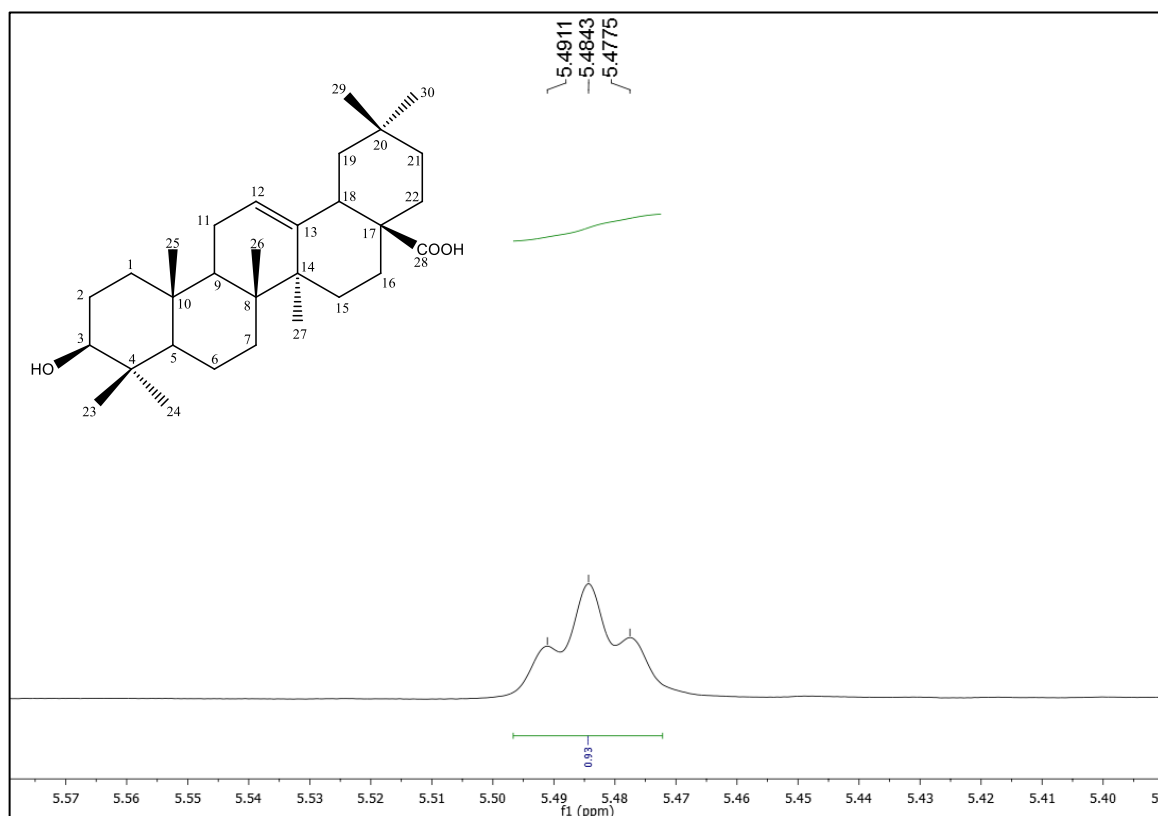
**Figura 59.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-4*



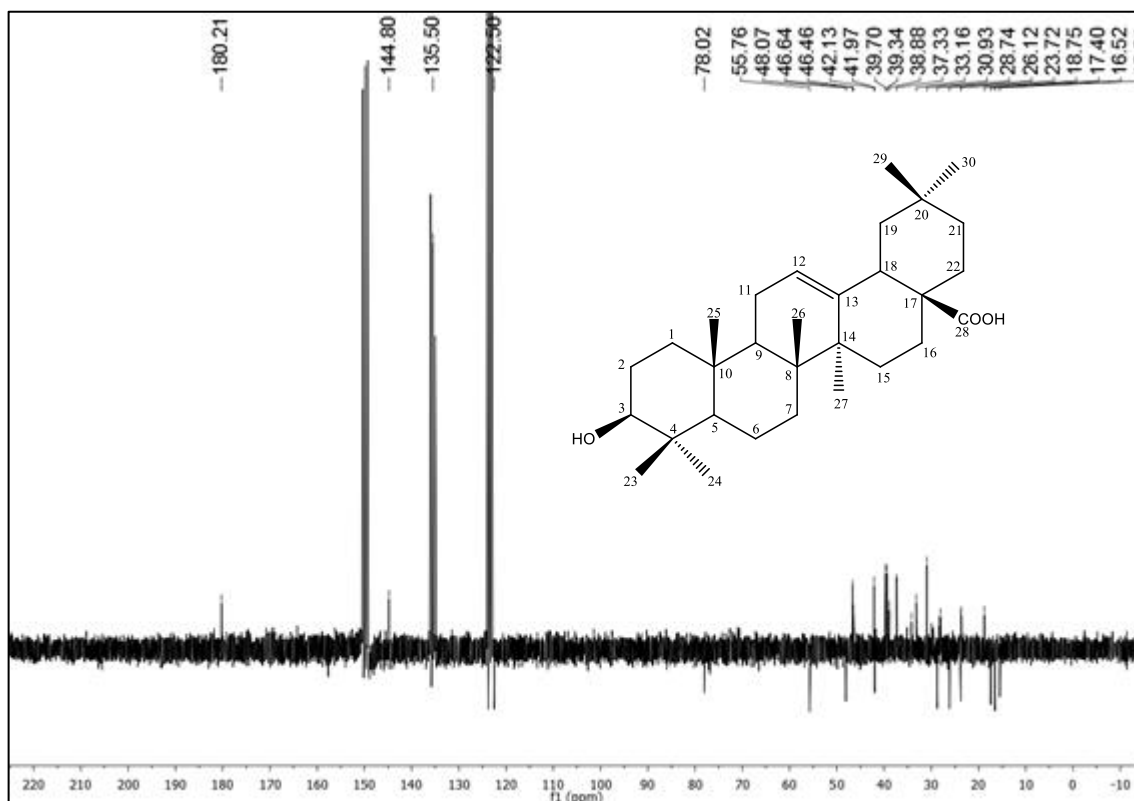
**Figura 60.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-4*



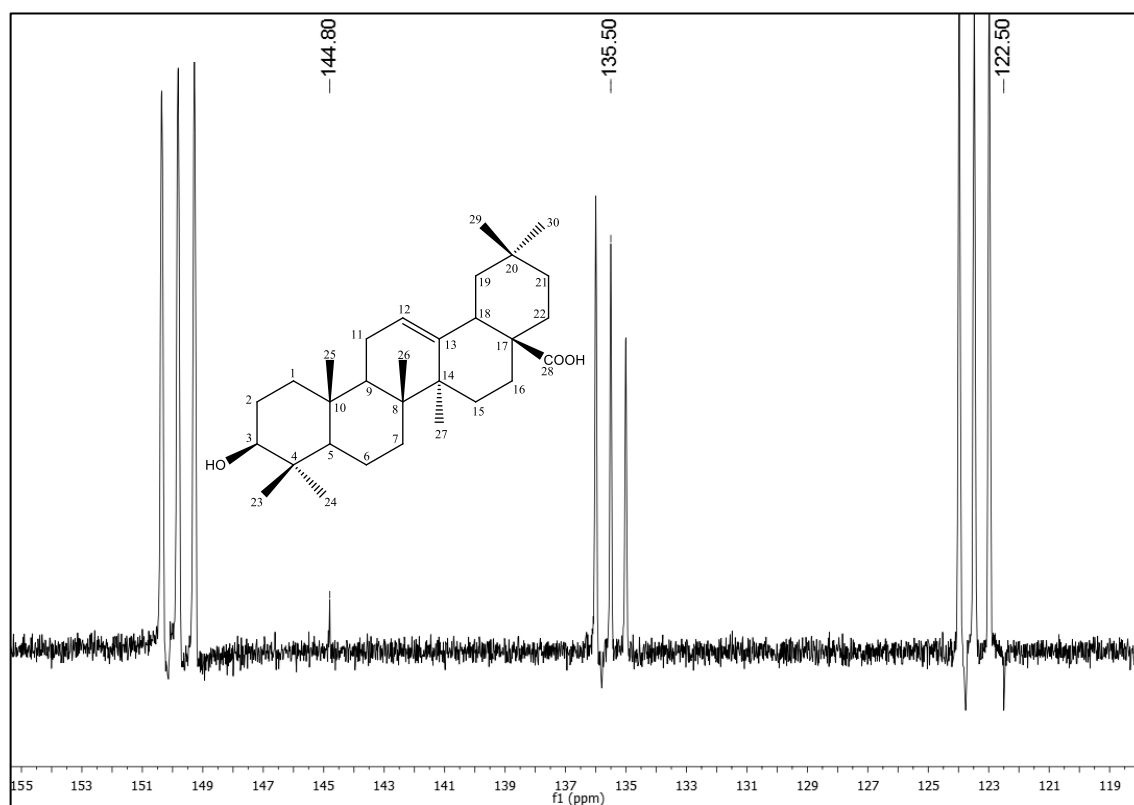


**Figura 61.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-4***Figura 62.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-4*

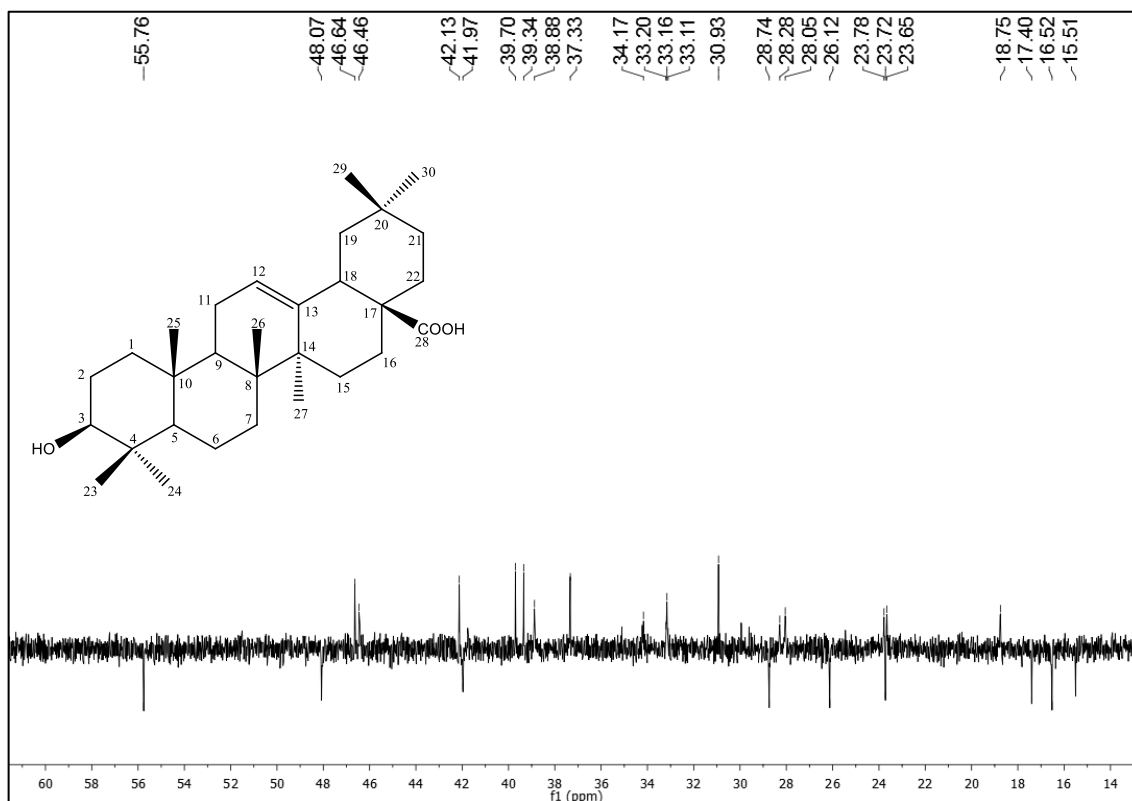
**Figura 63.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de *Hv-4*



**Figura 64.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de *Hv-4*



**Figura 65.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de *Hv-4*



### 5.2.5. Caracterização estrutural de *Hv-5*

A substância codificada como *Hv-5* foi isolada na forma de um sólido amorfo branco, apresentando ponto de fusão entre 292,5 °C e 294,0 °C.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  e suas expansões (Figuras 66 a 68, págs. 110 e 111) foi realizado em 500 MHz, utilizando como solvente o  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ . A sua análise e das suas respectivas expansões apresentaram um conjunto de deslocamentos químicos de alta multiplicidade na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,63 – 1,75 (Figura 67, pág. 110), característico de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos, compatíveis com substâncias que possuem esqueleto triterpênico e/ou esteroidal (SOARES, 2012). Foram observados sinais em  $\delta_{\text{H}}$  0,97; 0,96; 0,91; 0,87; 0,86 e 0,64, condizentes com as metilas H-18, H-19, H-21, H-26, H-27 e H-29, de um esqueleto esteroidal (Figura 67, pág 110) (Tabela 6, pág. 108).

Uma unidade osídica foi sugerida após observar a presença de um conjunto de absorções entre  $\delta_{\text{H}}$  4,0-5,0 (Figura 68, pág. 111), típicos de hidrogênios oximetínicos da referida unidade (Tabela 6, pág. 108).

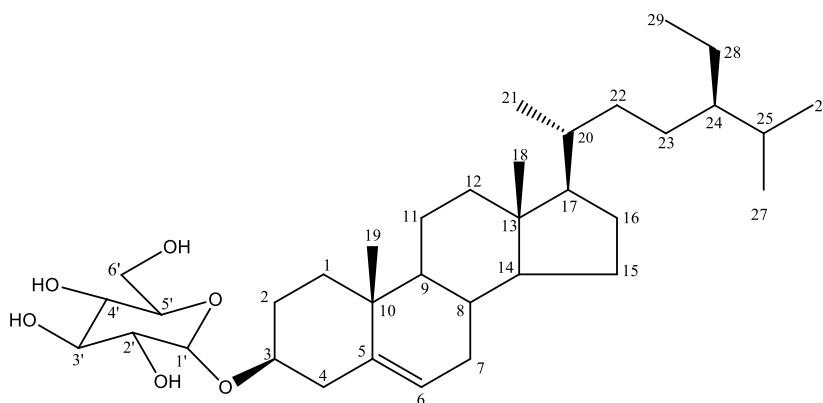
Um multipletto observado em  $\delta_{\text{H}}$  3,97 foi atribuído a um hidrogênio oximetínico, este juntamente com um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  5,03 característico de hidrogênio anomérico, nos levaram a

propor a existência da unidade osídica no C-3, essa sugestão foi fortalecida pela presença de sinais em  $\delta_H$  4,38 e 4,53 (*dd*,  $J= 12,0$  e  $5,0$  Hz) atribuídos aos hidrogênios metilênicos do H-6' da unidade de glicose (TELES et al., 2015), fato que permitiu sugerir que a unidade osídica trataria-se de uma glicose. Adicionalmente, o espectro de RMN  $^1H$  revelou um tripleto em  $\delta_H$  5,67, o qual é típico de hidrogênios olefinícos H-6 de esteroides (Figura 68, pág. 111).

Os sinais do espectro de RMN  $^{13}C$  e suas expansões (Figura 69 a 71, pág. 111 a 112), corroboram com as sugestões anteriores, apresentando 35 sinais. Os valores entre  $\delta_C$  12,17 e 21,47 foram atribuídos a carbonos metílicos em esteróides (Figura 71, pág. 112). A presença da unidade de açúcar também pôde ser reafirmada pelo pico em  $\delta_C$  102,76, cujo valor encontra-se na faixa de absorção usualmente atribuída ao carbono anomérico da glicose (Tabela 6, pág. 108).

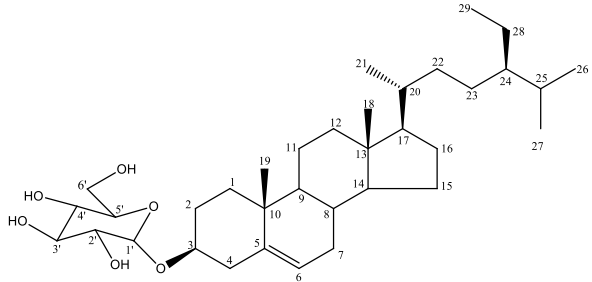
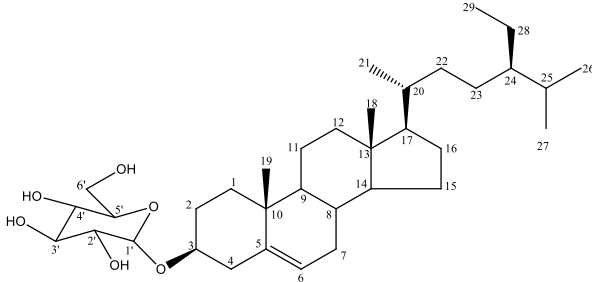
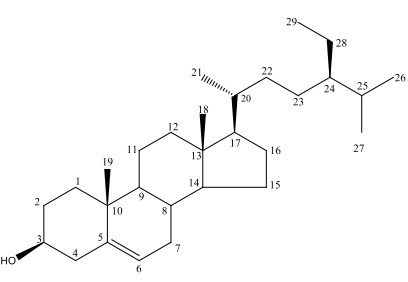
Absorções em  $\delta_C$  141,11 e 122,10 correspondem a C-5 e C-6, respectivamente, no esqueleto de esteroides como o  $\beta$ -sitosterol (Figura 69, pág. 111).

Os dados de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  em comparação com os valores obtidos na literatura (Tabela 6, pág. 108) permitiu identificar *Hv-5* como Sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo ( $\beta$ -Sitosterol glicosilado), isolado anteriormente de diversas espécies da grande Malvaceae (CHAVES, et al., 2013; COSTA et al., 2007; COSTA et al., 2009; SILVA et al., 2006; FERNANDES, 2013; MACIEL, et al., 2016 ), sendo relatada na espécie *Helicteres angustifolia* (GUO et al., 2003) e pela primeira vez na espécie *Helicteres velutina*.



***Hv-5***: Sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo  
( $\beta$ -Sitosterol glicosilado)

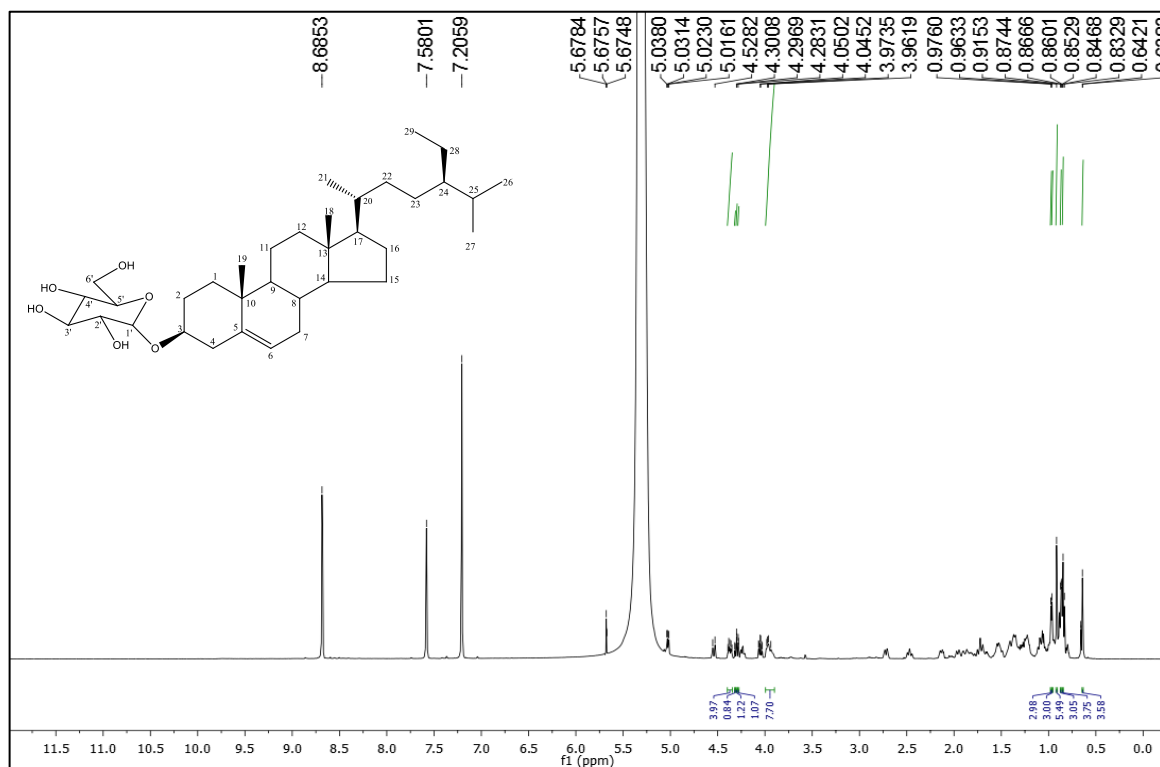
**Tabela 6.** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-5* ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 e 125 MHz) (HOSSAIN et al., 2016) e Mo-2 ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz e 150 MHz) (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012)

Mo-1 ( $\beta$ -Sitosterol glicosilado)			<i>Hv-5</i>		Mo-2 ( $\beta$ -Sitosterol)	
						
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	37,6	-	37,6	-	37,5
2	-	30,3	-	30,4	-	31,9
3	4,29 – 3,99 (dd, $J=8,0$ Hz)	78,3	3,96 (m)	78,4	3,53 (m, 1H)	72,0
4	-	39,4	-	39,5	-	42,5
5	-	141,0	-	141,1	-	140,9
6	5,05 (t, $J=2,5$ Hz)	122,0	5,67 (t, $J=1,8$ Hz)	122,1	5,36 (t, $J=6,4$ Hz, 1H)	121,9
7	-	32,3	-	32,3	-	32,1
8	1,35 (m)	32,1	-	32,2	-	32,1
9	0,89 (s)	50,4	-	50,5	-	50,3
10	-	37,0	-	37,1	-	36,7
11	-	21,4	-	21,4	-	21,3
12	-	40,9	-	40,9	-	39,9
13	-	42,4	-	42,6	-	42,6
14	-	57,0	-	57,0	-	56,9
15	-	24,6	-	24,7	-	26,3
16	-	28,7	-	28,7	-	28,5
17	-	56,3	-	56,4	-	56,3

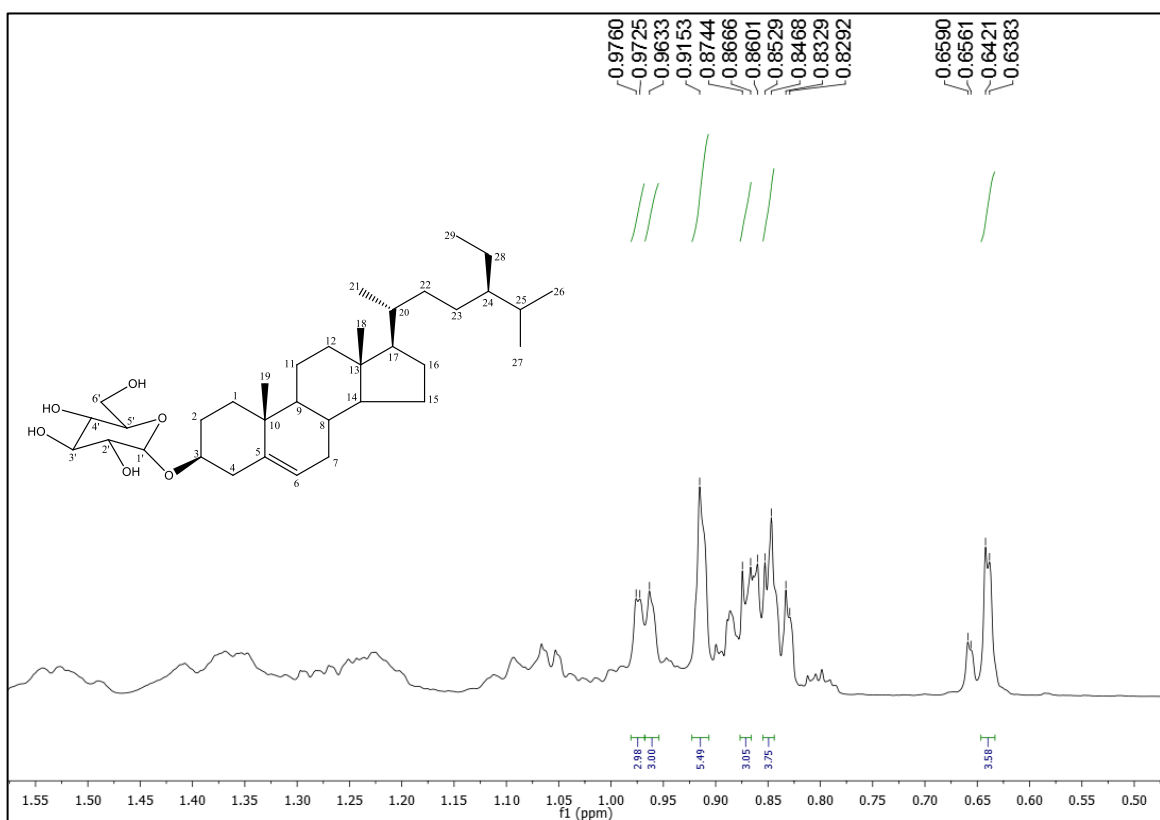
**Tabela 6 (Continuação).** Dados comparativos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de *Hv-5* ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz e 125 MHz) com o modelo da literatura Mo-1 ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 e 125 MHz) (HOSSAIN et al., 2016) e Mo-2 ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz e 150 MHz) (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012)

Mo-1 ( $\beta$ -Sitosterol glicosilado)			<i>Hv-5</i>		Mo-2 ( $\beta$ -Sitosterol)	
C	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
18	0,63 (s, 3H)	12,0	0,64 (s, 3H)	12,4	1,01 (s, 3H)	36,3
19	0,88 (d, 3H)	19,3	0,96 (s, 3H)	19,6	0,68 (s, 3H)	19,2
20	-	36,5	-	36,5	-	34,2
21	1,36 (m, 3H)	19,1	0,97 (d, 3H)	19,2	0,93 (d, 3H)	26,3
22	-	34,3	-	34,3	-	46,1
23	-	26,4	-	26,5	-	23,3
24	-	46,1	-	46,2	-	12,2
25	-	29,5	-	29,6	-	29,4
26	0,83 (s, 3H)	19,5	0,91 (d, 3H)	19,6	0,83 (d, 3H)	20,1
27	0,89 (s, 3H)	20,1	0,87 (d, 3H)	20,2	0,81 (d, 3H)	19,6
28	-	23,4	-	23,6	-	19,0
29	0,87 (m, 3H)	12,2	0,86 (m, 3H)	12,1	0,84 (t, 3H)	12,0
1'	-	102,6	5,03 (d, $J=7,5$ Hz)	102,7	-	-
2'	-	75,4	-	75,4	-	-
3'	-	78,7	-	78,7	-	-
4'	4,29 (d, $J=8,0$ Hz)	71,7	4,29 (m)	71,8	-	-
5'	4,06 (t, $J=8,0$ Hz)	78,5	4,06 (m)	78,5	-	-
6'	4,41- 4,56 (d, $J=9,5$ e 5,0 Hz)	62,9	4,53 (dd, $J=12,0$ e 5,0 Hz) 4,38 (dd, $J=12,0$ e 5,0 Hz)	62,9	-	-

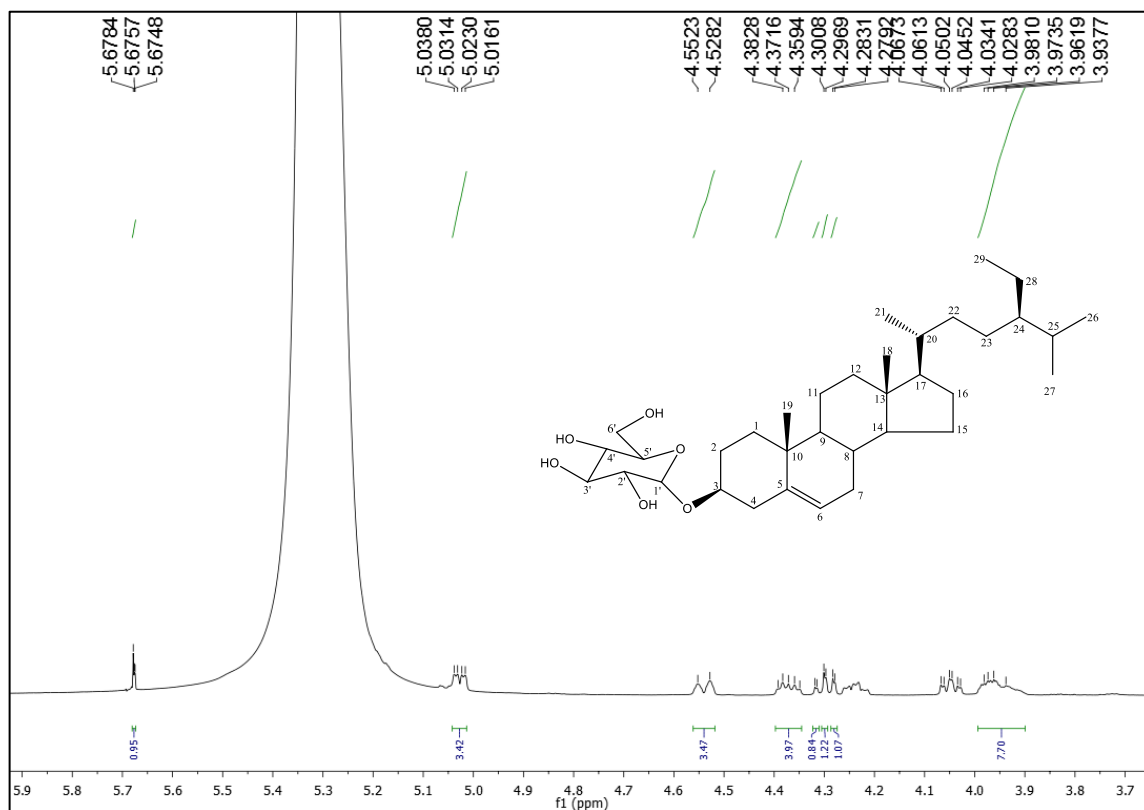
**Figura 66.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-5*



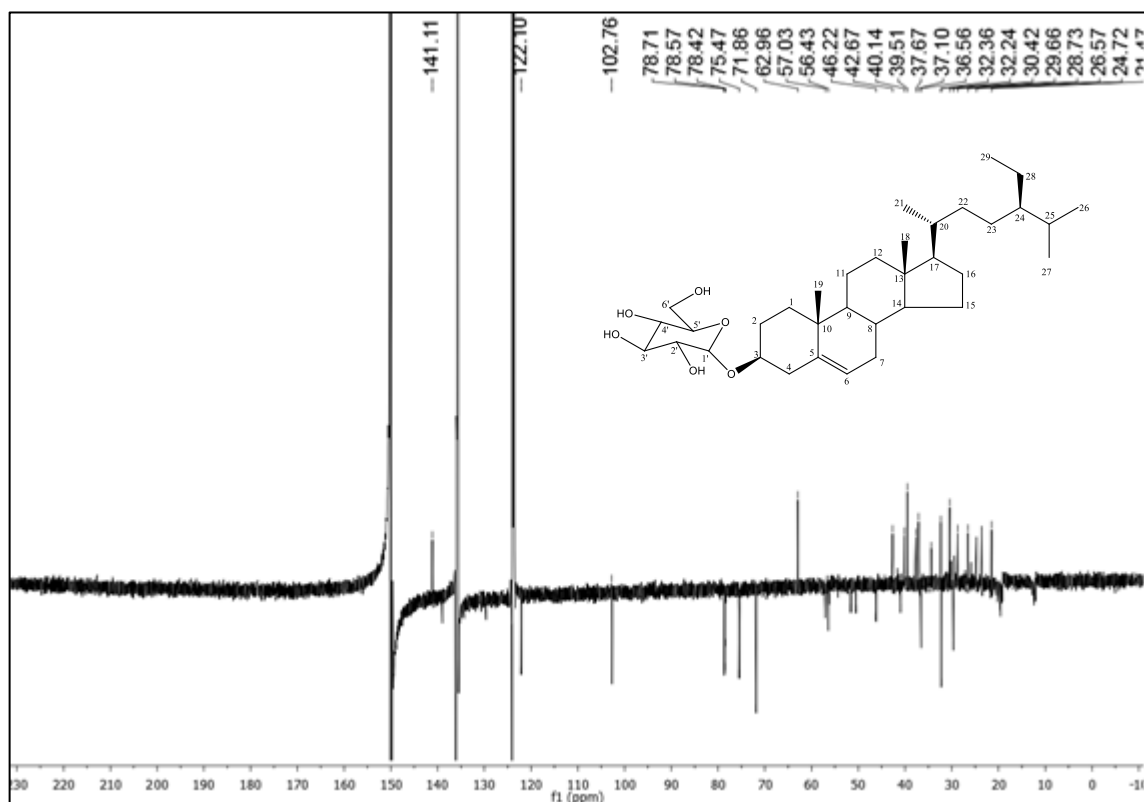
**Figura 67.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-5*



**Figura 68.** Segunda expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 500 MHz) de *Hv-5*

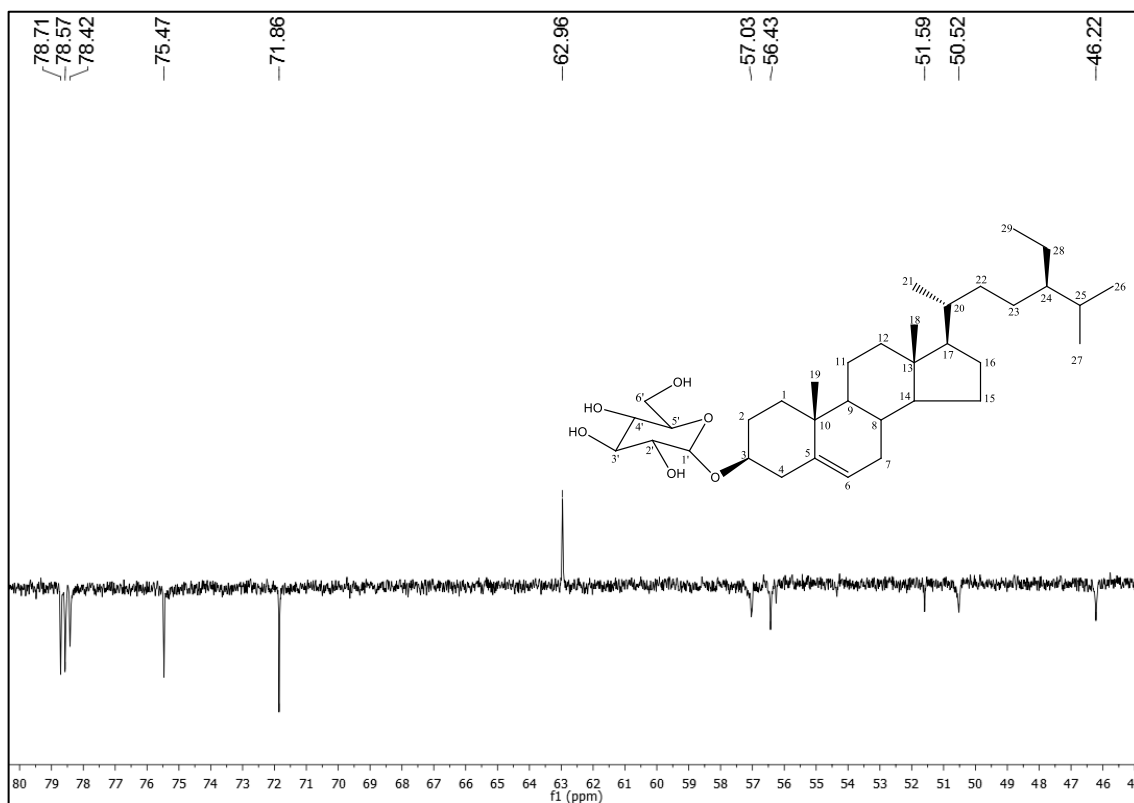


**Figura 69.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de *Hv-5*

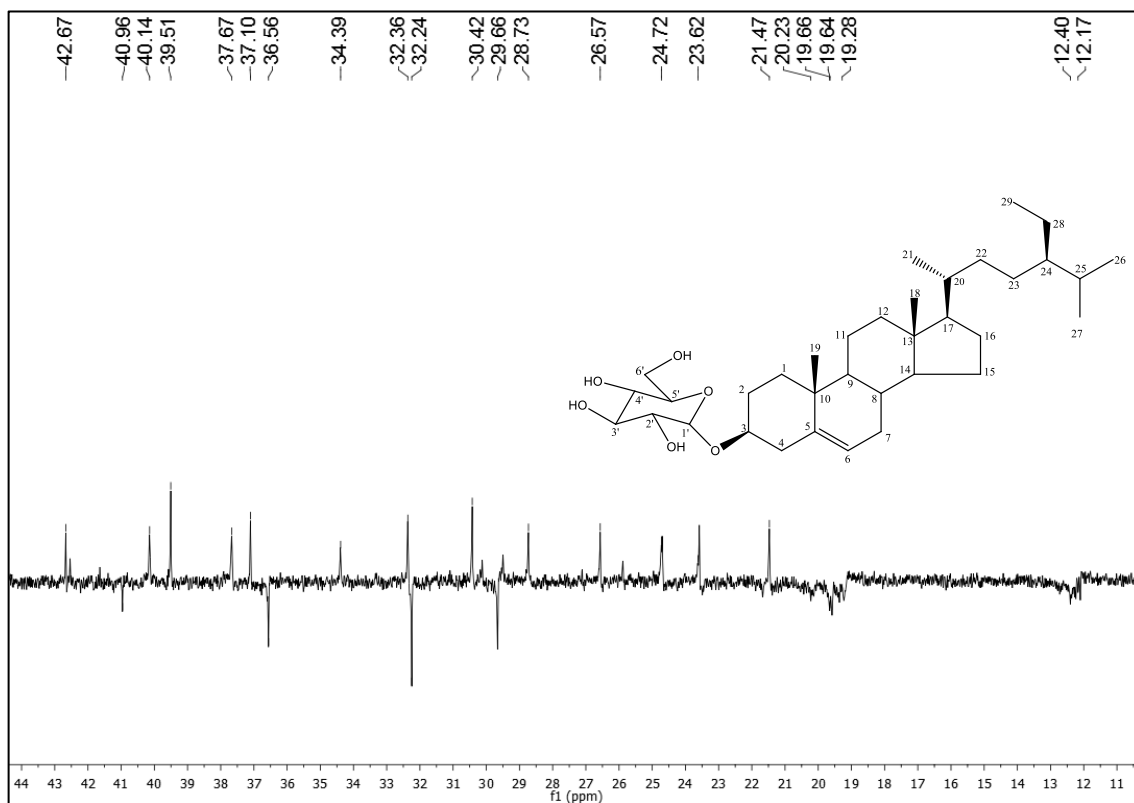




**Figura 70.** Primeira expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de *Hv-5*



**Figura 71.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 125 MHz) de *Hv-5*

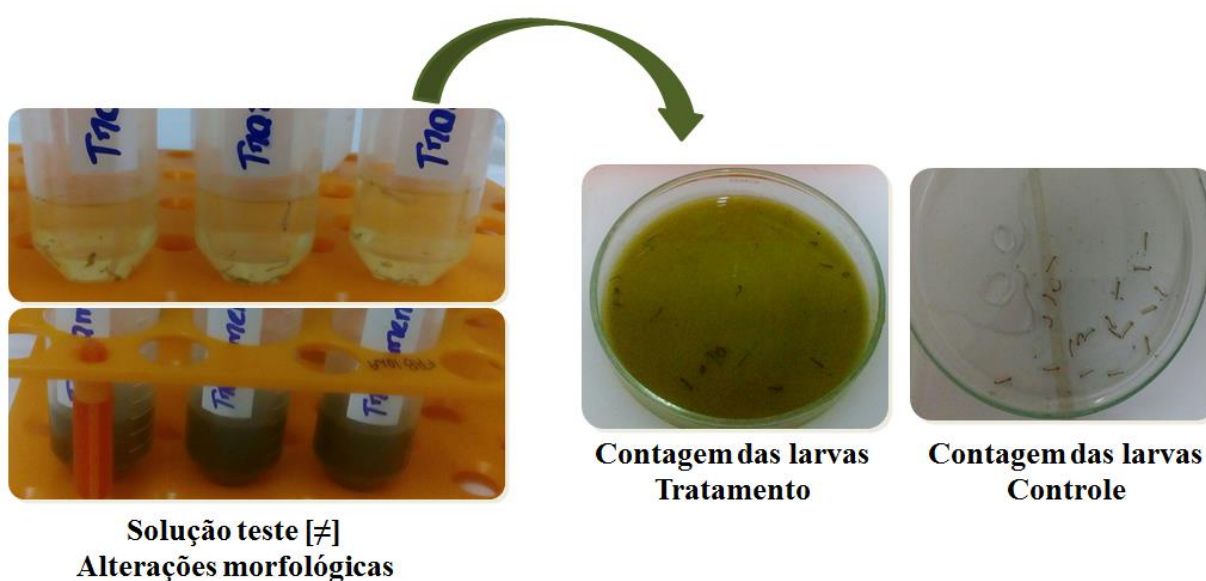


### 5.3. Avaliação da atividade do EEB de *Helicteres velutina* frente a larvas L4 de *Aedes aegypti*

As larvas de quarto estágio de *Ae. aegypti* do grupo controle negativo apresentaram morfologia externa com aspectos normais e providas de grande motilidade sinuosa em meio líquido, realizada através de contrações do corpo, semelhante ao que foi descrito em trabalho anterior (SANTOS, 2015b). Com o grupo controle positivo, houve mortalidade total das larvas após poucas horas de exposição ao inseticida comercial, resultado este semelhante ao encontrado por Carvalho et al. (2011).

Já as que foram submetidas ao EEB das partes aéreas de *H. velutina*, tiveram sua mobilidade comprometida, ficando cada vez mais letárgicas, permanecendo por mais tempo no fundo do recipiente e diminuindo o número de vezes que emergiam para efetuar a respiração, até completa paralisação no fundo do frasco, essa mudança de comportamento observada ficava mais nítida conforme se aumentava a dose de exposição (Figura 72, pág 113). Parte desse comportamento, como mobilidade e letargia, foram similares aos observados na espécie *Swinglea glutinosa* (Rutaceae) (CABRAL, 2015) e *Copaifera reticulata* (Leguminosae) (ABED et al., 2007) e *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae) (SANTOS, 2015b). Às vezes as larvas reagem com poucas contrações após estímulo mecânico. Entretanto para esse estudo só foram consideradas mortas aquelas que apresentassem paralisação total de seus movimentos.

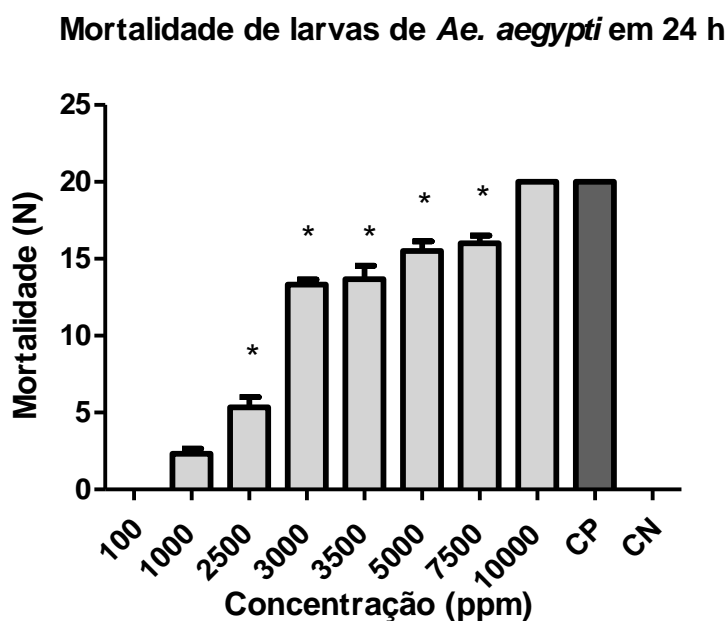
**Figura 72.** Observação das alterações morfológicas das larvas, 24 horas após exposição a diferentes concentrações da solução teste e posterior contagem dos espécimes mortos



Inicialmente os bioensaios foram realizadas com a menor concentração previamente estabelecida de 100 ppm, como não foi observada atividade aumentou-se gradativamente as doses até alcançarmos uma concentração satisfatória de mortalidade. O percentual de mortalidade larval ocasionado pelo extrato etanólico das partes aéreas de *Helicteres velutina* atingiu 100% de mortalidade com 24 h de exposição (Figura 74, pág. 115), sendo a dose de 10.000 ppm significativamente mais efetiva quando comparada às demais concentrações e o grupo controle negativo (Figura 73, pág. 114) (Tabela 7, pág. 116).

O nível da atividade larvicida, apresentado pelo extrato em baixas concentrações, justifica o interesse em espécies vegetais como alternativas para combate aos vetores, o que também foi observado em trabalho realizado por Coelho, De Paula, Espíndola (2009).

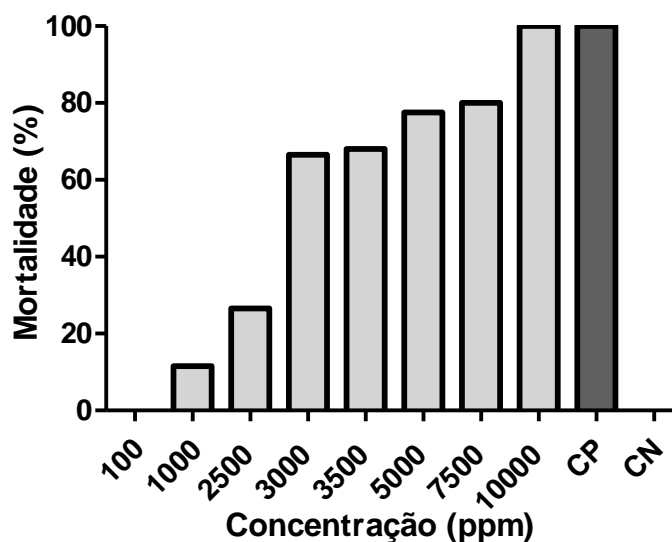
**Figura 73.** Atividade larvicida das diferentes concentrações do EEB de *H. velutina* sobre *Ae. aegypti*, após 24 horas de exposição. CN = Controle Negativo; CP = Controle Positivo. (\*) Resultados diferem significativamente dos controles



Segundo o teste de Tukey, as concentrações de 100 ppm e 1.000 ppm não diferem significativamente, assim como as concentrações de 3.000 ppm, 3.500 ppm e 5.000 ppm; 3.500 ppm e 7.500 ppm, bem como quando se compara a de 5.000 ppm e 7.500 ppm, em nível de 5% de probabilidade (Figura 73, pág. 114) (Tabela 7, pág. 116). Essa semelhança entre concentrações próximas da substância teste, já foi relatada em outros trabalhos (DARMALI et al., 2015; SILVA et al., 2014; CARVALHO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014).

**Figura 74.** Percentual de larvas mortas após 24 horas de exposição ao EBB de *H. velutina*

**Mortalidade de larvas de *Ae. aegypti* em 24 h (%)**



De acordo com a análise estática, a  $CL_{50}$  para o EEB de *Helicteres velutina*, é de 2.983 ppm. A concentração mais próxima testada foi a de 3.000 ppm que matou em média 13,3 larvas o que corresponde a 66,6%, ou seja, mais da metade das larvas (Tabela 7, pág. 116).

Essa concentração foi bem menor do que as relatadas em trabalhos anteriores avaliando atividade larvicida de extratos, a exemplo das espécies *Croton linearifolius* (Euphorbiaceae) que apresentou  $CL_{50}$  de 17.420 ppm (SILVA et al., 2014), e *Trichilia pallida* (Meliaceae) com  $CL_{50}$  de 4.660 ppm (AMARO, 2007). A dose encontrada foi maior quando comparada com *Duguetia furfuraceae* (Anonaceae) de 597 ppm (FERNANDES, 2012), e *Vitex gardneriana* (Verbenaceae) de 369,1 ppm (MONTEIRO et al., 2015).

**Tabela 7.** Mortalidade média das larvas (L4) expostas a diferentes concentrações de EEB de *H. velutina*

CONCENTRAÇÕES	MORTALIDADE MÉDIA (n)	DESVIO PADRÃO (TRIPLICATA)	RESULTADO AVALIADO APÓS 24h
100 ppm (0,001 mg/mL) (a)*	0	0	INATIVO
1.000 ppm (0,01 mg/mL) (a)	2,3 (11,6%)	0,57	INATIVO
2.500 ppm (0,025 mg/mL)	5,3 (26,6)	1,15	FRACAMENTE PROMISSOR
3.000 ppm (0,03 mg/mL) (b) (c)	13,3 (66,6%)	0,57	PARCIALMENTE PROMISSOR
3.500 ppm (0,035 mg/mL) (b) (d) (e)	13,6 (68,3%)	1,52	PARCIALMENTE PROMISSOR
5.000 ppm (0,05 mg/mL) (c) (d) (f)	15,5 (77,5%)	1,29	PROMISSOR
7.500 ppm (0,075 mg/mL) (e) (f)	16 (80%)	1,26	PROMISSOR
10.000 ppm (0,1 mg/mL)	20 (100%)	0	PROMISSOR
Controle Negativo	0	0	ESPERADO
Controle Positivo	20 (100%)	0	ESPERADO

(\*) Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente segundo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Um trabalho realizado por Santos et al. (2012), avaliando a atividade larvicida do extrato de *Helicteres velutina*, obteve uma CL<sub>50</sub> de 138.896 ppm para o extrato do caule e de 171.683 ppm para as raízes sendo as mortalidades avaliadas após 48h (Tabela 8, pág. 117), ainda nesse trabalho foram avaliados a concentração mínima capaz de causar mortalidade das larvas (CL<sub>10</sub>) e os valores de toxicidade máxima (CL<sub>90</sub>). Já no presente trabalho, foram avaliadas as partes aéreas da mesma espécie, tendo está se mostrado mais ativa em relação aos extratos das outras partes da planta avaliados, sendo a dose de 2.983 ppm capaz de matar metade da população alvo, no período de 24h de exposição, comprovando que as partes aéreas possuem atividade larvicida mais significativa, o que desperta interesse em estudar a mesma, de forma mais abrangente, para descobrir quais os constituintes responsáveis por essa atividade, bem como quais os mecanismos de ação envolvidos.

Está diferença de atividade a depender da parte da planta utilizada é comum, como pode ser visto no trabalho de Santana (2012), que avaliou a atividade larvicida frente ao *Ae. aegypti*, do extrato etanólico das folhas e raízes de *Piper alatabaccum* (Piperaceae), sendo a CL<sub>50</sub> das folhas igual a 869 ppm, enquanto que das raízes foi de 33 ppm, significativamente inferior. Já um estudo com *Azadirachta indica* (Meliaceae), mostrou maior potencial larvicida para o extrato etanólico das folhas a CL<sub>50</sub> foi de 50 ppm, após 48 horas de exposição, seguida das raízes com 600 ppm (NOUR, SANDANASAMY, NOUR, 2012). Outro estudo com *Persea americana* (Lauraceae), apresentou CL<sub>50</sub> de 16,48 ppm para as sementes, 10,35 ppm para as cascas e 21,32 ppm para polpa, todas as partes extraídas com etanol (TORRES, GARBO, WALDE, 2014).

Os extratos vegetais podem manifestar os seus efeitos tóxicos nas larvas de diversas maneiras, por exemplo, supressão da reprodução e fertilidade, mortalidade e inibição do crescimento (DARMALI et al., 2015).

**Tabela 8.** Concentração letal (CL<sub>10</sub>, CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) do EEB de *Helicteres velutina*, sobre larvas de *Aedes aegypti*, após 24h de exposição, em comparação com dados da literatura (SANTOS et al., 2012)

PARTE UTILIZADA	CL <sub>10</sub>	CL <sub>50</sub>	CL <sub>90</sub>
Caule (Santos et al., 2012)	60.406 ppm	138.896 ppm	319.372 ppm
Raízes (Santos et al., 2012)	73.029 ppm	171.683 ppm	403.607 ppm
<b>Partes aéreas</b>	965 ppm	2.983 ppm	9.691 ppm

Estudos sobre a atividade larvicida de espécies da família Sterculiaceae são raros, um dos únicos relatos, trata de um sesquiterpeno ortho-quinone/mansonone C, obtido do extrato diclorometado de *Mansonia gagei* Drumm, cuja menor concentração para matar as larvas em 24 horas foi de 6,25 ppm (TIEW et al., 2003).

Como destacado por Coelho, De Paula, Espíndola (2009), os extratos vegetais devem ser analisados como um todo visto a possibilidade da ação sinérgica ou aditiva das substâncias existentes na sua composição. Sendo necessário que posteriormente os mesmos sejam quimicamente fracionados e biomonitorados, no intuito de isolar as substâncias ativas, que venham a ser úteis na busca por novos compostos naturais inseticidas, mais seletivos e biodegradáveis, sobre larvas do mosquito *Ae. aegypti*.

O isolamento e purificação de compostos ativos, guiados por bioensaios, também podem auxiliar a diminuir as concentrações letais, no intuito de potencializar a atividade biológica (CARVALHO, 2011; GUISSONI et al., 2013), como visto em trabalho de Silva et al. (2007) onde as frações do óleo-resina de *Copaifera reticulata* (Leguminosae) CRM<sub>1-4</sub> (sesquiterpenos) e CRM<sub>5-7</sub> (diterpeno labdano) com a CL<sub>50</sub> de 0,2 e 0,8 ppm, respectivamente. Porém isso nem sempre acontece, alguns trabalhos mostraram que substâncias puras foram menos ativas que suas frações de origem, o que se deve a um efeito sinérgico de compostos presentes na sua composição (CRESPO & COSTA, 2013; SIMAS et al., 2004).

A atividade larvicida sobre os vetores de doenças tem sido descrita para extratos de plantas e outros metabólitos secundários como limonóides, quinonas e saponinas. Garcez et al., (2013), relata os baixos valores de CL<sub>50</sub>, observado para diferentes classe de substâncias, como flavonoides, terpenoides e rotenoides, o que caracteriza maior atividade larvicida e, portanto, um produto com maior potencial para o emprego como agente para o controle do *Ae. aegypti*. O esteroide  $\beta$ -sitosterol extraído de *Abutilon indicum* (Malvaceae) apresentou CL<sub>50</sub> de 11,49 ppm e os flavonoides quercetina (35,7 ppm) e canferol (30,65 ppm) isolados de *Gardenia ternifolia* (Rubiaceae) promoveram mortalidade de L2 (PONTUAL, 2010).

## *6. Conclusões*



O estudo fitoquímico da fase diclorometano do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae), realizado através de métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de infravermelho e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais e comparações com os dados da literatura, permitiram isolar e caracterizar as estruturas de cinco substâncias, sendo 7,4'-di-*O*-metil-8-*O*-sulfato-isoscutelareina/*Hv*-3 inédita na família, 3,5,7,4'- tetrahidroxiflavona/*Hv*-1 inédita no gênero e estas juntamente com Canferol-3-*O*- $\beta$ -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicopiranosídeo/*Hv*-2; Ácido 3 $\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-óico/*Hv*-4 e Sitosterol-3-*O*-D-glicopiranosídeo/*Hv*-5 inéditas na espécie, fortalecendo assim o perfil fitoquímico do gênero *Helicteres*.

A avaliação do potencial larvicida do EEB de *Helicteres velutina*, frente a larvas L4 de *Ae. aegypti* em diferentes concentrações, forneceu resultados considerados promissores, onde a dose de 10.000 ppm mostrou-se capaz de matar 100 % das larvas submetidas ao experimento.

Foram disponibilizadas substâncias para a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Virginia Soares Lemos da Universidade Federal de Minas Gerais, para realização de teste de atividade vasorelaxante e para o Prof. Dr. Ivan Helmuth Bechtold, do departamento de física da Universidade Federal de Santa Catarina, para fins de caracterização eletroquímica, na área de nanotecnologia.

## *7. Perspectivas futuras*

Como perspectivas e diante dos resultados promissores obtidos durante o mestrado, daremos continuidade a estes estudos no doutorado, explorando o potencial fitoquímico das demais fases do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Helicteres velutina* K. Schum, bem como realizando um estudo biomonitorado com as respectivas fases e substâncias isoladas, compilados com ensaios para avaliar quais destas substâncias são responsáveis pelo seu efeito larvicida e quais os mecanismos de ação estão envolvidos nesta atividade, analisando seus efeitos em cultura de hemócitos e o efeito tóxico em mamíferos, no sentido de determinar se o larvicida é seguro para utilização nas ações de controle do *Aedes aegypti*.

# *Referências*

ABED, R.A.; CAVASIN, G.M.; SILVA, H.H.G.; SILVA, I.G. Alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pela atividade larvicida do óleo-resina da planta medicinal *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae). **Rev. de Patologia Trop.** v. 36, n.1, p. 75-86, 2007.

ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novo fármacos de interesse médico e farmacêutico: Fragilidades e perspectivas. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 678-689, 2006.

ALVES, I. S.; DANTAS, I. C.; MELO, J. I. M.; FELISMINO, D. C. A família Malvaceae *sensu lato* em uma área do Agreste Paraibano, Nordeste do Brasil. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 6, n. 1, p. 1-20, 2011.

AMARO, N.B. **Avaliação do potencial de extratos vegetais de *Trichilia pallida* (Swartz, 1788) (Sapindales: Meliaceae) e *Sesamum indicum* (L. Linnaeus, 1753) (Lamiales: Pedaliaceae) na prospecção de acaricidas botânicos para controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae).** Dissertação (Mestrado em Medicina tropical) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2007.

ANDRADE, C.F.S. **Sobre a segurança do emprego de *Bacillus thuringiensis* var. *israelenses* (Bti) e outros larvicidas no controle da dengue.** 2006. Disponível em: <[http://www2.ib.unicamp.br/profs/eco\\_aplicada/arquivos/artigos\\_tecnicos/SEGURAN%C7A%20Bti%20dengue.pdf](http://www2.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/arquivos/artigos_tecnicos/SEGURAN%C7A%20Bti%20dengue.pdf)> Acessado em 22 de Nov. de 2016.

APG I - Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG I. **Missouri Botanical Garden Press**, v. 85, n. 4, p. 531-553, 1998.

APG II - Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, p. 399- 436, 2003.

APG III - Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161: 128-131, 2009.

APG IV - Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181: 1-20, 2016.

ARAÚJO, C.S. **Estudo fitoquímico e atividade biológica *in vitro* de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae).** 2013. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina- PE, 2013.

ASSIS, M. A.; MORELLI-AMARAL, V. F.; PIMENTA, F. P. Grupos de pesquisa e sua produção científica sobre plantas medicinais: um estudo exploratório no estado do Rio de Janeiro. **Revista Fitos**, v. 9, n. 1, p. 45-54, 2015.

BALOGUN, S. O.; SILVA JR, I. F.; COLODEL, E. M.; OLIVEIRA, R. G.; ASCÊNCIO, S. D.; MARTINS, D. T. O. Toxicological evaluation of hydroethanolic extract os *Helicteres saca-rolha* A. St.-Hil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 2, n. 2, p. 1-7, 2014.

BARRETO, M.B.; GOMES, C.L.; FREITAS, J.V.B.; PINTO, F.C.L.; SILVEIRA, E.R.; GRAMOSA, N.V. Flavonoides e terpenoides de *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v. 6, n. 5, p. 675-679, 2013.

BASTOS, C.M.; D'AVILA O.P.; UMPIERRE, R.N.; FACCINI, L.S.; GONÇALVES, M.R.; HARZHEIM, E. O uso de larvicidas em água potável é seguro? **Revista brasileira de medicina de família e comunidade**, v. 11, n. 38, p. 1-5, 2016.

BHATT, S.; GETHING, P.W.; BRADY, O.J.; MESSINA, J.P.; FARLOW, A.W.; MOYES, C.L.; DRAKE, J.M.; BROWNSTEIN, J.S.; HOEN, A.G.; SANKOH, O.; MYERS, M.F.; GEORGE, D.B.; JAENISCH, T.; WINT, G.R.W.; SIMMONS, C.P.; SCOTT, T.W.; FARRAR, J.J.; HAY, S.I. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 1, p. 504, 507, 2013.

BOLZANI, V. S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. Campinas, São Paulo, Brasil. *Ciência e cultura online*, v.68, n.1, p.4-5, 2016.

BOVINI, M.G. Malvaceae s. str. Na reserve Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 2, p. 289-301, 2010.

BOVINI, M.G.; ESTEVES, G.; DUARTE, M.C.; TAKEUCHI, C.; KUNTZ, J. *Malvaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB156>>. Acesso em: 22 Set. 2015.

BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, n.4, p. 279-293, 2007.

BRANDÃO NETO, J.L.S. **O gênero Sida L. (Malvaceae) no estado de Pernambuco, Brasil**. 2014. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife- PE, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue**. Instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde/Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância em saúde. **Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Cadernos de Atenção Básica - n.º 21. 2 ed., 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das doenças transmissíveis. **Febre de chikungunya manejo público**. Brasília-DF, 2015.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Recomendações técnicas ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária para colaborar no combate ao Aedes aegypti e prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e infecção pelo vírus Zika**. Brasília-DF. 2016a. Disponível em: <<http://novoportal.anvisa.gov.br>> Acessado em 21 de nov. de 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana epidemiológica 37, 2016.** v. 47, n. 34, 2016b. Disponível em: <[http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/sala-de-situacao/2016-Dengue\\_Zika\\_Chikungunya-SE37.pdf](http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/sala-de-situacao/2016-Dengue_Zika_Chikungunya-SE37.pdf)> Acessado em 19 de dez. de 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Informe epidemiológico. Monitoramento dos casos de microcefalia no Brasil, até a Semana epidemiológica 48, 2016.** 2016c. Disponível em; <[http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/pdf/informe\\_microcefalia\\_epidemiologico55.pdf](http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/pdf/informe_microcefalia_epidemiologico55.pdf)> Acessado em 19 de dez. de 2016.

BUCHHOLZ, H.; WIRTH, C.; CAROLA, C.; ALVES FONTES, R. **Flavonoid derivative.** U.S. Patent 20070134172 A1, 2007.

CABRAL, S.S. **Atividade larvicida do extrato bruto de *Swinglea glutinosa* evidenciada pelas alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae).** Dissertação (Mestrado em Biologia da relação Parasito-Hospedeiro) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2015.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.

CARVALHO, G.H.F. **Atividade inseticida do extrato bruto etanólico de *Persea americana* (Lauraceae) sobre larvas e pupas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae).** Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2011.

CASIMIRO JR., F.; CHAVES, O. S.; FERNANDES, M. M. M. S.; AGRA, M. F.; TELES, Y. C. F.; SOUZA, M.F. V. “**Substâncias isoladas de *Pavonia cancellata* (L.) (Malvaceae)**”. 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia/SP, 25 a 28 de maio de 2013.

CAVALCANTE, J.M.S.; NOGUEIRA, T.B.S.S.; TOMAZ, A.C.A.; SILVA, D.A.; AGRA, M.F.; SOUZA, M.F.V.; CARVALHO, P.R.C.; RAMOS, S.R.; NASCIMENTO, S.C.; GONÇALVES-SILVA, T. Steroidal and phenolic compounds from *Sidastrum paniculatum* (L.) Fryxell and evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 846-849, 2010.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. **Mosquito Main aquatic habitats – Dengue.** 2012. Disponível em [www.cdc.gov/dengue/entomologyEcology/m\\_habitats.html](http://www.cdc.gov/dengue/entomologyEcology/m_habitats.html). Acessado em Nov. de 2016.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. **Mosquito life ciclo – Dengue.** 2016. Disponível em <<https://www.cdc.gov/zika/pdfs/mosquitolifecycle.pdf>> Acessado em 20 de Set. de 2016a.

CDC – Center for Disease Control and Prevention. **Countries and territories where chikungunya cases have been reported (as of April 22, 2016)**. Disponível em <[https://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/chik\\_world\\_map\\_04-22-16.pdf](https://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/chik_world_map_04-22-16.pdf)> Acessado em 20 de Set. de 2016b.

CHATURVEDULA, V.S.P.; PRAKASH, I. Isolation of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol from the dicloromethane extract of *Rubus suavissimus*. **Internacional Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, n. 9, p. 239-242, 2012.

CHAVES, M.H.; BARBOSA, A.S.; MOITA NETO, J.M.; PIMENTEL, S.A.; LAGO, J.H.G. Caracterização química do óleo de amêndoa de *Sterculia striata* St. Hil et Naud. **Química nova**, v. 27, n. 3, p. 404-408, 2004.

CHAVES, O.S.; GOMES, R.A.; TOMAZ, A.C.A., FERNANDES, M.G.; MENDES JUNIOR, L.G.; AGRA, M.F.; BRAGA, V.A.; SOUZA, M.F.V. Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone. **Molecules**, 18(3), 2769-2777, 2013.

CHAVES, O. S. **Estudo fitoquímico e antimicrobiano de duas espécies de Malvaceae: Pavonia malacophylla (Link & Otto) Garcke e Sida rhombifolia L.** 2016. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2016.

CHAVES, O.S.; TELES, Y.C.F.; MONTEIRO, M.M.O; MENDES JUNIOR, L. G; AGRA. M.F; BRAGA. V.A.; SARMENTO SILVA, T.M and SOUZA., M.F.V. **Alkaloids and Phenolic Compounds from Sida rhombifolia L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids.** *Molecules*, v. 22, n. 94, p. 1-9, 2017.

CHEN, W.; TANG, W.; LOU, L.; ZHAO, W. Pregnane, coumarin and lupine derivatives and cytotoxic constituents from *Helicteres angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 2006, p. 1041-1047, 2006.

CHEN-ZONG, T.; LEE, S.W.; CHEN-CHIU, M. Cucurbitacin B 2-Sulfate and Cucurbitacin Glucosides from the Root Bark of *Helicteres angustifolia*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, n. 11, p. 1605-1607, 2006.

COELHO, A.A.M; De PAULA, J.E.; ESPÍNDOLA, L.S. Atividade larvicida de Extratos Vegetais sobre *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), em condições de laboratório. **BioAssay**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2009.

COLAÇO, M.A.S. **Etnobotânica dos índios Pankararé, no Raso da Catarina – Bahia: uso e importância cultural de plantas da caatinga.** 2006. Dissertação (Mestrado em botânica) – Universidade Estadual de Feira de Santana - BA, 2006.

CORREIA-DA-SILVA, M.; SOUSA, E.; DUARTE, B.; MARQUES, F.; CARVALHO, F.; CUNHA-RIBEIRO, L.M.; PINTO, M.M. Flavonoids with an oligopolysulfated moiety: a new class of anticoagulant agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.54, p.95–106, 2011.



COSTA, D. A ; CAVALCANTI, A. C. ; SILVA, D. A. E. ; CAVALCANTE, J. M. S.; MEDEIROS, M. A. A; LIMA, J. T. ; SILVA, B. A. ; AGRA, M. F; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* (H. Monteiro) (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O- $\beta$ -D-(6''-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. **Química Nova**, v.30, n.4, p. 901-903, 2007.

COSTA, D.A.; MATIAS, W.M.; Lima, I.O.; Xavier, A.L.; COSTA, V.B.M.; DINIZ, M.F.F.M.; AGRA, M.F.; BATISTA, L.M.; SOUZA, M.F.V.; SILVA, D.A. First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v.32, n.1, p. 48-50, 2009.

COSTA, D.A.; CHAVES, M.H.; SILVA, W.C.S.; COSTA, C.L.S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. Et Naudin. **Acta amazônica**, v. 40, n. 1, p. 207-212, 2010.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P.N.N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: Estudos no laboratório nacional de oncologia experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

CRESPO, A.L.P; COSTA, R.O. **Investigação do efeito larvicida de extratos e da substância isolada da semente de *Bixa orellana* sobre *Aedes aegypti***. Monografia (Graduação Ciências da Natureza) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense. Campos dos Goytacazes-RJ, 2013.

CRUZ, F. R. **Sterculiaceae Vent. no Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Instituto de Botânica da Secretária de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, SP, 2007.

CRUZ, F.R.; ESTEVES, G.L. **Parte integrante da Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, vol. 6. ISBN 978-85-7523-057-2 (online), 2009. Sterculiaceae *In*: Martins, S.E., Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Giulietti, A.M., Melhem, T.S. (eds.) Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 6, pp: 257-284.

CRUZ, R.C.D.; CARVALHO, K.S.; SILVA, S.L.C.; GUALBERTO, S.A. Avaliação da atividade larvicida de extratos aquosos e do hidrolato obtidos das folhas de *Croton argyrophyllus* sobre o *Aedes aegypti*. **Enciclopédia Biosfera, Centro científico conhecer**, Goiânia, GO, V. 11, N. 21, P. 2835-2841, 2015.

CRISTÓBAL, C. L. **Taxonomia del genero *Helicteres* (Sterculiaceae). revisión de las especies americanas**. **Bonplandia**, v. 11, n. 1-4, p. 1-206, 2001.

CRISTÓBAL, C. L.; GOLDBERG, A.; SAINT-HILAIRE, A. F.; SCHUMANN, K. M. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Sterculiaceae. **Boletim de Botânica da Universidade Federal de São Paulo**, v. 24, p. 107-113, 2006.

DARMALI, L; SILVA, C.B.; OCAMPOS, F.M.M.; BURCI, L.M.; NASCIMENTO, K.F.; JESUS, C.; DIAS, J.F.G.; DALLARMI, M.M.; GOMES, O.M.; ZANIN, S.M.W. Larvicidal activity of *Dalbergia brasiliensis* (Fabaceae-Papilioideae) on *Aedes aegypti*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, n. 35, p. 881-885, 2015.

DEWICK, P.M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3 ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009.

DIAS, G.O.C. **Estudo fitoquímico da raiz da espécie *Melochia chamaedrys* St. Hil.** 2005. Doutorado (Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2005.

EPA – United States Environmental Protection Agency (1992). **Mosquito control. Success in mosquito control: An integrated approach**, 2012. Disponível em: <<https://www.epa.gov/mosquitocontrol/success-mosquito-control-integrated-approach>> Acessado em 22 de Nov. de 2016.

FAUSTINO, A.R.C. **Preparação de novos triterpenóides semi-sintéticos**. 2015. Dissertação (Mestrado em Química Farmacêutica Industrial) – Universidade de Coimbra, Portugal, 2015.

FERNANDES, R.S. **Espacialização da dengue e os efeitos dos extratos de Anonáceas no controle do vetor *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em Tangará da Serra, Mato Grosso**. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade do Estado de Mato Grosso. Cáceres, MT, 2012.

FERNANDES, M.M.M.S. **Estudo fitoquímico pioneiro de *Pavonia cancellata* (L.) - Malvaceae**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2013.

FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade Antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal, 2013.

FONTOURA, F.M. **Atividade antifúngica de *Sterculia apetala* (Jacq.) Karst em áreas de ocorrência de *Anodorhynchus hyacinthinus* Latham no Pantanal de Miranda, MS**. 2013. Dissertação (Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional) – Universidade Anhanguera, Campo Grande, MS, 2013.

FRANÇA, L.P. **Avaliação da atividade larvicida de extratos e óleo essencial de *Piper capitarianum* Yunck, 1966 (Piperaceae) sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 e *Anopheles sp* (Culicidae) em laboratório**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas. Manaus-AM, 2015.

FUNARI, C. S.; CASTRO-GAMBOA, Ian.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1605-1609, 2013.

GALINA, K.J.; SAKURAGUI, C.M.; ROCHA, J.C.B.; LORENZETTI, E.R.; MELLO, J.C.P. Contribuição do estudo farmacognóstico de mutamba (*Grazuma ulmifolia* – Sterculiaceae). **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 2, p. 225-233, 2005.

GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F.R.; SILVA, L.M.G.E.; SARMENTO, U.C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Quím.** v. 5, n.3, p. 363-393, 2013.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. P. U. Metabolismo secundário de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GOMES, R.A., RAMIREZ, R.R.A., MACIEL, J.K.S., AGRA, M.F., SOUZA, M.F.V., FALCÃO-SILVA, V.S., SIQUEIRA-JUNIOR, J.P. Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A St.-Hil.) Fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-di-O-methylisoscutearein as modulator of bacterial drug resistance. **Química Nova**, v.34, p.1385–1388, 2011.

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

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

GUARIDO, M.M. *Atividade inseticida de extratos e nnona foetida Mart. (Annonaceae) sobre imaturos de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)*. Dissertação (Ciências Biológicas) – Universidade do Paraná, Curitiba, PR, 2009.

GUSSONI, A.C.P.; SILVA, I.G.; GERIS, R.; CUNHA, L.C.; SILVA, H.H.G. Larvicidal activity of *Anacardium occidentale* as an alternative to control *Aedes aegypti* and its toxicity in *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 363-367, 2013.

GUO, X.D.; AN, L.K.; XI, D.; MA, L.; GU, L.Q. Chemical constituents of *Helicteres angustifolia* Linn. **Acta Sci Nat Univ Sunyatseni**, v. 42, n. 2, p. 52-55, 2003.

HADDOW, A.D.; SCHUNH, A.J.; YASUDA, C.Y.; KASPER, M.R.; HEANG, V.; HUY, R.; GUZMAN, H.; TESH, R.B.; WEAVER, S.C. Genetic characterization of Zika virus strains: Geographic expansion of the Asian lineage. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 2, p. 1-7, 2012.

HOSSAIN, R.; SULTANA, R.; CLOUDHARY, M.I.; ZAMAN, S. Xanthone from the fruits of *Terminalia arjuna*. **Journal of Scientific Research**, v.8, n.1, p. 49-54, 2016.

HUANG, Q.; HUANG, R.; WEI, L.; CHEN, Y.; LV, S.; LIANG, C.; ZHANG, X.; YIN, F.; LI, H.; ZHUO, L.; LIN, X. Antiviral activity of methyl helicterate isolated from *Helicteres angustifolia* (Sterculiaceae) against hepatitis B virus. **Antiviral Research**, v. 100, n. 1, p 373-381, 2013.

JOHANN, S. *Atividade antimicrobiana de flavonóides polimetoxilados isolados de frutos cítricos*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2003.

KAMIYA, K.; SAIKI, Y.; HAMA, T.; FUJIMOTO, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. Flavonoid glucuronides from *Helicteres isora*. **Phytochemistry**, v. 57, n. 2, p. 297-301, 2001.

KRAEMER, M.U.G.; SINKA, M.E.; DUDA, K.A.; MYLNE, A.Q.N.; SHEARER F.M.; BARKER, C.M.; MOORE, C.G.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E.; BORTEL, W.V.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; ELYAZAR, I.R.F.; TENG, H.J.; BRADY, O.J.; MESSINA, J.P.; PIGOTT, D.M.; SCOTT, T.W.; SMITH, D.L.; WINT, G.R.W.; GOLDING, N.; HAY, S.I. The global distribution of the arbovirus vectores *Aedes aegypti* and *Ae albopictus*. **eLife**, p. 1-18, 2015.

KUMAR, N.; SINGH, A. K. Plant profile, phytochemistry and pharmacology of Avartani (*Helicteres isora* Linn.): A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 1. p. 22-26, 2014.

LIMA, J.B.; CONCEIÇÃO, A.S. Malvoideae Burnett (Malvaceae) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Jeremoabo, Bahia, Brasil. In: **V Workshop Rio São Francisco: cultura, identidade e desenvolvimento**. Anais eletrônicos. Paulo Afonso, BA, 2013. Disponível em: <<http://www.ppdru.unifacs.br/docs/workshopping-sao-francisco/ARTIGO-2.pdf>> Acessado em 22 de Nov. de 2016.

LOGANAYAKI, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L. **Journal of food science and technology**, v. 50, n. 4, p. 687-695, 2013.

MACIEL, J.K.S.; CHAVES, O.S.; ASSIS, T.S.; FERNANDES, P.D.; ANDRADE, A.P.; FELIX, L.P.; SILVA, T.M.S.; RAMOS, N.S.M.; SILVA, G.R.; SOUZA, M.F.V. New Alcamide and Anti-oxidant Activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). **Molecules**, v. 21, n.11, p. 1-13, 2016.

MATOS, F. J. A.. **Introdução à química experimental**. Edições UFC, Fortaleza – CE, 3ª edição, 150p, 2009.

MAZZOTTI, M.R.R.M.; LIMA, J.B. ARAÚJO, T.A.; TELES, Y.C.F.; CONCEIÇÃO, A.S.; SOUZA, M.F.V. Constituintes fenólicos de *Pavonia glazioviana* GÜRKE: estudo fitoquímico pioneiro. In: **X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia**, Juazeiro da Bahia –BA, 2015. Disponível em: <[http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos\\_anais/qum621.pdf](http://www.plamevasf.univasf.edu.br/arquivos_anais/qum621.pdf)> Acessado em 22 de Nov. de 2016.

McDONALD, B.R.; SCHEIDT, K.A. Pyranone Natural Products as Inspirations for Catalytic Reaction Discovery and Development. **Acc.Chem.Res.** v. 48, n. 1, p. 1172–1183, 2015.

MENDES, C.C.; CRUZ, F.G.; DAVID, J.M.; NASCIMENTO, I.P.; DAVID, J.P. Triterpenos esterificados com ácidos graxos e ácidos triterpênicos isolados de *Byrsonima microphylla*. **Química Nova**, v. 22, n.2, p. 185-188, 1999.

MONTEIRO, L.C.C.F.; ARAÚJO, E.I.M.; OLIVEIRA, A.M.S.; ALVES, L.A.; BERTINI, L.M. Atividade antioxidante, teor de fenóis e atividade larvicida ao *Aedes aegypti* de *Vitex gardneriana* Schauer. **Blucher Chemistry Poceedings**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2015.

MOREIRA, P.F.S.D.; RODRIGUES FILHO, G.; FUSCONI, R.; JACOBUCCI, D.F.C. Abioquímica do candomblé – Possibilidades didáticas de aplicação da Lei Federal 10639/03. **Química nova na escola**, v. 33, n. 2, p. 85-92, 2011.

MUQARRABUN, L.M.R.A.; AHMAT, N. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of Family Sterculiaceae: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 514-530, 2015.

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

NOUR, A.H.; SANDANASAMY, J.D.; NOUR, A.H. Larvicidal activity of extracts from diferente parts of Neem (*Azadirachta indica*) against *Aedes aegypti* mosquitoes' larvae. **Scientific Research and Essays**, v. 7, n. 31, p. 2810-2815, 2012.

NUNES, F.C. **Estudo da atividade larvicida da *Agave sisalana* contra larvas de *Aedes aegypti***. 2013. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa- PB, 2013.

NUNES, F.C.; LEITE, J.A.; OLIVEIRA, L.H.G.; SOUSA, P.A.P.S.; MENEZES, M.C.; MORAES, J.P.S.; MASCARENHAS, S.R.; BRAGA, V.A. The larvicidal activity of *Agave sisalana* against L4 larvae of *Aedes aegypti* is mediated by internal necrosis and inhibition of nitric oxide production. **Parasitol Res.** v. 114, p. 543-549, 2015.

OLIVEIRA, D. A.; MOREIRA, P. A.; MELO JR, A. F.; PIMENTA, M. A. S. Potencial da biodiversidade vegetal da Região Norte do estado de Minas Gerais. **Unimontes Científica**, v. 8, n. 1, p. 23-33, 2006.

OLIVEIRA, F.C.S.; BARROS, R.M.F.; MOITA NETO, J.M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 282-301, 2010.

OLIVEIRA, K. A. M.; OLIVEIRA, G. V.; BATALINI, C.; ROSALEM, J. A.; RIBEIRO, L. S. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 211-222, 2012a.

OLIVEIRA, A. M. F., PINHEIRO, S. L., PEREIRA, C. K., MATIAS, W. N., GOMES, R. A., CHAVES, O. S., SOUZA, M. F. V., ALMEIDA, R. N., ASSIS, T. S. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. **Antioxidants**, v.1, p. 33-43, 2012b.

OLIVEIRA, L. F. G.; GILBERT, B.; VILLAS-BÔAS, G. K. Oportunidades para inovação no tratamento da leishmaniose usando o potencial das plantas e produtos naturais como fontes de novos fármacos. **Revista Fitos**, v. 8, n. 1, p. 33-42, 2013.

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

OLIVEIRA, G.P.; SILVA, S.L.C.; GUALBERTO, S.A.; CRUZ, R.C.D.; CARVALHO, K.S. Atividade larvicida do extrato etanólico da raiz de *Croton linearifolius* sobre *Aedes aegypti*. **Encicloédia Biosfera, centro científico conhecer**, Goiânia, GO, v. 10, n. 18, p. 442-448, 2014.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à Espectroscopia**, Cengage, 4 ed, p. 716, 2010.

PEREIRA JUNIOR, R.J.; **Estudo fitoquímico de *Stachytarpheta sessilis* Moldenk.** 138 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

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

PEREIRA, A.I.S.; PEREIRA, A.G.S.; LOPES SOBRINHO, O.P.; CANTANHEDE, E.K.P.; SIQUEIRA, L.F.S. Antimicrobial activity in fighting mosquito larvae *Aedes aegypti*: Homogenization of essential oils of linalool and eugenol. **Educación Química**, v. 25, n. 4, p. 446-449, 2014.

PEREIRA, I. S. P.; RODRIGUES, V. F.; VEGA, M. R. G. Flavonoides do Gênero *Solanum*. **Rev. Virtual Quim.**v. 8, n. 1, p. 4-26, 2016.

PONTUAL, E.V. **Extrato de flores de *Moringa oleífera*: Atividade larvicida e efeito sobre tripsina e acetilcolinesterase de larvas de *Aedes aegypti*.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife – PE, 2010.

PORDEUS, S.M. **Estudo taxonômico e síndrome de dispersão de Malvoideae Burnett (Malvaceae) no agreste Paraibano, Nordeste do Brasil.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ecologia e conservação) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 2016.

PUGLIESE, A.G. **Compostos fenólicos do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e do cupulate: Composição e possíveis benefícios.** 2010. Dissertação (Ciências dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2010.

REID, K.A.; JAGER, A.K.; LIGHT, M.E.; MULHOLLAND, D.A.; STADEN, J.V. Phytochemical and pharmacological screening of Sterculiaceae species and isolation of antibacterial compounds. **Journal of ethnopharmacology**, v. 97, n1, p. 285-291, 2005.

REGINATO, F. Z., SILVA, A. R. H., BAUERMAN, C. L. F. Avaliação do uso de flavonoides no tratamento da inflamação. **Revista Cubana de Farmacia.** 2015; v. 49, n. 3, p. 569-582, 2015.

RODRIGUEZ, S.D.; DRAKE, L.L.; PRICE, D.P; HAMMOND, J.I.; HANSEN, I.A. The Efficacy of Some Commercially Available Insect Repellents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Insect Science.** v. 15, n. 1, p. 1-5, 2015.

ROLIM, Y.M. **Estudo Fitoquímico de *Waltheria viscosíssima* (Malvaceae)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Produtos naturais e sintéticos bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2015.

SANTANA, H.T. **Estudo fitoquímico de *Piper alatabaccum* Trel & Yunck, 1950 e avaliação da atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) em condições de campo simulado**. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) – Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho-RO, 2012.

SANTOS, M.L.; ARAÚJO, E.M.; BATISTA, A.R. Plantas medicinais usadas pelos índios Kambiwá Ibimirim-PE. **Revista brasileira de informações científicas**, v. 1, n. 1, p. 78-85, 2010.

SANTOS, R.A.F. **Avaliação das propriedades biológicas dos Derivados sintéticos do  $\beta$ -sitosterol e triterpenos**. 2010. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA, 2010.

SANTOS, M.A.S. **Isolamento e síntese de derivados de ácidos triterpênicos e esteroides e avaliação da ação de inibição de proteases**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA, 2011.

SANTOS, E. A.; CARVALHO, C. M.; COSTA, A. L. S.; CONCEIÇÃO, A. S.; MOURA, F. B. P.; SANTANA, A. E. G. 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. 1, n.1, p.1-9, 2012.

SANTOS, M.A.S. **Síntese de ésteres derivados de triterpenos e Esteroides com potencial atividade biológica**. 2015. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA, 2015a.

SANTOS, D.B. **Atividade larvicida da copaifera langsdorffii (Leguminosae), evidenciada pelas alterações morfohistológicas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)**. Dissertação (Mestrado Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2015b.

SCHAFFNER, F.; MATHIS, A. Dengue and dengue vectors in the WHO European region: past, presente, and scenarios for the future. **Lancet Infect Dis**. v. 14, p. 1271- 1280, 2014.

SEEBACHER, W.; SIMIC, N.; WEIS, R.; SAF, R.; KUNERT, O. Complete assignments of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  resonances of oleanolic acid, 18 $\alpha$ -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives. **Magnetic Resonance in Chemistry**. v. 41, p. 636, 2003.

SILVA, D.A.; SILVA, T.M.S.; LINS, A.C.S.; COSTA, D.A.; CAVALCANTE, J.M.S.; MATIAS, W.N.; SOUZA, M.F.V.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Quím. Nova**, 29, 6, pp. 1250-1256, 2006.

SILVA, G. E. A.; LIMA, R.N.; LANDA, G. G. Aspectos ecológicos de *Helicteres Sacarolha* ST.HIL. (Sterculiaceae) em um fragmento de mata urbana do município de Belo Horizonte, MG. **In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil**. Anais eletrônicos. Caxambu, MG, 2007. Disponível em: <<http://www.seb-ecologia.org.br/viiiiceb/pdf/949.pdf>>. Acesso em 08 jan. 2016.

SILVA, H.H.G.; GERIS, R.; RODRIGUES FILHO, E.; ROCHA, C.; SILVA, I.G. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Abrazilium medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinoideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p.264-267, 2007.

SILVA, C. A.; FERREIRA, D. S.; KOCH, A. K.; ARAÚJO-SILVA, L. E. Variação na arquitetura floral e sucesso reprodutivo de duas espécies de *Helicteres* (Malvaceae), na região sudoeste de Mato Grosso. **Acta Botânica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 462-468, 2010.

SILVA, M. L. **Obtenção de derivados químicos de produtos naturais empregando catálise convencional e enzimática**. 2012. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, 2012.

SILVA, E.E.S. **Estudo fitoquímico e atividade biológica *in vitro* de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina- PE, 2013.

SILVA, M.R.M. **Malvaceae s.l. Juss. Serra Negra, Minas Gerais, Brasil**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ecologia aplicada ao manejo e conservação de recursos naturais) – Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, MG, 2014.

SILVA, S.L.C; GUALBERTO, S.A.; CARVALHO, K.S.; FRIES, D.D. 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. 2, p. 79-85, 2014.

SIMAS, N.K.; LIMA, E.C.; CONCEIÇÃO, S.R.; KUSTER, R.M.; OLIVEIRA FILHO, A.M. Produtos naturais para o ontrole da transmissão da dengue – Atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETRVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis, 6. ed., Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2010.

SOARES, R.S. **Estudo fitoquímico de *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub. (Fabaceae)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2012.

SOUZA, M. F. V.; SILVA, D. A. 2006. **Extração, isolamento e reações de caracterização de constituintes químicos**. *in*: Almeida, R.N. Psicofarmacologia, fundamentos práticos. 6, pp. 76-88, 2006.



SOUZA, F. H. T. **Fitoquímica de *Borreria verticillata* (L.) G. MEY., *Borreria ocymoides* (BURM. F.) DC. e *Richardia brasiliensis* (Rubiaceae).** 2013. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2013.

TELES, Y.C.F.; HORTA, C.C.R; AGRA, M.F.; SIHERI, W.; BOYD, M.; IGOLI, J.O.; GRAY A. I.; SOUZA, M.F.V. New Sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). **Molecules**, v. 20, p. 20161- 20172, 2015.

TELES, Y. C. F. **Estudo fitoquímico de *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae) e desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação do seu marcador químico.** Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2015.

TIEW, P.; IOSET, J.R.; KOKPOL, U.; CHAVASIRI, W.; HOSTETTMANN K. Antifungal, antioxidant and larvicidal activities of compounds isolated from the heartwood of *Mansonia gagei*. **Phytotherapy research**, v. 17, n. 1, p. 190-193, 2003.

TORRES, R.C.; GARBO, A.G.; WALDE, R.Z.M. Larvicidal activity of *Persea americana* Mill. Against *Aedes aegypti*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicina**, v. 7, n. 1, p. 167-170, 2014.

TRINDADE, F.T.T. **Avaliação do potencial larvicida de *Garcinia gardneriana* (Bacuri) e sua relação com características do Habitat larval de *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) em laboratório.** Dissertação (Biologia Experimental) – Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho – RO, 2012.

VARJÃO, R. R.; JARDIM, J. G.; CONCEIÇÃO, A. S. Rubiaceae Juss. De catinga na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 2, p. 105-123, 2013.

VIEGAS Jr., C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WANG, G. C.; LI, T.; WEI, Y. R.; ZHANG, Y. B.; LI, Y. L.; SZE, S. C. W.; YE, W. C. Two pregnane derivatives and a quinolone alkaloid from *Helicteres angustifolia*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 2012, p. 1643-1647, 2012.

WHO - World Health Organization. **Insecticide resistance and vector control.** WHO Technical Reports Series. WHO, Geneva, 1970.

WHO - World Health Organization. **Guidelines for Efficacy testing of Spatial repellents. Control of neglected tropical diseases. Who pesticide evaluation scheme.** WHO/CDS/CPC/MAL/13.12., Geneva, 58 pp, 2013.

ZARA, A.L.S.A.; SANTOS, S.M.; OLIVEIRA, E.S.F.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 25, n.2, p. 391- 404, 2016.