



Universidade de Brasília

Faculdade de Ciências da Saúde

Departamento de Farmácia

CAMILA DE MOURA GUIMARÃES

**Isolamento de diterpenos de *Plathymenia reticulata* Benth. com  
atividade larvicida em *Aedes aegypti***

Brasília

2019

CAMILA DE MOURA GUIMARÃES

**Isolamento de diterpenos de *Plathymenia reticulata* Benth. com  
atividade larvicida em *Aedes aegypti***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Departamento de Farmácia, como parte dos  
requisitos necessários à obtenção do título de  
Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Laila Salmen Espindola

Co-orientador: Dr. Gustavo Claro Monteiro

Brasília

2019

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Camila de Moura Guimarães

**Isolamento de diterpenos de *Plathymenia reticulata* Benth. com atividade larvicida em *Aedes aegypti***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmácia, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

---

Profa. Dra. Laila Salmen Espindola (Presidente)

---

Dr. Daniel Pecoraro Demarque (Membro avaliador)

Brasília

2019

Dedico este trabalho a todos que de alguma forma fizeram parte da minha jornada até o presente momento.

“Eu ainda estava esperando por coisas maiores por vir, mas agora estou feliz que acabou, e que eu superei isso.”

Anna-Varney Cantodea

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, em especial à minha mãe, por acreditar em mim mesmo quando eu não apresentava motivos para tal, e pelas cobranças que me tornaram uma pessoa mais forte.

À Mariana Marques, por ter me acompanhado desde o meu primeiro dia na UnB, pela paciência e por não desistir de mim, por ser a melhor melhor amiga que existe e ser minha pessoa.

A Francisco (Danilo), por ser um ótimo amigo, fazendo jus ao seu título, por ser meu co-orientador extraoficial, pelos momentos valiosos que ficarão na minha memória.

A Rafael Zerbini, Pedro Henrique e Rafael Oliveira, pela amizade, conversas e diversão, vocês são sensacionais.

À professora Laila, por confiar em mim para fazer parte de sua equipe.

Ao doutor Gustavo Monteiro, por me auxiliar nos processos práticos e por me ensinar a fazer café.

À equipe do Laboratório de Farmacognosia, por deixarem o trabalho laboratorial mais divertido.

## RESUMO

Arboviroses são doenças que têm como característica a necessidade de um vetor artrópode para sua transmissão. Entre tais, se encontram doenças emergentes e reemergentes, como dengue, zika, febre amarela e chikungunya, as quais têm como principal vetor o mosquito *Aedes aegypti*. Atualmente, a principal forma de controle das arboviroses é o controle dos vetores das mesmas. Neste contexto, se faz necessário o desenvolvimento de novos métodos de controle, mais eficazes e menos nocivos ao meio ambiente, o que inclui o desenvolvimento de bioinseticidas a partir de plantas. Neste trabalho, foi testado o extrato Arbo0538 em larvas de *Aedes aegypti* e realizado o fracionamento químico bioguiado. Dois compostos larvicidas, (1) e (2), foram isolados.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Países adequados para vida e reprodução de <i>Aedes aegypti</i> .....	12
<b>Figura 2</b> Ciclo de vida dos mosquitos <i>Aedes aegypti</i> .....	13
<b>Figura 3</b> Casos de dengue, chikungunya e Zika no mundo em 2005, 2010 e 2015.....	14
<b>Figura 4</b> Ocorrência de febre amarela no mundo até 2018.....	16
<b>Figura 5</b> Ocorrência de Zika no mundo até 2018 .....	18
<b>Figura 6</b> Ocorrência de chikungunya no mundo até 2018.....	20
<b>Figura 7</b> Ocorrência de dengue no mundo até 2018.....	22
<b>Figura 8</b> Distribuição do Cerrado no território brasileiro .....	26
<b>Figura 9</b> (a) <i>Plathymenia reticulata</i> Benth. (b) Folhas (c) Caule.....	28

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CCC	Cromatografia em coluna clássica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	<i>Correlation spectroscopy</i>
DCM	Diclorometano
DENV	Vírus da dengue
DMSO	Dimetilsulfóxido
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
1.1. <i>Aedes aegypti</i> .....	12
1.2. ARBOVIROSES .....	14
1.2.1. FEBRE AMARELA .....	15
1.2.2. ZIKA .....	17
1.2.3. CHIKUNGUNYA .....	20
1.2.4. DENGUE .....	21
1.3. CONTROLE DO VETOR .....	24
1.4. CERRADO .....	25
1.5. FABACEAE .....	27
1.6. <i>Plathymenia reticulata</i> Benth. ....	27
2. OBJETIVOS .....	30
2.1. OBJETIVO GERAL .....	30
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	31
3.1. PRÉ-FRACIONAMENTO POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (EFS-DIOL) .....	31
3.2. ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD) .....	31
3.3. FRACIONAMENTO POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA CLÁSSICA (CCC) .....	31
3.4. ANÁLISE E SEPARAÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) .....	32
3.5. ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) .....	32

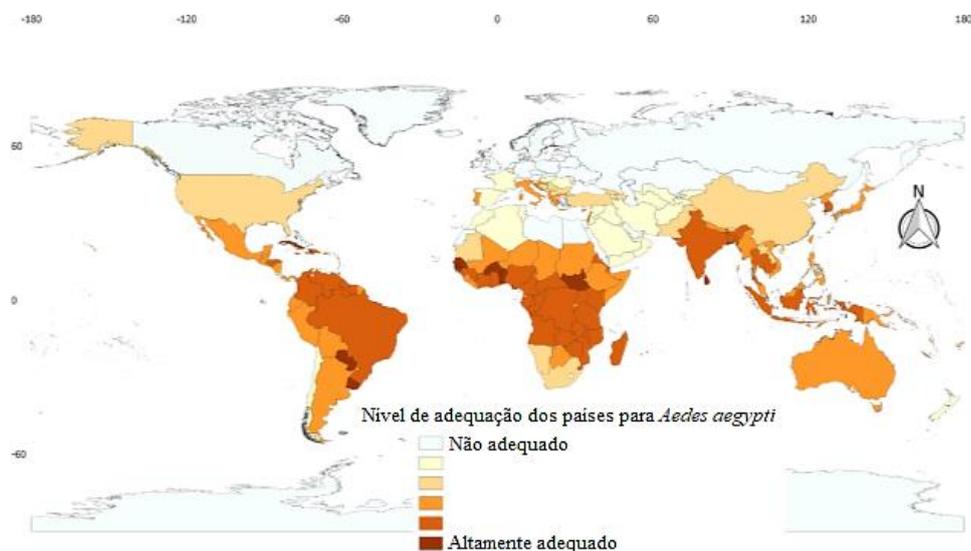
3.6.	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA .....	33
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. *Aedes aegypti*

O *Aedes aegypti* é o principal vetor de arboviroses que ameaçam a humanidade, sendo historicamente conhecido como tal (SOUZA-NETO; POWELL; BONIZZONI, 2019). Este mosquito pertence à ordem Diptera e família Culicidae, e possui uma característica marcante, que são listras brancas nas pernas e no corpo (MATTHEWS, 2019).

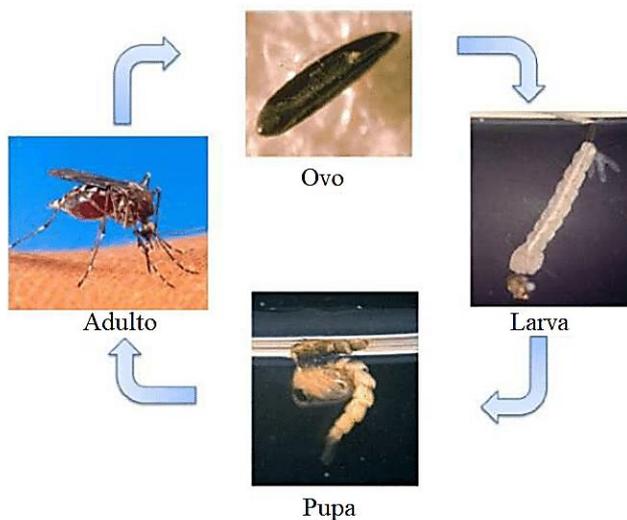
Os habitats ideais do *Aedes aegypti* são regiões tropicais e subtropicais (**Figura 1**), se limitando a temperaturas altas, visto que a espécie não se adapta bem a temperaturas baixas (LIU et al., 2019; VALDEZ; SIBONA; CONDAT, 2018). Por esse fator, o aquecimento global é uma grande preocupação no que diz respeito à disseminação de arboviroses transmitidas pelo mosquito em questão, pela possibilidade da criação de mais áreas propícias a focos (LIU-HELMERSSON et al., 2019; LIU et al., 2019)



**Figura 1** Países adequados para vida e reprodução de *Aedes aegypti* e seus níveis de adequação (Fonte: Adaptado de LETA et al., 2018).

O ciclo deste mosquito inclui, após a eclosão do ovo, quatro estádios de larva e um estágio de pupa, para, então, a emergência do mosquito adulto (**Figura 2**) (DENYSIUK et al., 2016).

Quanto aos hábitos alimentares de *Aedes aegypti* adultos, machos e fêmeas são diferentes. Machos se alimentam exclusivamente de seiva e açúcar, enquanto fêmeas precisam se alimentar de sangue para efetuar a oviposição, como parte do ciclo gonadotrófico. (MATTHEWS, 2019; MINISTÉRIO DA SAÚDE, [s.d.]). Apenas fêmeas possuem a capacidade de transmitir arbovírus, pois apenas elas se alimentam de sangue (HALL et al., 2015). A infecção do mosquito ocorre quando o mesmo pica um humano em período de viremia (MATTHEWS, 2019).



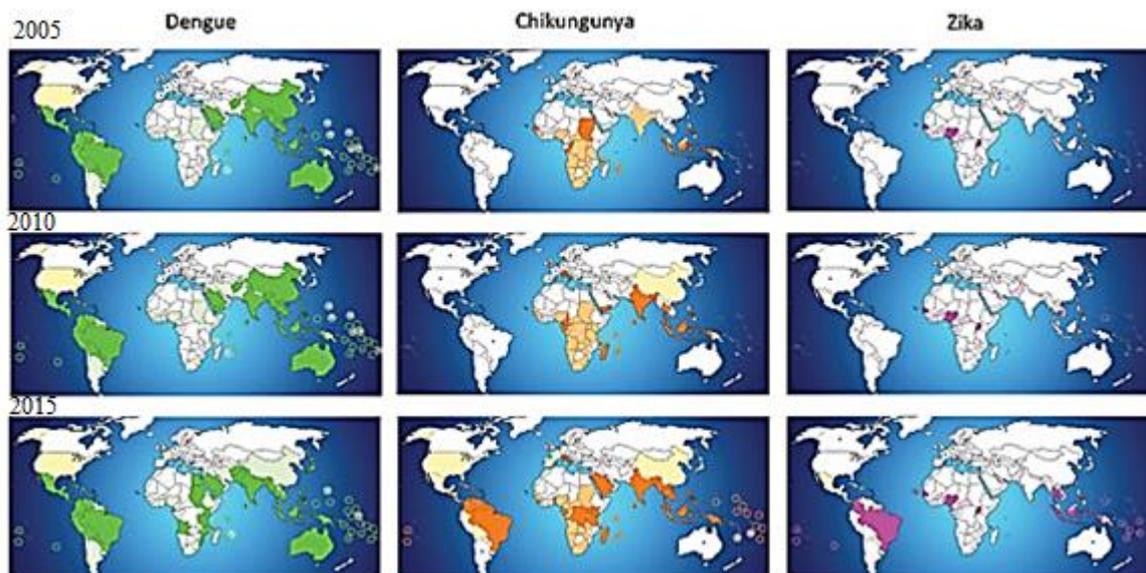
**Figura 2** Ciclo de vida dos mosquitos *Aedes aegypti* (Fonte: Adaptado de DENYSIUK et al., 2016).

O *Aedes aegypti* se adaptou tão bem a humanos que criou hábitos domésticos, como a preferência por se alimentar de sangue humano (comportamento antropofílico) e pelo uso de reservatórios artificiais de água para oviposição (BROWN et al., 2014; PANDIYAN;

MATHEW; MUNUSAMY, 2019). Além de ser vetor das arboviroses dengue, febre amarela, zika e chikungunya, essa espécie de mosquito é invasiva, portanto, deve ser cuidadosamente monitorada (BROWN et al., 2014; LEPARC-GOFFART et al., 2014).

## 1.2.ARBOVIROSES

Nos últimos anos múltiplos surtos de arboviroses emergentes foram documentados em todo o mundo, predominantemente em áreas tropicais (**Figura 3**). Este grupo de doenças infecciosas chamou a atenção da comunidade global de saúde devido ao potencial de epidemias em grande escala (CEVALLOS et al., 2018). O nome da classe desses vírus de RNA se dá devido a uma parte de seu complexo ciclo, que depende de artrópodes, seus vetores, sendo assim, do inglês “*arthropod-borne virus*” (MAYER; TESH; VASILAKIS, 2017).



**Figura 3** Casos de dengue, chikungunya e zika no mundo em 2005, 2010 e 2015 (Fonte: Adaptado de CAO-LORMEAU, 2016).

Um dos fatores que contribuem atualmente para a proliferação de arbovírus é a criação de ambientes favoráveis aos vetores, como locais com grande fluxo urbano, que disponibilizam tanto alimento como habitats propícios à proliferação (WEAVER; REISEN, 2010). O gênero de vetor de maior importância, na atualidade, é o de mosquitos *Aedes*, no qual estão presentes *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, principais transmissores de arboviroses a humanos (AGARWAL; PARIDA; DASH, 2017). Tais vetores vêm conseguindo se espalhar para o mundo desde a antiguidade, a partir das primeiras explorações, do início do desmatamento de matas, e do uso de navios para transporte de escravos africanos (GUBLER, 2006).

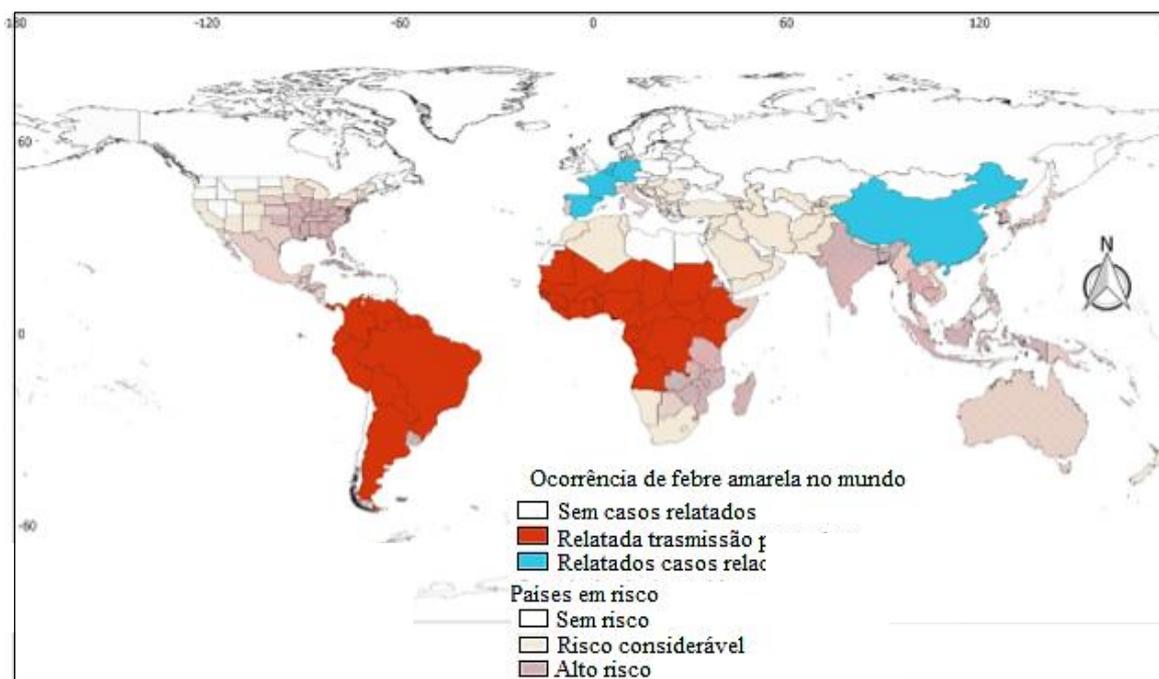
Pelo menos 500 tipos diferentes de arbovírus estão registrados atualmente, e este número tende a apenas subir, embora a maioria não seja patógeno em seres humanos (MARCHI; TROMBETTA; MONTOMOLI, 2018). Os mais relevantes para a saúde humana na atualidade, que afetam ambos os hemisférios do globo e possuem os mosquitos *Aedes* como vetores, são os vírus da febre amarela (YFV), dengue (DENV), chikungunya (CHIKV), e zika (ZIKV) (GOULD et al., 2017). Os arbovírus citados são típicos de climas tropicais, porém, com a constante migração humana, a urbanização e as aumentadas taxas de desmatamento, a propagação de seus vetores, e, conseqüentemente, desses vírus, é facilitada (AGARWAL; PARIDA; DASH, 2017; GRATZ, 2004). Para esses arbovírus, ainda não há tratamentos ou prevenções específicas, ou as mesmas são inviáveis por não englobarem todos os sorotipos existentes.

### 1.2.1. FEBRE AMARELA

O vírus da febre amarela é um flavivírus da família Flaviviridae, cujo ciclo natural envolve mosquitos e macacos, em uma transmissão enzoótica, eventualmente chegando a

contaminar humanos, mas, com a domesticação do *Aedes aegypti*, pode chegar a áreas urbanas, causando graves epidemias (GUBLER, 2002).

A doença é endêmica das florestas tropicais da África e da América Latina, embora tenham sido relatados diversos surtos ao redor do mundo (**Figura 4**), como o da Filadélfia / Estados Unidos em 1793, que chegou a matar 9% da população (LITVOC; NOVAES; LOPES, 2018), e o de Sevilha / Espanha em 1800, que foi responsável por 51.000 mortes na cidade (MORILLON; MAFART; MATTON, 2002).



**Figura 4** Ocorrência de febre amarela no mundo até 2018 (Fonte: Adaptado de LETA et al., 2018).

Apenas metade dos pacientes infectados pelo vírus apresenta manifestações sintomáticas (LITVOC; NOVAES; LOPES, 2018). Os sintomas iniciais são febre alta, mialgia, dor de cabeça, falta de apetite, hepatite e enjoos; com a progressão da doença, ocorre piora dos sintomas iniciais, adicionados a hepatite com icterícia (o que dá o nome da doença,

por deixar a pele dos pacientes amarelada), vômitos e sinais hemorrágicos (MORILLON; MAFART; MATTON, 2002). Em média 40% dos casos terminam em morte do paciente, tendo como possíveis causas a gravidade da hepatite em casos de elevada carga viral, falência múltipla de órgãos e choque circulatório (MONATH; VASCONCELOS, 2015).

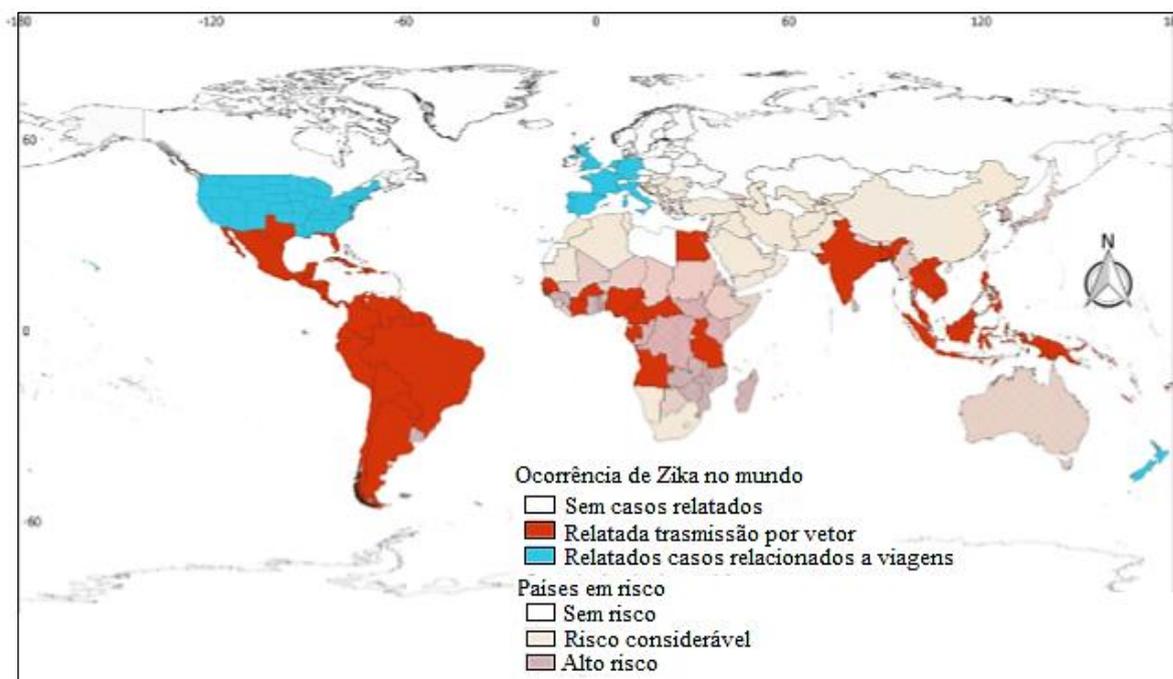
A febre amarela é uma das únicas arboviroses que possuem uma vacina com eficácia comprovada (HEINZ; STIASNY, 2012). Porém, apesar da existência da vacina e das campanhas de vacinação, continuam sendo relatados novos surtos da doença (DOUAM; PLOSS, 2018).

### 1.2.2. ZIKA

O vírus Zika (ZIKV), causador da arbovirose de mesmo nome, é um flavivírus pertencente à família Flaviviridae (BESNARD et al., 2014). Foi isolado pela primeira vez em 1947 em macacos da floresta de Zika, na Uganda, o que deu nome ao vírus (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). O ZIKV foi considerado como infectante apenas de macacos, até ser detectado pela primeira vez em humanos em 1954, na Nigéria (MACNAMARA, 1954). Desde então, a doença Zika em humanos se tornou algo corriqueiro, com a existência de casos isolados, mas sem maiores pesquisas para prevenção e tratamento, até 2007, quando ocorreu uma grande epidemia na Micronésia, que infectou aproximadamente 75% da população (OEHLER et al., 2014).

Os principais surtos de Zika ocorreram na África, Ásia e Brasil, embora outros países tenham relatado a arbovirose (**Figura 5**) (MARCONDES; XIMENES, 2016). O maior surto já catalogado teve início no Brasil em 2015, com relatos de, em média, 1 milhão de casos; a

maior hipótese do acesso do vírus ao Brasil foi a chegada de turistas de países endêmicos na ocasião da copa do mundo de 2014 (MARCHI; TROMBETTA; MONTOMOLI, 2018).



**Figura 5** Ocorrência de Zika no mundo até 2018 (Fonte: Adaptado de LETA et al., 2018).

O arbovírus é transmitido por diversas espécies de mosquito, entre elas o *Aedes aegypti*, que é o principal vetor (LI et al., 2012; MARCONDES; XIMENES, 2016). Por esse motivo, surtos de Zika podem ocorrer em qualquer país favorável a mosquitos *Aedes aegypti* (GATHERER; KOHL, 2016). Há, também, formas de transmissão do vírus sem a necessidade do vetor, sendo elas transmissão sexual (FOY et al., 2011), vertical (COSTA et al., 2016), e por transfusão sanguínea (MUSSO et al., 2014). A evidência da transmissão vertical se dá pela detecção de ZIKV no cérebro fetal (MLAKAR et al., 2016).

Quanto à manifestação da Zika, 80% das infecções são assintomáticas (DYER, 2015). A sintomatologia inclui comumente febre baixa, mialgia, erupções cutâneas, artralgia,

dor de cabeça e conjuntivite, com duração curta, dada a duração de, em média, 5 dias da viremia (ESPOSITO; DE MORAES; DA FONSECA, 2018). Mais raramente são citados sintomas digestivos (OEHLER et al., 2014).

Além dos sintomas apresentados, ZIKV pode causar, ainda, sintomas neurológicos, como síndrome de Guillain-Barré e microcefalia fetal (CAO-LORMEAU et al., 2016). O primeiro caso confirmado de microcefalia fetal causada por ZIKV ocorreu no Brasil, em 2015 (ESPOSITO; DE MORAES; DA FONSECA, 2018).

Quanto à síndrome de Guillain-Barré, sua primeira associação à infecção por ZIKV ocorreu em 2013, durante o surto na Polinésia Francesa (OEHLER et al., 2014). Essa complicação ocorre após o período de viremia do paciente, evidenciado pela ausência de febre (CAO-LORMEAU et al., 2016). Essa síndrome autoimune geralmente é desencadeada por outra doença, como a Zika, e afeta os axônios motores (ESPOSITO; DE MORAES; DA FONSECA, 2018). Seus sintomas mais frequentes são fraqueza muscular, que é capaz de levar à incapacidade de locomoção, e paralisia facial (CAO-LORMEAU et al., 2016).

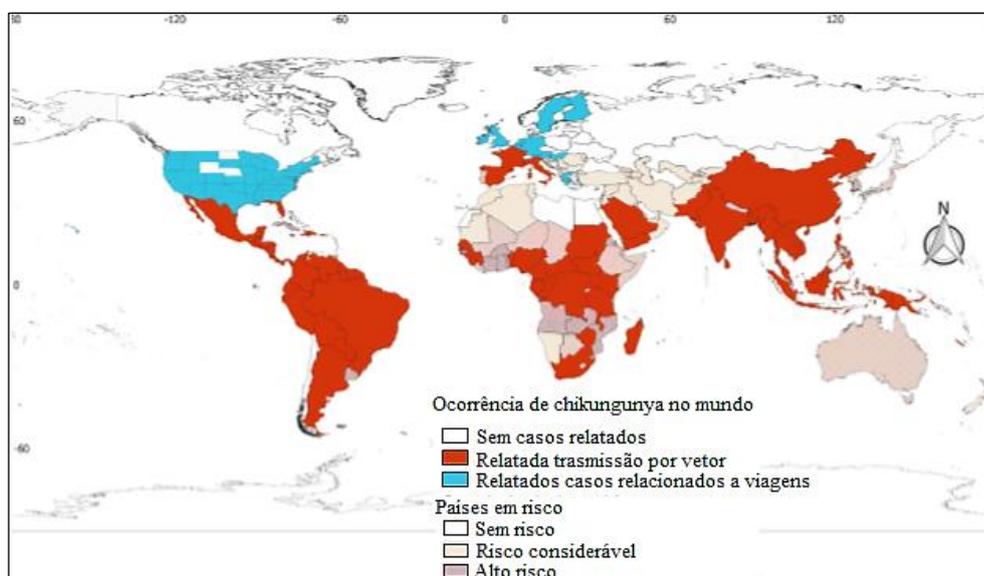
A Zika foi subestimada por muito tempo, só obtendo destaque quando foi evidenciado o seu potencial de causar microcefalia fetal e síndrome de Guillain-Barré (SAMARASEKERA; TRIUNFOL, 2016). Seu diagnóstico pode ser difícil, por ser uma doença facilmente confundida com outras arboviroses (OEHLER et al., 2014). A confirmação do diagnóstico precisa ser mais eficaz, com o desenvolvimento de novas tecnologias que permitam o diagnóstico não só durante a viremia (ESPOSITO; DE MORAES; DA FONSECA, 2018).

O tratamento é sintomático, sem a possibilidade de intervenção específica ao vírus até então, porém vacinas estão sendo desenvolvidas, as quais devem tomar precauções e

tornar quase nula a possibilidade de causar efeitos colaterais graves, como a síndrome de Guillan-Barré (ESPOSITO; DE MORAES; DA FONSECA, 2018).

### 1.2.3. CHIKUNGUNYA

O vírus *chikungunya* é um *alphavirus* pertencente à família *Togaviridae* (MARCHI; TROMBETTA; MONTOMOLI, 2018). O primeiro surto relatado da doença ocorreu em 1852, no antigo estado de Tanganica, e recebeu esse nome por significar “aquela que faz dobrar”, como caracterização da dor severa que a mesma causa, fazendo as pessoas contaminadas se curvarem (ROBINSON, 1955). Desde então, foram relatadas diversas reemergências do vírus em diversas partes no mundo (**Figura 6**) (POWERS, 2009), no entanto é uma doença muito negligenciada mesmo com seu grande potencial incapacitante, por raramente causar óbito (SAXENA et al., 2006).



**Figura 6** Ocorrência de chikungunya no mundo até 2018 (Fonte: Adaptado de LETA et al., 2018).

O vírus apresenta a capacidade de alternar entre espécies de vetores, estando inclusas entre elas os seguintes mosquitos do gênero *Aedes*: *Aedes furcifer*, *Aedes africanus*, *Aedes aegypti*, e *Aedes albopictus*, sendo comprovada a maior susceptibilidade desses vetores ao vírus com o aumento da temperatura (JUPP; MCINTOSH; DOS SANTOS, 1981; MOURYA; YADAV; MISHRA, 2004).

Os sintomas clássicos permanecem os mesmos desde a descoberta da doença; são eles dores intensas e incapacitantes nas articulações, febre alta, e erupções cutâneas (POWERS, 2010). Ao contrário da dengue, a grande maioria dos casos é sintomática, permitindo maior facilidade no diagnóstico (WEAVER; LECUIT, 2015). A infecção pelo vírus não possui sintomas iniciais, com as dores intensas e sintomas característico tendo início súbito desde o primeiro dia (GOULD et al., 2017).

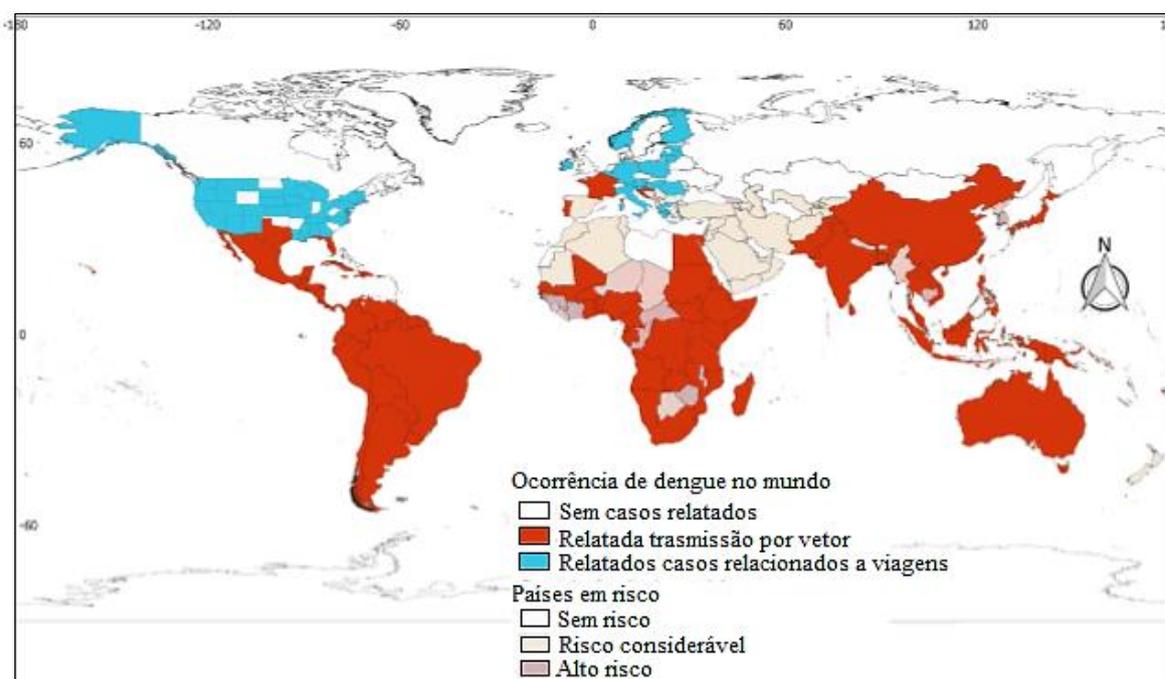
O tratamento é apenas sintomático, visto que ainda não há fármacos específicos para o combate ao *chikungunya*, e os as dores costumam durar de duas a três semanas, enquanto a viremia dura entre cinco e sete dias (POWERS, 2010; WEAVER; LECUIT, 2015).

#### 1.2.4. DENGUE

O primeiro relato da arbovirose dengue como uma nova doença ocorreu em 1779 durante epidemias na África, Ásia e América do Norte, embora haja relatos de sintomas parecidos com os da dengue desde o ano 265 na China (GUBLER, 2006).

O vírus dengue (DENV) é um flavivírus da família Flaviviridae, considerado de maior impacto na saúde, por ser o que mais causa infecções globalmente e um dos mais disponíveis a seres humanos, devido ao fato de pelo menos metade da população mundial viver em regiões endêmicas (GUZMAN; HARRIS, 2014; HEINZ; STIASNY, 2012). É o único

arbovírus completamente adaptado ao ser humano e seus hábitos (MARCHI; TROMBETTA; MONTOMOLI, 2018). Entre os continentes que já passaram por relatos de epidemias de dengue (**Figura 7**), estão Europa (REZZA, 2013), Ásia (FAZAL; BIRADAR, 2015; WEAVER; REISEN, 2010), América do Sul (GUZMÁN et al., 2002; PINTO et al., 2014), América do Norte (GUBLER, 1998), e África (AMARASINGHE et al., 2011).



**Figura 7** Ocorrência de dengue no mundo até 2018 (Fonte: Adaptado de LETA et al., 2018).

Existem quatro sorotipos de DENV, intitulados DENV-1, DENV-2, DENV-3, e DENV-4, os quais, apesar de se manifestarem com a mesma sintomatologia, se diferem por possuírem antígenos diferentes (MARCHI; TROMBETTA; MONTOMOLI, 2018). Apesar de a maior parte das infecções por dengue ser assintomática, alguns casos podem apresentar sintomas moderados ou graves, sendo os principais mialgia, febre, fraqueza, prostração e diarreia, capazes de causar grande morbidade (SIMMONS et al., 2012; TEIXEIRA et al.,

2010). O diagnóstico é fácil e rápido, sendo normalmente feito por técnicas de ELISA (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Além da possibilidade de infecção sintomática por DENV, podem surgir complicações, como a dengue hemorrágica e a síndrome de choque (GUZMAN; ALVAREZ; HALSTEAD, 2013). O risco de contrair dengue hemorrágica é aumentado em áreas endêmicas, e a doença afeta principalmente crianças, sendo responsável por um grande número de mortes relacionadas à dengue (GUZMÁN et al., 2002). Quanto à síndrome de choque, a mesma pode causar a morte de um adulto em um intervalo de 8 a 24h, a menos que tratada (GUBLER, 1998).

Ainda, além de ser uma doença com grande potencial de causar morbidade, a dengue também causa grandes impactos econômicos, gerando um prejuízo considerável tanto em casos de vida/cura e morte dos pacientes (SHEPARD et al., 2016).

Pesquisas para o desenvolvimento de uma vacina eficaz para os quatro sorotipos existentes de DENV estão em andamento (GUY et al., 2017; PADMAPRIYA et al., 2018). O maior obstáculo para tais pesquisas é a grande probabilidade de aumento dos casos de dengue hemorrágica e de síndrome de choque, caso a vacina seja ineficaz para algum dos sorotipos (VILCHES; ESTEVA; FERREIRA, 2019).

Com a falta de tratamento específico e de prevenções por meio de vacinas, a medida mais eficaz e conveniente na atualidade é o controle do vetor (DIGHE et al., 2019).

### 1.3.CONTROLE DO VETOR

Até então, o controle dos vetores das arboviroses, em especial do *Aedes aegypti*, se mostra a melhor solução para evitar epidemias ao redor do globo (DIGHE et al., 2019). Atualmente, o controle do *Aedes aegypti* se divide entre eliminação das formas aquáticas do mesmo, e a prevenção da interação entre o mosquito adulto e o ser humano (ACHEE et al., 2019).

Quanto ao mosquito adulto, há três formas recomendadas para a prevenção de arboviroses, são elas o uso de inseticidas espaciais, de repelentes tópicos, e de pulverizadores residuais internos (ACHEE et al., 2019). Os inseticidas espaciais mais usados são os das classes organofosforados e piretróides, ambos químicos, sendo estes capazes de matar rapidamente os vetores adultos (ACHEE et al., 2019; GARCEZ et al., 2013). Ainda, os piretróides são aplicados em concentrações elevadas, causando alto nível de toxicidade para mosquitos, sendo capazes de matar aqueles que sequer pousaram nas gotículas do inseticida (ACHEE et al., 2019). Entretanto, apesar da eficácia dessas classes de inseticidas, os mosquitos *Aedes aegypti* vêm desenvolvendo resistência às mesmas, o que poderá causar sérios problemas no controle das arboviroses (MOYES et al., 2017). É recomendada, também, a proteção individual, que inclui o uso de repelentes tópicos, de roupas compridas e claras, e de mosquiteiros ao dormir (SAMARASEKERA; TRIUNFOL, 2016).

As fases aquáticas do *Aedes aegypti* apresentam maior dificuldade quanto ao controle, pois este é feito diretamente na água, portanto requer que os focos das larvas e pupas sejam encontrados (ACHEE et al., 2019). No controle, são usados larvicidas, reguladores de crescimento, e bioinseticidas (APONTE et al., 2019). É necessária a participação da

população no controle, para evitar a criação de novos focos e denunciar a existência de outros, para que o tratamento seja realizado (CARVALHO, Marília Sá et al., 2017).

Apesar de serem eficazes, os inseticidas químicos, além de virem causando resistência nos mosquitos, podem ser nocivos, tanto ao meio ambiente quanto a seres humanos, logo, é fundamental que novos bioinseticidas e meios de controle, menos prejudiciais, sejam desenvolvidos (COELHO; DE PAULA; ESPINDOLA, 2009). Inúmeras pesquisas abordam este assunto, incluindo o uso de bactérias do gênero *Wolbachia* na eliminação dos patógenos em *Aedes aegypti* (JOUBERT; O'NEILL, 2017). Óleos essenciais também são considerados promissores, apresentando eficácia como larvicidas (MAIA et al., 2019; PANDIYAN; MATHEW; MUNUSAMY, 2019), adulticidas (DE SOUZA, M. A. et al., 2019), e repelentes (DE SOUZA, M. A. et al., 2019; REICHERT et al., 2019). Há, também, relatos de extratos de plantas eficazes como larvicidas (COELHO; DE PAULA; ESPINDOLA, 2009; VIANA; SAMPAIO; MARTINS, 2018).

Dentro deste contexto, uma alternativa para a obtenção de novos produtos inseticidas para o controle do *Aedes aegypti* está na investigação de substâncias isoladas de extratos de plantas do bioma Cerrado.

#### 1.4.CERRADO

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil, cobre aproximadamente 25% do território brasileiro com clima tropical, sendo a maior parte localizada no Centro-Oeste e Nordeste (**Figura 8**) (DIAS et al., 2019). Sua vegetação é bastante diversificada, e varia desde pastagens a grandes matas fechadas (LEMES; DE ANDRADE; LOYOLA, 2019). Seus solos são tipicamente ácidos e pobres em nutrientes (KLINK; MACHADO, 2005).



**Figura 8** Distribuição do Cerrado no território brasileiro (Fonte: Adaptado de DE SOUZA; HABERMANN, 2012).

O bioma Cerrado apresenta grande biodiversidade, sendo quase a metade de suas mais de 11.000 espécies de plantas endêmicas (KLINK; MACHADO, 2005; MENDONÇA et al., 2008). Além de sua importância ecológica, o Cerrado também apresenta significativa importância econômica para o país (LEMES; DE ANDRADE; LOYOLA, 2019).

Desde 2000, o Cerrado é considerado um bioma em risco, ameaçado pela expansão agrícola, o qual já teve 46% de seu território desmatado, o que exige ações de proteção ao bioma e conscientização da sociedade para sua preservação (MYERS et al., 2000; RESENDE et al., 2019).

### 1.5.FABACEAE

Fabaceae é uma das famílias presentes no Cerrado. Dentro das angiospermas, é a terceira maior família, e está presente no mundo inteiro, tanto em desertos como em regiões alpinas (ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA, 2019). Seus representantes compreendem variados hábitos, indo de árvores a plantas aquáticas (SILVEIRA; MIOTTO, 2013).

Uma de suas características frequentes é a presença de nitrogênio em suas folhas, pois essa família costuma se associar a bactérias fixadoras de nitrogênio, e, também, o acúmulo de ácido esteárico em suas sementes, o qual fornece energia para a germinação das espécies e age como repelente de mosquitos adultos (BATALHA et al., 2011; DA SILVA, 2014). Quanto à sua composição química, flavonoides são característicos da família (NETO, M. Maia et al., 2008).

É a família mais representativa em climas semiáridos no Brasil e grande fornecedora de recursos naturais para esses climas, com indivíduos usados para alimentação, economia, e até mesmo em rituais religiosos (LOIOLA et al., 2010; PINHEIRO; RODAL; ALVES, 2010).

### 1.6.*Plathymenia reticulata* Benth.

Dentre as espécies da família Fabaceae, encontra-se o vinhático, nome popular da espécie *Plathymenia reticulata* Benth. (CAVALCANTI; ALBUQUERQUE, 2013). A planta foi caracterizada pela primeira vez por Bentham em 1842 como duas espécies distintas: *Plathymenia reticulata* e *Plathymenia foliosa*; diferindo entre si por sua inflorescência, todavia, em estudos anatômicos aprimorados apontando como única diferença entre as duas a posição dos estômatos, ambas foram reunidas em uma só espécie,

prevalecendo apenas *Plathymenia reticulata* (**Figura 9**) (BENTHAM, 1842; WARWICK; LEWIS, 2003). Seu nome tem origem grega e se trata da descrição de suas sementes, juntando-se as palavras *plathy* (largo e chato) e *hymenon* (membrana), e *reticulata* devido às suas nervuras semelhantes a redes; e seu nome popular se dá pela coloração de sua madeira (CARVALHO, 2008).



**Figura 9** (a) *Plathymenia reticulata* Benth. (b) Folhas (c) Caule (Fonte: DE ASSUNÇÃO, 2014).

A espécie pode ser encontrada em diversos estados brasileiros, e, também, em diversos biomas, não sendo endêmica do Cerrado (LONGUI et al., 2012). Sua capacidade de adaptação é considerável, visto que, ao mesmo tempo em que se encontra em formações florestais e campestres do Cerrado, também está presente na Mata Atlântica, uma floresta tropical (GOULART; FILHO; LOVATO, 2005).

Dentre os usos tradicionais do vinhático, estão o tratamento de varizes a partir da casca de seu caule (NETO, 2006), de picadas de cobra com seu extrato aquoso (DE MOURA et al., 2015), de doenças pulmonares e dermatites com suas folhas (CARVALHO, 2008), de problemas renais e uso como anti-inflamatório (NASCIMENTO; DA CONCEIÇÃO, 2011). Também é comprovadamente antibacteriana para bactérias Gram-positivas (FERNANDES; DOS SANTOS; PIMENTA, 2005).

Quanto aos seus componentes químicos, a *Plathymenia reticulata* apresenta na madeira e casca de seu caule diterpenos, flavonoides e taninos (FERNANDES; DOS SANTOS; PIMENTA, 2005; MATOS; CRAVEIRO; DE MAURERA, 1984).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Isolamento e identificação de substâncias presentes no extrato Arbo0538 com atividade larvicida em *Aedes aegypti*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o fracionamento do extrato Arbo0538;
- Avaliar a atividade larvicida das frações obtidas;
- Isolar substâncias das frações;
- Elucidar as substâncias isoladas;
- Determinar a atividade larvicida das substâncias obtidas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. PRÉ-FRACIONAMENTO POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (EFS-DIOL)

Foi feito o pré-fracionamento do extrato Arbo0538, retirado do “Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado”, do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília (UnB). Foram usados 2,5 g do extrato e 24 cartuchos contendo diol (2 g), de modo que foram aplicados aproximadamente 104 mg em cada cartucho. Para a aplicação, o extrato foi diluído em 2,4 mL de diclorometano (DCM), e foram aplicados 100 µL de amostra em cada cartucho. Os cartuchos foram deixados *overnight* em temperatura ambiente, para adsorção da amostra. A eluição foi feita utilizando 6 mL dos solventes: (A) hexano, (B) diclorometano, (C) acetato de etila, e (D) metanol; resultando em 4 pré-frações.

#### 3.2. ANÁLISE EM CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Todo o processo de isolamento de substâncias foi acompanhado por análises em CCD. Foram usadas placas cromatográficas de sílica de 7 cm de altura e 4 cm de largura. As amostras foram aplicadas nas placas com o auxílio de tubos capilares. Para todas as análises, foi usada a fase móvel hexano e acetato de etila (19:1 v/v) e o revelador vanilina sulfúrica.

#### 3.3. FRACIONAMENTO POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA CLÁSSICA

(CCC)

A pré-fração Arbo15A013C foi submetida a fracionamento por CCC. A fase estacionária usada foi Sephadex<sup>TM</sup> LH-20. A fase móvel foi isocrática, com os solventes hexano, diclorometano e metanol (2:5:1 v/v). Foram coletadas 31 frações.

### 3.4. ANÁLISE E SEPARAÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A análise das frações foi feita em HPLC Breeze™ Waters. A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma Coluna C18 (Luna®, 150 x 4.6 mm; tamanho de partícula de 5 µm). O fluxo foi de 1 mL/min e o volume de injeção foi de 100 µL. A fase móvel usada foi água ultrapura (solvente A) e metanol (solvente B), ambos acrescidos de 0,1% de seu volume de ácido fórmico. O método de eluição usado foi gradiente, e iniciou-se com 80,0% de solvente B, aumentado para 100,0% de solvente B até 20.00 min, mantido nas mesmas condições por 3.00 min, então, o solvente B foi diminuído para 80,0% em 2.00 min; por fim, foram mantidas as mesmas condições por mais 5.00 min, totalizando o tempo de corrida de 30.00 min.

Após o procedimento de análise por CLAE, a fração Arbo15A015B (54 mg) foi solubilizada em 4,0 mL de metanol e, submetida ao processo de isolamento por CLAE-preparativa, utilizando HPLC Varian e coluna C18 (Luna®, 150 x 21.2 mm, tamanho de partícula de 5 µm). O fluxo foi de 20,00 mL/min e o volume de injeção foi de 1 mL. Foi monitorado o comprimento de onda de 210 nm. A fase móvel e o gradiente de eluição seguiram o mesmo perfil da análise analítica.

### 3.5. ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

As amostras (10 mg) foram solubilizadas em clorofórmio deuterado e colocadas em tubos de RMN. Os espectros de RMN <sup>1</sup>H, HSQC e COSY foram obtidos em espectrômetro BRUKER Avance III HD 600 MHz. As descrições de sinais incluem: s = singlete, d = duplete, dd = duplo duplete, m = multiplete. Os espectros de RMN <sup>13</sup>C foram adquiridos em

espectrômetro BRUKER Avance III 300 MHz. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm).

### 3.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA

Os testes larvicidas foram realizados em cepas Rockefeller de *Aedes aegypti*, mantidas no Insetário ArboControl / Laboratório de Farmacognosia, Universidade de Brasília. As amostras foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO), e foram testadas nas concentrações de 25  $\mu\text{g/mL}$  para compostos com alto teor de pureza, 125  $\mu\text{g/mL}$  para pré-frações, e 250  $\mu\text{g/mL}$  para extrato bruto.

Os testes foram realizados em quadruplicada em placas de 12 poços, contendo 10 larvas de *Aedes aegypti* em terceiro estágio (L3) em cada poço, além de 3 mL de água e 50  $\mu\text{L}$  de amostra ou controle negativo (DMSO). A mortalidade das larvas foi quantificada em 24 e 48 horas, sendo consideradas mortas todas as larvas que não reagem a estímulos. A atividade larvicida foi determinada de acordo com a fórmula:

$$mortalidade (\%) = \frac{\text{Número de larvas mortas}}{\text{Número total de larvas utilizadas}} \times 100$$

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHEE, Nicole L. et al. Alternative strategies for mosquito-borne arbovirus control.

**PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1–22, 2019.

AGARWAL, Ankita; PARIDA, Manmohan; DASH, Paban Kumar. Impact of transmission cycles and vector competence on global expansion and emergence of arboviruses. **Reviews in Medical Virology**, v. 27, n. 5, p. 1–12, 2017.

AMARASINGHE, Ananda et al. Dengue virus infection in Africa. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 8, p. 1349–1354, 2011.

APONTE, Angélica et al. Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* from Colombia. **Acta Tropica**, v. 191, p. 146–154, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.021>>.

BATALHA, Marco Antônio et al. Trait diversity on the phylogeny of cerrado woody species. **Oikos**, v. 120, n. 11, p. 1741–1751, 2011.

BENTHAM, George. Notes on Mimoseae, with a short synopsis of species. **Journal of Botany**, v. 1, p. 494–528, 1842. Disponível em: <<http://www.biodiversitylibrary.org/item/6311>>.

BESNARD, M. et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 13, p. 20751, 2014.

BROWN, Julia E. et al. Human impacts have shaped historical and recent evolution in *Aedes aegypti*, the dengue and yellow fever mosquito. **Evolution**, v. 68, n. 2, p. 514–525, 2014.

CAO-LORMEAU, Van-Mai et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika

virus infection in French Polynesia: A case-control study. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1531–1539, 2016.

CAO-LORMEAU, Van-Mai. Tropical Islands as New Hubs for Emerging Arboviruses. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, p. 913–915, 2016.

CARVALHO, Marília Sá et al. *Aedes aegypti* control in urban areas: A systemic approach to a complex dynamic. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–15, 2017.

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. Vinhático - *Plathymenia reticulata*. **Espécies Arbóreas Bras.** [S.l: s.n.], 2008. p. 527–536. Disponível em:  
<<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/CT231.pdf>>.

CAVALCANTI, Deyvson Rodrigues; ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino. The “Hidden Diversity” of Medicinal Plants in Northeastern Brazil: Diagnosis and Prospects for Conservation and Biological Prospecting. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–29, 2013.

CEVALLOS, Varsovia et al. Zika and Chikungunya virus detection in naturally infected *Aedes aegypti* in Ecuador. **Acta Tropica**, v. 177, p. 74–80, 2018. Disponível em:  
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.029>>.

COELHO, André A.M.; DE PAULA, José E.; ESPÍNDOLA, Laila 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.

COSTA, Frederico et al. Emergence of Congenital Zika Syndrome: Viewpoint From the Front Lines. **Annals of Internal Medicine**, v. 164, n. 10, p. 689–691, 2016.

DA SILVA, Cristiane Bezerra. *Asemeia extraaxillaris* (Chodat) J.F.B. Pastore & J.R.

**Abbott (Polygalaceae) E *Microlobius foetidus* (Subsp. Paraguensis (Benth.) M. Sousa et G. Andrade) (Fabaceae-Mimosoideae): CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO E INVESTIGAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS** (al. 2014. 125 f. Universidade Federal do Paraná, 2014.

DE ASSUNÇÃO, Ana Paula Ferreira. **Avaliação da atividade farmacológica do extrato aquoso das cascas de *Plathymenia reticulata* Benth.** 2014. 16 f. Universidade Federal do Oeste do Pará, 2014.

DE MOURA, Valéria Mourão et al. Plants used to treat snakebites in Santarém, western Pará, Brazil: An assessment of their effectiveness in inhibiting hemorrhagic activity induced by *Bothrops jararaca* venom. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 224–232, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.020>>.

DE SOUZA, M. A. et al. Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) – A review. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 160–165, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.007>>.

DE SOUZA, Marcelo Claro; HABERMANN, Gustavo. Towards a New Ecophysiological Approach to Understand Citrus Crop Yield Under Abiotic Stresses Mirroring in the Brazilian Savanna Genetic Resources. **Water Stress**. [S.l: s.n.], 2012. p. 151–164.

DENYSIUK, Roman et al. Dengue disease: a multiobjective viewpoint. **Journal of Mathematical Analysis**, v. 7, n. 1, p. 1–21, 2016. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/1512.00914>>.

DIAS, Fabiane Pereira Machado et al. Effects of land-use change on chemical attributes of a Ferralsol in Brazilian Cerrado. **Catena**, v. 177, p. 180–188, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.02.016>>.

DICK, G. W. A.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509–520, 1952.

DIGHE, Satish N. et al. Recent update on anti-dengue drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 176, p. 431–455, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.010>>.

DOUAM, Florian; PLOSS, Alexander. Yellow Fever Virus: Knowledge Gaps Impeding the Fight Against an Old Foe. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 11, p. 913–928, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2018.05.012>>.

DYER, Owen. Zika virus spreads across Americas as concerns mount over birth defects. **BMJ**, v. 351, p. 1–2, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/doi:10.1136/bmj.h6983>>.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. **Fabaceae**. Disponível em: <<https://www.britannica.com/plant/Fabaceae>>. Acesso em: 30 maio 2019.

ESPOSITO, Danillo L.A.; DE MORAES, Jonathan B.; DA FONSECA, Benedito Antônio Lopes. Current priorities in the Zika response. **Immunology**, v. 153, n. 4, p. 435–442, 2018.

FAZAL, F.; BIRADAR, S. Hepatic Dysfunction and Gastrointestinal Symptoms Seen in Dengue Fever. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 13, n. 7, p. e111, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2015.04.132>>.

FERNANDES, Thaís Teixeira; DOS SANTOS, Alik Teixeira Fernandes; PIMENTA, Fabiana Cristina. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS PLANTAS *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* E *Guazuma ulmifolia*. **Revista de Patologia Tropical**, v.

34, n. 2, p. 113–122, 2005.

FOY, Brian D. et al. Probable Non-Vector-borne Transmission of Zika Virus, Colorado, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 880–882, 2011.

GARCEZ, W. S. et al. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363–393, 2013.

GATHERER, Derek; KOHL, Alain. Zika virus: A previously slow pandemic spreads rapidly through the Americas. **Journal of General Virology**, v. 97, n. 2, p. 269–273, 2016.

GOULART, Máira Figueiredo; FILHO, José Pires Lemos; LOVATO, Maria Bernadete. Phenological Variation Within and Among Populations of *Plathymenia reticulata* in Brazilian Cerrado, the Atlantic Forest and Transitional Sites. **Annals of Botany**, v. 96, n. 3, p. 445–455, 2005.

GOULD, Ernest et al. Emerging arboviruses: Why today? **One Health**, v. 4, p. 1–13, 2017.

GRATZ, N G. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 3, p. 215–227, 2004. Disponível em:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15347388>>.

GUBLER, Duane J. The Global Emergence/Resurgence of Arboviral Diseases As Public Health Problems. **Archives of Medical Research**, v. 33, n. 4, p. 330–342, 2002.

GUBLER, Duane J. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. **Novartis Foundation symposium**, v. 277, p. 3–16, 2006.

GUBLER, Duane J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 3, p. 480–496, 1998. Disponível em:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9055483>>.

GUY, Bruno et al. A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. **Expert Review of Vaccines**, v. 16, n. 7, p. 671–684, 2017. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1080/14760584.2017.1335201>>.

GUZMÁN, Maria G. et al. Enhanced severity of secondary dengue-2 infections: death rates in 1981 and 1997 Cuban outbreaks. **Pan American Journal of Public Health**, v. 11, n. 4, p. 223–227, 2002.

GUZMAN, Maria G.; ALVAREZ, Mayling; HALSTEAD, Scott B. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: An historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. **Archives of Virology**, v. 158, n. 7, p. 1445–1459, 2013.

GUZMAN, Maria G.; HARRIS, Eva. Dengue. **The Lancet**, v. 393, n. 10169, p. 453–465, 2014.

HALL, Andrew Brantley et al. A male-determining factor in the mosquito *Aedes aegypti*. **Science**, v. 348, n. 6240, p. 1268–1270, 2015. Disponível em:  
<<http://www.sciencemag.org/content/early/2015/05/20/science.aaa2850.abstract>>.

HEINZ, Franz X.; STIASNY, Karin. Flaviviruses and flavivirus vaccines. **Vaccine**, v. 30, n. 29, p. 4301–4306, 2012. Disponível em:  
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.09.114>>.

JOUBERT, Dirk Albert; O'NEILL, Scott L. Comparison of Stable and Transient Wolbachia Infection Models in *Aedes aegypti* to Block Dengue and West Nile Viruses. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2017.

JUPP, P. G.; MCINTOSH, B. M.; DOS SANTOS, I. Laboratory vector studies on six

mosquito and one tick species with chikungunya virus. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 1, p. 15–19, 1981. Disponível em:

<<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed1a&NEWS=N&AN=6115488>>.

KLINK, Carlos A; MACHADO, Ricardo B. Conservation of the Brazilian Cerrado.

**Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 707–713, 2005.

LEMES, Larissa; DE ANDRADE, André Felipe Alves; LOYOLA, Rafael. Spatial priorities for agricultural development in the Brazilian Cerrado: may economy and conservation coexist? **Biodiversity and Conservation**, p. 1–18, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1007/s10531-019-01719-6>>.

LEPARC-GOFFART, Isabelle et al. Chikungunya in the Americas. **The Lancet**, v. 383, n. 9916, p. 514, 2014. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614601859>>.

LETA, Samson et al. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 67, p. 25–35, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.11.026>>.

LI, Mei Zhi Irene et al. Oral Susceptibility of Singapore *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus) to Zika Virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, 2012.

LITVOC, Marcelo Nóbrega; NOVAES, Christina Terra Gallafrio; LOPES, Max Igor Banks Ferreira. Yellow fever. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 64, n. 2, p. 106–113, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.64.02.106>>.

LIU-HELMERSSON, Jing et al. Climate change may enable *Aedes aegypti* infestation in

major European cities by 2100. **Environmental Research**, v. 172, p. 693–699, 2019.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.02.026>>.

LIU, Boyang et al. Modeling the present and future distribution of arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* under climate change scenarios in Mainland China. **Science of the Total Environment**, v. 664, p. 203–214, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.301>>.

LOIOLA, Maria Iracema Bezerra et al. Leguminosas e seu potencial de uso em comunidades rurais de São Miguel Do Gostoso – RN. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 3, p. 59–70, 2010.

LONGUI, Eduardo Luiz et al. Estrutura do lenho de *Plathymenia reticulata* e algumas implicações na eficiência hidráulica e resistência mecânica. **Floresta**, v. 42, n. 2, p. 335–346, 2012.

MACNAMARA, F. N. Zika Virus: a Report on Three Cases of Human Infection During an Epidemic of Jaundice in Nigeria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 48, n. 2, p. 139–145, 1954.

MAIA, Juliana Dias et al. Improved activity of thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) against *Aedes aegypti* larvae using a biodegradable controlled release system. **Industrial Crops and Products**, v. 136, p. 110–120, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.040>>.

MARCHI, Serena; TROMBETTA, Claudia Maria; MONTOMOLI, Emanuele. Emerging and Re-emerging Arboviral Diseases as a Global Health Problem. **Public Heal. - Emerg. Re-emerging Issues**. [S.l: s.n.], 2018. p. 25–46.

MARCONDES, Carlos Brisola; XIMENES, Maria de Fátima Freire de Melo. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 1, p. 4–10, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0220-2015>>.

MATOS, F. J. A.; CRAVEIRO, A. A.; DE MAURERA, M. A. M. A. Furan diterpenes of the *Plathymenia* genus. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 4, p. 581–584, 1984.

MATTHEWS, Benjamin J. *Aedes aegypti*. **Trends in Genetics**, v. 35, n. 6, p. 470–471, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tig.2019.03.005>>.

MAURYA, Ranjani et al. A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies. **Fitoterapia**, v. 83, n. 2, p. 272–280, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.007>>.

MAYER, Sandra V.; TESH, Robert B.; VASILAKIS, Nikos. The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and Zika fevers. **Acta Tropica**, v. 166, n. 1, p. 155–163, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.11.020>>.

MENDONÇA, R.C. et al. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. **Cerrado Ecol. e flora**. 1. ed. [S.l: s.n.], 2008. p. 421–1279.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Combate ao *Aedes Aegypti*: prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e Zika**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/aedes-aegypti>>. Acesso em: 20 jun. 2019.

MLAKAR, Jernej et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 10, p. 951–958, 2016. Disponível em:

<<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1600651>>.

MONATH, Thomas P.; VASCONCELOS, Pedro F. C. Yellow fever. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 160–173, 2015. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.08.030>>.

MORILLON, M.; MAFART, B.; MATTON, T. Yellow Fever In Europe During 19th Century. **Ecol. Asp. Past Settl. Eur.** [S.l: s.n.], 2002. p. 211–222.

MOURYA, D. T.; YADAV, P.; MISHRA, A. C. Effect of Temperature Stress on Immature Stages and Susceptibility of *Aedes Aegypti* Mosquitoes To Chikungunya Virus. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, n. 4, p. 346–350, 2004.

MOYES, Catherine L. et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–20, 2017.

MUSSO, Didier et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014.

**Eurosurveillance**, v. 19, n. 14, p. no pagination, 2014. Disponível em:

<<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20761%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed16&NEWS=N&AN=372828714>>.

MYERS, Norman et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000.

NASCIMENTO, Janilde de Melo; DA CONCEIÇÃO, Gonçalo Mendes. Plantas

Medicinais E Indicações Terapêuticas Da Comunidade Quilombola Olho D'Água Do Raposo, Caxias, Maranhão, Brasil. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 6, n. 2, p. 138–151, 2011.

NETO, Germano Guarim. O saber tradicional pantaneiro: As plantas medicinais e a educação ambiental. **Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 17, p. 71–89, 2006.

NETO, M. Maia et al. Flavonoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia unguolata* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, n. 3, p. 227–229, 2008.

OEHLER, E et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré. **Euro Surveillance**, v. 1, n. December 2013, p. 7–9, 2014.

PADMAPRIYA, P. et al. Development of Antiviral Inhibitor Against Dengue 2 Targeting Ns3 Protein: In Vitro And In Silico Significant studies. **Acta Tropica**, v. 188, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.08.022>>.

PANDIYAN, G. Navaneetha; MATHEW, Nisha; MUNUSAMY, Sundharesan. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p. 549–556, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.019>>.

PINHEIRO, Katarina; RODAL, Maria Jesus Nogueira; ALVES, Marccus. Floristic composition of different soil types in a semi-arid region of Brazil. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 2, p. 68–77, 2010.

PINTO, Diana Paula de Souza Rego et al. Aspectos Epidemiológicos e Clínicos dos Casos de Internação Hospitalar Durante Epidemia de Dengue. **Journal of Nursing UFPE on**

line, v. 8, n. 6, p. 1568–1576, 2014.

POWERS, Ann M. Chikungunya. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 30, n. 1, p. 209–219, 2010.

POWERS, Ann M. Overview of emerging arboviruses. **Future Virology**, v. 4, n. 4, p. 391–401, 2009.

REICHERT, William et al. Repellency Assessment of *Nepeta cataria* Essential Oils and Isolated Nepetalactones on *Aedes aegypti*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1524, p. 1–9, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-36814-1>>.

RESENDE, Fernando M. et al. Consequences of delaying actions for safeguarding ecosystem services in the Brazilian Cerrado. **Biological Conservation**, v. 234, n. September 2018, p. 90–99, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.03.009>>.

REZZA, G. Dengue and other *Aedes*-borne viruses: a threat to Europe? **Eurosurveillance**, v. 21, n. 21, p. 1–3, 2013.

ROBINSON, Marion C. An Epidemic Of Virus Disease In Southern Province, Tanganyika Territory, In 1952-53. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 1, p. 28–32, 1955.

SAMARASEKERA, Udani; TRIUNFOL, Marcia. Concern over Zika virus grips the world. **The Lancet**, v. 387, n. 10018, p. 521–524, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616002579>>.

SAXENA, S. K. et al. Resurgence of chikungunya virus in India: an emerging threat. **Eurosurveillance**, v. 11, n. 32, 2006.

SHEPARD, Donald S. et al. The global economic burden of dengue: a systematic analysis.

**The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 8, p. 935–941, 2016.

SILVEIRA, Fernanda Schmidt; MIOTTO, Silvia Tereseinha Sfoggia. A família Fabaceae no Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil: aspectos taxonômicos e ecológicos. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 1, p. 93–114, 2013.

SIMMONS, Cameron P. et al. Dengue. **The New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 15, p. 1423–1432, 2012. Disponível em:

<<http://www.journalrcr.org/article.asp?issn=0973->

0168;year=2017;volume=8;issue=1;spage=44;epage=52;aulast=Meher%5Cn<http://www.journalrcr.org/text.asp?2017/8/1/44/199302>>.

SOUZA-NETO, Jayme A.; POWELL, Jeffrey R.; BONIZZONI, Mariangela. *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 67, p. 191–209, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.11.009>>.

TEIXEIRA, Luciana de Almeida Silva et al. Persistência dos sintomas de dengue em uma população de Uberaba, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 3, p. 625–630, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/csp/v26n3/19.pdf>>.

VALDEZ, L. D.; SIBONA, G. J.; CONDAT, C. A. Impact of rainfall on *Aedes aegypti* populations. **Ecological Modelling**, v. 385, p. 96–105, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2018.07.003>>.

VIANA, Glautemberg De Almeida; SAMPAIO, Caroline De Goes; MARTINS, Victor Emanuel Pessoa. Produtos naturais de origem vegetal como ferramentas alternativas para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Journal of Health and Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 449–462, 2018.

VILCHES, T. N.; ESTEVA, L.; FERREIRA, C. P. Disease persistence and serotype coexistence: An expected feature of human mobility. **Applied Mathematics and Computation**, v. 355, p. 161–172, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.amc.2019.02.061>>.

WARWICK, M. C.; LEWIS, G. P. Revision of *Plathymania* ( Leguminosae–Mimosoideae ). **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, n. 2, p. 111–119, 2003.

WEAVER, Scott C.; LECUIT, Marc. Chikungunya Virus and the Global Spread of a Mosquito-Borne Disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 13, p. 1231–1239, 2015. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1406035>>.

WEAVER, Scott C.; REISEN, William K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 328–345, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Preventive and control of dengue hemmorrhagic fever**. [S.l: s.n.], 2009.