



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Potencial larvicida de fenilpropanoides de *Duguetia furfuracea* (A.St.-Hil.) Benth. Hook.f. (Annonaceae) em *Aedes aegypti*

Estudante: Francisco Danilo Melo de Sousa

Orientadora: Profa. Dra. Laila Salmen Espindola

Co-orientadores: Dr. Daniel Pecoraro Demarque
Dr. Gustavo Claro Monteiro

Brasília- DF

2019

FRANCISCO DANILO MELO DE SOUSA

Potencial larvicida de fenilpropanoides de *Duguetia furfuracea* (A.St.-Hil.) Benth. & Hook.f. (Annonaceae) em *Aedes aegypti*

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Laila Salmen Espindola

Co-orientador: Dr. Daniel Pecoraro Demarque

Dr. Gustavo Claro Monteiro

Brasília-DF

2019

“Parte da jornada é o fim”

Stark, Tony

Dedico este trabalho a Fernanda Baldomir, que esteve comigo desde o início.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Francisco Danilo Melo de Sousa

Potencial larvicida de fenilpropanoides de *Duguetia furfuracea* (A.St.-Hil.) Benth. & Hook.f. (Annonaceae) em *Aedes aegypti*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção de grau Farmacêutico.

Profa. Dra. Laila Salmen Espindola (Presidente)
Universidade de Brasília

Dr. João Paulo Barreto de Sousa (Membro avaliador)
Universidade de Brasília

AGRADECIMENTOS

A Deus, Senhor do Céu e da Terra.

À minha família, em especial à minha mãe, Maria Lucielma, que, em meio a tantas dificuldades, sempre me apoiou em meus estudos, e foi a base para eu chegar onde estou.

À Fernanda Baldomir, por ter sido, em todos os momentos, a namorada mais extraordinariamente especial que um alguém poderia almejar, obrigado pelo carinho e compreensão.

À Joyce Mota, que, mesmo a 1,678 km de distância, conseguiu ser a melhor amiga que um ser humano poderia ter, e que, junto a Rafael Do Ó, proporcionou as melhores sessões de cinema online.

À Joyce Silva que, em meio a 70 pessoas, foi a escolhida para me acompanhar por toda vida acadêmica, me alegrando e me irritando veementemente.

À Camila de Moura, a melhor comparsa de laboratório, que me ajudou a completar toda essa pesquisa, uma grande amiga.

À Aniele França e Mariana Santos, que me impulsionaram à mudança, sem elas, não estaria na UnB.

A todos meus colegas de curso, calouros, veteranos e contemporâneos, cujos quais contribuíram para minha formação pessoal e acadêmica.

À Professora Laila Salmen Espindola, que, quando me viu namorando nos corredores da FS, enxergou em mim um potencial que eu não acreditava ter.

Aos Doutores Daniel Demarque e Gustavo Monteiro, os dois co-orientadores que me ensinaram tudo que eu sei sobre espectroscopia e espectrometria.

À toda equipe do Laboratório de Farmacognosia, que tornaram meu trabalho ainda mais divertido e empolgante.

RESUMO

O *Aedes aegypti* é o principal vetor responsável pela transmissão de arboviroses que causam graves doenças à população, dentre as quais, destacam-se a dengue, a zika e a chikungunya. O principal objetivo deste estudo foi avaliar o perfil químico e a atividade larvicida do extrato bruto Arbo0057 obtido da espécie *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Benth. & Hook f. (Annonaceae). Essa amostra faz parte do Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado, Laboratório de Farmacognosia / Universidade de Brasília. Inicialmente, esse extrato ($CL_{50} = 118,10 \mu\text{g.mL}^{-1}$) foi fracionado por metodologia de extração em fase sólida em sílica. Em seguida, com as frações ativas, foi realizado o procedimento de cromatografia em coluna clássica utilizando sílica-gel, seguido de CLAE-preparativa visando à purificação dos componentes. Com isso, foram obtidos três fenilpropanoides: *Arbo8A085C* (**1**), *Arbo8A085B* (**2**) e *Arbo8A085C* (**3**). O composto **1** apresentou atividade em larvas de *Aedes aegypti*, com $CL_{50} = 95,47 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A mistura dos compostos **1** e **2** na proporção 2:1, apresentou uma $CL_{50} = 67,3 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Levando em consideração a complexidade química dos produtos naturais, os resultados apontam para uma possível sinergia entre os compostos obtidos, no que diz respeito ao potencial larvicida em *Aedes aegypti*.

Palavras-chaves: *Aedes aegypti*, larvicida, *Duguetia furfuracea*, Annonaceae, fenilpropanoides.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* is the main vector responsible for the transmission of arboviruses that causes serious diseases on the population, highlighting dengue, zika and chikungunya. The main goal of this study was evaluates the chemical profile and larvicidal activity of the crude extract Arbo0057 obtained from *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Benth. & Hook f. (Annonaceae). This natural extract is part of the Bank of Plant Extract of the Closed Biome, Laboratory of Pharmacognosy / University of Brasília. Initially, the crude extract ($LC_{50} = 118,10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) was submitted to solid phase extraction. Then, the active fractions were separated on the classical column chromatography and preparative HPLC aiming purification of the possible active compounds. Three phenylpropanoids were obtained: *Arbo8A085C* (**1**), *Arbo8A085B* (**2**) and *Arbo8A085A* (**3**). Compound **1** showed activity against larvae of *Aedes aegypti*, with $LC_{50} = 95.47 \mu\text{g mL}^{-1}$. The mixture of compounds **1** and **2** in the proportion of 2:1 presented lower LC_{50} with $67.3 \mu\text{g mL}^{-1}$. Taking into account the chemical complexity of natural products the results of these studies refers to a possible synergy among the obtained compounds, with regard to larvicidal potential on the *Aedes aegypti*.

Keywords: *Aedes aegypti*, larvicidal, *Duguetia furfuracea*, Annonaceae, phenylpropanoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	19
Figura 2	23
Figura 3	25
Figura 4	28
Figura 5	30
Figura 6	31
Figura 7	38
Figura 8	39
Figura 9	41
Figura 10	43
Figura 11	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.....	44
Tabela 2.....	46
Tabela 3.....	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACE	Agentes de Controle de Endemias
ACS	Agentes Comunitários de Saúde
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelenses</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CL_{50}	Concentração letal mediana
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CHIKV	Vírus da Chikungunya
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DENV	Vírus da Dengue
DMSO	Dimetilsulfóxido
EFS	Extração em Fase Sólida
EM	Espectrometria de Massas
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
Kdr	Resistência Knockdown
MeOH	Metanol

MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PN	Produtos Naturais
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SUS	Sistema Único de Saúde
ZIKV	Vírus da Zika

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Arbovírus.....	15
1.1.1. Cenário epidemiológico.....	17
1.2. <i>Aedes aegypti</i>	17
1.3. Combate ao vetor	20
1.4. Inseticidas químicos e resistência.....	23
1.5. Produtos naturais	26
1.6. O Bioma Cerrado	27
1.7. Annonaceae	29
1.7.1. <i>Duguetia furfuracea</i>	30
2. OBJETIVOS.....	32
2.1. Objetivo geral.....	32
2.2. Objetivos específicos.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1. Análise por CLAE-DAD-EM/EM	33
3.2. Procedimentos de obtenção de compostos de <i>Duguetia furfuracea</i>	33
3.3. Análise por RMN.....	34
3.4. Avaliação da atividade larvicida	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. Análise por CLAE-DAD-EM/EM	37
4.2. Obtenção de compostos de <i>Duguetia furfuracea</i>	37
4.3. Caracterização dos compostos obtidos	40

4.4.	Avaliação do potencial larvicida	43
4.4.1.	Extrato bruto	43
4.4.2.	Pré-frações	44
4.4.3.	Compostos de <i>Duguetia furfuracea</i>	44
5.	DADOS FÍSICO-QUÍMICOS	47
6.	PROJETO EM ANDAMENTO E PERSPECTIVAS FUTURAS	47
7.	CONCLUSÃO	49
8.	REFERÊNCIAS	37
9.	ANEXOS	63
	Espectro 1	64
	Espectro 2	65
	Espectro 3	66
	Espectro 4	67
	Espectro 5	68
	Espectro 6	69
	Espectro 7	70
	Espectro 8	71
	Espectro 9	72
	Espectro 10	73
	Espectro 11	74
	Espectro 12	75

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais (PN) estão relacionados amplamente à presença de compostos químicos ou à proposição de formulações que devem apresentar preferencialmente, atividades biológicas ou farmacológicas. A busca por esses produtos naturais é um aspecto inerente da pesquisa farmacêutica tornando-os uma importante fonte para elaboração de derivados semissintéticos ou estruturas sintéticas, que podem levar à criação de novos medicamentos, cosméticos e produtos químicos em geral (CRAGG; NEWMAN, 2013; PATRIDGE et al., 2016).

A magnitude dos ativos naturais, da biodiversidade brasileira, em especial da biodiversidade do Cerrado, permite inferir distintas investigações de forma sustentável visando fornecer ou desenvolver novos produtos capazes de contribuir na resolução de problemas endêmicos do Brasil, especialmente no que se refere ao combate ao mosquito *Aedes aegypti*, vetor dos arbovírus dengue, zika e chikungunya, presentes principalmente em países de clima tropical (GUZMAN et al., 2010). Embora a pesquisa por vacinas para o combate do arbovírus da dengue tenha obtido resultados significativos ao longo do tempo, essa tarefa se provou complexa e com limitações (MS, 2016; SBIM, 2017), tornando o controle do mosquito *Aedes aegypti* uma meta chave na erradicação dos arbovírus transmitidos por esse vetor.

O uso de produtos naturais para combater insetos ou pragas já se mostraram efetivos no passado. Ao início da década de 80 ocorreu a descoberta dos derivados de piretróides, uma classe de inseticida inspirada nas piretrinas, compostos naturais encontrados no pó das flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trevir.) Vis. (Asteraceae) (HIRATA, 1995; SANTOS; AREAS; REYES, 2007). Atualmente, pesquisas mostram que tais produtos continuam a ser importantes agentes inseticidas, tendo uma diversidade apreciável de compostos divulgados na literatura (DE OLIVEIRA et al., 2017;

KISHORE et al., 2014).

Considerando o exposto, o presente trabalho busca colaborar com o controle do mosquito vetor de doenças, *Aedes aegypti*, realizando a avaliação do potencial efeito larvicida de fenilpropanoides de origem natural obtidos pelo processo de fracionamento do extrato de *Duguetia furfuracea*, uma planta do Cerrado brasileiro.

Este projeto de Trabalho de Conclusão de Curso foi realizada no Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília, no âmbito do Componente 1 do projeto ArboControl.

1.1. Arbovírus

Os arbovírus são uma classe de vírus cuja veiculação e parte do ciclo replicativo é realizado em artrópodes. Esses vírus estão divididos em 5 famílias: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae. Existem arbovírus de importância que atuam patógenos. Os arbovírus são transmitidos a seres humanos e a outros animais pela picada de artrópodes hematófagos como o *Aedes aegypti*, o vetor primário dos arbovírus dengue - DENV, chikungunya - CHIKV e zika - ZIKV, que são atualmente uma das grandes preocupações de saúde pública em países de clima tropical, como o Brasil (KOTSAKIOZI et al., 2017; RUST, 2012).

Os arbovírus da dengue e zika, pertencem ao gênero *Flavivirus* da família Flaviviridae. Atualmente, existem quatro sorotipos do arbovirus da dengue em circulação no Brasil e no mundo, são eles o DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (DOS SANTOS et al., 2017). Mas, nem sempre foi assim. Inicialmente, apesar dos sorotipos da dengue terem distribuição global nos trópicos, as populações urbanas eram relativamente pequenas e, dessa forma, os vírus e seu vetor dependiam principalmente dos navios oceânicos para seu transporte entre as regiões, o que tornavam as epidemias esporádicas e com longos intervalos de tempos entre elas, existindo no máximo, dois sorotipos em circulação em uma mesma região (GUBLER, 1998).

Com o movimento de tropas e materiais durante a Segunda Guerra Mundial, os vírus e seu principal mosquito vetor, o *Aedes aegypti*, foram transportados para a maioria das áreas habitadas do mundo, causando a primeira grande epidemia nas Américas, após 10 anos de controle, na década de 70, e espalhando os sorotipos pelo continente (GUBLER, 2011). No Brasil havia em circulação somente os sorotipos DENV-2 e DENV-3. Contudo, no ano de 1981, foram isolados, no Estado de Roraima, os sorotipos DENV-1 e DENV-4. Após o primeiro contato, os novos sorotipos invadiram rapidamente o sudeste e nordeste do país em 1986, atingindo dessa forma, os estados de Alagoas, Ceará, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro (CÂMARA et al., 2007).

Diferentemente da dengue, cuja a presença nas Américas data de muito antes do século XXI, os primeiros relatos dos arbovírus chikungunya e zika em território sul-americano foram registrados recentemente, nos anos de 2013 e 2015, respectivamente (HENNESSEY; FISCHER; ERIN STAPLES, 2016; WEAVER, 2014).

O arbovírus chikungunya - CHIKV é um *Alphavirus* pertencente à família Togaviridae. Seu genoma é constituído de RNA e foi isolado pela primeira vez em meados de 1953, em um surto ocorrido na Tanzânia, local de onde se originaram os primeiros relatos da doença (ROBINSON, 1955). Porém, foi somente em setembro de 2014 que os primeiros casos autóctones foram identificados no Brasil, no município de Oiapoque, Amapá, e em Feira de Santana, Bahia (NUNES et al., 2015). Logo depois, no ano de 2015, foi registrada pela primeira vez no Brasil, em Salvador, Bahia, a presença do arbovírus zika – ZIKV em co-circulação com os vírus da dengue e chikungunya (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015).

O vírus zika - ZIKV foi isolado pela primeira vez no ano de 1947, na República de Uganda, África Oriental a partir do sangue de macacos da espécie *Macaca mulatta* e em mosquitos *Aedes (Stegomyia) africanus*. Esse vírus causou sua primeira epidemia na década de 1950, sendo detectados três casos de infecções em seres humanos na Nigéria

(HADDOW et al., 2012). Desde então, o ZIKV vem causando epidemias ao redor do mundo, indicando seguir o mesmo caminho dos vírus da dengue e chikungunya espalhando-se por todos os países infestados pelos mosquitos do gênero *Aedes*, em especial o *Aedes aegypti* (MUSSO; CAO-LORMEAU; GUBLER, 2015).

1.1.1. Cenário epidemiológico

No presente momento as arboviroses são consideradas um grave problema de saúde pública dos países de clima tropical, trazendo um grande impacto econômico ao Brasil (TEICH; ARINELLI; FAHHAM, 2017). A dengue vem sendo divulgada como uma doença endêmica das Américas com surtos e epidemias de formas cíclicas, ocorrendo a cada três ou cinco anos. Este cenário despertou o alerta direcionado pela Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS sobre novas possibilidades de surtos de dengue no ano de 2019 (OPAS/OMS, 2019). Em março/2019 foram constatados que os números de casos de dengue mostravam-se equivalentes aos números de casos totais do ano de 2018 (SVS/MS, 2019a). Em 2018, foram notificados 252.706 casos prováveis de dengue, 85.781 de febre de chikungunya e 8.104 de doença pelo vírus zika (SVS/MS, 2019b).

1.2. *Aedes aegypti*

O mosquito *Aedes aegypti* é uma espécie nativa da África pertencente a ordem Diptera e família Culicidae (OECD, 2018). Esta espécie se espalhou para a maioria dos países de regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o Brasil, onde ocorre nos anos recentes um aumento do número de casos de doenças transmitidas por esse vetor (KOTSAKIOZI et al., 2017).

Esta espécie de mosquito alimenta-se de açúcares presentes em frutas, néctar ou seiva, e de sangue proveniente de humanos e animais. A dieta dos mosquitos machos é composta exclusivamente de açúcares, contudo o comportamento alimentar das fêmeas inclui também a ingestão de sangue após a cópula, para fornecer energia para a maturação dos ovos a cada ciclo de desenvolvimento ovariano, o chamado ciclo gonotrófico. Com isso

as fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* tornam-se a principal fonte de infecção e transmissão dos arbovírus transmitidos por esse vetor (CHOUIN-CARNEIRO; SANTOS, 2017).

Geralmente, as fêmeas de insetos sugadores de sangue desenvolvem e colocam um lote de ovos a cada refeição sanguínea completando o ciclo gonotrófico. No entanto, por diversas vezes a fêmea do *Aedes aegypti* realiza múltiplas refeições de sangue a cada ciclo, podendo utilizar-se de distintos indivíduos. Esse fenômeno tem grande importância epidemiológica, uma vez que maximiza as chances de transmissão viral (CHOUIN-CARNEIRO; SANTOS, 2017).

O ambiente urbano é outro fator que contribui para a transmissão dos arbovírus. Existem várias características que beneficiam os critérios de vida da fêmea do *Aedes aegypti*. A organização e a estrutura do ambiente modificado, a falta de infraestrutura e de saneamento básico, como sistemas de esgoto e drenagem, bem como os hábitos culturais das populações humanas, influenciam diretamente na presença e na densidade do mosquito *Aedes aegypti* (DAVID; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA; DE FREITAS, 2009).

Com isso, em um período de quatro dias, uma fêmea de *Aedes*, após cada ciclo de alimentação sanguínea, pode colocar em média de 100 a 200 ovos (CHOUIN-CARNEIRO; SANTOS, 2017). Esses ovos são distribuídos por diversos criadouros urbanos, podendo ser grandes reservatórios, como caixas d'água, galões e tonéis, que favorecem a reprodução e desenvolvimento da espécie (FIOCRUZ, 2016).

Em condições ideais de temperatura e umidade os ovos de *Aedes aegypti* eclodem em 48 horas dando origem as larvas que possuem quatro estádios denominados: L1, L2, L3 e L4. Posteriormente ao estágio L4, as larvas se transformam em pupa, para em seguida, chegarem à fase adulta/mosquito em um período de oito a doze dias, completando seu ciclo reprodutivo, demonstrado na **figura 1** (CHOUIN-CARNEIRO; SANTOS, 2017). Dessa forma, uma fêmea de *Aedes aegypti* pode dar origem a 1.500 mosquitos ao longo de sua

vida. Estes mosquitos poderão ser aptos a novas infecções e a transmitirem os vírus da dengue, zika, chikungunya, febre amarela, malária e outros (CHOUIN-CARNEIRO; SANTOS, 2017). Além disso, haverá a possibilidade de esses arbovírus serem transmitidos de forma vertical às larvas, caso a fêmea esteja infectada ao realizar a postura de ovos (FIOCRUZ, 2016).

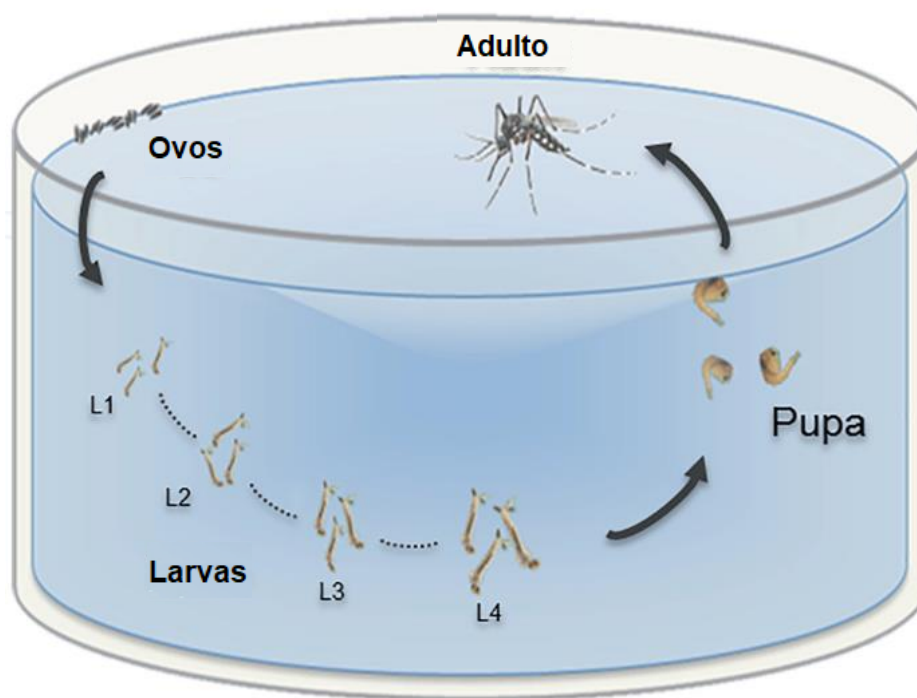


Figura 1. Ciclo de vida do *Aedes aegypti* (Fonte: Adaptado de CHOUIN-CARNEIRO E SANTOS, 2017).

O estágio adulto do gênero *Aedes*, assim como outros grupos de mosquitos, é o estágio reprodutivo e de dispersão. No período inicial de 24 horas após a emergência do mosquito ocorre o estado fisiológico no qual o exoesqueleto endurece e a maturação sexual é efetivada (OECD, 2018). Normalmente, os machos são os primeiros a emergir, apresentando uma expectativa de vida curta, entre 3 a 6 dias, enquanto que as fêmeas vivem aproximadamente 35 dias (GOINDIN et al., 2015). O tempo de vida desses insetos pode variar dependendo de fatores como a temperatura e umidade. Em regiões tropicais a expectativa de vida desse mosquito torna-se mais curta, e em regiões de climas temperados torna-se mais longa (GOINDIN et al., 2015).

Em todo caso, após o período de maturação sexual, o inseto adulto torna-se pronto para a cópula. Assim, independentemente do tempo de duração da fase adulta do mosquito *Aedes aegypti*, uma única cópula é suficiente para fecundar os ovos produzidos pela fêmea da espécie (FIOCRUZ, 2016). Esta característica facilita a difusão dos arbovírus nos centros urbanos, o que torna o combate ao vetor uma medida indispensável para a diminuição das transmissões de arboviroses.

1.3. Combate ao vetor

O controle do mosquito transmissor dos vírus da dengue, zika e chikungunya é uma medida imprescindível para a prevenção de doenças. Contudo, essa é uma tarefa complexa que envolve diversos pontos determinantes na manutenção e dispersão tanto na prevenção ou tratamento das doenças, quanto ao extermínio de seu vetor. Alguns pontos determinantes são externos ao setor da saúde, como por exemplo, o surgimento de aglomeração urbana, as condições inadequadas de habitação, a irregularidade no abastecimento de água, a destinação imprópria de resíduos, o crescente trânsito de pessoas e comercialização entre países, bem como as mudanças climáticas provocadas pelo aquecimento global (GOULD et al., 2017).

Dessa maneira, em 2002, o Ministério da Saúde (MS) do Brasil lançou a primeira edição do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) (MS/FNS, 2002) com o objetivo de buscar melhoria da cobertura, qualidade e regularidade do trabalho de campo no combate ao vetor. Já em 2009, com o objetivo de evitar a ocorrência de óbitos por dengue e prevenir e controlar processos epidêmicos foi lançado as Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle da Dengue em cooperação com todas as três esferas de poder (federal, estadual e municipal) que compõem o Sistema Único de Saúde (SUS), inclusive, dando autonomia para que as unidades federativas realizassem planos de controle próprios em complementação ao programa nacional (MS/SVS, 2009).

Dessa forma, nos anos de 2018 e 2019, com as novas epidemias causadas pelos

arbovírus zika e chikungunya, foi lançado pelo governo do Distrito Federal (DF) o Plano Integrado Em Saúde Para Prevenção, Controle e Enfrentamento da Dengue e Outras Arboviroses, que evidencia a importância das ações de prevenção e controle do vetor transmissor, o mosquito *Aedes aegypti* (SES-DF, 2019).

Existem métodos de combate ao mosquito *Aedes* que podem ser utilizados rotineiramente e que estão divididos em quatro esferas principais: os controles mecânicos, legais, biológicos e químicos (MS/SVS, 2009). Alguns métodos podem ser executados pela própria população, como é o caso do controle mecânico. Outros, no caso do Brasil, devem ser realizados exclusivamente pelos Agentes de Controle de Endemias (ACE) e Agentes Comunitários de Saúde (ACS), esses são os métodos de controle químico e biológico (MS/SVS, 2009).

O controle mecânico do vetor baseia-se em práticas relacionadas à eliminação de criadouros impedindo assim a procriação do mosquito. Quando as atividades de proteção, de destruição ou de destinação adequada de criadouros forem executadas pelos moradores das localidades domiciliares, O PNCD preconiza que devem ser supervisionadas pelos Agentes de Controle de Endemias ou Agentes Comunitários de Saúde (MS/FNS, 2002).

Carneiro e colaboradores (2016) apresentaram um estudo realizado no município de Pedra Branca no sertão do Ceará, o qual comprova a efetividade do método de controle mecânico. Os autores descreveram como o município obteve êxito nas suas ações de controle vetorial, com ausência de transmissão local de dengue por mais de dez anos, sem a utilização de agentes químicos, apenas com medidas educacionais e eliminação mecânica dos focos de reprodução do mosquito.

O controle legal dispõe da regularização de normas e condutas que incluem medidas de caráter legal podendo ser instituído aos municípios pelos códigos de postura, visando principalmente responsabilizar o proprietário pela manutenção e limpeza de

terrenos baldios, assegurar a visita domiciliar do Agente de Controle de Endemias aos imóveis fechados, abandonados e onde exista recusa à inspeção, além de regulamentar algumas atividades comerciais consideradas críticas, do ponto de vista sanitário (MS/SVS, 2009). Dessa forma, o amparo legal à execução das ações de campo é assegurado pelo Ministério da Saúde com o lançamento, em 2006, da segunda edição do PNCD - Amparo legal à execução das ações de campo – imóveis fechados, abandonados ou com acesso não permitido pelo morador (MS/SVS, 2006).

Outra opção de controle vetorial é o uso de agentes biológicos. Esta é uma nova alternativa para controle do mosquito *Aedes aegypti*, levando em consideração a resistência que esse adquiriu aos inseticidas químicos disponíveis no mercado (MS/SVS, 2009). Os controles biológicos têm um caráter bastante amplo, podendo ser feito com o uso de patógenos, parasitas ou predadores (ZARA et al., 2016). Contudo, dentre as alternativas disponíveis, o Ministério da Saúde vem adotando o uso do *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), que teve sua eficácia no controle do *Aedes aegypti* comprovada com estudos e ensaios em laboratório, e aplicação em campo (BENJAMIN et al., 2005; RITCHIE; RAPLEY; BENJAMIN, 2010). Embora os mecanismos que induzem a toxicidade do Bti ainda não tenham sido completamente elucidados, sabe-se que uma das desvantagens desse pesticida biológico é sua baixa estabilidade em relação à radiação ultravioleta solar (MELO; SOCCOL; SOCCOL, 2014; SANSINENEA et al., 2015).

Por fim, o controle químico consiste no uso de substâncias químicas com propriedades inseticidas para o controle do vetor nas fases larvária e adulta. Existe uma variedade de grupos inseticidas, contudo, as opções de produtos que podem ser usados na saúde pública são restritas, haja vista a necessidade de baixa toxicidade para humanos, que deve ser uma característica prioritária ao desenvolvimentos de novos agentes inseticidas (MS/FNS, 2001).

Durante muito tempo o MS preconizou a utilização do temefós, um organofosforado

de baixa toxicidade, como primeira escolha para o tratamento focal, no qual é feita a aplicação do produto sobre as fases imaturas do mosquito. Todavia, o uso do temefós foi descontinuado em muitos estados do Brasil, incluindo no Distrito Federal em 2011. Dessa forma, há também a possibilidade do uso de reguladores de crescimento, como os inibidores da síntese de quitina dos insetos, diflubenzuron e novaluron, e o análogo de hormônio juvenil, piriproxifeno (MS/SVS, 2009).

Para o tratamento perifocal ou espacial, no qual é realizada a aplicação espacial de inseticidas mais tóxicos com o objetivo específico de eliminar as fêmeas adultas de *Aedes aegypti*, são utilizados principalmente inseticidas dos grupos químicos piretróides (deltametrina e cipermetrina) e organofosforados (malation e fenitrotion) (MS, 2009). Todavia existem problemas no uso indiscriminado desses inseticidas, tais como danos ambientais e desenvolvimento da resistência dos vetores aos produtos. Os principais inseticidas químicos são mostrados na **figura 2**.

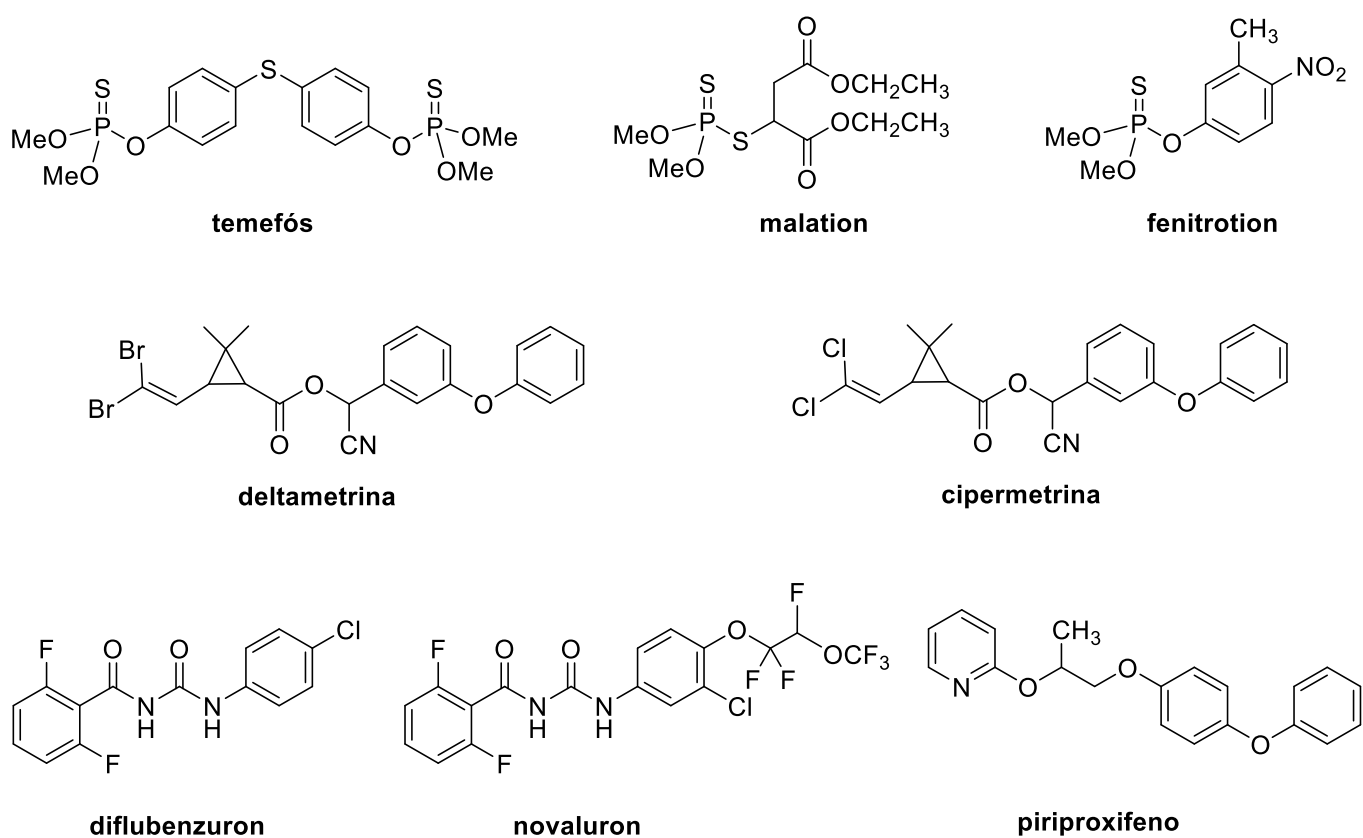


Figura 2. Inseticidas químicos preconizados nas Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle da Dengue.

Durante as décadas de 1950 e 1960, o uso do diclorodifeniltricloroetano (DDT) foi uma poderosa ferramenta nos programas de combate a pragas e/ou insetos vetores de doenças. Contudo, a tendência de causar danos ambientais, a baixa seletividade e o rápido aparecimento e disseminação de resistência dos insetos, tornaram o DDT pouco usual ao longo do tempo (CHAGNON et al., 2015; MELO-SANTOS et al., 2010).

Com isso, outras classes de inseticidas químicos foram desenvolvidas e hoje são amplamente utilizadas no controle de vetores. Os organofosforados e os piretróides são exemplos de inseticidas que substituíram o DDT, e são usados nos programas de controle de *Aedes aegypti* no Brasil, e no mundo (MS/SVS, 2009). Porém, a resistência a essas classes de compostos químicos, mais uma vez, vem surgindo como um problema, exigindo monitoramento constante das populações de *Aedes*.

No Brasil, diversos estudos relatam a resistência do *Aedes aegypti* em relação ao temefós e aos derivados de piretróides (DA GRACA MACORIS et al., 2014; DINIZ et al., 2014; LUNA et al., 2004). Em um recente estudo publicado em 2018, populações de *Aedes aegypti*, de quatro municípios do Brasil (Santarém – PA, Campo Grande – MS, Duque de Caxias – RJ e Parnamirim – RN) foram avaliadas e apresentaram resistência a temefós e deltametrina (GARCIA et al., 2018). Valle e colaboradores (2019) mostraram que a resistência a esses dois inseticidas está difundida por todas as regiões do Brasil. Sendo no Brasil onde estão os mais altos níveis de resistência a temefós em comparação ao resto das Américas. Havendo também, no país, considerável resistência a deltametrina, como mostra a **figura 3** (MOYES et al., 2017).

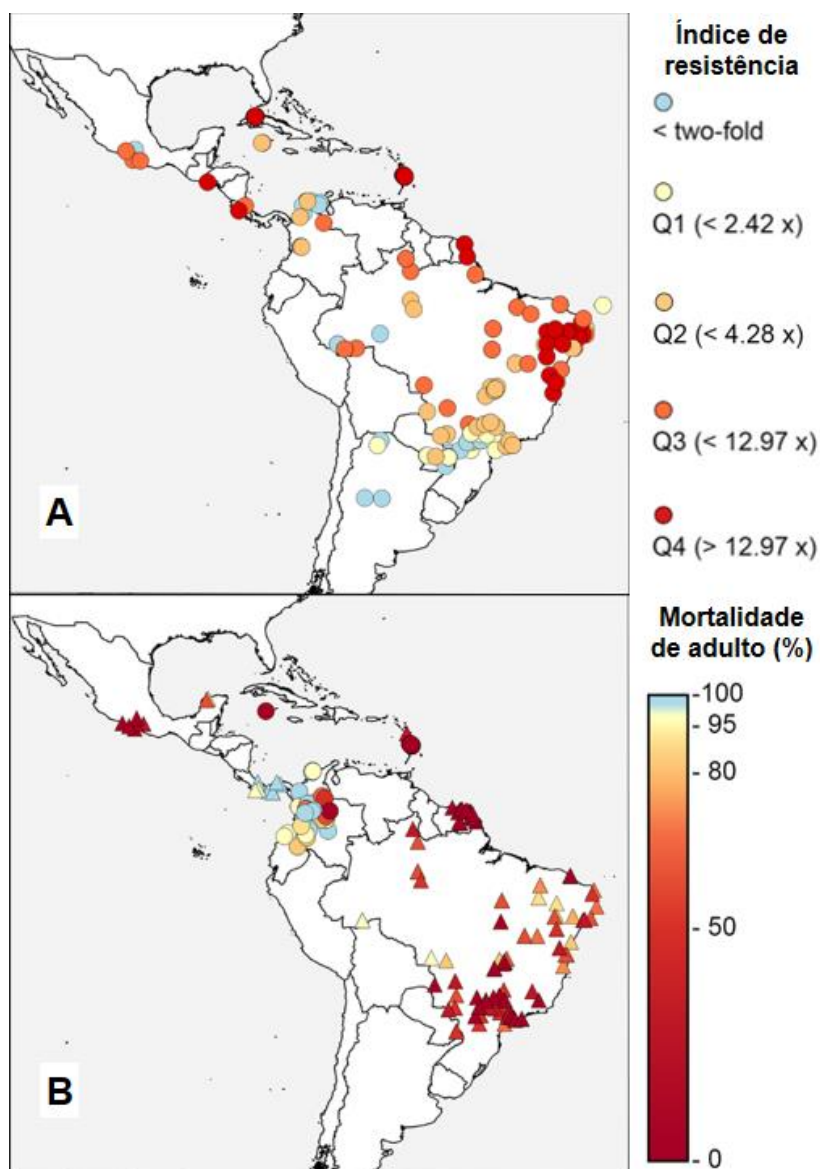


Figura 3. Mapeamento geral demonstrando os níveis de resistência do *Aedes aegypti* nas Américas. A) Resistência a temefós, 2006–2015; e B) Resistência a deltametrina, 2006–2015. Q = razão de resistência (fonte: adaptado de MOYES et al., 2017)

Alguns dos mecanismos de resistência a piretróides mais bem documentados na literatura são a insensibilidade do canal de voltagem de sódio, no qual o inseticida atua, causando resistência knockdown (kdr) (BRITO et al., 2013); e desintoxicação metabólica por ação de monooxigenases dependentes de citocromo P450, esterases e glutathione-s-transferases (GSTs) (CHAREONVIRIYAPHAP et al., 2013). Já a resistência a temefós está intrinsicamente relacionada à redução da afinidade da enzima acetilcolinesterase (AChE) pelo organofosforado (OPPENORTH, 1984).

Além da resistência direta do mosquito *Aedes aegypti* aos organofosforados e piretróides, outro fator problemático é a possível resistência cruzada a piriproxifeno que esses inseticidas podem causar. Em Martinica, região ultramarina francesa, uma população do mosquito vetor demonstrou ser tolerante a ação do análogo de hormônio juvenil, presumivelmente devido à resistência cruzada com temefós (MARCOMBE et al., 2011). No Brasil, a resistência cruzada a piriproxifeno foi relatada em Salvador, Bahia (ANDRIGHETTI et al., 2008). E mais recentemente, foi observada resistência, agora por pressão seletiva, em cepas de *Aedes aegypti* de Patos, no estado da Paraíba (MORAIS et al., 2017).

1.5. Produtos naturais

O interesse pelos inseticidas de origem natural começou no início da década de 1930 e durou até os anos 1950, quando o desenvolvimento dos inseticidas químicos sintéticos surgiu como uma solução efetiva no combate aos insetos. Contudo, nas duas últimas décadas, devido às dificuldades trazidas pelo uso dos inseticidas sintéticos, o interesse por produtos naturais de origem vegetal com ação inseticida retornou (BOEKE et al., 2004; HARRINGTON; EDMAN; SCOTT, 2001).

Com isso, as pesquisas por inseticidas que possam ser usados para o controle do vetor *Aedes aegypti* vêm sendo focadas, principalmente, em extratos e óleos essenciais obtidos de plantas, em consequência da elevada seletividade e, também, fácil conversão a produtos não tóxicos ou com toxicidade baixa aos organismos não alvos e ao meio ambiente (ISMAN, 2006).

Na revisão realizada por Viana e colaboradores (2018) foram apresentados extratos de 219 espécies vegetais, de diversas famílias, que demonstraram atividade em larvas de *Aedes aegypti*, bem como 141 óleos essenciais que à 100 ppm causaram mortalidade de 50% das larvas nos teste perfomados.

Aatividade inseticida dos produtos de origem vegetal corresponde aos metabólitos

secundários que, em sua maioria, possuem estruturas químicas de alta complexidade e com um amplo espectro de funções no organismo vegetal, entre essas, a função de proteção contra herbivoria (SIMÕES et al., 2017). Razão pela qual, extratos e óleos essenciais podem atuar em todas as fases do desenvolvimento do inseto (SHAALAN et al., 2005; SHARMA; MOHAN; SRIVASTAVA, 2009; ZHU et al., 2008).

Alguns metabólitos secundários como monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides estão presentes em altas concentrações em óleos essenciais (SANTANA et al., 2015; SANTOS et al., 2017), outros, como os alcaloides, estão exclusivamente presentes em extratos de plantas características, como espécies do gênero *Duguetia* (CAROLLO; HELLMANN-CAROLLO, 2006). Contudo, todos esses componentes químicos desempenham um importante papel sobre vários insetos vetores de doenças (SHAALAN et al., 2005), inibindo a alimentação, reduzindo a oviposição, prejudicando o crescimento de suas formas imaturas ou, até mesmo, atraindo inimigos naturais (ISMAN, 2006; SIMÕES et al., 2017). Além de agirem sinergicamente para apresentar características repelentes (NAVARRO-SILVA; MARQUES; DUQUE L, 2009). Por todas essas razões elencadas, os metabólitos secundários produzidos por vegetais tornam-se candidatos ao desenvolvimento de novos produtos que possam ser utilizados no controle de insetos.

1.6. O Bioma Cerrado

O Cerrado brasileiro é um dos biomas mais diversos do mundo (STRASSBURG et al., 2017). Seu nome, de origem espanhola, tem o significado de “fechado”, fazendo jus à sua vegetação arbustiva herbácea densa (SOUZA, 1973). Esse bioma, além de ser considerado um dos 25 ecossistemas do mundo que apresentam alta biodiversidade (SILVA; SANTOS, 2012) também é conhecido por ser um dos mais ameaçados na atualidade. Acredita-se que além do uso territorial intensivo no passado, a recente ocupação do Cerrado, devido ao crescimento urbano e à expansão agrícola, tenha causado uma devastação de quase 50% do bioma. A estimativa é de que apenas 19,8%

do Cerrado original permanece preservado, e com essa devastação muitas espécies de plantas correm risco de serem extintas, como demonstra a projeção na **figura 4** (STRASSBURG et al., 2017).

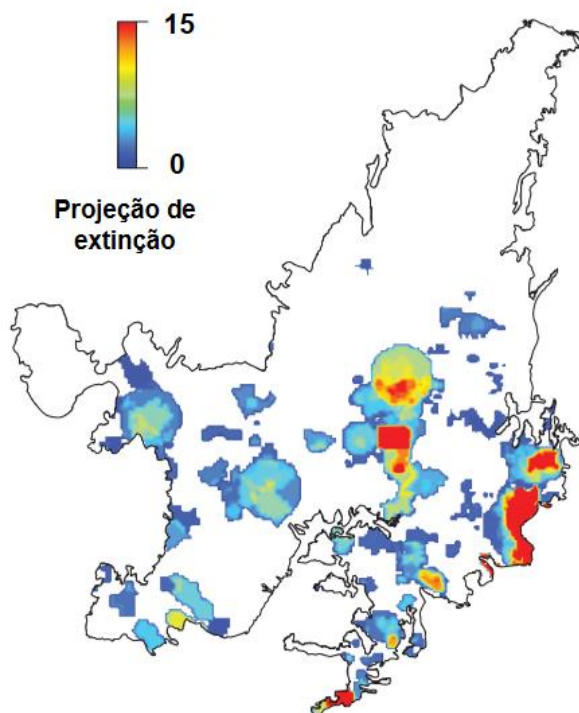


Figura 4. Projeção de extinção de 397 espécies de plantas endêmicas do cerrado com base na perda de habitat para agricultura até 2050 (fonte: adaptado de STRASSBURG et al., 2017).

Apesar disso, o Cerrado é uma região que ainda abriga aproximadamente 10.000 espécies de plantas, sendo mais de 4.000 endêmicas (BUENO et al., 2018). Sua flora é influenciada pelo clima sazonal com invernos secos e verões chuvosos. A ação das chuvas ao longo do tempo intempera os solos deixando-os pobres em nutrientes essenciais (OLIVEIRA; RESENDE; SCHLEDER, 2014). Em resposta a essas condições ambientais adversas, as plantas do Cerrado produzem variados metabólitos secundários, e, dessa forma, destacam-se por sua diversidade química tornando o bioma uma fonte de compostos que podem apresentar propriedades terapêuticas, ou servir como inspiração para desenvolvimento de novas substâncias ativas, ou inclusive inseticidas (ALVES; SANTOS, 2013).

Como por exemplo as acetogeninas, uma classe de moléculas de origem natural com comprovada atividade pesticida, produzidas por algumas espécies de plantas do Cerrado, e promissora como protótipo para elaboração de produto inseticida (COSTA et al., 2013).

1.7. Annonaceae

Annonaceae é uma das famílias de plantas mais diversas do mundo e também considerada uma das mais primitivas angiospermas (DOYLE; LE THOMAS, 1997). Pertencente à ordem Magnoliales, essa família apresenta distribuição pantropical, sendo a América Central e a do Sul, a África e a Ásia os centros de diversidade dessa família (DOYLE et al., 2004). Compreende aproximadamente 2500 espécies divididas em quase 130 gêneros que abrangem árvores aromáticas, arbustos e trepadeiras (CHATROU et al., 2012). Especificamente no Brasil há 29 gêneros e 386 espécies de Annonaceae (LOPES; MELLO-SILVA, 2014), sendo 10 gêneros e 47 espécies encontrados no Cerrado (MAAS; RAINER; LOBÃO, 2013).

Em estudos anteriores, os constituintes químicos das plantas dessa família foram divididos em dois grupos, um de substâncias alcaloídicas e outro de não alcaloídicas (LEBOEUF et al., 1982). Hoje sabe-se que a diversidade de constituintes químicos das Annonaceae é enorme, abrangendo um grande número de constituintes não alcaloídicos, tais como flavonoides, acetogeninas, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos (BERMEJO et al., 2005; LEBOEUF et al., 1982).

Embora espécies dessa família sejam conhecidas pelos seus frutos comestíveis, como o “araticum” da *Annona crassiflora* e a “pimenta-de-macaco” da *Xylopiia aromatica*, é importante salientar o potencial inseticida dessas e outras espécies de Annonaceae (RODRIGUES et al., 2006). Estudos com *Cananga odorata* e *Annona coriacea* mostraram que essas duas espécies possuem atividade em pupas e larvas de *Aedes aegypti*, respectivamente (MORAES et al., 2011; SOONWERA, 2015).

1.7.1. *Duguetia furfuracea*

Duguetia furfuracea (**figura 5**) (A. St.-Hil.) Benth. & Hook.f. é uma planta da família Annonaceae. Trata-se de um arbusto medindo até 2 metros de altura com acentuadas ramificações desde sua base. Esta espécie é conhecida popularmente pelos nomes: araticum, marolinho-do-cerrado, pinha-de-guará ou sofre-do-rim-quem-quer. Esta planta possui uma casca suberosa e folhas oblongo lanceoladas a elípticas com dimensões aproximadas de 9-14 x 3-5 cm. As flores são róseo-alaranjadas, carnosas e em pedúnculos opostos às folhas. Os frutos são verde-claro, globoso a estrobiliforme com até 8 cm de diâmetro e comestíveis (MAAS et al., 2001).

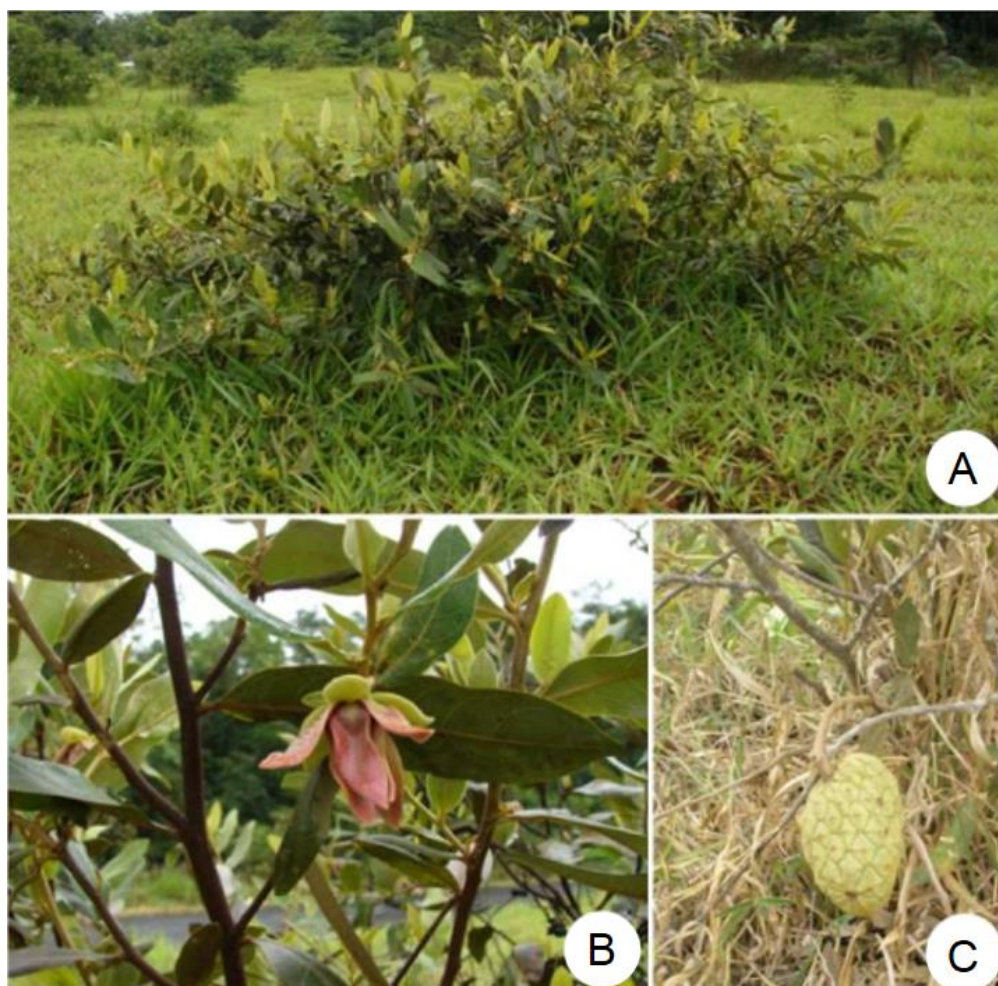


Figura 5. *Duguetia furfuracea* (A.St-Hil.) Staff. A) Aspecto geral; B) Destacando-se a flor em antese; C) Apresentando-se o fruto maduro comestível (fonte: adaptado de GALASTRI et al., 2008).

Na medicina popular ou tradicional as sementes desta espécie do Cerrado são pulverizadas, diluídas em água e utilizadas como parasiticida, especialmente contra piolhos (CORREA, 1978). Das folhas e galhos podem ser feitas infusões, que são utilizadas no tratamento de reumatismo (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007). A caracterização química de *Duguetia furfuracea* divulgada na literatura não aponta a presença de acetogeninas, classe de metabólitos secundários característica da família Annonaceae com propriedades pesticidas (COSTA et al., 2013). Contudo, o extrato bruto da madeira da raiz desta planta exibe atividade em larvas do mosquito *Aedes aegypti* (RODRIGUES et al., 2006).

Na literatura, os estudos fitoquímicos utilizando-se folhas e caules de *Duguetia furfuracea* demonstraram, a presença de monoterpênos, sesquiterpênos, alcaloides isoquinolínicos e aporfínicos, além de um flavonoide (CAROLLO; HELLMANN-CAROLLO, 2006; CAROLLO; HELLMANN; DE SIQUEIRA, 2005; CAROLLO; SIQUEIRA, 2009; VALTER et al., 2008). Da casca do caule subterrâneo foram obtidos constituintes químicos aromáticos como fenilpronoídes, sesquiterpênos, triterpênos e alguns alcaloides (SILVA et al., 2007). A partir do extrato hidroalcoólico das folhas de *Duguetia furfuracea* foram observadas atividades biológicas como antifúngica, antioxidante e tóxica em *Drosophila melanogaster*. Além disso, foram identificados compostos fenólicos como os ácidos gálico, clorogênico, cafeico, elágico e os flavonoides rutina, isoquercetina, quercetina e kaempferol (PINHO et al., 2014, 2016).

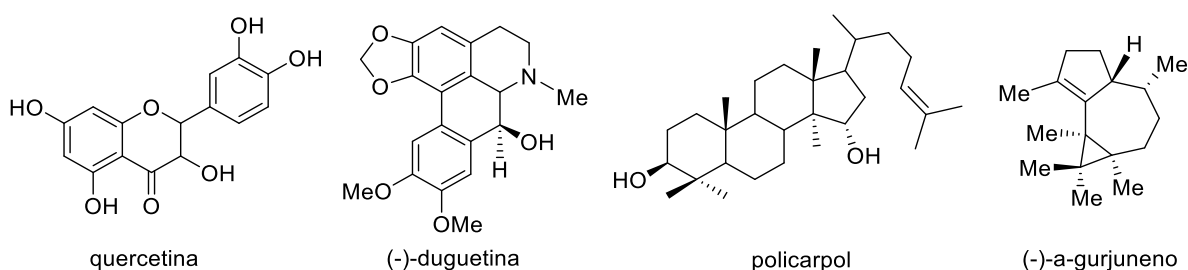


Figura 6. Exemplos de compostos de *Duguetia furfuracea* (Fonte: SILVA et al., 2007)

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar o isolamento bioguiado de compostos ativos em larvas de *Aedes aegypti*, utilizando a espécie vegetal *Duguetia furfuracea*. Dessa forma, este estudo também visa contribuir junto ao controle do mosquito vetor dos arbovirus da dengue, zika e chikungunya.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar o pré fracionamento do extrato Arbo0057;
- Avaliar atividade das pré-frações em larvas no terceiro estágio (L3);
- Analisar o perfil químico das pré-frações;
- Obter componente(s) ativo(s) das pré-frações;
- Elucidar o(s) componente(s) obtido(s);
- Avaliar a atividade do(s) componente(s) em larvas do mosquito *Aedes aegypti*;
- Determinar a concentração letal (CL) do(s) componente(s) obtido(s) em larvas de *Aedes aegypti* para 50% (CL₅₀).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Análise por CLAE-DAD-EM/EM

As frações obtidas foram analisadas por CLAE-DAD-EM/EM (cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos acoplada à espectrometria de massas) utilizando cromatógrafo LC-6AD, Shimadzu acoplado a espectrômetro de massas *ESI-QTOF* (Ultra Q-ToF Bruker Daltonics). Para separação cromatográfica foi utilizada coluna C₁₈ (Supelco Ascentis Express, 15 cm x 4,6 mm, tamanho de partícula de 2,7 µm), como fases móveis, foram usados metanol e água (ambos adicionados de ácido fórmico). O método de eluição iniciou com 5% de metanol, aumentando para 100% em 30 minutos; 20 minutos a mais foram usados para lavagem e estabilização da coluna. A temperatura da coluna foi de 40 °C e a taxa de fluxo foi de 0,6 mL.min⁻¹. Os parâmetros da fonte foram 3500 V em capilar, nebulizador de 5,5 bar, gás seco de 10 L.min⁻¹ e a temperatura da fonte foi de 230 °C.

3.2. Procedimentos de obtenção de compostos de *Duguetia furfuracea*

O extrato bruto Arbo0057 pesando 1,5 g, pertencente ao Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília (UnB), foi pré-fracionado por extração em fase sólida (EFS) utilizando cartuchos contendo sílica e 60 mL dos eluentes: (A) hexano e diclorometano (9:1 v/v), (B) diclorometano e acetato de etila (20:1 v/v), (C) acetato de etila, (D) acetato de etila e metanol (5:1 v/v), e (E) metanol.

Das 5 frações obtidas, a fração Arbo8A010B (825,1 mg) foi submetida ao isolamento bioguiado utilizando sílica gel por cromatografia em coluna clássica. A eluição foi iniciada com hexano e acetato de etila (8:2 v/v). Após a coleta de 30 frações com o volume de 6 mL cada, a proporção da fase móvel foi alterada para hexano e acetato de etila (6:4 v/v). Coletou-se 30 frações e novamente a proporção da fase móvel foi modificada, agora para acetato de etila e hexano (8:2 v/v) e mais 30 frações foram coletadas. Por fim foi usado acetato de etila como eluente, coletando-se outras 30 frações.

Após análise do perfil químico por CCDC (Cromatografia em Camada Delgada Comparativa), as frações foram reunidas em 6 frações.

Estas seis frações resultantes foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Para tanto, utilizou-se um cromatógrafo Breeze™ Waters (injetor automática, detector UV). A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C₁₈ (SunFire™, 4.6 x 250 mm; tamanho de partícula de 5 µm). A vazão foi de 1 mL/min e o volume de injeção foi de 10 µL. A fase móvel foi de água ultrapura e ácido fórmico 0,1% (v/v) (solvente A), e metanol e ácido fórmico 0,1% (v/v) (solvente B). O método gradiente de eluição iniciou com 50,0% de Solvente B e foi aumentado para 70,0% em 2.00 min, foi mantida esta proporção por 7.00 min, novamente o solvente B foi aumentado para 90,0% em 6.00 min. Por fim, a lavagem e estabilização da coluna foi feita por mais 5.00 min. Em 1.00 min elevou-se a porcentagem do solvente B até 100,0%, mantendo-a por 1.00 min. Outro 1.00 min foi gasto para retornar a porcentagem inicial de 50%, e assim mantê-la por mais 2.00 min. Totalizando o tempo de corrida de 20.00 min.

Após o procedimento de análise por CLAE, a fração Arbo8A017D (167,4 mg) foi solubilizada em 16,5 mL de metanol e água (7:3 v/v) e, em seguida, submetida ao processo de isolamento por CLAE-preparativa utilizando cromatógrafo Varian (injetor manual, detector UV, lâmpada de tungstênio e de deutério) e coluna C₁₈ (SunFire™, 10 x 250 mm, tamanho de partícula de 5 µm). A vazão foi de 4,00 mL/min e o volume de injeção foi de 500 µL. Foi monitorado o comprimento de onda de 270 nm. A fase móvel e o gradiente de eluição seguiu o mesmo perfil da análise analítica.

3.3. Análise por RMN

Os espectros de RMN de ¹H foram adquiridos em espectrômetro *BRUKER Avance* III 300 (300 MHz) e *BRUKER Avance* III HD 600 (600 MHz). Os descolamentos químico foram expressos em partes por milhão (δ /ppm). As constantes de acoplamento foram absolutas e os valores de *J* foram expressos em Hertz (Hz). As descrições de sinais

incluem: s = simpleto, d = duplete, dd = duplo duplete, dq = duploquarteto, m = multiplete. Os espectros de RMN de ^{13}C e DEPTQ-135 foram adquiridos em espectrômetros BRUKER Avance III 300 (75 MHz), e BRUKER Avance III HD 600 (150 MHz). E os deslocamentos químico também foram expressos em partes por milhão (δ/ppm).

3.4. Avaliação da atividade larvicida

Os testes larvicidas foram realizados em cepas de *Aedes aegypti* de linhagem Rockefeller – referência de suscetibilidade, mantidas no Insetário ArboControl / Laboratório de Farmacognosia, Universidade de Brasília. A manutenção das colônias foi realizada em sala climatizada com temperatura de 25 a 28 °C, 70% de umidade relativa do ar e ciclo natural de foto período 12/12 horas, segundo os protocolos estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (ELANGO et al., 2009).

Para os testes iniciais as amostras foram dissolvidas em DMSO (dimetilsulfóxido). Todos os testes foram realizados em quadruplicada utilizando placas de 12 poços contendo, em cada poço, 10 larvas de *Aedes aegypti* em terceiro estágio, 3 mL de água e 50 μL de amostra ou controle negativo (dimetilsulfóxido). Foram testadas substâncias com alto teor de pureza à concentração de 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, frações à 125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e extrato bruto à 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

A CL_{50} (Concentração Letal) do extrato bruto de *Duguetia furfuracea* e dos compostos obtidos foi determinada nas mesmas condições experimentais dos testes iniciais. Os dados de CL_{50} foram tratados usando o software *Graphpad prism 7.0*. E as concentrações testadas para construção da curva de mortalidade foram de 250, 200, 150, 100, 75, 50, 25, 12,5 e 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

A mortalidade das larvas foi quantificada em 24, 48 e/ou 72 horas. Sendo consideradas mortas todas as larvas que não reagiram a estímulos, não nadavam ou nadavam pouco. A atividade larvicida foi determinada de acordo com a fórmula:

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

4. REFERÊNCIAS

AGRA, M. D. F.; FREITAS, P. F. DE; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.

ALVES, D. S. et al. Acaricidal activity of Annonaceae fractions against *Tetranychus tumidus* and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and the metabolite profile of *Duguetia lanceolata* (Annonaceae) using GC-MS. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 4119–4132, 2015.

ALVES, D. S. et al. Selection of annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 649–659, 2016.

ALVES, L. F.; SANTOS, P. F. P. DOS. Brazilian biodiversity as a source of new medicines. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 3, p. 307–320, 2013.

ANDRIGHETTI, M. T. M. et al. Effect of pyriproxyfen in *Aedes aegypti* populations with different levels of susceptibility to the organophosphate temephos. **Dengue Bulletin**, v. 32, p. 186–198, 2008.

BENJAMIN, S. et al. EFFICACY OF A BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENISIS TABLET FORMULATION, VECTOBAC DT®, FOR CONTROL OF DENGUE MOSQUITO VECTORS IN POTABLE WATER CONTAINERS. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 36, n. 4, p. 876–892, 2005.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Research**, v. 22, p. 269–303, 2005.

BERNARDS, M. A.; BAASTRUP-SPOHR, L. Induced plant resistance to herbivory. In:

Induced Plant Resistance to Herbivory. 1. ed. London: [s.n.]. p. 189–211.

BOEKE, S. J. et al. Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 25–41, 2004.

BRITO, L. P. et al. Assessing the Effects of *Aedes aegypti* kdr Mutations on Pyrethroid Resistance and Its Fitness Cost. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.

BUENO, M. L. et al. Tree flora of the Cerrado of Mato Grosso do Sul state. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 73, n. supl., p. 53–64, 2018.

CÂMARA, F. P. et al. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 192–196, 2007.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885–1886, 2015.

CARNEIRO, F. F. et al. Experiência bem-sucedida no controle do *Aedes aegypti* sem uso de venenos no sertão cearense. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 4, n. 2, p. 126–131, 2016.

CAROLLO, C. A.; HELLMANN-CAROLLO, A. R. Alkaloids and a Flavonoid From Aerial Parts (Leaves and Twigs) of *suguetia furfuracea* - Annonaceae. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 51, n. 2, p. 837–842, 2006.

CAROLLO, C. A.; HELLMANN, A. R.; DE SIQUEIRA, J. M. Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 33, n. 6, p. 647–649, 2005.

CAROLLO, C. A.; SIQUEIRA, J. M. DE. Isolation of a minor nitro-alkaloid from the aerial parts of *Duguetia furfuracea* - Annonaceae. **Natural Product Research**, v. 23, n. 7, p. 633–637, 2009.

CHAGNON, M. et al. Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 119–134, 2015.

CHAREONVIRIYAPHAP, T. et al. Review of insecticide resistance and behavioral avoidance of vectors of human diseases in Thailand. **Parasites and Vectors**, v. 6, n. 1, p. 1–28, 2013.

CHATROU, L. W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 5–40, 2012.

CHOUIN-CARNEIRO, T.; SANTOS, D. F. B. DOS S. Transmission of Major Arboviruses in Brazil: The Role of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Vectors. In: SHIELDS, V. D. C. (Ed.). . **Biological Control of Pest and Vector Insects**. [s.l: s.n.]. v. 1p. 231–255.

COSTA, M. DA S. et al. Anonáceas provocam mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera:Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, p. 184–190, 2013.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013.

DA GRACA MACORIS, M. DE L. et al. Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of Sao Paulo. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 47, n. 5, p. 573–578, 2014.

DAVID, M. R.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; DE FREITAS, R. M. Container productivity, daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* mosquitoes in a high income dengue epidemic neighbourhood of Rio de Janeiro: Presumed influence of differential urban structure on mosquito biology. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 6, p. 927–932, 2009.

DE OLIVEIRA, G. G. et al. Dereplication of Flavonoid Glycoconjugates from *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* by Untargeted Tandem Mass Spectrometry-Based Molecular Networking. **Planta Medica**, v. 83, n. 7, p. 636–646, 2017.

DINIZ, M. M. C. DE S. L. et al. Resistance of *Aedes aegypti* to temephos and adaptive disadvantages. **Revista de Saude Publica**, v. 48, n. 5, p. 775–782, 2014.

DOS SANTOS, T. P. et al. Dengue serotype circulation in natural populations of *Aedes aegypti*. **Acta Tropica**, v. 176, p. 140–143, 2017.

DOYLE, J. A. et al. Phylogeny, Molecular and Fossil Dating, and Biogeographic History of Annonaceae and Myristicaceae (Magnoliales). **International Journal of Plant Sciences**, v. 165, n. 4, p. 55–6, 2004.

DOYLE, J. A.; LE THOMAS, A. Phylogeny and Geographic History of Annonaceae. *Phylogénie et histoire géographique des Annonaceae*. *Phylogenie und geographische Geschichte der Annonaceae*. **Géographie physique et Quaternaire**, v. 51, n. 3, p. 353–361, 1997.

FIOCRUZ. **Conheça o comportamento do mosquito *Aedes aegypti* e entenda a razão que leva este pequeno inseto a ser taxado desta forma**. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/oportunista.html>>. Acesso em: 28 abr. 2018.

FOURNIER, G.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Annonaceae essential oils: A review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 2, p. 131–142, 1999.

GARCIA, G. DE A. et al. The impact of insecticide applications on the dynamics of resistance: The case of four *Aedes aegypti* populations from different Brazilian regions. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 2, p. 1–20, 2018.

GOINDIN, D. et al. Parity and longevity of *aedes aegypti* according to temperatures in controlled conditions and consequences on dengue transmission risks. **PLoS ONE**, v. 10,

n. 8, p. 1–21, 2015.

GOULD, E. et al. Emerging arboviruses: Why today? **One Health**, v. 4, n. 17, p. S2352-7714, 2017.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 3, p. 480–496, 1998.

GUBLER, D. J. Dengue, Urbanization and Globalization: The Unholy Trinity of the 21st Century. **Tropical Medicine and Health**, v. 39, n. 4S, p. S3–S11, 2011.

GUZMAN, M. G. et al. Dengue: A continuing global threat. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 12, p. S7–S16, 2010.

HADDOW, A. D. et al. Genetic characterization of zika virus strains: Geographic expansion of the asian lineage. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 2, 2012.

HARRINGTON, L. C.; EDMAN, J. D.; SCOTT, T. W. Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? *Journal of Medical Entomology*, 38(3), 411–422. <https://doi.org/10.1093/jme/38.3.411>. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 3, p. 411–422, 2001.

HEMATPOOR, A. et al. Inhibition and larvicidal activity of phenylpropanoids from *Piper sarmentosum* on acetylcholinesterase against mosquito vectors and their binding mode of interaction. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 1–27, 2016.

HENNESSEY, M.; FISCHER, M.; ERIN STAPLES, J. **Vírus zika se espalha para novas áreas — Região das Américas, maio de 2015—janeiro de 2016**. [s.l.: s.n.].

HIRATA, R. PIRETRÓIDES: ESTRUTURA QUÍMICA - ATIVIDADE BIOLÓGICA. **QUÍMICA NOVA**, v. 18, n. 4, p. 368–374, 1995.

ISMAN, M. B. Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 1, p. 45–66, 2006.

KISHORE, N. et al. Natural Products as Leads to Potential Mosquitocides. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, n. 3, p. 587–627, 2014.

KÖNIG, S. et al. Soluble phenylpropanoids are involved in the defense response of Arabidopsis against *Verticillium longisporum*. **New Phytologist**, v. 202, n. 3, p. 823–837, 2014.

KOTSAKIOZI, P. et al. Tracking the return of *Aedes aegypti* to Brazil, the major vector of the dengue, chikungunya and Zika viruses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–20, 2017.

LEBOEUF, M. et al. The Phytochemistry Of The Annonaceae. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2783–2813, 1982.

LOPES, J. DE C.; MELLO-SILVA, R. Diversidade e caracterização das Annonaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 125–131, 2014.

LUNA, J. E. D. et al. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina , Brasil Susceptibility of *Aedes aegypti* to temephos and cypermethrin insecticides , Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 2003–2004, 2004.

MAAS, P. J. M. et al. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguesia**, v. 52, n. 80, p. 65–98, 2001.

MAAS, P. J. M.; RAINER, H.; LOBÃO, A. Q. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10828>>. Acesso em: 28 maio. 2019.

MAIA, J. G. S. et al. Essential oil composition from *duguetia* species (annonaceae). **Journal**

of **Essential Oil Research**, v. 18, n. 1, p. 60–63, 2006.

MARCOMBE, S. et al. Field efficacy of new larvicide products for control of multi-resistant *Aedes aegypti* populations in Martinique (French West Indies). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 1, p. 118–126, 2011.

MELO-SANTOS, M. A. V. et al. Resistance to the organophosphate temephos: Mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. **Acta Tropica**, v. 113, n. 2, p. 180–189, 2010.

MELO, A. L. D. A.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. *Bacillus thuringiensis*: Mechanism of action, resistance, and new applications: A review. **Critical Reviews in Biotechnology**, p. 1–10, 2014.

MOMIN, R. A.; NAIR, M. G. Pest-managing efficacy of trans-asarone isolated from *Daucus carota* L. seeds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4475–4478, 2002.

MORAES, J. M. DE et al. Avaliação da Atividade de *Annona Coriacea* (ANNONACEAE) sobre adultos de *Aedes aegypti* (DIPTERA:CULICIDAE) em laboratório. **Revista de Agricultura**, v. 86, n. 2, p. 115–121, 2011.

MORAIS, J. O. et al. Avaliação Do Regulador De Crescimento De Insetos Pyriproxifen Em Populações De *Aedes Aegypti* (Díptera: Culicidae). **Temas em Saúde**, v. 17, n. 1, p. 403–420, 2017.

MOYES, C. 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.

MS/FNS. **Controle de vetores: procedimentos de segurança** *Vigilância Epidemiológica* Brasília, 2001.

MS/FNS. **Programa Nacional de Controle da Dengue Vigilância Epidemiológica** Brasília, 2002. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pncd_2002.pdf>

MS/SVS. **Programa Nacional de Controle da Dengue - Amparo legal à execução das ações de campo - imóveis fechados, abandonados ou com acesso não permitido pelo morador** Brasília, 2006.

MS/SVS. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue** Secretaria de Vigilância em Saúde Brasília, 2009. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs%0Ahttp://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf>

MUSSO, D.; CAO-LORMEAU, V. M.; GUBLER, D. J. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya? **The Lancet**, v. 386, p. 243–244, 2015.

NAGASHIMA, F.; MURAKAMI, Y.; ASAKAWA, Y. Aromatic compounds from the Ecuadorian liverwort *Marchesia brachiata*: A revision. **Phytochemistry**, v. 51, n. 8, p. 1101–1104, 1999.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE L, J. E. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 1, p. 1–6, 2009.

NUNES, M. R. T. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **BMC Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 2015.

OECD. **Consensus Document on the Biology of Mosquito *Aedes aegypti***. Paris: ENV/JM/MONO, , 2018. (Nota técnica).

OLIVEIRA, A. K. M.; RESENDE, U. M.; SCHLEDER, E. J. D. Plant species and syndromes dispersion in a savanna remaining, Campo Grande Municipality, Mato Grosso do Sul.

Ambiência, v. 10, n. 2, p. 565–580, 2014.

OPAS/OMS. **Index @ Www.Paho.Org**. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task>. Acesso em: 28 abr. 2018.

OPPENORTH, F. J. of Insecticide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 22, p. 187–193, 1984.

PADOAN GONÇALVES, G. L. et al. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.- Hil. (Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 360–367, 2017.

PATRIDGE, E. et al. An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 204–207, 2016.

PERUMALSAMY, H. et al. Larvicidal activity of asarum heterotropoides root constituents against insecticide-susceptible and-resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti* and *Ochlerotatus togii*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 18, p. 10001–10006, 2010.

PINHO, F. V. S. DE A. et al. Phytochemical Constituents and Toxicity of *Duguetia furfuracea* Hydroalcoholic Extract in *Drosophila melanogaster*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1–11, 2014.

PINHO, F. V. S. DE A. et al. Phytochemical Composition, Antifungal and Antioxidant Activity of *Duguetia furfuracea* A. St.-Hill. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–9, 2016.

RITCHIE, S. A.; RAPLEY, L. P.; BENJAMIN, S. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) provides residual control of *Aedes aegypti* in small containers. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 6, p. 1053–1059, 2010.

ROBINSON, M. C. AN EPIDEMIC OF VIRUS DISEASE IN SOUTHERN PROVINCE, TANGANIKA TERRITORY, IN 1952-53. **Journal of Geophysical Research Atmospheres**, v. 49, n. 1, p. 28–32, 1955.

RODRIGUES, A. M. S. et al. Larvicidal Activity of Some Cerrado Plant Extracts Against *Aedes Aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 2, p. 314–317, 2006.

RUST, R. S. Human Arboviral Encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130–151, 2012.

SANSINENEA, E. et al. An Ultra-Violet Tolerant Wild-Type Strain of Melanin-Producing *Bacillus thuringiensis*. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 8, n. 6, 2015.

SANTANA, H. et al. Óleo essencial da folha de espécies de *Piper* exibem atividade larvicida contra o vetor da dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 105–111, 2015.

SANTOS, H. S. et al. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) of essential oils from leaves, stalks and roots of the *Croton nepetaefolius* Baill (Euphorbiaceae). **International Journal of Mosquito Research**, v. 4, n. 5, p. 19–22, 2017.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, G. R. Piretróides - Uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339–349, 2007.

SES-DF. **PLANO INTEGRADO EM SAÚDE PARA PREVENÇÃO , CONTROLE E ENFRENTAMENTO DA DENGUE E OUTRAS ARBOVIROSES** Brasília, 2019.

SHAALAN, E. A. S. et al. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, n. 8, p. 1149–1166, 2005.

SHARMA, P.; MOHAN, L.; SRIVASTAVA, C. N. *Amaranthus oleracea* and *Euphorbia hirta*:

Natural potential larvicidal agents against the urban Indian malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 106, n. 1, p. 171–176, 2009.

SILVA, D. B. DA et al. Chemical constituents of the underground stem bark of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1560–1565, 2007.

SILVA, L. G.; SANTOS, S. MODELOS DIGITAIS DE TERRENO COMO FERRAMENTA DE SUPORTE PARA NOTA : MODELOS DIGITAIS DE TERRENO COMO FERRAMENTA CONSERVAÇÃO DO CERRADO. **Revista de Geografia**, v. 3, n. 1, p. 121–127, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia - do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: [s.n.].

SIQUEIRA., J. M. DE et al. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS CASCAS DO CAULE DE *DUGUETIA GLABRIUSCULA* - ANNONACEAE, BIOMONITORADO PELO ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE A *ARTEMIA SALINA* LEACH. **Quimica Nova**, v. 24, n. 2, p. 185–187, 2001.

SOONWERA, M. Efficacy of essential oil from *Cananga odorata* (Lamk.) Hook.f. & Thomson (Annonaceae) against three mosquito species *Aedes aegypti* (L.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison), and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Parasitology Research**, v. 114, n. 12, p. 4531–4543, 2015.

SOUZA, P. F. **Terminologia Florestal: Glossário de Termos e Expressões Florestais**. Rio de Janeiro: [s.n.]. v. 1

STRASSBURG, B. B. N. et al. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, p. 1–3, 2017.

SVS/MS. **Boletim Epidemiológico 10 - 01/2019: Monitoramento dos casos de dengue,**

febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica

11 de 2019. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/marco/25/2019-013-Monitoramento-dos-casos-de-arboviroses-publicacao-25-03-2019.pdf>>.

SVS/MS. Boletim Epidemiológico 01 - 01/2019: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica

50 de 2018. [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/2019-002.pdf>>.

TEICH, V.; ARINELLI, R.; FAHHAM, L. *Aedes aegypti* e sociedade: o impacto econômico das arboviroses no Brasil. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 9, n. 3, p. 267–276, 2017.

VALLE, D. et al. Resistance to temephos and deltamethrin in *Aedes aegypti* from Brazil between 1985 and 2017. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, p. e180544, 2019.

VALTER, J. L. et al. Variação química no óleo essencial das folhas de seis indivíduos de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 373–378, 2008.

VIANA, G. D. A.; SAMPAIO, C. D. G.; MARTINS, V. E. P. Produtos naturais de origem vegetal como ferramentas alternativas para o controle larvário de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 49–462, 2018.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010.

WANG, Z. W.; MA, W. W.; MCLAUGHLIN, J. L. 2,4,5-TRIMETHOXYSTYRENE, A BIOACTIVE COMPONENT OF THE BARK OF *DUGUETIA PANAMENSIS*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 2, p. 383–384, 1988.

WEAVER, S. C. Arrival of Chikungunya Virus in the New World: Prospects for Spread and

Impact on Public Health. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 6, p. e2921, 2014.

ZAIO, Y. P. et al. Cinnamaldehyde and related phenylpropanoids, natural repellents and insecticides against *Sitophilus zeamais* (Motsch.). A chemical structure- bioactivity relationship. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 98, n. 15, p. 5822–5831, 2018.

ZARA, A. L. DE S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.

ZHU, J. et al. Mosquito Larvicidal Activity of Botanical-Based Mosquito Repellents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 24, n. 1, p. 161–168, 2008.