

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E
MUCURI UFVJM**

DOMINICK DANIELLE MENDONÇA SANTOS

**Avaliação do efeito inseticida de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae)
sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vetor da leishmaniose
visceral no Brasil**

**DIAMANTINA - MG
2018**

Dominick Danielle Mendonça Santos

**Avaliação do efeito inseticida de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae)
sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vetor da leishmaniose
visceral no Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas *Stricto sensu* da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Barata

**DIAMANTINA - MG
2018**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S237a Santos, Dominick Danielle Mendonça
Avaliação do efeito inseticida de *Momordica charantia* L.
(Cucurbitaceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae),
vetor da leishmaniose visceral no Brasil / Dominick Danielle
Mendonça Santos, 2018.
69 p. : il.

Orientador: Ricardo Andrade Barata

Dissertação (Mestrado Profissional – Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

1. Controle de vetores. 2. Flebotomíneos. 3. Leishmaniose. 4. Plantas
inseticidas. I. Barata, Ricardo Andrade. II. Título. III. Universidade
Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 616.9

DOMINICK DANIELLE MENDONÇA SANTOS

**Avaliação do efeito inseticida de *Momordica charantia* L.
(Cucurbitaceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:
Psychodidae), vetor da leishmaniose visceral no Brasil.**

Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS, nível de
MESTRADO como parte dos requisitos
para obtenção do título de MAGISTER
SCIENTIAE EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Orientador (a): Prof. Dr. Ricardo
Andrade Barata

Data da aprovação : 02/08/2018



Prof.Dr. RICARDO ANDRADE BARATA - UFVJM



Prof.Dr.ª CRISTIANE FERNANDA FUZER GRAEL - UFVJM



Prof.Dr. GUSTAVO FONTES PAZ - FIOCRUZ

DIAMANTINA

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à DEUS, que me ajudou a superar todos os desafios que enfrentei. Por ter me dado fé e forças para acreditar que tudo seria possível, ter me consolado todas as vezes que quis desistir e por ter permitido minha chegada até aqui.

Aos meus amados pais, pelo exemplo de honestidade, dedicação, responsabilidade, amor e pelo incentivo no prosseguir desta trajetória.

Aos meus queridos irmãos pela força, carinho e apoio.

Ao meu esposo por todo amor, paciência, companheirismo, incentivo e por sempre estar ao meu lado.

À toda minha família, parentes e amigos que me incentivaram para que essa etapa se concretizasse.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Andrade Barata, pela compreensão, oportunidade e disponibilidade em me orientar e por ter contribuído no meu crescimento ético, profissional e pessoal.

À todo grupo de pesquisa do Laboratório de Parasitologia e à todos técnicos dos laboratórios da Universidade por toda ajuda recebida.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri e à todos os meus professores por tornarem possível a realização deste trabalho.

Enfim, à todos aqueles que contribuíram para minha formação, muito obrigada!

“A persistência é o menor caminho do êxito”

(Charles Chaplin)

RESUMO

A leishmaniose visceral é uma doença infecto-parasitária transmitida principalmente por flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae). No Brasil, as estratégias de controle do vetor são voltadas para a aplicação de inseticidas de ação residual, como os piretróides sintéticos. O uso indiscriminado desses inseticidas tem contribuído para a resistência de *Lu. longipalpis*. Nesse sentido, a utilização de extratos vegetais pode ser eficaz no controle do vetor. A *Momordica charantia* L (Cucurbitales: Cucurbitaceae), é uma trepadeira de importância econômica, alimentícia e farmacêutica, devido sua bioatividade comprovada por estudos com extratos de diversas partes da planta. Este estudo avaliou a atividade inseticida de extratos de *M. charantia* sobre adultos selvagens de *Lu. longipalpis*. A partir do espécime vegetal coletado foram preparados os extratos hidroalcoólico, etanólico e ciclo-hexânico de frutos e partes aéreas e retirado alíquotas de cada extrato para realização da triagem fitoquímica. Para coleta dos insetos, foram utilizadas armadilhas HP expostas em campo (18°88'S, 43°38'W). Foram utilizados 1620 insetos, transferidos para recipientes plásticos, sendo 20 por recipiente, onde foram aplicadas as concentrações dos extratos, além da água destilada e Tween 80 para controles negativos e da alfa-cipermetrina à 196 µg/mL, para controle positivo. Os testes foram realizados em triplicata. A mortalidade foi avaliada após 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 e 72 horas de tratamento. A população testada nesse estudo foi sensível à alfa-cipermetrina, bem como, todos os extratos de *M. charantia* avaliados mostraram potencial inseticida sobre *Lu. longipalpis*, dentre estes, o extrato mais eficiente foi o hidroalcoólico de partes aéreas. A triagem fitoquímica indicou a presença de alcalóides, cumarinas, saponinas e esteróides e ou/ triterpenos nos extratos, que podem estar envolvidos na atividade inseticida de *M. charantia* sobre *Lu. longipalpis* devido às propriedades específicas que estes metabólitos possuem. Esses resultados impulsionam a continuidade de estudos da ação inseticida de *M. charantia* sobre flebotomíneos.

Palavras-chave: Controle de vetores, Flebotomíneos, Leishmaniose, Plantas inseticidas.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis is an infectious-parasitic disease transmitted mainly by sandflies of the genus *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae). In Brazil, vector control strategies are focused on the application of residual action insecticides, such as synthetic pyrethroids. The indiscriminate use of these insecticides has contributed to the resistance of *Lu. longipalpis*. In this sense, the use of plant extracts can be effective in controlling the vector. *Momordica charantia* L (Cucurbitales: Cucurbitaceae), is a clambering plant of economic importance, food and pharmaceutical, due to its bioactivity proven by studies with extracts from various parts of the plant. This study evaluated the insecticidal activity of extracts of *M. charantia* on wild adults of *Lu. longipalpis*. The hydroalcoholic, ethanolic and cyclohexane extracts of fruits and aerial parts were prepared from the collected plant specimen and aliquots of each extract were removed for phytochemical screening. In order to collect the insects, HP traps were exposed in the field (18 ° 88'S, 43 ° 38'W). 1620 insects were transferred to plastic containers, 20 of them per recipient, where the extracts concentrations were applied, as well as distilled water and Tween 80 for negative controls and alpha-cypermethrin at 196 µg/mL for positive control. The tests were performed in triplicate. Mortality was assessed after 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 and 72 hours of treatment. The population tested in this study was sensitive to α -cypermethrin, as well, all the extracts of *M. charantia* evaluated showed potential insecticide on *Lu. longipalpis*, among them, the most efficient extract was the hydroalcoholic of aerial parts. Phytochemical screening indicated the presence of alkaloids, coumarins, saponins and steroids and / or triterpenes in the extracts, which may be involved in the insecticidal activity of *M. charantia* on *Lu. longipalpis* due to the specific properties of these metabolites. These results support the continuity of studies of the insecticidal action of *M. charantia* on sand flies.

Keywords: Vector Control, Sand Flies, Leishmaniasis, Insecticidal Plants

LISTA DE FIGURAS E ESQUEMAS

Figura 1- Endemicidade da leishmaniose visceral no mundo em 2015.....	16
Figura 2- Ciclo biológico de flebotomíneos.....	18
Figura 3- Insetos adultos de <i>Lutzomyia</i> sp.	19
Figura 4- <i>Momordica charantia</i>	24
Figura 5- Folha, flor e fruto de <i>Momordica charantia</i>	26
Figura 6- Estrutura química do alcalóide charina.....	31
Figura 7- Estrutura química da antraquinona.....	32
Figura 8- Estrutura química da cumarina e reação com base forte, ocorrendo abertura do anel lactônico.....	32
Figura 9- Estrutura química de flavonóide.....	33
Figura 10- Estrutura química de antocianinas.....	34
Figura 11- Estrutura química da diosgenina e da momordicina II.....	34
Figura 12- Estrutura química de taninos.....	35
Figura 13- Estrutura química da momordicina I e do β -sitosterol.....	36
Figura 14- Imagem da exsicata de <i>Momordica charantia</i> utilizada nos experimentos.....	38
Figura 15- Local da coleta de flebotomíneos.....	44
Figura 16- Sítio de captura e flebotomíneos e armadilha luminosa HP utilizada.....	45
Figura 17- Recipientes utilizados no bioensaio com flebotomíneos.....	46
Figura 18- Mortalidade de <i>Lu. longipalpis</i> submetidos à extratos de <i>Momordica charantia</i> em diferentes concentrações ao longo dos tempos de observação.....	55
Esquema 1- Identificação de alcalóides, cumarinas, antracenosídeos, flavonóides, taninos, triterpenos e/ ou esteróides e saponinas nos extratos hidroalcoólicos de partes aéreas e frutos de <i>Momordica charantia</i>	41
Esquema 2- Identificação de alcalóides, cumarinas, antracenosídeos, flavonóides, taninos e triterpenos e/ ou esteróides nos extratos etanólicos de partes aéreas e frutos de <i>Momordica charantia</i>	42
Esquema 3- Identificação de alcalóides, antracenosídeos, flavonóides, taninos e triterpenos e/ ou esteróides nos extratos ciclo-hexânicos de partes aéreas e frutos de <i>Momordica charantia</i>	43

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1- Classificação taxonômica dos flebotomíneos.....	15
Quadro 2- Classificação taxonômica do gênero <i>Momordica</i>	25
Quadro 3- Dados referentes à coleta, identificação, depósito das exsiccatas, nome popular da <i>Momordica charantia</i>	37
Tabela 1- Identificação de metabólitos secundários nos extratos de partes aéreas e frutos de <i>Momordica charantia</i>	48
Tabela 2- Percentual de mortalidade de <i>Lutzomyia longipalpis</i> submetidos à concentrações de extratos de partes aéreas de <i>Momordica charantia</i>	53
Tabela 3- Percentual de mortalidade de <i>Lutzomyia longipalpis</i> submetidos à concentrações de extratos de frutos de <i>Momordica charantia</i>	54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 Geral.....	14
2.2 Específicos.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 As leishmanioses.....	15
3.2 Estratégias de controle de flebotomíneos.....	20
3.3 As Cucubitáceas.....	23
3.4 <i>Momordica charantia</i>.....	24
3.5 Constituintes químicos de vegetais.....	29
4 METODOLOGIA.....	37
4.1 Material vegetal.....	37
4.1.1 Coleta e identificação taxonômica.....	37
4.1.2 Preparo dos extratos.....	38
4.1.2.1 Preparo do extrato etanólico.....	39
4.1.2.2 Preparo do extrato ciclo-hexânico.....	39
4.1.2.3 Preparo do extrato hidroalcoólico.....	39
4.2 Pesquisa fitoquímica das principais classes de metabólitos secundários presentes nas folhas e frutos de <i>Momordica charantia</i>.....	40
4.3 Ensaio biológico com insetos.....	44
4.3.1 Área de captura de flebotomíneos.....	44
4.3.2 Captura e identificação dos flebotomíneos.....	45
4.3.3 Solubilização dos extratos para os ensaios biológicos.....	45
4.3.4 Bioensaio com flebotomíneos.....	46
4.3.5 Análises estatísticas.....	47

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Análise Fitoquímica.....	48
5.2 Ensaios biológicos com flebotomíneos.....	52
6 CONCLUSÕES.....	57
7 REFERÊNCIAS.....	58

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) está entre as principais doenças infecciosas e parasitárias de ampla distribuição geográfica, podendo ser endemicamente encontrada na Ásia, Europa, África e nas Américas. É causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidos por fêmeas de insetos infectados, pertencentes à família Psychodidae, principalmente do gênero *Lutzomyia*, denominados flebotomíneos (HASHIGUCHI *et al.*, 2017; World Health Organization-WHO, 2015).

Nas Américas, o Brasil aparece como o país com maior número de casos entre os países acometidos pela LV. Em princípio, a doença era considerada uma endemia parasitária exclusivamente rural, entretanto devido aos processos migratórios e de urbanização, juntamente com a domiciliação do vetor, a importância do cão como reservatório da *Leishmania* e a possível participação de indivíduos infectados, não sintomáticos, como fonte de infecção, houve o surgimento de novos focos, facilitando a ocorrência de epidemias e o aparecimento de novas áreas de transmissão em áreas urbanas (ALVAR *et al.*, 2012; SANTOS, 2014; WHO, 2015).

No sentido epidemiológico, o flebotomíneo é o elo essencial na cadeia de transmissão da doença devido à sua alta capacidade de plasticidade e antropofilia, favorecendo sua adaptação em ambientes modificados pelo homem, permitindo a manutenção do ciclo de transmissão da LV (ALVAR *et al.*, 2012; ALVES, 2009; COSTA *et al.*, 2014; HASHIGUCHI *et al.*, 2017; RANGEL & VILELA, 2008; REBELO *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2012; SANTOS, 2014).

O controle da LV está diretamente relacionado ao combate de seu vetor em ambientes urbanos através da aplicação de inseticidas de ação residual, como alfacipermetrina, um piretróide sintético. Entretanto, o uso indiscriminado desses inseticidas tem contribuído para a resistência de flebotomos a produtos convencionais, indicando a necessidade de um controle racional, que considere os diferentes componentes do controle integrado. Além disso, há poucos estudos acerca do mecanismo de ação desses compostos (BASTOS, 2014; FOGANHOLI & ZAPPA, 2011).

A grande variedade de substâncias químicas presentes na flora brasileira permite a busca de novos compostos inseticidas. Nesse sentido, produtos fitoquímicos podem ser utilizados como alternativa às substâncias sintéticas ou adicionados a outros inseticidas utilizados nos programas de controle de flebotomíneos, considerando que há poucos estudos

para avaliação do efeito de plantas sobre este grupo de insetos (BARREIRO & BOLZANI, 2009; VIEIRA *et al.*, 2007).

Os metabólitos originários de plantas podem causar diversos efeitos sobre os insetos, tais como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases, podendo penetrar no organismo por ingestão ou por contato (GALLO *et al.*, 2002; ROEL, 2001).

A planta *Momordica charantia* L., pertencente à família Cucurbitaceae, é amplamente distribuída no Brasil, especialmente nos ambientes florestais, com grande importância econômica e social (SANTANA *et al.*, 2013; WIN *et al.*, 2014). A espécie é utilizada na medicina popular no tratamento de coceiras, sarnas, impinge como purgativo, emético-catártico, febrífugo, antileucorréico, anticatarral, antirreumático, vermífugo, febrífugo, emético, supurativo, anticarbuculoso, anti-inflamatório, problemas menstruais, queimaduras, cravos, para enxaquecas e como abortivo e; para fins etnoveterinários em infecções cutâneas, enfermidades do trato respiratório, antiparasitárias e como repelente (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002; LORENZI & MATOS, 2002; MEDEIROS *et al.*, 2013).

Avaliações fitoquímicas de extratos de *M. charantia* revelaram a presença de alcalóides, fenóis, catequinas, esteróides, terpenos e saponinas (CEBALLOS *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2009; DALEFFI ZOCOLER *et al.*, 2006; JUDD, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2010; UPADHYAY *et al.*, 2013). Esses compostos podem ser caracterizados através de diversos métodos de extração de preparados e pelo fracionamento com solventes de diferentes polaridades, possibilitando inferir as possíveis classes de substâncias extraídas nas diferentes frações, de acordo com suas polaridades e solubilidades, que contribuem para as diversas atividades biológicas e farmacológicas da espécie vegetal (MEDEIROS & KANIS, 2010; OLIVEIRA, 2016; SHARAPIN, 2000; SIMÕES, 2000).

Estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que *M. charantia* possui atividade antibacteriana, antifúngica, repelente, larvicida, inseticida, moluscicida, anti-helmíntica e antiparasitária (AMORIM *et al.*, 2011; BRASILEIRO *et al.*, 2006; BRITO-JUNIOR *et al.*, 2011; CELOTO *et al.*, 2008; CORDEIRO *et al.*, 2010; FARIA *et al.*, 2009; JESUS *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2017; MEDEIROS *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2011; NASCIMENTO *et al.*, 2013; NETO *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2010; SANTIAGO *et al.*, 2008; UPADHYAY *et al.*, 2013; VENTUROSOSO *et al.*, 2011).

Quanto à atividade inseticida, a eficácia de extratos de *M. charantia* tem sido pesquisada contra insetos-praga pelas ciências agrícolas. Em estudo sobre o efeito do extrato

de folhas e ramos de *M. charantia* sob a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), houve redução da viabilidade larval e do peso de pupa, além de exercer forte efeito sobre a fase adulta do inseto, inibindo totalmente a postura e aumentando a longevidade (SANTIAGO *et al.*, 2008). O extrato bruto do caule de *M. charantia* foi ativo para o controle das ninfas da mosca branca (*Bemisia tabaci*), em experimentos por via de contato, a partir da concentração de 1.000 µg/mL, causando mortalidade superior a 50% da população testada (JESUS *et al.*, 2013). A aplicação tópica direta do extrato etanólico de folhas e ramos de *M. charantia* demonstrou eficiência de 90% na mortalidade do pulgão da couve (*Brevicoryne brassicae*), após 24 horas da aplicação (LIMA *et al.*, 2017). Uma pesquisa desenvolvida nas comunidades do Nordeste brasileiro acerca do conhecimento popular sobre uso de plantas repelentes e inseticidas exalta que a utilização de *M. charantia* na forma de banhos pode eliminar piolhos (insetos da ordem Phthiraptera) parasitas de humanos e cabras. Também é relatado o hábito de dispor a planta no chão para repelir insetos (como o barbeiro - transmissor do parasito da Doença de Chagas), ácaros de galinhas e piolhos em animais e humanos (ALMEIDA NETO *et al.*, 2017).

Na literatura não foram encontrados registros de investigação da atividade inseticida da *M. charantia* sobre Psychodídeos. Deste modo, o presente estudo foi proposto apropriando-se de resultados da ação fitoinseticida do vegetal sobre outras espécies de insetos e da presença de metabólitos secundários de natureza inseticida encontrados nas curcubitáceas, em especial, os triterpenos curcubitanos, como a curcubitina. Em consonância às propriedades desses compostos, existe a necessidade de investigação de novas plantas com efeito inseticida sobre insetos do gênero *Lutzomyia*, podendo trazer resultados promissores, aliado à necessidade da busca de compostos que causem um mínimo impacto ambiental possível, com novos mecanismos de ação.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a atividade inseticida de extratos de *Momordica charantia* sobre indivíduos adultos selvagens da espécie *Lutzomyia longipalpis*.

2.2 Específicos

- Obter extratos brutos - etanólico, hidroalcoólico e ciclo-hexânico a partir de partes aéreas e frutos de *M. charantia*.
- Avaliar o potencial inseticida dos extratos etanólico, hidroalcoólico e ciclo-hexânico de *M. charantia* sobre indivíduos adultos da espécie *Lu. longipalpis*.
- Realizar triagem fitoquímica dos extratos preparados, com intuito de identificar as principais classes de metabólitos secundários presentes nos extratos de *M. charantia*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 As leishmanioses

As leishmanioses são enfermidades zoonóticas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903), pertencentes à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, onde aproximadamente 20 espécies são responsáveis por uma gama de apresentações clínicas em humanos e demais vertebrados (ALVAR, 2012; GRAMICCIA, 2011; WHO, 2015).

A transmissão do agente etiológico ocorre através do repasto sanguíneo de fêmeas de dípteros pertencentes à família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, popularmente conhecidos por flebotomíneos, asa-branca, birigui, cangalhinha, flebótomo, mosquito-palha e tatuquira (ALVES, 2009; ALVAR, 2012; GRAMICCIA, 2011; REBELO *et al.*, 2010; SANTOS, 2014).

Quadro 1- Classificação taxonômica dos flebotomíneos

<i>Classificação taxonômica dos flebotomíneos</i>	
Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Classe:	Insecta
Subclasse:	Pterygota
Infraclasse:	Neoptera
Superordem:	Endopterygota
Ordem:	Diptera
Família:	Psychodidae
Subfamília:	Phlebotominae
Principais Gêneros:	<i>Brumptomyia; Lutzomyia; Phlebotomus; Sergentomyia; Warileya</i>

Fonte: Galati (2003). Adaptado

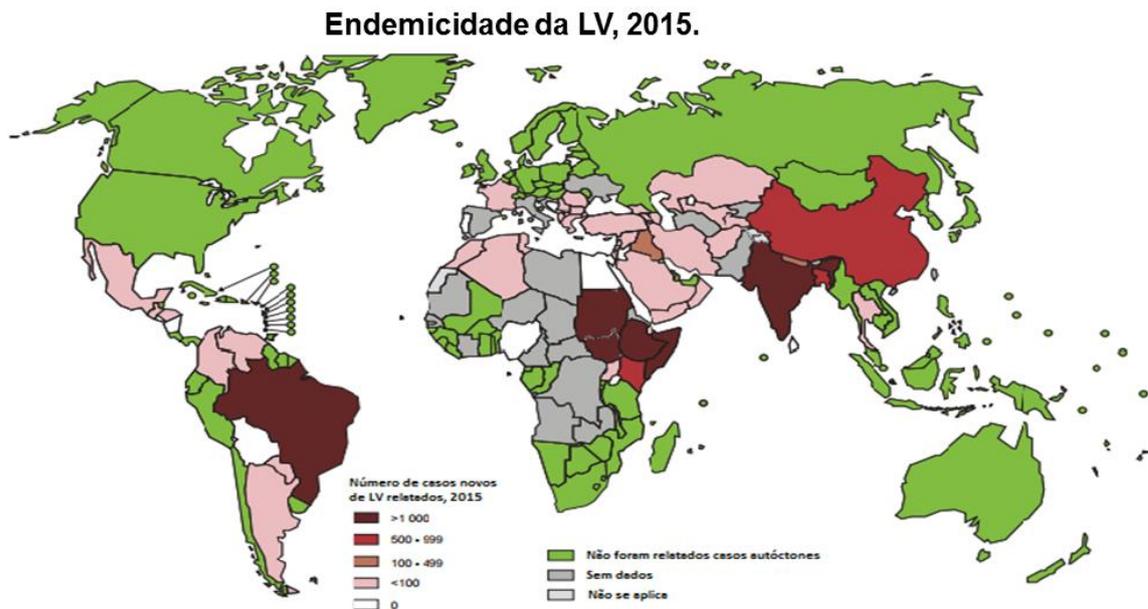
Prevalentes em 98 países e regiões do mundo, as leishmanioses estão entre as seis doenças consideradas prioritárias pela Organização Mundial Saúde (OMS), apresentando-se principalmente em três formas clínicas: a forma cutânea, a forma visceral e a forma mucocutânea. Entretanto, as características clínicas das leishmanias humanas abrangem a leishmaniose cutânea e leishmaniose visceral (WHO, 2015).

A ampla distribuição geográfica e alta incidência fazem com que as leishmanioses assumam um papel de destaque na saúde pública, pois aproximadamente 350 milhões de pessoas ao redor do mundo estão expostas ao risco de contrair estas enfermidades e cerca de 12 milhões de pessoas estejam parasitadas com alguma forma da doença. A estimativa é de

que a incidência anual dessas doenças sejam de 2 milhões de casos. Destes, aproximadamente 500 mil casos são relacionados à forma visceral (ALVAR, 2012; WHO, 2015).

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença com amplo espectro clínico, considerada grave, especialmente nos casos humanos não tratados, podendo apresentar altos índices de letalidade (ALVAR, 2012). Presente em 88 países, as epidemias recorrentes de LV na África Oriental (Etiópia, Quênia, Sudão do Sul e Sudão) causam alta morbidade e mortalidade nas comunidades afetadas, onde mais de 90% dos novos casos notificados à OMS no ano de 2015 ocorreram no Brasil, Etiópia, Índia, Somália, Sudão do Sul e Sudão. O Brasil aparece como o país com maior número de casos entre os 22 países acometidos pela LV nas Américas (WHO, 2015) (Figura 1).

Figura 1- Endemicidade da leishmaniose visceral no mundo em 2015.



Fonte: World Health Organization, 2018. Adaptado.

Até o ano de 2007, a transmissão da leishmaniose visceral era relatada em mais de 1.600 municípios em 19 dos 27 estados brasileiros e estava presente em todas as regiões do país, exceto na região sul (RANGEL & VILELA, 2008). Já em 2015 foram notificados 3.289 novos casos, com uma incidência de 1,6 casos/100mil habitantes, distribuídos em 22 Unidades Federativas, incluindo a região sul (BRASIL, 2016).

Inicialmente caracterizada como doença eminentemente rural, nos últimos anos, a doença vem se expandindo para áreas urbanas de municípios de médio e grande porte

(HASHIGUCHI *et al.*, 2017). Essa expansão está diretamente relacionada ao intenso processo migratório, às pressões econômicas ou sociais, à pauperização, ao processo de urbanização crescente, ao esvaziamento rural, às secas periódicas e à expansão das áreas endêmicas de LV (ALVES, 2009).

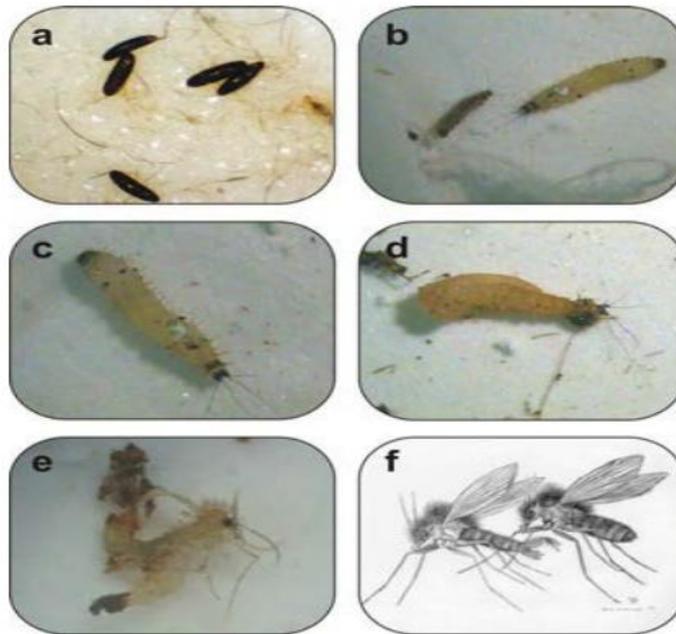
No ciclo urbano de transmissão, os canídeos (*Canis familiaris*) assumem um papel importante como reservatórios da LV, por apresentarem intenso parasitismo cutâneo, permitindo uma fácil infecção do vetor. Portanto, o reconhecimento das manifestações clínicas nesses animais é uma das importantes ações para adoção de medidas de controle da doença (WERNECK, 2016). É importante destacar que cães infectados podem ou não desenvolver o quadro clínico da doença, cujos sinais viscerais mais comuns são linfadenopatia, emaciação, sinais possíveis de insuficiência renal (poliúria, polidipsia, vômito), neuralgia, poliartrite, poliomiosite, e outros sinais clínicos. Dentre os sinais cutâneos estão a hiperqueratose, pelagem seca e quebradiça, perda de pelos, e unhas anormalmente longas ou quebradiças (SCHIMMING & SILVA, 2012).

A infecção do vetor ocorre pela ingestão, durante o repasto sanguíneo, de formas amastigotas da *Leishmania* existentes no citoplasma de macrófagos presentes na derme do hospedeiro infectado. No intestino médio do inseto, as formas amastigotas são liberadas e após divisão, se diferenciam em formas promastigotas (formas infectantes). A transmissão ocorre quando as fêmeas infectadas alimentam-se do sangue de hospedeiros susceptíveis. A forma infectante é inoculada, multiplicando-se e disseminando-se por via hematogênica, migrando para os órgãos do sistema retículo endotelial, como fígado, baço, medula óssea e linfonodos, sendo fagocitadas por macrófagos, fechando o ciclo de transmissão.

Os flebotomíneos apresentam ampla distribuição geográfica, sendo vistos em ambientes silvestres, rurais e urbanos. Desenvolvem-se em solo úmido e rico em matéria orgânica. São insetos holometábolos, isto é, sua evolução é completa, passando pelas fases de ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto alado (Figura 2). A média do ciclo de vida total dura aproximadamente 36 dias (observações em laboratório) (SANTOS, 2014).

Os flebotomíneos adultos medem cerca de 2 a 4 mm de comprimento, em geral, apresenta voo silencioso e curto, o que torna sua presença, muitas vezes, imperceptível. As estimativas sobre a faixa de voo no gênero *Lutzomyia* não excedem 100 metros em período de 24 horas. Esse isolamento pode levar à deriva genética e à pressão da seleção natural dependendo dos habitats locais, permitindo que cada população tenha características específicas (BRASIL, 2016).

Figura 2- Ciclo biológico de flebotomíneos.

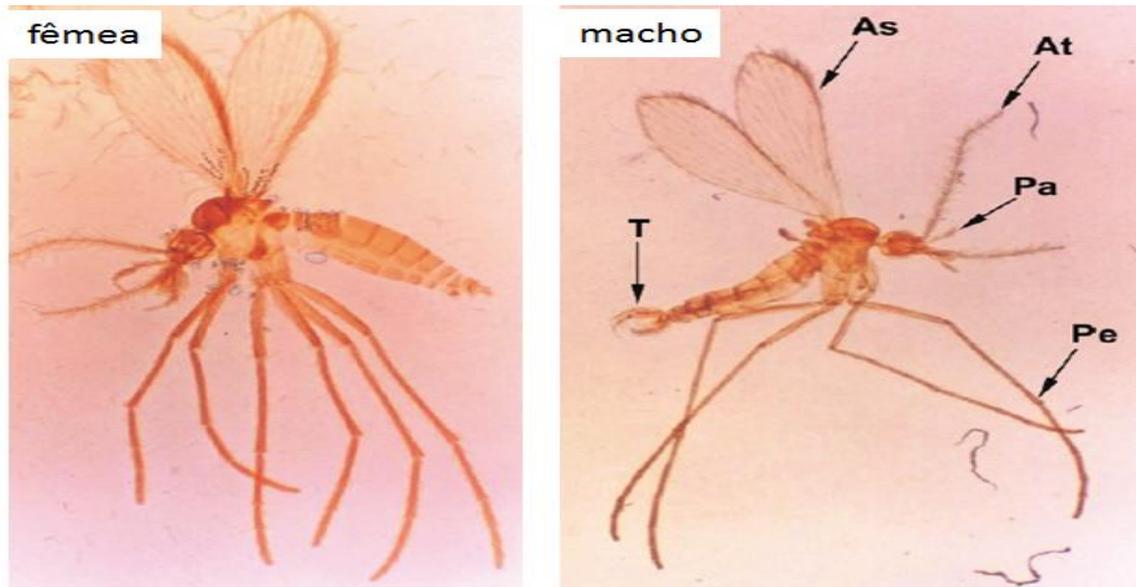


Legenda: a = Ovos, b e c = Larvas de 2º e 4º estágio, d = Pupa, e = Flebotomíneo emergindo da pupa, f = Flebotomíneos macho e fêmea

Fonte: SANTOS, 2014.

Na fase adulta apresentam dimorfismo sexual (Figura 3), expresso não apenas nas diferenças da forma do corpo, mas também no comportamento alimentar que se evidenciam na hematofagia, crepuscular e noturna, exclusiva das fêmeas. Nos machos, a probóscida (aparelho bucal) é mais curta e atrofiada, ao contrário das fêmeas que tem a probóscida mais longa e adaptada para picar a pele de vertebrados e sugar o sangue. Esse dimorfismo se expressa ainda na fêmea, cuja cabeça apresenta internamente, na região mais ventral, um conjunto de estruturas quitinizadas chamadas cibário. A distinção dos sexos dos flebotomíneos se faz através da observação dos últimos segmentos abdominais, os quais são modificados para construir a genitália do inseto. Nos machos, encontra-se presente um conjunto de apêndices bem desenvolvidos e ornamentados (estruturas com valor taxonômico), enquanto que nas fêmeas os segmentos menores e discretos dispõem-se como estruturas telescopadas, as quais conferem aspecto arredondado à genitália do inseto. As fêmeas possuem o corpo mais robusto com relação ao dos machos e ainda, internamente, possui entre o 8º e 9º segmento abdominal um par de espermatecas (estrutura em forma de saco utilizada para armazenamento de espermatozóides) característico para cada espécie, a qual também tem valor taxonômico (BRASIL, 2016; SANTOS, 2014).

Figura 3: Insetos adultos de *Lutzomyia* sp.



Legenda: *Lutzomyia* sp.: Insetos adultos. Características: Pequenos (2-4 mm) Corpo piloso Asas estreitas (As) Antenas longas (At) Palpos curtos (Pa) Pernas longas e finas (Pe) Genitália masculina (T).
Fonte: SANTOS, 2014.

A maioria das espécies de flebotomíneos vive em ambiente silvestre abrigando-se na copa ou na base das árvores, no chão das florestas entre as folhas secas caídas, em frestas de rochas, dentro de cavernas, entre outros locais (BARATA & APOLINÁRIO, 2012; RANGEL & VILELA, 2008; SANTOS, 2014). Ambientes alagados não favorecem a sobrevivência de flebotomíneos, um estudo realizado no Estado do Rio Grande do Norte, durante 24 meses, mostrou que níveis moderados de chuva podem favorecer o desenvolvimento dos insetos, mas os locais de reprodução provavelmente são destruídos com inundações no solo, matando as pupas no solo (AMORA *et al.*, 2010).

As espécies que se adaptaram ao ambiente domiciliar tem sido encontradas nas paredes externas e internas dos domicílios humanos, em abrigos de animais domésticos como, galinheiro, chiqueiro, estábulo, curral e sob material acumulado nos quintais das habitações. Os criadouros de flebotomíneos são próximos das moradias e à presença de animais domésticos, principalmente cães e aves, no peridomicílio (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Na fase larval, os flebotomíneos alimentam-se de materiais ricos em amidos e glicogênio e microorganismos em decomposição, provenientes do solo (MORAES, 2012; VALE *et al.*, 2012). Na fase adulta, ambos os sexos necessitam de carboidratos como fonte de energia, entretanto, apenas as fêmeas se alimentam de sangue, o qual é a fonte de proteínas e de aminoácidos, necessários ao desenvolvimento e amadurecimento dos ovos (CAMARGO-NEVES *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2014).

A capacidade de se alimentarem em grande variedade de espécies hospedeiras e possuir perfis de alimentação mista (canídeos, aves, roedores, humanos, dentre outros) reforça o papel dos flebotomíneos como principais vetores da LV no Brasil (TANURE *et al.*, 2015).

As espécies flebotomíneas são susceptíveis às infecções. Durante o repasto sanguíneo, o inseto pode ser exposto a agentes patogênicos como helmintos, bactérias, vírus e protozoários. Vários agentes patogênicos, como o *Leishmania*, podem se adaptar ao ambiente intestinal de alguns flebotomíneos (SECUNDINO *et al.*, 2005).

A invasão gradual de flebotomíneos do ambiente silvestre em áreas periurbanas e a observação do processo de urbanização, resultado da competência do vetor para colonizar áreas impactadas, destacam a importância da vigilância entomológica e medidas de monitoramento para avaliação qualitativa e quantitativa da distribuição do vetor e das leishmanioses (RANGEL & VILELA, 2008; REBELO *et al.*, 2010).

Uma ampla variedade de estudos com *Lu. longipalpis* contribuiu para uma melhor compreensão da sua biologia. Devido à urbanização da LV, novos métodos alternativos são necessários para controle do flebotomíneo. As medidas tradicionais preconizadas não foram eficazes para conter a incidência e a distribuição geográfica da enfermidade, adaptada ao ambiente urbano, onde se concentra a maior parte da população humana e canina (FOGANHOLI & ZAPPA, 2011).

Nesse sentido, o controle químico da *Lutzomyia* sp. por meio da utilização de inseticidas de ação residual é uma das medidas de controle vetorial recomendadas no âmbito de proteção coletiva. Essa ferramenta é dirigida apenas para o inseto adulto e tem como objetivo evitar e/ou reduzir o contato entre o inseto transmissor e a população humana (BRASIL, 2016). O controle da leishmaniose está diretamente relacionado ao controle de seu vetor. Entretanto, estudos comprovam que a aplicação de inseticidas com alto poder residual tem elevado à resistência de populações e adaptações destes insetos (BASTOS, 2014).

3.2 Estratégias de controle de flebotomíneos

Os inseticidas são substâncias ou misturas de substâncias, naturais ou sintéticas, destinadas a repelir ou combater pragas (SUCEN, 2011). Os piretróides - compostos sintéticos análogos aos componentes obtidos a partir dos piretros, extraídos de plantas do gênero *Chrysanthemum* - têm sido a classe de inseticidas mais utilizadas atualmente. São empregados na área da saúde e na agricultura por apresentarem maior letalidade aos insetos, possuírem alta eficiência, baixa toxicidade à mamíferos, baixo impacto ambiental e

serem efetivos contra um largo espectro de insetos, sendo necessárias baixas quantidades para exercerem sua ação, resultando em menor contaminação nas aplicações. Em geral, os piretróides sintéticos apresentam boa estabilidade sob luz e temperatura ambiente e; degradam-se por hidrólise e oxidação, sendo caracterizados pela rápida degradação por microrganismos do ambiente (SANTOS *et al.*, 2007; SUCEN, 2011).

O piretróide usualmente empregado no controle vetorial é a alfa-cipermetrina, inseticida de classificação toxicológica II (SUCEN, 2011), com potente ação neurotóxica a insetos e peixes (SANTOS *et al.*, 2007). Nos insetos, o composto liga-se à proteína associada ao canal de Na⁺, bloqueando o seu fechamento. Como consequência, o neurônio não consegue voltar à condição de repouso, ocorrendo um bloqueio na transmissão de impulsos nervosos chamado de efeito “*knock-down*” ou de rápida paralisia (DRESCHER, 2012).

O uso de piretróides contra flebotomíneos foi motivado pela sua utilização bem sucedida em mosquiteiros impregnados para o controle de *Anopheles darlingi*, transmissor da malária, esta estratégia é vantajosa, pois pode ser utilizada a nível doméstico/individual (COURTENAY *et al.*, 2007). Outra estratégia do emprego de piretróides no controle de flebotomíneos é a aplicação direta de compostos sintéticos em habitações e edifícios. No entanto, sua eficácia, atividade residual e quantidade necessária variam em diferentes áreas endêmicas (AMORA *et al.*, 2009). No Estado do Mato Grosso do Sul, a borrifação de alfa-cipermetrina no ambiente domiciliar, em áreas de elevado número de casos de LV humana e canina, promoveu a diminuição da densidade do vetor em três das quatro estações borrifadas, em intervalos de quatro meses da aplicação do inseticida (SILVA *et al.*, 2007). Em experimentos realizados com ovos, larvas e adultos de *Lu. longipalpis* submetidos à cipermetrina, utilizada como controle, observou-se uma eficácia de 100% sobre ovos, larvas até a pupação e sobre adultos nas primeiras 24 horas do tratamento (MACIEL *et al.*, 2009; MACIEL *et al.*, 2010a). Em Minas Gerais, a borrifação de cipermetrina no ambiente domiciliar e peridomiciliar promoveu a diminuição da densidade de flebotomíneos, demonstrando o efeito residual de dois a quatro meses após a aplicação do inseticida (BARATA *et al.*, 2011).

Considerando que os mecanismos envolvidos na transmissão de impulsos nervosos em insetos são muito semelhantes àqueles operantes em mamíferos, aves e peixes, muitos inseticidas neurotóxicos são tóxicos também a esses organismos não alvos, incluindo os seres humanos (DRESCHER, 2012). Diante disso, há a necessidade do

desenvolvimento de métodos mais eficientes e seguros para controle de *Lu. longipalpis*, como a busca de novos compostos inseticidas de origem vegetal (AMORA *et al.*, 2009).

Nesse sentido, o Brasil hospeda entre 15 a 20% de toda a biodiversidade mundial. Dados estatísticos indicam ainda que existam 55 mil espécies de plantas e cerca de 15 milhões de insetos, muitos completamente desconhecidos, devido à escassez de estudos sobre os mesmos (BARREIRO & BOLZANI, 2009).

Em razão dos metabólitos originários de plantas poderem causar diversos efeitos sobre os insetos, tais como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases (ROEL, 2001), podendo penetrar no organismo por ingestão, através do aparelho digestivo, por contato, atravessando o tegumento e através das vias respiratórias (GALLO *et al.*, 2002), a grande variedade de substâncias presentes na flora permite a busca de novos compostos inseticidas, pois apenas uma pequena parcela de plantas é investigada com tal finalidade, constituindo-se um amplo campo de pesquisa científica que deve ser estudado (VIEIRA *et al.*, 2007). Nesse sentido, produtos fitoquímicos podem ser utilizados como alternativa às substâncias sintéticas ou adicionados aos outros inseticidas utilizados nos programas de controle de flebotomíneos, considerando que há poucos estudos para avaliação do efeito de plantas sobre este grupo de insetos.

Inicialmente, os inseticidas comerciais de origem vegetal foram obtidos, principalmente a partir de cinco famílias botânicas: Solonaceae, Compositae, Leguminosae, Chenopodiaceae e Liliaceae, por conterem fitotoxinas ou aleloquímicos (MACIEL, 2010b). Em relação aos estudos de controle de *Lu. longipalpis* por meio de inseticidas botânicos, várias espécies vegetais tem sido testadas com esse objetivo: As espécies *Derris amazonica* e *Antonia ovata* foram testadas em adultos de *Lu. longipalpis* (LUITGARDS-MOURA *et al.* 2002); as espécies *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae) e de *Lippia sidoides* (Verbaneaceae) foram utilizadas sobre as fases de ovo, larva e adulto de *Lu. longipalpis* (MACIEL *et al.*, 2009); a espécie *Azadirachta indica* foi utilizada sobre ovos, larvas e adultos de *Lu. longipalpis* (MACIEL *et al.*, 2010a); as espécies *Eucalyptus staigeriana*, *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* foram testadas sobre as fases de ovo, larva e adulto de *Lu. longipalpis* (MACIEL *et al.*, 2010c) e mais recentemente, a espécie *Protium heptaphyllum* foi testada sobre adultos da espécie *Lu. longipalpis* (SINCURÁ *et al.*, 2017).

Apesar das vantagens, para a inserção definitiva e segura de produtos botânicos no mercado, estudos sobre mecanismos de ação, fitotoxicidade, real segurança a mamíferos e outros vertebrados, entre outros assuntos, ainda são necessários (CORREA & SALGADO,

2011). A avaliação da atividade biológica de uma planta inclui a investigação da atividade farmacológica e toxicológica de substâncias isoladas, frações e extratos totais da droga vegetal (VIEIRA *et al.*, 2007).

3.3 As Cucurbitáceas

A família Cucurbitaceae possui uma ampla distribuição mundial, sendo encontradas predominantemente em áreas tropicais. Compreende 118 gêneros e 825 espécies, estando entre as mais antigas plantas utilizadas pelo homem, sendo nove gêneros e 30 espécies cultiváveis (ESQUINAS-ALCAZAR & GULICK, 1983; JUDD, 2009).

Apresentam alta plasticidade nos caracteres morfológicos, são predominantemente herbáceas, anuais ou perenes, monóicas, com gavinhas espiraladas e muitas vezes ramificadas. As folhas podem ser simples, serradas e possuem dentes cucurbitóides. As inflorescências são reduzidas a uma única flor. As sépalas e pétalas são geralmente em número de cinco. O fruto é frequentemente um pepônio, mas pode ser bacóide, capsular (*Luffa*) ou ainda uma cápsula carnosa, como observado em *M. charantia* e as sementes são achatadas, com muitas camadas e endosperma escasso ou ausente (JUDD, 2009).

O Brasil está inserido entre os quinze maiores produtores mundiais de algumas espécies de cucurbitáceas, cultivadas principalmente para fins alimentares, aromáticos, medicinais, ornamentais ou como fonte de matérias-primas para diversos produtos. Estas espécies são importante fonte de minerais e vitaminas, especialmente vitaminas A e C, encontrados na polpa dos frutos na forma de carotenóides e ácido ascórbico (BHARATHI & JOHN, 2013; ROMANO *et al.*, 2008). Estudos fitoquímicos têm comprovado a presença de alcalóides e saponinas triterpenóides amargas, tetra ou pentacíclicas (JUDD, 2009).

Entre as espécies cultivadas no solo brasileiro estão as abóboras (*Cucurbita*), chuchus (*Sechium edule*), melancias (*Citrullus lanatus*), melões (*Cucumis melo*), pepinos (*Cucumis sativus*), bucha-vegetal (*Luffa cylindrica*), porongos e cabaças (*Lagenaria siceraria*), e outras culturas menos expressivas, como kino ou kiwano (*Cucumis metuliferus*), maxixe (*Cucumis anguria*), melão-de-cheiro (*Sicana odorifera*) e o melão-de-São-Caetano (*M. charantia*) (HEIDEN *et al.*, 2007).

Além da importância alimentar, algumas das Cucurbitáceas são fontes de produtos de uso doméstico, os frutos secos de *Lagenaria siceraria* são utilizados como vasilhas e os frutos

secos da *Luffa cylindrica* são utilizados como esponja vegetal. Algumas espécies, como os frutos de *M. charantia*, são utilizadas para fins medicinais (JUDD, 2009).

Muitas espécies do gênero estão ameaçadas de extinção, seja pelo êxodo rural, por secas prolongadas ou pela introdução de espécies melhoradas em substituição das tradicionais (QUEIROZ *et al.*, 2009). Outras espécies, como a *Sicyos polyacanthus* e a *M. charantia* são fortemente combatidas por meio de defensivos químicos, devido aos prejuízos que estas causam à mecanização do plantio da cana de açúcar (*Saccharum officinarum*) (CHAILA, 2004).

O nome do gênero *Momordica* descrito por Carl Linnaeus deriva de *momordi*= passado do verbo *mordere*, significando “eu mordi”, referindo-se à disposição das sementes no fruto deiscente, com dentes (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002).

3.4 *Momordica charantia* L.

A espécie *Momordica charantia* (Figura 4) originou-se nos trópicos do Velho Mundo, sendo provável que seu cultivo tenha começado na Índia. Possui uma maior diversidade na Índia, China e no sul da Ásia, embora existam várias formas selvagens na África (ESQUINAS-ALCAZAR & GULICK, 1983; WIN *et al.*, 2014). É naturalizada no território brasileiro, amplamente distribuída desde a região Norte ao Sudeste, encontrada em áreas abertas e antropizadas, bastante frequente em pomares, cafezais, sobre cercas e alambrados e em terrenos baldios (GOMES-COSTA & ALVES, 2012; LORENZI, 2008).

Figura 4: *Momordica charantia*



Fonte: Arquivo do autor

Possui como sinônimos botânicos: *Cucumis argyi* H. Lév.; *Momordica chinensis* Spreng.; *Momordica elegans* Salisb.; *Momordica indica* L.; *Momordica operculata* Vell.; *Momordica sinensis* Spreng.; *Sicyos fauriei* H. Lév. (LORENZI & MATOS, 2002;

LORENZI, 2008). É conhecida popularmente por diversos codinomes: balsamina-longa; caramelo; erva-de-São-Caetano; erva-de-lavadeira; erva-de-São-Vicente; fruto-de-cobra; fruto-negro; melão-de-São-Caetano; melãozinho; fruta de sabiá; meloeiro-de-São-Caetano; goya; quiabeiro-de-angola; *bittergurke* (alemão); *balsamina* (espanhol); *pomme de merveille* (francês); *balsam pear* (inglês) (BRAGA *et al.*, 2007; LORENZI, 2008; LORENZI & MATOS, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2010; SPADOTTI, 2013; DI STASI & HIRUMALIMA; 2002; WIN *et al.*, 2014).

Quadro 2: Classificação taxonômica do gênero *Momordica*

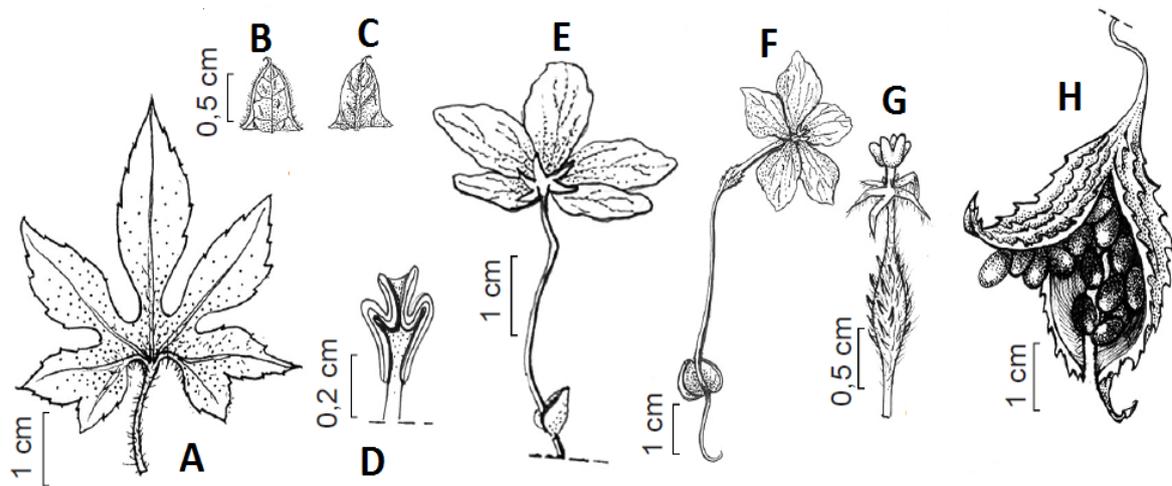
Classificação taxonômica do gênero <i>Momordica</i>	
Reino:	Plantae
Divisão:	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida
Ordem:	Cucurbitales
Família:	Cucurbitaceae
Gênero:	<i>Momordica</i>

Fonte: ESQUINAS-ALCAZAR e GULICK (1983). Adaptado.

Trepadeira anual, sublenhosa, com caule muito longo e ramificado, até 5 m de comprimento, sulcado e de coloração esverdeada, contém gavinhas simples, longas e pubescentes (LORENZI, 2008). Os tipos selvagens e domesticados de *M. charantia*, são principalmente diferenciados pelo tamanho de seus frutos e sementes. Os frutos medem aproximadamente 5 cm de comprimento na população de tipo selvagem e com até 25 cm de comprimento no tipo domesticado. As folhas do tipo domesticado também são maiores do que as da população de tipo selvagem (SPADOTTI, 2013) (Figura 5). As características apresentadas aqui se referem à *M. charantia* do tipo selvagem.

Chen *et al.* (2009) isolaram quatorze triterpenos curcubitânicos das folhas desta espécie. Nas sementes de *M. charantia* foi identificada a presença da tricosantina, uma substância protéica imunossupressora (LORENZI, 2000). Em diferentes partes da planta foi encontrado o alcalóide 5-hidroxitriptamina; flavonóides como o ácido gentísico e lignanos; terpenóides como o β -caroteno, o α -caroteno epóxido, a criptoxantina, a zeatina, a β -amirina, a momordicina I, o taraxerol, momorcharísidos A e B, momordicósidos A-K, o nerodiol; o nerolidol e o p-cimeno; esteróides como a charantina e o β -sitosterol; e saponinas como a diosgenina e a momordicina II, dentre outros compostos (GUPTA, 1995). Suas sementes são tóxicas e seus frutos são comestíveis (LORENZI, 2008).

Figura 5 - Folha, flor e fruto de *Momordica charantia*



Legenda: Folha, flor e fruto de *Momordica charantia* (A. folha; B-C. detalhe do ápice foliar; B. face adaxial; C. face abaxial; D. antera, vista frontal; E. flor estaminada; F. flor pistilada; G. flor pistilada com corola removida; H. fruto aberto evidenciando as sementes.

Fonte: GOMES-COSTA & ALVES (2012). Adaptado.

A espécie tem grande importância na agricultura, na culinária, na medicina popular e está sendo estudada sob diversos aspectos (GOMES-COSTA & ALVES, 2012; LORENZI, 2008; WIN *et al.*, 2014).

M. charantia é utilizada na medicina popular em países como China, Colômbia, Cuba, Gana, Haiti, Índia, México, Malásia, Nova Zelândia, Nicarágua, Panamá, Peru e Brasil (CORDEIRO *et al.*, 2010). Nas comunidades tradicionais da Bacia do Alto Paraguai e do Vale do Guaporé, o chá das folhas e caule é utilizado como hipoglicemiante (MACEDO & FERREIRA, 2004). Na Região Amazônica, o sumo das folhas é utilizado como antimalárico. Já em regiões de Mata Atlântica, a infusão das partes aéreas da planta é utilizada no tratamento de enfermidades hepáticas e como emagrecedor (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002). No Sertão Paraibano, os frutos, folhas e raízes são utilizados de forma mais comum para o diabetes, como cicatrizante, contra parasitas internos e ectoparasitas e no tratamento de cólicas (CORDEIRO *et al.*, 2010). Em Minas Gerais, na Região de Governador Valadares, raizeiros locais relatam o uso da planta para controle da pressão arterial, como antiflogístico e no tratamento de cólicas e diabetes (BRASILEIRO, 2006).

Estudos promissores referem-se à utilização da *M. charantia* no tratamento do diabetes. Em artigo de revisão bibliográfica, a planta é indicada como hipoglicemiante de grande reputação no tratamento da enfermidade por médicos e pacientes (GHORBANI, 2013). A ação hipoglicemiante da espécie, também foi determinada no trabalho de campo realizado em 15 comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai (MACEDO &

FERREIRA, 2004), apesar de ensaios clínicos mostrarem que a administração da planta não afeta as concentrações séricas de glicose (LAGARTO *et al.*, 2014).

A espécie também é utilizada no tratamento de coceiras, sarnas, impinge (LORENZI & MATOS, 2002), como purgativo, emético-catártico, febrífugo, antileucoréico, anticatarral, antirreumático, vermífugo, supurativo, anticarbuculoso, anti-inflamatório, para problemas menstruais, queimaduras, cravos, morfeia, enxaquecas e como abortivo (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002).

A planta também é empregada no tratamento de enfermidade animais, seu suco é utilizado para fins etnoveterinários entre os habitantes da Ilha do Marajó para infecções cutâneas, enfermidades do trato respiratório, antiparasitárias e como repelente de insetos, já o chá é utilizado para infecções cutâneas (MEDEIROS *et al.*, 2013).

Várias atividades biológicas da *M. charantia* foram verificadas por meio de bioensaios. Entre essas, foram estudadas as atividades antibacteriana (AMORIM *et al.*, 2011; BRASILEIRO *et al.*, 2006; CEBALLOS *et al.*, 2017); atividade antifúngica (CELOTO *et al.*, 2008; FARIA *et al.*, 2009; NASCIMENTO *et al.*, 2013; MEDEIROS *et al.*, 2013; VENTUROSO *et al.*, 2011); atividade moluscicida (RODRIGUES *et al.*, 2010; UPADHYAY *et al.*, 2013); atividade larvicida (CORDEIRO *et al.*, 2010; SANTIAGO *et al.*, 2008); atividade repelente (MONTEIRO *et al.*, 2011); atividade anti-helmíntica e antiparasitária (BRITO-JUNIOR *et al.*, 2011; CORDEIRO *et al.*, 2010; MONTEIRO *et al.*, 2011) e atividade inseticida (SANTIAGO *et al.*, 2008).

Nos experimentos de Celoto *et al.* (2011), que testaram a atividade antifúngica dos extratos da planta, os extratos aquosos e hidroetanólicos de folhas e ramos de *M. charantia* proporcionaram inibição da germinação dos conídios do fungo *Colletotrichum musae*, responsável pela antracnose em bananas. Entre 22 plantas avaliadas, o extrato aquoso e hidroetanólico de *M. charantia* proporcionou uma das maiores inibições do crescimento micelial, superior à 50%, do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do fruto de mamoeiro (CELOTO *et al.*, 2008). Em estudo *in vitro* o extrato aquoso de *M. charantia* inibiu aproximadamente 40% do micelial de *Cercospora calendulae*, fungo causador de mancha foliar em plantas de calêndula (NASCIMENTO *et al.*, 2013). Em ensaio *in vitro* o extrato hidroetanólico e aquoso de folhas e ramos de *M. charantia*, controlaram 100% os escleródios de *Sclerotium rolfsii* responsável pela podridão em raízes, além de danos em sementes, folhas e frutos. Em ensaio *in vivo*, quando aplicado de forma preventiva e curativa sobre sementes ou em plantas jovens de feijoeiro, o extrato hidroetanólico diminuiu a severidade da doença em 74% (FARIA *et al.*, 2009). O extrato etanólico das folhas de *M. charantia* apresentou melhora

histológica em lesões causadas por *Microsporium canis*, fungos causadores da dermatofitose, em coelhos infectados artificialmente (BRAGA *et al.*, 2007). Utilizando o extrato hidroalcoólico de *M. charantia* no tratamento de sementes de *Pterogyne nitens*, houve redução da incidência dos fungos fitopatogênicos dos gêneros *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. e *Alternaria* sp., aumentando assim o percentual de germinação das sementes de *P. nitens* (MEDEIROS *et al.*, 2013). Em ensaio *in vitro* com fungos fitopatogênicos, o extrato aquoso de *M. charantia* inibiu em 36,6% o crescimento micelial de *Cercospora kikuchii* (VENTUROSOSO *et al.*, 2011).

O extrato vegetal da *M. charantia* também tem sido estudado como forma alternativa para inibição do crescimento bacteriano. A atuação do extrato alcoólico de *M. charantia* como antibacteriano sobre *Ralstonia solanacearum*, responsável pelo moko em mudas de bananeiras, não apresentou qualquer efeito sobre o desenvolvimento da bactéria (AMORIM *et al.*, 2011). Em uma avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de extratos alcoólicos de 33 plantas medicinais utilizadas por moradores da cidade de Governador Valadares-MG, *M. charantia* também não apresentou atividade contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, porém apresentou toxicidade às larvas do minicrustáceo *Artemia salina* L., utilizada como bioindicador (BRASILEIRO *et al.*, 2016).

Em levantamento sorológico de vírus em oito espécies de Cucurbitáceas, que investigou a presença da infecção viral entre as plantas, apenas *M. charantia* não apresentou infecção por nenhum dos vírus analisados, sugerindo mais estudos sobre a atividade antiviral da espécie (SILVEIRA *et al.*, 2009). O extrato de folhas e frutos de *M. charantia* apresentou efeito positivo sobre mortalidade de formas promastigotas de *Leishmania donovani*, sugerindo-a como potencial candidata no sentido de desenvolver novos quimioterápicos contra as leishmanioses (GUPTA *et al.*, 2010). A respeito da utilização da *M. charantia* como antimalárico, os extratos aquosos e etanólicos de folhas e caules frescos foram testados em camundongos infectados por *Plasmodium berghei*, não apresentando atividade satisfatória sobre a parasitemia e a sobrevivência dos animais infectados.

Extratos de *M. charantia* têm sido estudados como forma alternativa no combate de moluscos. O extrato hidroalcoólico das folhas apresentou atividade moluscicida significativa, com 85% de mortalidade sobre *Biomphalaria glabrata* (RODRIGUES *et al.*, 2010). O extrato etanólico do pó liofilizado dos frutos de *M. charantia* inibiu de maneira significativa *in vivo* e *in vitro* a acetilcolinesterase, as atividades das fosfatases alcalina e ácida nos tecidos nervosos do molusco *Lymnaea acuminata*, hospedeiro para muitas espécies de trematódeos (UPADHYAY *et al.*, 2013). Essa propriedade moluscicida está diretamente

ligada à presença das saponinas (RODRIGUES, 2010) e da momordicina (UPADHYAY *et al.*, 2013). Extratos de *M. charantia* também têm sido utilizados como forma alternativa em protocolos terapêuticos etnoveterinários, principalmente como antiparasitário. O extrato alcoólico de *M. charantia* proporcionou uma redução de 40% do número de ovos de helmintos gastrintestinais por grama de fezes, em caprinos naturalmente infectados (BRITO-JUNIOR *et al.*, 2011). O extrato etanólico das folhas *M. charantia* apresentou atividade ovicida e larvicida em infecções mistas por nematóides gastrintestinais de caprinos (CORDEIRO *et al.*, 2010).

Outros estudos relataram as ações citotóxica (BRASILEIRO *et al.*, 2006); antioxidante e hepato protetora (MEENATCHI *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2010) e hipoglicemiante (GHORBANI, 2013; LAGARTO *et al.*, 2014; MACEDO *et al.*, 2014; MACEDO & FERREIRA, 2004; MEENATCHI *et al.*, 2017) de extratos de *M. charantia*.

3.5 Constituintes químicos de vegetais

A interação do ambiente com os mecanismos fisiológicos das plantas resulta no estímulo da síntese de metabólitos primários e secundários. Metabólitos primários é o conjunto de compostos, de distribuição universal, que desempenham uma função essencial nos vegetais, como fotossíntese, respiração, transporte de solutos dentre outros. É o caso dos lipídios, proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e a clorofila. Os metabólitos secundários são característicos de determinadas espécies, não possuem distribuição universal e podem ser resultado das adaptações às condições ambientais, na sobrevivência e perpetuação dos indivíduos (LORENZI, 2008; PEREIRA & CARDOSO, 2012; VIEIRA *et al.*, 2007).

Os metabólitos secundários desempenham um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente. No que diz respeito aos fatores bióticos, possuem um papel contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microorganismos simbiotes. Também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição à radiação ultravioleta e a deficiência de nutrientes minerais (FUMAGALI *et al.*, 2008; VIEIRA *et al.*, 2007).

A maioria dos metabólitos secundários é formada pelo metabolismo da glicose. A glicose é convertida em moléculas de ácido pirúvico, podendo seguir duas vias diferentes. Na primeira, moléculas de piruvato entram na via do ácido chiquínico formando os metabólitos

secundários aromáticos, como os alcalóides indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos, as ligninas e lignanas, as cumarinas e taninos hidrossolúveis. Na segunda, o piruvato continua sendo oxidado até a formação de moléculas de acetil-coenzima A. Essas podem seguir por três vias distintas: via do ciclo do ácido cítrico, via do mevalonato e via da condensação do acetato, formando os chamados derivados do acetato. Na via do ciclo do ácido cítrico, serão formados os alcaloides pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quinolizidínicos. A via do mevalonato origina os terpenóides e os esteróis. A combinação de uma unidade do ácido chiquínico, e uma ou mais unidades do acetato ou derivados poderá resultar na produção de antraquinonas, flavonóides e dos taninos condensados (PEREIRA & CARDOSO, 2012).

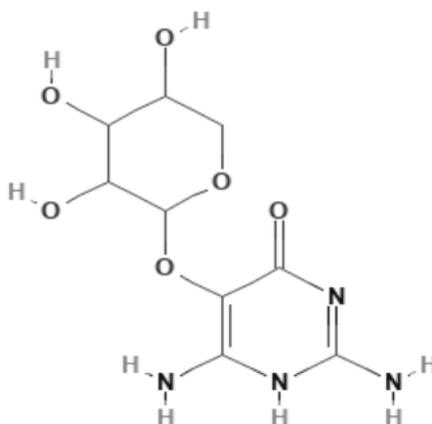
Existem diversas estratégias capazes de isolar e determinar metabólitos secundários de plantas. Em geral inicia-se com a obtenção de extratos brutos das plantas preparados com solventes distintos. Para o preparo de extratos brutos, a utilização do ciclohexano, como solvente permite a extração majoritária de lipídeos, ceras, pigmentos e furanocumarinas; a utilização do etanol permite a extração prevalecte de heterosídeos em geral e geninas hidroxiladas. A utilização de misturas hidroalcoólicas e a da própria água permitem a extração predominantemente de saponinas, taninos e alcaloides (OLIVEIRA, 2016; SIMÕES, 2000; SHARAPIN, 2000; VIEIRA *et al.*, 2007; LEITE, 2009).

Os extratos obtidos com solventes orgânicos contêm complexa mistura de compostos ativos. Se uma concentração letal excepcionalmente baixa é detectada, o extrato pode ser fracionado para extrair o componente químico responsável por um dado efeito biológico. Frações isoladas do mesmo extrato podem ter diferentes atividades, pois contêm diferentes fitoquímicos (LEITE, 2009; MACIEL *et al.*, 2010b).

O fracionamento do extrato bruto com solventes de polaridade crescente possibilita inferir as possíveis classes de substâncias extraídas nas diferentes frações de acordo com suas polaridades e solubilidades. Do fracionamento com solventes apolares, como o hexano e o clorofórmio, podem-se obter alcalóides, cumarinas, triterpenos/esteróides, emodinas e flavonóides. Do fracionamento com compostos de baixa polaridade, como o éter e o diclorometano, podem-se extrair alcalóides, taninos gálicos, cumarinas, antracenosídeos, flavonóides e triterpenos/esteróides. Do fracionamento com solventes polares, como a água e o etanol, podem-se extrair flavonoides, cumarinas simples, triterpenos de polaridade elevada, taninos e diversas classes de heterosídeos (MEDEIROS & KANIS, 2010; SHARAPIN, 2000; SIMÕES, 2000).

Os alcalóides constituem um grupo heterogêneo de substâncias nitrogenadas. Esses compostos são encontrados nos vegetais predominantemente na forma combinada com ácidos orgânicos ou na forma livre (SBFgnosia, 2017). Apresentam propriedades farmacológicas como a ação inseticida e larvicida. Entre os alcalóides com ação inseticida, destacam-se a metilcaconitina, a estemofilina, a nicotina, a normonicotina, a anabasina, a rianodina, a veratridina e a cevadina. A etilcaconitina é capaz de inibir receptores da acetilcolinesterase de insetos provocando a morte (VIEIRA *et al.*, 2007). Usualmente, é detectada por meio dos reativos gerais de alcaloides (RGA, como o Dragendorff, Bouchardat, Mayer e Bertrand), com os quais formam turvação à precipitação em meio ácido. Utilizam-se extratos tratados com ácido para pesquisa direta e extratos tratados com base para a pesquisa confirmatória. Devido à presença do nitrogênio na estrutura dos alcalóides, estes reagem com diversos compostos, formando precipitados complexos (AZEVEDO *et al.*, 2014; SBFgnosia, 2017). Na figura 6 está representada a estrutura química do alcalóide charina, composto encontrado na *M. charantia*.

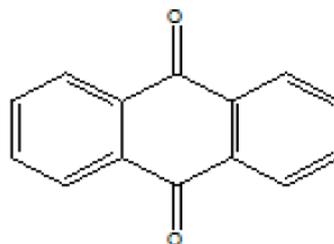
Figura 6: Estrutura química do alcaloide charina.



Fonte: Yannai (2004). Adaptado.

Os antracenosídeos são antraquinonas. Frequentemente detectados pelo teste de Bornträger, onde coloração rósea, vermelha ou violeta é desenvolvida em meio básico. Estão envolvidos no papel de defesa do vegetal contra insetos e outros patógenos, e em atividades alelopáticas. Terapeuticamente, esses compostos são empregados como laxativos e catárticos (SBFgnosia, 2017). Na figura 7 está representado o esqueleto estrutural da antraquinona.

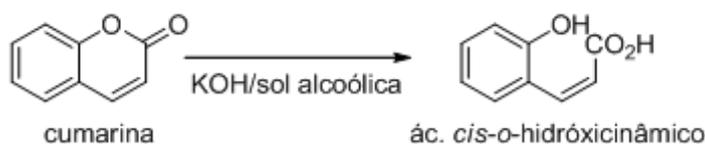
Figura 7: Estrutura química da antraquinona



Fonte: SBFgnosia (2017). Adaptado.

As cumarinas são lactonas derivadas do ácido *orto*-hidroxicinâmico, estando presente em diferentes partes das plantas, ocorrem em diferentes famílias de Angiospermae. Cerca de 1.300 cumarinas já foram isoladas de fontes naturais. Possuem um espectro ultravioleta (UV) característico, que é influenciado pela natureza e posição dos grupos substituintes. As manchas do cromatograma, sob ação da luz UV entre 300 e 400 *nm*, aparecem em cores diversas, como azul, amarela e roxa. Cumarinas puras em geral possuem coloração azul sob luz UV, mas em meio alcalino, forma-se o ácido *cis*-*o*-hidroxicinâmico que sob a ação da radiação ultravioleta tornam-se verde ou desaparecem. Este fenômeno ocorre devido à abertura do anel lactônico no meio alcalino, proporcionando a obtenção de substâncias na forma de sais solúveis em água (KUSTER & ROCHA, 2007; SBFgnosia, 2017). Na figura 8 está representada a estrutura química da cumarina em reação com base forte ou solução alcoólica.

Figura 8: Estrutura química da cumarina e reação com base forte, ocorrendo abertura do anel lactônico.

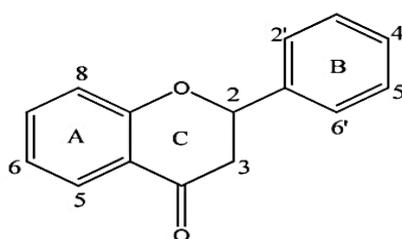


Fonte: SBFgnosia (2017). Adaptado.

Flavonóides são polifenóis encontrados na forma de agliconas, glicosídeos (forma mais frequente) ou compondo outras estruturas que contenham flavonóides (flavolignanas). São divididos em classes, sendo as principais as flavanonas, os flavonóis, as antocianidinas ou antocianos, as isoflavonas, as leucoantocianidinas, as proantocianidinas, as auronas e as chalconas. Terapeuticamente sua função não está ainda claramente esclarecida. O grupo é

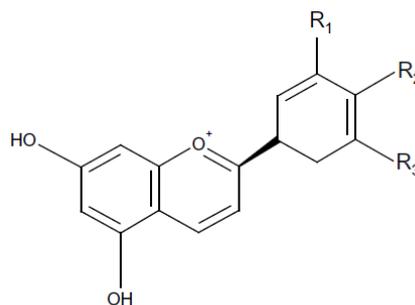
conhecido pelos seus efeitos anti-inflamatórios, antialérgicos, vasoprotetores e antioxidantes (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007). A maioria dos flavonóides, na presença de magnésio em pó e ácido clorídrico, apresentam colorações variáveis em função de suas características químicas. Estas colorações podem variar de laranja a vermelho intenso e vermelho sangue dependendo do tipo de flavonóide, esta reação é denominada reação de cianidina ou Shinoda (AZEVEDO *et al.*, 2014; SBFgnosia, 2017). Na figura 9 está representada a estrutura química de flavonóide.

Figura 9: Estrutura química de flavonóide.



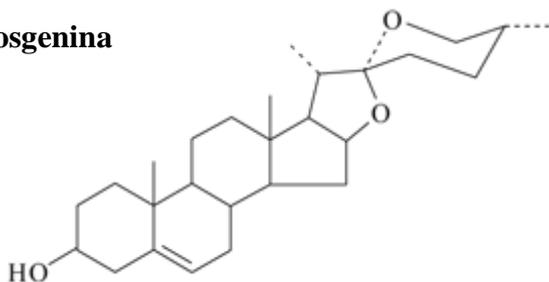
Fonte: SBFgnosia (2017). Adaptado.

Outros flavonóides importantes são as antocianinas, amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais. O cloreto de cianidina é um sal vermelho (pH ácido) e sua cor varia conforme o pH da solução. Em solução fracamente básica (pH 8), toma a coloração violeta devido à formação da anidrobases, de estrutura quinoide. Em repouso, a solução torna-se incolor pela conversão da anidrobases para a pseudobases, onde se perde a estrutura quinoide. Quando esta solução incolor passar para uma alcalinidade maior (pH 12), a cor passa a azul devido à formação do ânion da anidrobases. Se esta solução torna-se ácida (pH < 4), a cor passa a vermelho por causa da regeneração do cloreto de cianidina. Por outro lado, em repouso e solução alcalina, todos os compostos são convertidos em chalconas, de cor amarela. As antocianinas são normalmente derivadas de reações de defesa das plantas contra agressões do ambiente. Esses compostos agem como antioxidantes importantes para proteção de plantas contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias (SBFgnosia, 2017). Na figura 10 está representada a estrutura química de antocianinas.

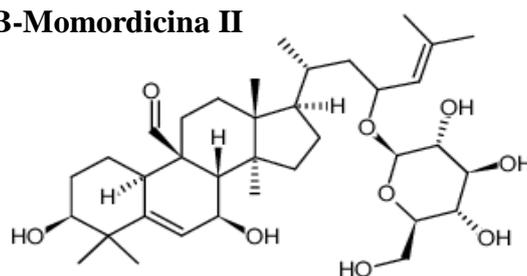
Figura 10: Estrutura química de Antocianinas.

Fonte: SBFgnosia (2017). Adaptado.

Saponinas são glicosídeos do tipo esteroide ou do tipo triterpênico. Sua estrutura molecular possui uma parte lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra hidrofílica (açúcares). A parte hidrofílica forma soluções afrógenas (espumantes), por diminuição da tensão superficial do líquido (SCHENKEL *et al.*, 2007; SBFgnosia, 2017). Outras propriedades físico-químicas e biológicas encontradas são a elevada solubilidade em água, a ação sobre membranas e a complexação com esteroides. A caracterização das saponinas em uma amostra vegetal pode ser feita com base na consequência da ação tensoativa de seus glicosídeos: investiga-se o poder espumante ou hemolítico de um macerado ou decocção aquosa da droga (AZEVEDO *et al.*, 2014; SBFgnosia, 2017). Na figura 11 estão representadas as estruturas da diosgenina e da momordicina II, compostos presentes na *M. charantia*.

Figura 11: Estrutura química da diosgenina e da momordicina II**A- Diosgenina**

Fonte: Ninno *et al.*, (2007). Adaptado.

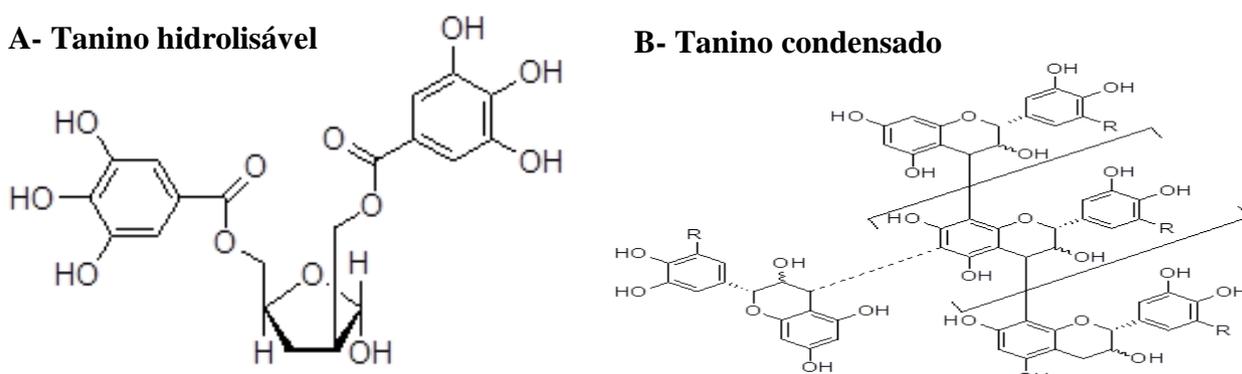
B-Momordicina II

Fonte: Keller *et al.*, (2011). Adaptado.

Taninos são substâncias fenólicas hidrossolúveis com massa molecular entre 500 e cerca de 3000 Dalton, as quais apresentam habilidades de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. Estes compostos são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais. A complexação entre taninos e proteínas é a base para suas propriedades como fatores de controle de insetos, fungo e bactérias tanto quanto para suas atividades farmacológicas (SANTOS & MELLO, 2007) Têm

reconhecidamente a função de inibir herbívoros e fitófagos, sendo encontrados em altas concentrações nos frutos, folhas, sementes e demais tecidos jovens da planta (MONTEIRO, 2005). São classificados em hidrolisáveis e condensados. Os métodos mais apropriados para determinação de taninos são os ensaios com precipitação de proteínas, com solução diluída de cloreto férrico, taninos hidrolisáveis produzem uma forte coloração azul e taninos condensados produzem coloração verde. Em mistura de ambos os tipos de taninos, a coloração verde não é observada (AZEVEDO *et al.*, 2014; MONTEIRO, 2005; SANTOS & MELLO, 2007; SBFgnosia, 2017). Na figura 12 estão representados os taninos hidrolisáveis e condensados.

Figura 12: Estrutura química de taninos.

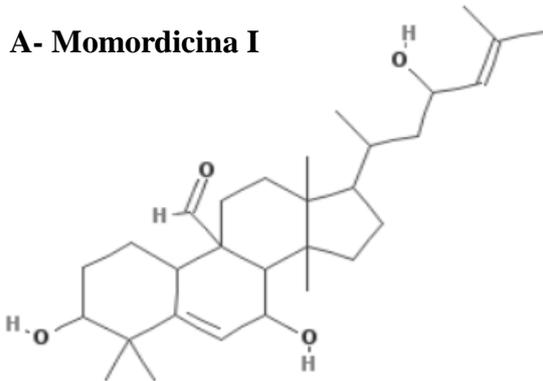


Fonte: SBFgnosia (2017). Adaptado.

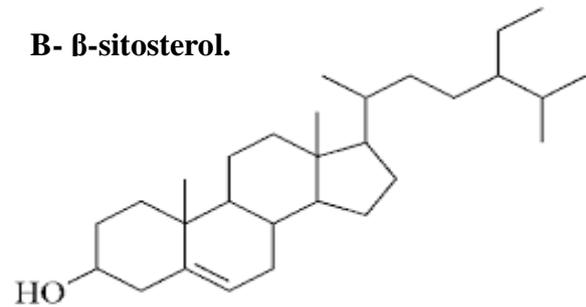
Os terpenóides formam uma grande família de compostos estruturalmente diversos, derivada de unidades isoprenicas. Dependendo do quantitativo destas unidades, podem ser classificados como monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), seterpenos (C25), triterpenos (C30), entre outros. A diversidade estrutural dos triterpenos repercute em um largo espectro de atividades biológicas e farmacológicas (FELIPE & BICAS, 2017; LEITE, 2009). Apresentam ação inseticida, fagoinibidora e inibidora de crescimento de insetos. Entre os terpenóides com ação inseticida destacam-se os limonóides, são tetranortriterpenóides, um dos maiores representantes dessa classe como inseticida, entretanto, monoterpenos simples, como limoneno e mirceno desempenham um papel de proteção contra insetos nas plantas que os produzem (VIEIRA *et al.*, 2007; FELIPE & BICAS, 2017). Os esteróides (C27 a C29) podem ser encontrados como álcool livre, esterificados a ácidos graxos ou como glicosídeos (saponinas). A reação de Liebermann-Burchard é o teste mais utilizado na identificação de esteróides e ou/ triterpenos. Nesta reação a amostra é tratada com ácido acético e ácido sulfúrico. A visualização de um anel colorido na reação ocorre devido à

uma desidratação seguida de oxidação dos anéis dos esteroides, resultando em um esteróide aromático que permite o aparecimento da coloração (SHARAPIN, 2000). Na figura 13 estão representados o terpenóide momordicina I e β -sitosterol, compostos presentes na *M. charantia*.

Figura13: Estrutura química da momordicina I e do β -sitosterol.



Fonte: Keller *et al.*, (2011). Adaptado.



Fonte: Desai & Tatke (2015). Adaptado.

4. METODOLOGIA

4.1 Material vegetal

4.1.1 Coleta e identificação taxonômica

A planta utilizada no estudo foi obtida na região do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. O espécime foi coletado, georreferenciado e as exsiccatas foram depositadas no Herbário/DIAM da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). No Quadro 3, estão descritos os dados referentes à coleta, identificação, depósito do material vegetal, nome popular da espécie vegetal e; na figura 14 está a imagem referente à exsicata da espécie utilizada no estudo.

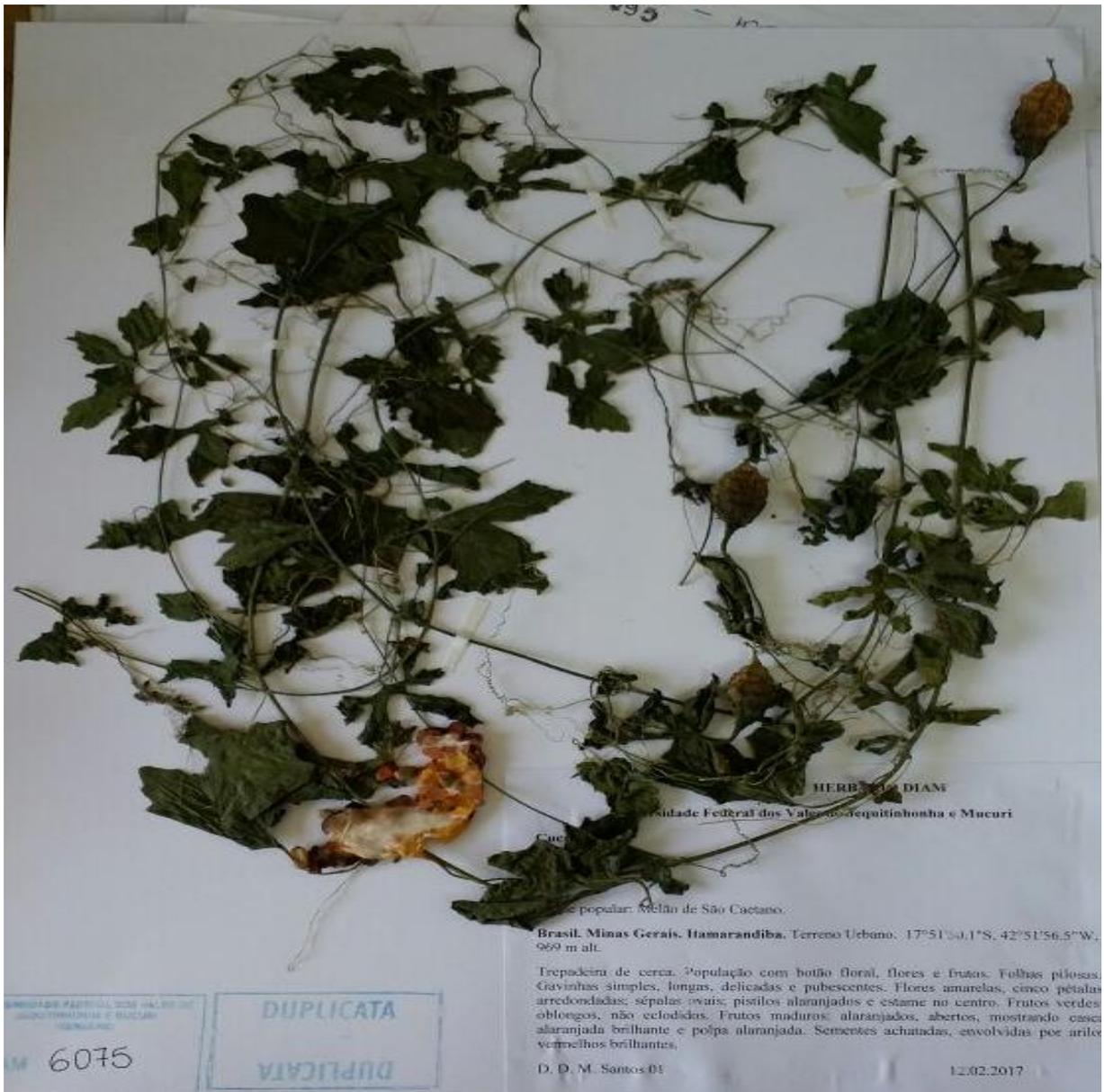
Quadro 3: Dados referentes à coleta, identificação, depósito das exsiccatas, nome popular da *Momordica charantia*.

Espécie	Família	Data de coleta do material vegetal	Local da coleta	Número de depósito da exsicata	Nome popular usual
<i>Momordica charantia</i>	Cucurbitaceae	12/02/2017	Terreno Urbano em Itamarandiba, Minas Gerais, Brasil, 17°51'50.1"S, 42°51'56.5"W, 969 m alt.	DIAM 6075	Melão-de-São-Caetano

A espécie vegetal não consta na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (BRASIL, 2014) e carecem de pesquisas relacionadas às atividades propostas, justificando o seu estudo.

A espécie foi selecionada devido à grande disponibilidade de material vegetal para confecção dos extratos, sua ocorrência na região, à ausência de estudos referente à atividade inseticida contra a família Psychodida e a presença de estudos fitoinseticida do vegetal sobre outras espécies de insetos, bem como, devido à comprovada existência de metabólitos secundários de natureza inseticida na espécie.

Figura 14: Imagem da exsicata de *Momordica charantia* utilizada nos experimentos.



Fonte: Dados do autor.

4.1.2 Preparo dos extratos

A preparação dos extratos foi realizada no Laboratório do Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), seguindo os processos metodológicos preconizados por Brasil (2010).

O material vegetal coletado foi separado em duas partes: 2800g de partes aéreas (folhas e galhos verdes) e 556g de frutos. Foram secos em estufa de ar circulante (Biopar®, modelo S480AT) a 40°C, até peso constante.

Após, o material foi pulverizado em moinho de facas (Marconi®, modelo MA580). O pó obtido foi armazenado em sacos de papel Kraft, a temperatura ambiente, em local fresco até o momento do preparo dos extratos.

4.1.2.1- Preparo do extrato etanólico

O material pulverizado, 120g de frutos e 360g de partes aéreas de *M. charantia*, foi submetido à extração por maceração com etanol 96°GL (Dinâmica®), por 72 horas, em temperatura ambiente. Após esse período, os extratos foram filtrados à vácuo. Ao pó obtido dessa filtração, foi realizada a renovação do solvente e a repetição do processo de filtração e renovação do solvente. Este procedimento foi realizado por três vezes. Em seguida, os extratos foram concentrados em evaporador (Fisaton®, modelo 801), sob temperaturas entre 40 e 45 °C e pressão reduzida. Para a secagem final à temperatura ambiente, os extratos obtidos foram transferidos para frascos de vidro âmbar e alocados em dessecador, sob vácuo, contendo sílica-gel, até o momento dos ensaios e testes fitoquímicos.

4.1.2.2- Preparo do extrato ciclo-hexânico

O material pulverizado, 120g de frutos e 360g de partes aéreas de *M. charantia*, foi submetido à extração por maceração com ciclo-hexano PA ACS (780g) (Dinâmica®), por 72 horas, em temperatura ambiente. Após esse período, os extratos foram filtrados à vácuo. Ao pó obtido dessa filtração, foi realizada a renovação do solvente e a repetição do processo de filtração e renovação do solvente. Este procedimento foi realizado por três vezes. Em seguida, os extratos foram concentrados em evaporador (Fisaton®, modelo 801), sob temperaturas entre 40 e 45 °C e pressão reduzida. Para a secagem final à temperatura ambiente, os extratos obtidos foram transferidos para frascos de vidro âmbar e alocados em dessecador, sob vácuo, contendo sílica-gel, até o momento dos ensaios e testes fitoquímicos.

4.1.2.3- Preparo do extrato hidroalcoólico

O material pulverizado, 120g de frutos e 360g de partes aéreas de *M. charantia*, foi submetido à extração por maceração com mistura hidroalcoólica (etanol 96 °GL (Dinâmica®) e água destilada) na proporção 1:3, por 72 horas, em temperatura ambiente. Após esse período, os extratos foram filtrados à vácuo. Ao pó obtido dessa filtração, foi realizada a renovação do solvente e a repetição do processo de filtração e renovação do solvente. Este procedimento foi realizado por três vezes. Em seguida, os extratos foram concentrados em evaporador (Fisaton®, modelo 801), sob temperaturas entre 40 e 45 °C e

pressão reduzida. Posteriormente, esses extratos foram submetidos à liofilização (liofilizador Telstar ®), por 24 horas. Este procedimento foi realizado no Laboratório de Ciências Farmacêuticas da UFVJM.

Os extratos obtidos foram transferidos para frascos de vidro âmbar e alocados em dessecador, sob vácuo, contendo sílica-gel, até o momento dos ensaios e testes fitoquímicos.

4.2 Pesquisa fitoquímica das principais classes de metabólitos secundários presentes nas folhas e frutos de *Momordica charantia*.

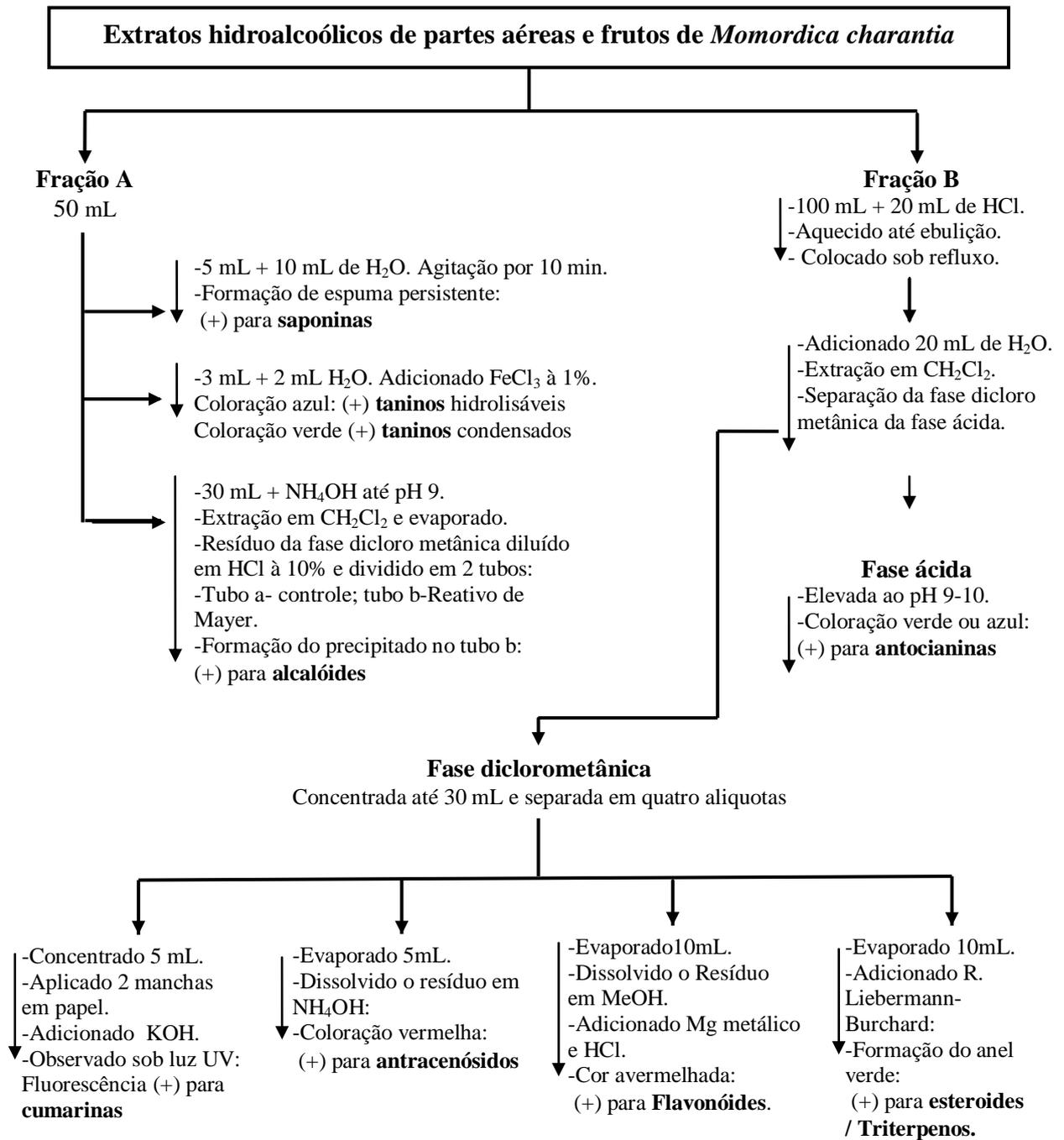
As análises fitoquímicas foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais do Departamento de Farmácia da UFVJM, com objetivo de identificar as principais classes de metabólitos secundários das partes da planta utilizada neste estudo. Foi realizada por meio de reações cromogênicas, fluorogênicas e de precipitação, conforme Sharapin (2000) e Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2017).

Nos extratos hidroalcoólico e etanólico de partes aéreas e frutos de *M. charantia* foram realizadas as análises para identificação de alcalóides, cumarinas, antracenosídeos, flavonóides, taninos e triterpenos e/ ou esteróides (Esquema 1 e Esquema 2).

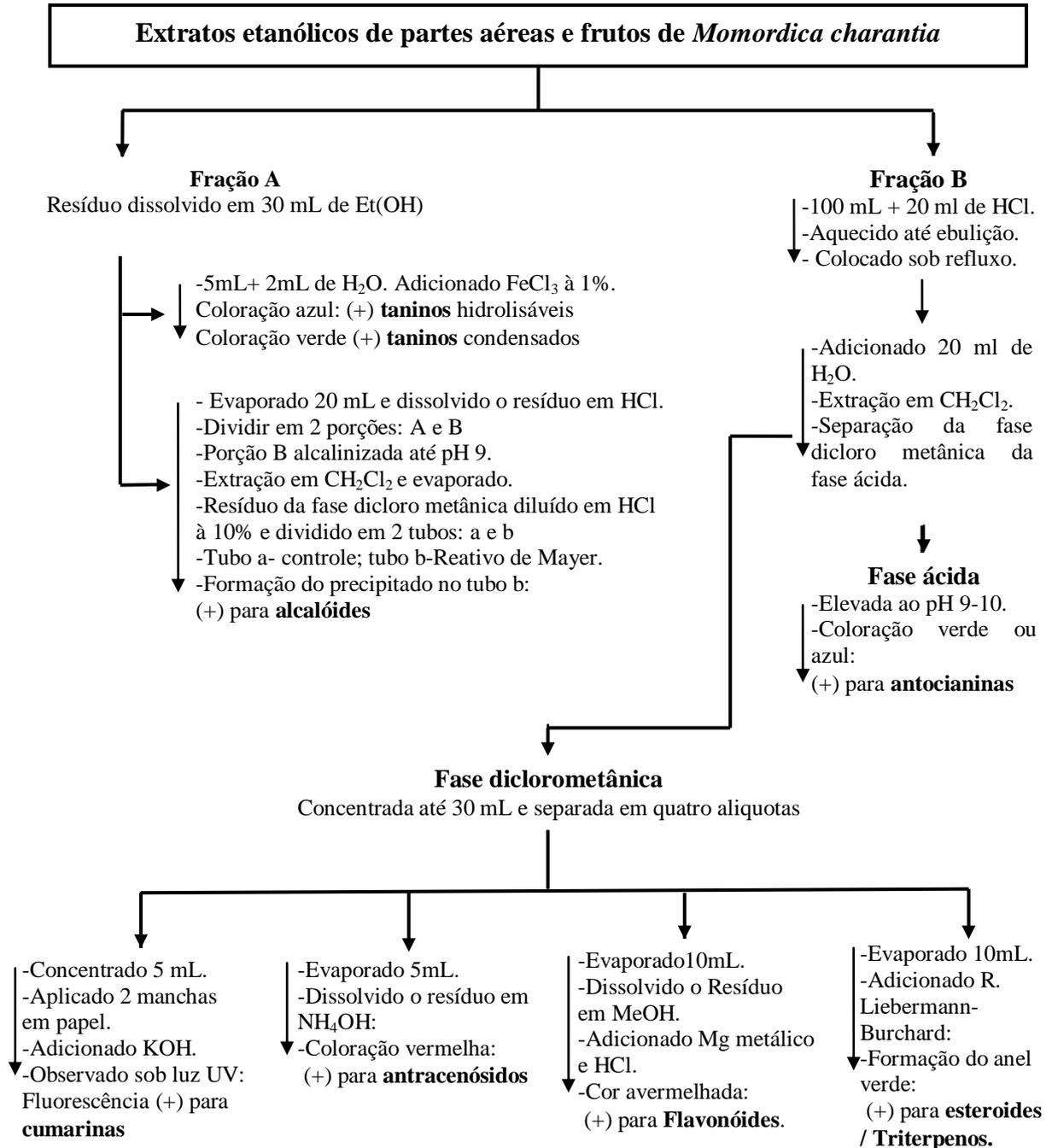
As análises fitoquímicas para identificação de saponinas foram realizadas somente para extratos hidroalcoólicos de partes aéreas e frutos de *M. charantia* (Esquema 1), devido às propriedades afrógenas desses metabólitos.

Para o extrato ciclo-hexânico de partes aéreas e frutos de *M. charantia* foram realizadas as análises para identificação de alcalóides, antracenosídeos, flavonóides, taninos e triterpenos e/ ou esteróides (Esquema 3).

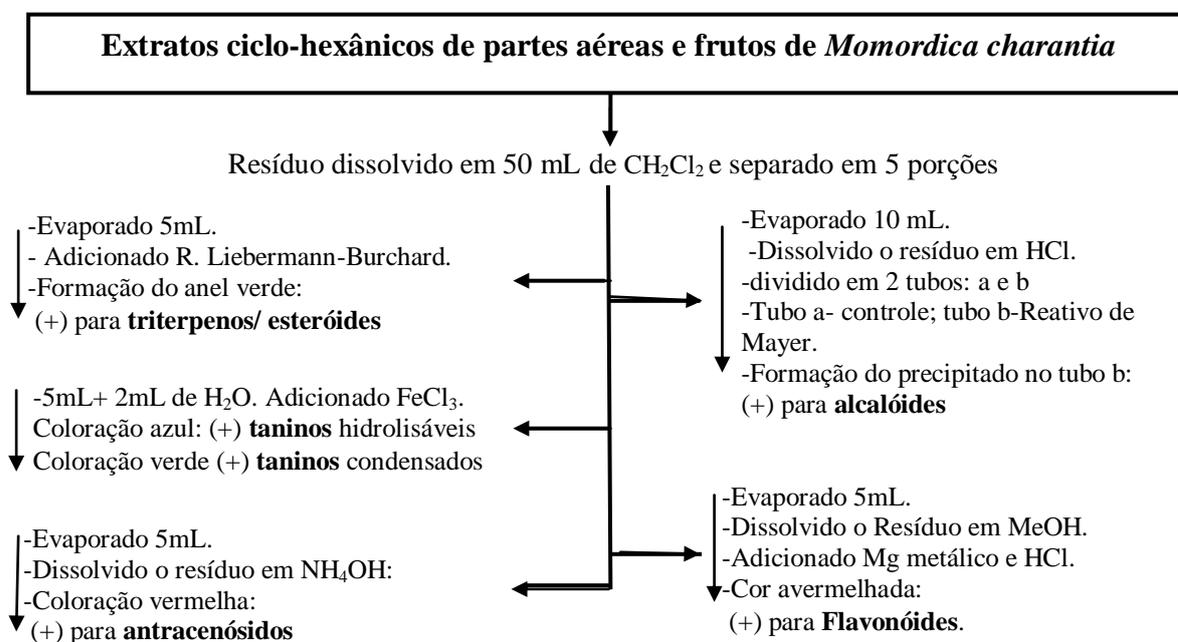
Esquema 1- Identificação de alcalóides, cumarinas, antracenosídeos, flavonóides, taninos, triterpenos e/ ou esteróides e saponinas nos extratos hidroalcoólicos de partes aéreas e frutos de *Momordica charantia*.



Esquema 2- Identificação de alcalóides, cumarinas, antracenosídeos, flavonóides, taninos e triterpenos e/ ou esteróides nos extratos etanólicos de partes aéreas e frutos de *Momordica charantia*.



Esquema 3- Identificação de alcalóides, antracenosídeos, flavonóides, taninos e triterpenos e/ ou esteróides nos extratos ciclo-hexânicos de partes aéreas e frutos de *Momordica charantia*.



4.3 Ensaio biológico com insetos

4.3.1 Área de captura de flebotomíneos

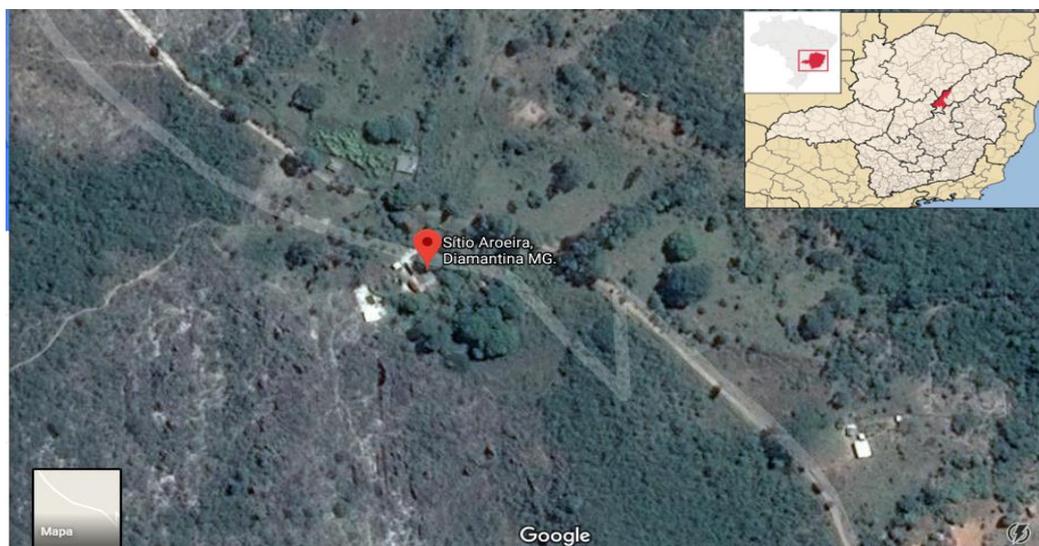
O ensaio biológico foi realizado com flebotomíneos selvagens. A definição do local de coleta de flebotomíneos nesse estudo baseou-se no desenvolvimento de trabalhos anteriores realizados pelo Grupo de Pesquisa de Parasitologia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, que identificaram e utilizaram exemplares de *Lutzomyia longipalpis* coletados na área descrita (SINCURÁ *et al.*, 2017).

Os insetos foram coletados na localidade de Aroeira (18° 88' S - 43° 38' W), Diamantina- Minas Gerais, Brasil (Figura 15).

Diamantina é um município brasileiro do estado de Minas Gerais, localiza-se na Mesorregião do Jequitinhonha, está situada a uma altitude média de 1.280 m, com área territorial de 3.891,659 Km². Possui uma população estimada de 48.230 habitantes. De acordo com a Köppen e Geiger (KOTTEK *et al.*, 2006), a classificação do clima da cidade é *Cwb* (clima temperado húmido com inverno seco e verão temperado), com temperatura média anual de 18,8 °C e 1498 mm de pluviosidade média anual.

Quanto às questões epidemiológicas relacionadas à LV, no período de 2012 a 2017, no município foram notificados 15 casos de LV humana, onde a maioria das notificações, 62,8%, é proveniente da zona urbana (ANJOS-SILVA *et al.*, 2018).

Figura 15: Local da coleta de flebotomíneos



Fonte: GOOGLE MAPS, 2018.

4.3.2 Captura e identificação dos flebotomíneos

Para a captura, foi utilizada a armadilha luminosa HP (Figura 16) descrita por Pugedo *et al.* (2005). Após a escolha do sítio de captura, a armadilha foi exposta no período vespertino e os insetos foram recolhidos no dia seguinte.

Figura 16: Sítio de captura e flebotomíneos e armadilha luminosa HP utilizada



Fonte: Dados do autor.

Os insetos capturados foram transportados para o Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, e transferidos para gaiolas, onde ficaram em descanso por 24 horas, até o início dos testes, sendo disponibilizadas sobre as gaiolas, algodões embebidos em água e solução açucarada para alimentação dos insetos.

4.3.3 Solubilização dos extratos para os ensaios biológicos

Por apresentar alta solubilidade em diversos solventes, como a água e etanol, os polissorbatos têm sido utilizados na solubilização de extratos brutos de plantas (ALVES *et al.*, 2011; BRAGA *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2010; SALLET *et al.*, 2007) e por isso foram utilizados no presente estudo.

Após secagem completa dos extratos brutos das partes aéreas e frutos de *M. charantia*, os extratos foram diluídos em solução de TWEEN 80 (Polissorbato 80) a 3%, logo antes das aplicações, obtendo-se quatro concentrações de extratos: 0,05 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,20 mg/mL e 0,40 mg/mL. As misturas foram homogeneizadas em agitador de tubos tipo vórtex (Modelo AP56- Phoenix Lufenco[®]) para utilização nos bioensaios.

4.3.4 Bioensaio com flebotomíneos.

Para o bioensaio com os flebotomíneos seguiu-se a metodologia de Luitgards-Moura *et al.* (2002). Após o descanso por 24 horas, flebotomíneos não sexados foram transferidos com ajuda de um capturador de Castro, das gaiolas para potes plásticos translúcidos com capacidade de 200 mL. Os potes foram cobertos por uma tela fina de tecido com orifício (ocluso por algodão) para introdução dos insetos, também, o interior de cada pote continha um papel filtro qualitativo 80g (Unifil[®]) onde foram aplicados 100 μ L dos extratos ciclo-hexânico, hidroalcoólico e etanólico de partes aéreas e frutos de *M. charantia* nas quatro concentrações.

Para os grupos controle foram utilizados os seguintes tratamentos:

- **Controle negativo 1:** Esse grupo incluiu 60 flebotomíneos adultos que foram tratados com 100 μ L de água destilada;
- **Controle negativo 2:** Esse grupo incluiu 60 flebotomíneos adultos que foram tratados com 100 μ L de solução de TWEEN 80 a 3%;
- **Controle positivo:** Esse grupo incluiu 60 flebotomíneos adultos que foram tratados com 100 μ L de alfa-cipermetrina (Tenopa[®]) na concentração de 196 μ g/mL.

Todos os testes das 04 concentrações de extratos das partes aéreas e frutos de *M. charantia*, incluindo controles, foram realizados em triplicata, com 20 insetos em cada pote, totalizando 1620 flebotomíneos adultos para todo o bioensaio (Figura 17).

Figura 17: Recipientes utilizados no bioensaio com flebotomíneos.



Fonte: Dados do autor.

Após os tempos: 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h, 48h e 72h foi avaliada a mortalidade dos flebotomíneos pela contagem dos insetos mortos por pote. Todo o bioensaio ocorreu à temperatura ambiente.

4.3.5 Análises estatísticas

Os dados do bioensaio com flebotomíneos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR[®] (FERREIRA, 2014).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise Fitoquímica

Para os testes fitoquímicos o resultado foi considerado positivo quando houve a formação de precipitado ou aparecimento de cor, indicando que no extrato avaliado provavelmente existe a classe metabólica investigada, conforme já apresentado nos esquemas 1, 2 e 3; já o resultado negativo indica a ausência do metabólito investigado ou que esse possa estar presente em uma baixa concentração naquele extrato avaliado. A seguir serão descritos e discutidos os resultados frente a cada extrato avaliado, para cada classe de metabólito investigado.

Tabela 1- Identificação de metabólitos secundários nos extratos de partes aéreas e frutos de *Momordica charantia*.

Pesquisa de metabólitos secundários em partes aéreas de <i>Momordica charantia</i>			
Metabólito	Tipos de extratos analisados		
	Etanólico	Hidroalcoólico	Ciclo-hexânico
Alcalóides	+	+	+
Antracenosídeos	-	-	-
Cumarinas	+	+	+
Flavonoides	-	-	-
Antocianinas	-	-	na
Saponinas	na	+	na
Taninos	-	-	na
Esteróides/ Triterpenos	+	-	+

Pesquisa de metabólitos secundários em frutos de <i>Momordica charantia</i>			
Metabólito	Tipos de extratos analisados		
	Etanólico	Hidroalcoólico	Ciclo-hexânico
Alcalóides	+	+	+
Antracenosídeos	-	-	-
Cumarinas	+	+	+
Flavonoides	-	-	-
Antocianinas	-	-	na
Saponinas	na	+	na
Taninos	-	-	na
Esteróides/ Triterpenos	+	-	+

Legenda: (+) positivo; (-) negativo; (na) teste não realizado para este extrato.

Os testes para alcalóides foram avaliados por reação de caracterização com o reagente de Mayer, a formação do precipitado indicou a presença do metabólito em todos os extratos avaliados. Os testes de Upadhyay *et al.* (2013), corroboram com o presente estudo,

onde foram identificados a presença de alcalóides nos frutos do extrato liofilizado. Nos estudos de Rodrigues *et al.* (2010), os extratos hidroalcoólico e etanólico de folhas “*in natura*” de *M. charantia*, mostraram-se moderadamente positivos para o teste de alcalóides. Enquanto que para o extrato lipofílico (éter etílico) de folhas “*in natura*” mostraram-se negativos para o teste de alcalóide. Estes resultados corroboram parcialmente com os encontrados no presente estudo, essa parcialidade possivelmente pode estar associada ao fato de no presente estudo ter-se utilizado material dessecado e Rodrigues *et al.* (2010) utilizaram material fresco. Pereira *et al.* (2010) não identificaram a presença de alcalóides nos extratos hexânico e etanólico das folhas de *M. charantia*, contrapondo os achados deste estudo. Os alcalóides fazem parte dos metabólitos secundários com atividade inseticida, pois em muitas plantas potencialmente inseticidas estes compostos foram encontrados (MACIEL *et al.*, 2010b; VIEIRA *et al.*, 2007). Guimarães *et al.* (2014) associaram a presença de alcalóides à atividade inseticida do extrato aquoso de *Capsicum baccatum* sobre insetos adultos de *Sitophilus zeamais*. Cavalcante *et al.* (2006) associaram a mortalidade de ninfas de moscas-branca, pulverizadas com *Prosopis juliflora*, à presença de alcalóides no extrato aquoso da planta, uma vez que esses ácidos não-protéicos, são classificados como tóxicos qualitativos, pois agem mesmo em pequenas quantidades, apresentando toxicidade para insetos e frequentemente a morte.

Antracenosídeos não foram encontrados na pesquisa fitoquímica dos extratos de *M. charantia* no presente estudo. A abordagem fitoquímica, por meio da cromatografia em camada delgada, do extrato metanólico do caule e folhas de *M. charantia* também não encontrou compostos antracênicos livres em suas amostras (DALEFFI ZOCOLER *et al.*, 2006). Nos estudos de Rodrigues *et al.* (2010), os extratos etanólico e lipofílico (éter etílico) de folhas “*in natura*” de *M. charantia*, também se mostraram negativos para estes metabólitos. Estes aspectos corroboram com os dados obtidos no presente estudo.

No presente estudo, todos os extratos avaliados foram positivos para cumarinas. Ceballos *et al.* (2017), também detectaram cumarinas, por cromatografia em camada delgada, nas frações etanólica, metanólica e hexânica do extrato de folhas de *M. charantia*. Rodrigues *et al.* (2010), não detectou a presença de cumarinas no extrato lipofílico das folhas de *M. charantia*. Assim, a presença de compostos bioativos pode variar conforme elementos climáticos (como luz, temperatura, umidade relativa e chuvas) e a posição geográfica do cultivo (latitude e altitude), horário de coleta, qualidade do solo, tratamentos culturais, fenologia, diferenças genéticas e idade da planta (MOREIRA *et al.*, 2015). Araújo *et al.* (2008), utilizaram cumarina pura proveniente do extrato hexânico do mentrasto (*Ageratum conyzoides*

L.) sobre duas espécies de formigas cortadeiras (*Atta laevigata* e *Acromyrmex subterraneus*), e relacionaram a cumarina como o agente formicida, sugerindo que essa substância apresenta efeito inseticida retardado, com cerca de 24 horas após a aplicação, para atingir potencial inseticida de 55,42%. O mecanismo de ação da cumarina se baseia na ligação do composto de forma irreversível ao citocromo P450, comprometendo a capacidade destoxicativa do inseto e inibindo a cadeia de transporte de elétron. Este metabólito tem ação inseticida comprovada contra lagartas, besouros, formigas e mosca doméstica (MOREIRA *et al.*, 2015). Dentre as inúmeras atividades biológicas atribuídas à compostos desta classe, inclui-se também a atividade larvicida (GARCEZ *et al.*, 2013).

No presente estudo, todos os extratos avaliados foram negativos para flavonóides. Corroborando com os achados de Rodrigues *et al.* (2010), onde os extratos etanólico e lipofílico de *M. charantia*, mostraram-se negativos para este metabólito. Pereira *et al.* (2010) também não identificaram a presença de flavonóides nos extratos hexânico e etanólico das folhas de *M. charantia*. Já a abordagem fitoquímica, por meio da cromatografia em camada delgada, do extrato metanólico do caule e folhas de *M. charantia* mostraram-se positivas para flavonóides (DALEFFI ZOCOLER *et al.*, 2006). Ceballos *et al.* (2017) também encontraram flavonóides, por cromatografia em camada delgada, nas frações hexânica, diclorometânica e metanólica do extrato de folhas de *M. charantia*. Essas variações de composição química de plantas da mesma espécie podem estar relacionadas a fatores extrínsecos e intrínsecos do material vegetal analisado, além das técnicas empregadas na detecção dos compostos (RODRIGUES *et al.*, 2014). As antocianinas também não foram encontradas nos extratos de *M. charantia* no presente estudo. Güder (2016) quantificou a presença desse metabólito em extrato ácido acético de frutos de *M. charantia* colhidos em quatro diferentes meses do ano, encontrando uma variação nos percentuais de antocianina, à saber: Agosto (27.66% \pm 0.91), setembro (31.04% \pm 1.22), outubro (29.47% \pm 0.37) e novembro (24.48% \pm 0.58), sustentando que essa diferença pode estar relacionada à época de colheita, às condições de armazenamento, à maturidade dos frutos, e às etapas de extração do composto, concluindo ainda que a seleção correta do período de colheita dos frutos pode aumentar significativamente a quantidade de antocianina encontrada nos extratos.

Os extratos hidroalcoólicos de *M. charantia* mostraram-se positivos para saponinas no presente estudo. A abordagem fitoquímica, por meio da cromatografia em camada delgada nos trabalhos de Ceballos *et al.* (2017) e Daleffi Zocoler *et al.* (2006) também detectaram saponinas nos extratos de *M. charantia*. A presença de saponinas foi identificada em experimentos avaliando a mortalidade significativamente considerável de

lagartas submetidas à extratos etanólicos de folhas, caule e folhas de *Annona cordifolia* e das folhas de *Unonopsis lindimani*, em aplicação tópica dos extratos em lagartas de primeiro instar das espécies *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis* (SAITO *et al.*, 2004). O comportamento anfílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídios de membrana, determinam várias propriedades biológicas para essas substâncias, como ação sobre membranas celulares (atividades hemolítica, ictitóxica e moluscicida) pode justificar o resultado positivo para esteróides e/ou triterpenos em testes fitoquímicos. As folhas de *M. charantia* são utilizadas popularmente como cicatrizantes, logo as saponinas poderiam ser as responsáveis por essa ação (DALEFFI ZOCOLER *et al.*, 2006; SCHENKEL *et al.*, 2007). A presença de saponinas é constantemente relatada na literatura para esta espécie vegetal, como também para outras espécies do gênero *Momordica* (DALEFFI ZOCOLER *et al.*, 2006). Como saponinas esteroidais são encontradas quase que exclusivamente em monocotiledôneas e as saponinas triterpênicas são encontradas predominantemente em dicotiledôneas (SCHENKEL *et al.*, 2007), infere-se que as saponinas presentes na *M. charantia* são do tipo triterpênicas, já que a espécie vegetal pertence à classe das angiospermas dicotiledôneas.

No presente estudo, não foram encontradas taninos, corroborando com os achados de Pereira *et al.* (2010) e Rodrigues *et al.* (2010) que não identificaram a presença desse metabólito nos extratos de folhas de *M. charantia*.

Em relação aos esteróides e terpenóides, os testes foram positivos para os extratos ciclo-hexânico e etanólicos para ambas as partes das plantas utilizadas. Pereira *et al.* (2010) também identificaram a presença de esteróides nos extratos hexânico e etanólico das folhas de *M. charantia*. O teste de Liberman-Buchard utilizado para detecção de esteróides e triterpenos indicou a presença apenas de esteróides nos extratos hidrofílico e lipofílico e a ausência de triterpenos nas folhas de *M. charantia* nos experimentos de Rodrigues *et al.* (2010). A abordagem fitoquímica, por meio da cromatografia em camada delgada, do extrato metanólico detectou triterpenos e esteroides na *M. charantia* (DALEFFI ZOCOLER *et al.*, 2006). Chen *et al.* (2008), encontrou 50 novos compostos glicosídeos curcubitáceos biologicamente ativos, entre eles os triterpenóides curcubitaneos. A grande maioria de trabalhos na literatura que se referem à terpenóides superiores, faz referência a observações de atividades como inibidores ou retardadores de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, ocasionando a morte de insetos predadores por inanição ou toxicidade direta. Triterpenos e esteróides não apresentam resultados significativamente tóxicos, quanto à ação inseticida de contato, quando aplicadas topicamente em larvas ou insetos adultos

(VIEGAS-JUNIOR, 2003). Os limonóides são, provavelmente, os maiores representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida. Entretanto esse efeito está associado à atividades fago-repelente, supressor de apetite e regulador de crescimento. A família Meliaceae é uma das mais importantes quando se trata de inseticidas botânicos devido à presença de limonóides. Alguns sesquiterpenos têm mostrado forte ação de repelência em concentrações muito baixas, e são encontrados em plantas da família Fabaceae (VIEGAS-JUNIOR, 2003).

As atividades dos componentes fitoquímicos detectadas no presente estudo (alcalóides, cumarinas, saponinas e esteróides e ou/ triterpenos) podem ser responsáveis pelas atividades inseticidas observadas nos ensaios com *Lu. longipalpis*, reforçando as potencialidades inseticidas dessa planta. O resultado negativo para flavonóides neste trabalho é, assim, contraditório com alguns trabalhos encontrados na literatura. Desse modo, este ponto precisa ser investigado mais detalhadamente, seja por meio de outras metodologias mais avançadas de detecção de compostos secundários, como por meio da coleta de amostras do vegetal ao longo das várias estações do ano.

5.2 Ensaios biológicos com flebotomíneos

Em relação aos resultados do bioensaio com extratos de partes de aéreas de *M. charantia* (Tabela 2), no presente estudo, o hidroalcoólico atinge o maior potencial inseticida após 72 horas de tratamento, na concentração de 0,2 mg/mL (Eficácia de $81,67 \pm 2,89\%$) seguida da concentração de 0,40 mg/mL (Eficácia de $61,67 \pm 5,77\%$), não havendo diferenças significativas entre ambas as concentrações neste tempo. Para o extrato ciclo-hexânico o maior potencial inseticida é observado após 72 horas de tratamento, na concentração de 0,1 mg/mL (Eficácia de $78,33 \pm 7,64\%$), seguida da concentração de 0,05 mg/mL (Eficácia de $46,67 \pm 2,89$), não havendo diferenças significativas entre ambas as concentrações neste tempo. Para o extrato etanólico a maior eficácia é observada após 72 horas de tratamento, na concentração de 0,1 mg/mL (Eficácia de $53,33 \pm 10,41\%$), seguida da concentração de 0,05 mg/mL (Eficácia $50,00 \pm 8,66\%$), neste caso são as eficácias são estatisticamente diferentes entre si. Comparando os três extratos de partes de aéreas de *M. charantia* na concentração 0,05 mg/mL, o melhor extrato foi o etanólico às 72 horas de tratamento (Eficácia $50,00 \pm 8,66\%$). Para a concentração de 0,1 mg/mL o melhor extrato foi o ciclo-hexânico às 72 horas de tratamento (Eficácia $78,33 \pm 7,64\%$). Para a concentração de 0,2 mg/mL o melhor extrato foi o hidroalcoólico às 72 horas de tratamento (Eficácia $81,67 \pm 2,89\%$) e para a concentração de 0,4 mg/mL o melhor extrato foi o hidroalcoólico às 72 horas de tratamento (Eficácia $61,67$

$\pm 5,77\%$). Dentre todos os extratos de partes aéreas de *M. charantia* testados, o hidroalcoólico na concentração de 0,2 mg/mL foi o mais efetivo, seguido do ciclo-hexânico na concentração de 01, mg/mL.

Tabela 2: Percentual de mortalidade de *Lutzomyia longipalpis* submetidos à concentrações de extratos de partes aéreas de *Momordica charantia*.

		Mortalidade em %					
		Extratos			Controles		
		hidroalcoólico	Ciclo-hexânico	Etanólico	Água	Tween 80	alfa-cipermetrina
Concentração 0,05 mg/mL	1h	1,67 \pm 2,89 ^{dc}	6,67 \pm 7,64 ^{db}	8,33 \pm 2,89 ^{bb}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	25,56 \pm 6,94 ^{da}
	2h	5,00 \pm 5,00 ^{dc}	8,34 \pm 7,64 ^{dc}	11,67 \pm 2,89 ^{bb}	0,00 \pm 0,00 ^{ad}	1,12 \pm 1,92 ^{bd}	32,22 \pm 9,62 ^{da}
	4h	10,00 \pm 0,00 ^{ec}	8,34 \pm 7,64 ^{dc}	16,67 \pm 2,89 ^{bb}	0,00 \pm 0,00 ^{ad}	1,12 \pm 1,92 ^{bd}	44,44 \pm 7,70 ^{ca}
	16h	10,00 \pm 0,00 ^{ec}	11,67 \pm 5,77 ^{dc}	16,67 \pm 2,89 ^{bb}	2,23 \pm 1,92 ^{ad}	1,12 \pm 1,92 ^{bd}	80,00 \pm 3,33 ^{ba}
	24h	13,33 \pm 2,89 ^{ec}	16,67 \pm 7,56 ^{eb}	18,33 \pm 2,89 ^{bb}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	2,23 \pm 1,92 ^{bd}	84,44 \pm 1,92 ^{ba}
	36h	25,00 \pm 0,00 ^{bc}	25,00 \pm 0,00 ^{bc}	43,33 \pm 10,41 ^{ab}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	5,56 \pm 3,85 ^{bd}	92,22 \pm 1,92 ^{aA}
	72h	43,33 \pm 7,64 ^{ab}	46,67 \pm 2,89 ^{ab}	50,00 \pm 8,66 ^{ab}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	13,89 \pm 3,47 ^{ac}	95,56 \pm 3,85 ^{aA}
	CV (%)	25,41					
Concentração 0,1 mg/mL	1h	1,67 \pm 2,89 ^{cc}	10,00 \pm 0,00 ^{eb}	6,67 \pm 2,89 ^{cb}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	25,56 \pm 6,94 ^{da}
	2h	3,34 \pm 2,89 ^{cc}	10,00 \pm 0,00 ^{eb}	6,67 \pm 2,89 ^{cb}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	32,22 \pm 9,62 ^{da}
	4h	5,00 \pm 0,00 ^{cc}	10,00 \pm 0,00 ^{eb}	10,00 \pm 5,00 ^{eb}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	44,44 \pm 7,70 ^{ca}
	16h	8,33 \pm 2,89 ^{cc}	18,33 \pm 2,89 ^{eb}	11,67 \pm 7,64 ^{cb}	2,23 \pm 1,92 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	80,00 \pm 3,33 ^{ba}
	24h	10,00 \pm 0,00 ^{cd}	21,67 \pm 2,89 ^{bb}	13,33 \pm 5,77 ^{cc}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	2,23 \pm 1,92 ^{bd}	84,44 \pm 1,92 ^{ba}
	36h	31,67 \pm 7,64 ^{bc}	71,67 \pm 2,89 ^{ab}	31,67 \pm 2,89 ^{bc}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	5,56 \pm 3,85 ^{bd}	92,22 \pm 1,92 ^{aA}
	72h	55,00 \pm 5,00 ^{ac}	78,33 \pm 7,64 ^{ab}	53,33 \pm 10,41 ^{ac}	3,34 \pm 3,33 ^{ae}	13,89 \pm 3,47 ^{ad}	95,56 \pm 3,85 ^{aA}
	CV (%)	22,58					
Concentração 0,2 mg/mL	1h	11,67 \pm 2,89 ^{bb}	1,67 \pm 2,89 ^{dc}	6,67 \pm 2,89 ^{bb}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	25,56 \pm 6,94 ^{da}
	2h	13,33 \pm 2,89 ^{bb}	3,34 \pm 2,89 ^{dc}	6,67 \pm 2,89 ^{cc}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	32,22 \pm 9,62 ^{da}
	4h	16,67 \pm 2,89 ^{bb}	5,00 \pm 0,00 ^{dc}	6,67 \pm 2,89 ^{cc}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	44,44 \pm 7,70 ^{ca}
	16h	20,00 \pm 5,00 ^{bb}	13,33 \pm 2,89 ^{eb}	6,67 \pm 2,89 ^{cc}	2,23 \pm 1,92 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	80,00 \pm 3,33 ^{ba}
	24h	20,00 \pm 5,00 ^{bb}	18,33 \pm 5,77 ^{bb}	8,33 \pm 2,89 ^{cc}	3,34 \pm 3,33 ^{ac}	2,23 \pm 1,92 ^{bc}	84,44 \pm 1,92 ^{ba}
	36h	45,00 \pm 8,66 ^{bb}	25,00 \pm 5,00 ^{bc}	16,67 \pm 7,64 ^{bd}	3,34 \pm 3,33 ^{ae}	5,56 \pm 3,85 ^{be}	92,22 \pm 1,92 ^{aA}
	72h	81,67 \pm 2,89 ^{ab}	35,00 \pm 5,00 ^{ac}	28,33 \pm 7,64 ^{ac}	3,34 \pm 3,33 ^{ae}	13,89 \pm 3,47 ^{ad}	95,56 \pm 3,85 ^{aA}
	CV (%)	24,02					
Concentração 0,4 mg/mL	1h	11,67 \pm 2,89 ^{db}	1,67 \pm 2,89 ^{cc}	1,67 \pm 2,89 ^{cc}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	25,56 \pm 6,94 ^{da}
	2h	13,33 \pm 5,77 ^{db}	3,34 \pm 2,89 ^{cc}	1,67 \pm 2,89 ^{cc}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	32,22 \pm 9,62 ^{da}
	4h	13,33 \pm 5,77 ^{db}	5,00 \pm 5,00 ^{cc}	1,67 \pm 2,89 ^{cc}	0,00 \pm 0,00 ^{ac}	1,12 \pm 1,92 ^{bc}	44,44 \pm 7,70 ^{ca}
	16h	30,00 \pm 5,00 ^{bb}	13,33 \pm 7,64 ^{bc}	1,67 \pm 2,89 ^{cd}	2,23 \pm 1,92 ^{ad}	1,12 \pm 1,92 ^{bd}	80,00 \pm 3,33 ^{ba}
	24h	31,67 \pm 7,64 ^{bb}	15,00 \pm 10,00 ^{bc}	6,67 \pm 2,89 ^{cd}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	2,23 \pm 1,92 ^{bd}	84,44 \pm 1,92 ^{ba}
	36h	46,67 \pm 7,64 ^{bb}	21,67 \pm 11,55 ^{ac}	26,67 \pm 2,89 ^{bc}	3,34 \pm 3,33 ^{ad}	5,56 \pm 3,85 ^{bd}	92,22 \pm 1,92 ^{aA}
	72h	61,67 \pm 5,77 ^{ab}	26,67 \pm 11,55 ^{ad}	46,67 \pm 5,77 ^{ac}	3,34 \pm 3,33 ^{af}	13,89 \pm 3,47 ^{ae}	95,56 \pm 3,85 ^{aA}
	CV (%)	24,59					

-Médias seguidas do desvio padrão.

-Letras minúsculas como expoente quando diferem na mesma coluna indica diferença significativa.

-Letras maiúsculas como expoente quando diferem na mesma linha indica diferença significativa.

-Teste "Scott-Knott" não diferem entre si em nível de 5% de significância.

-CV- Coeficiente de variação

Em relação aos resultados do bioensaio com extratos de frutos de *M. charantia* (Tabela 3), no presente estudo, o hidroalcoólico atinge maior eficácia após 72 horas de tratamento, na concentração de 0,4 mg/mL (Eficácia de $53,33 \pm 11,55\%$), sendo que todas as demais concentrações deste extrato apresentaram efetividade inferior à 50%. Para o extrato ciclo-hexânico a maior eficácia é observada após 72 horas de tratamento, na concentração de 0,4 mg/mL (Eficácia de $76,67 \pm 5,77\%$), seguida da concentração de 0,1 mg/mL (Eficácia de $63,33 \pm 11,55\%$), não havendo diferenças significativas entre ambas as concentrações neste

tempo. Para o extrato etanólico a maior eficácia é observada após 72 horas de tratamento, na concentração de 0,05 mg/mL (Eficácia de $50,00 \pm 8,66\%$), sendo que todas as demais concentrações deste extrato apresentaram efetividade inferior à 50%.

Tabela 3: Percentual de mortalidade de *Lutzomyia longipalpis* submetidos à concentrações de extratos de frutos de *Momordica charantia*.

		Mortalidade em %					
		Extratos			Controles		
		Hidroalcoólico	Ciclo-hexânico	Etanólico	Água	Tween 80	alfa-cipermetrina
Concentração 0,05 mg/mL	1h	1,67 ±2,89 ^{bb}	1,67 ±2,89 ^{cb}	1,67 ±2,89 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	25,56 ±6,94 ^{da}
	2h	1,67 ±2,89 ^{bb}	1,67 ±2,89 ^{cb}	1,67 ±2,89 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	32,22 ±9,62 ^{da}
	4h	1,67 ±2,89 ^{bb}	1,67 ±2,89 ^{cb}	3,34 ±2,89 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	44,44 ±7,70 ^{ca}
	16h	3,34 ±2,89 ^{bc}	3,34 ±2,89 ^{cc}	16,67 ±7,64 ^{cb}	2,23 ±1,92 ^{ac}	1,12 ±1,92 ^{bc}	80,00 ±3,33 ^{ba}
	24h	8,33 ±2,89 ^{bc}	8,33 ±2,89 ^{cc}	23,33 ±14,43 ^{cb}	3,34 ±3,33 ^{ac}	2,23 ±1,92 ^{bc}	84,44 ±1,92 ^{ba}
	36h	20,00 ±8,66 ^{ac}	30,00 ±8,66 ^{bb}	36,67 ±12,58 ^{bb}	3,34 ±3,33 ^{ad}	5,56 ±3,85 ^{bd}	92,22 ±1,92 ^{aa}
	72h	25,00 ±10,00 ^{ac}	43,33 ±10,41 ^{ab}	50,00 ±8,66 ^{ab}	3,34 ±3,33 ^{ae}	13,89 ±3,47 ^{ad}	95,56 ±3,85 ^{aa}
CV (%)				25,41			
Concentração 0,1 mg/mL	1h	0,00 ±0,00 ^{cb}	5,00 ±5,00 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	25,56 ±6,94 ^{da}
	2h	0,00 ±0,00 ^{cb}	5,00 ±5,00 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	32,22 ±9,62 ^{da}
	4h	0,00 ±0,00 ^{cb}	5,00 ±5,00 ^{db}	1,67 ±2,89 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	44,44 ±7,70 ^{ca}
	16h	0,00 ±0,00 ^{cc}	11,67 ±7,64 ^{cb}	5,00 ±5,00 ^{cc}	2,23 ±1,92 ^{ac}	1,12 ±1,92 ^{bc}	80,00 ±3,33 ^{ba}
	24h	0,00 ±0,00 ^{cc}	15,00 ±8,66 ^{cb}	5,00 ±5,00 ^{cc}	3,34 ±3,33 ^{ac}	2,23 ±1,92 ^{bc}	84,44 ±1,92 ^{ba}
	36h	10,00 ±0,00 ^{bc}	31,67 ±10,41 ^{bb}	15,00 ±5,00 ^{bc}	3,34 ±3,33 ^{ad}	5,56 ±3,85 ^{bd}	92,22 ±1,92 ^{aa}
	72h	18,33 ±5,77 ^{ad}	63,33 ±11,55 ^{ab}	33,33 ±7,64 ^{ac}	3,34 ±3,33 ^{ae}	13,89 ±3,47 ^{ad}	95,56 ±3,85 ^{aa}
CV (%)				22,58			
Concentração 0,2 mg/mL	1h	3,34 ±5,77 ^{bb}	0,00 ±0,00 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	25,56 ±6,94 ^{da}
	2h	3,34 ±5,77 ^{bb}	0,00 ±0,00 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	32,22 ±9,62 ^{da}
	4h	3,34 ±5,77 ^{bb}	0,00 ±0,00 ^{cb}	1,67 ±2,89 ^{cb}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	44,44 ±7,70 ^{ca}
	16h	3,34 ±5,77 ^{bb}	5,00 ±5,00 ^{cb}	3,34 ±5,77 ^{cb}	2,23 ±1,92 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	80,00 ±3,33 ^{ba}
	24h	5,00 ±5,00 ^{bb}	6,67 ±5,77 ^{cb}	3,34 ±5,77 ^{cb}	3,34 ±3,33 ^{ab}	2,23 ±1,92 ^{bb}	84,44 ±1,92 ^{ba}
	36h	10,00 ±10,00 ^{bc}	18,33 ±7,64 ^{bb}	16,67 ±2,89 ^{bb}	3,34 ±3,33 ^{ac}	5,56 ±3,85 ^{bc}	92,22 ±1,92 ^{aa}
	72h	21,67 ±10,4 ^{ac}	40,00 ±5,00 ^{ab}	26,67 ±5,77 ^{ac}	3,34 ±3,33 ^{ae}	13,89 ±3,47 ^{ad}	95,56 ±3,85 ^{aa}
CV (%)				24,02			
Concentração 0,4 mg/mL	1h	10,00 ±8,66 ^{cb}	3,34 ±2,89 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	25,56 ±6,94 ^{da}
	2h	10,00 ±8,66 ^{cb}	3,34 ±2,89 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	32,22 ±9,62 ^{da}
	4h	10,00 ±8,66 ^{cb}	5,00 ±5,00 ^{db}	1,67 ±2,89 ^{db}	0,00 ±0,00 ^{ab}	1,12 ±1,92 ^{bb}	44,44 ±7,70 ^{ca}
	16h	11,67 ±7,64 ^{cb}	11,67 ±5,77 ^{cb}	3,34 ±2,89 ^{dc}	2,23 ±1,92 ^{ac}	1,12 ±1,92 ^{bc}	80,00 ±3,33 ^{ba}
	24h	13,33 ±7,64 ^{cb}	16,67 ±7,64 ^{cb}	11,67 ±7,64 ^{cb}	3,34 ±3,33 ^{ac}	2,23 ±1,92 ^{bc}	84,44 ±1,92 ^{ba}
	36h	40,00 ±5,00 ^{bc}	55,00 ±5,00 ^{bb}	21,67 ±5,77 ^{bd}	3,34 ±3,33 ^{ae}	5,56 ±3,85 ^{be}	92,22 ±1,92 ^{aa}
	72h	53,33 ±11,55 ^{ac}	76,67 ±5,77 ^{ab}	41,67 ±2,89 ^{ad}	3,34 ±3,33 ^{af}	13,89 ±3,47 ^{ae}	95,56 ±3,85 ^{aa}
CV (%)				24,59			

-Médias seguidas do desvio padrão.

-Letras minúsculas como expoente quando diferem na mesma coluna indica diferença significativa.

-Letras maiúsculas como expoente quando diferem na mesma linha indica diferença significativa.

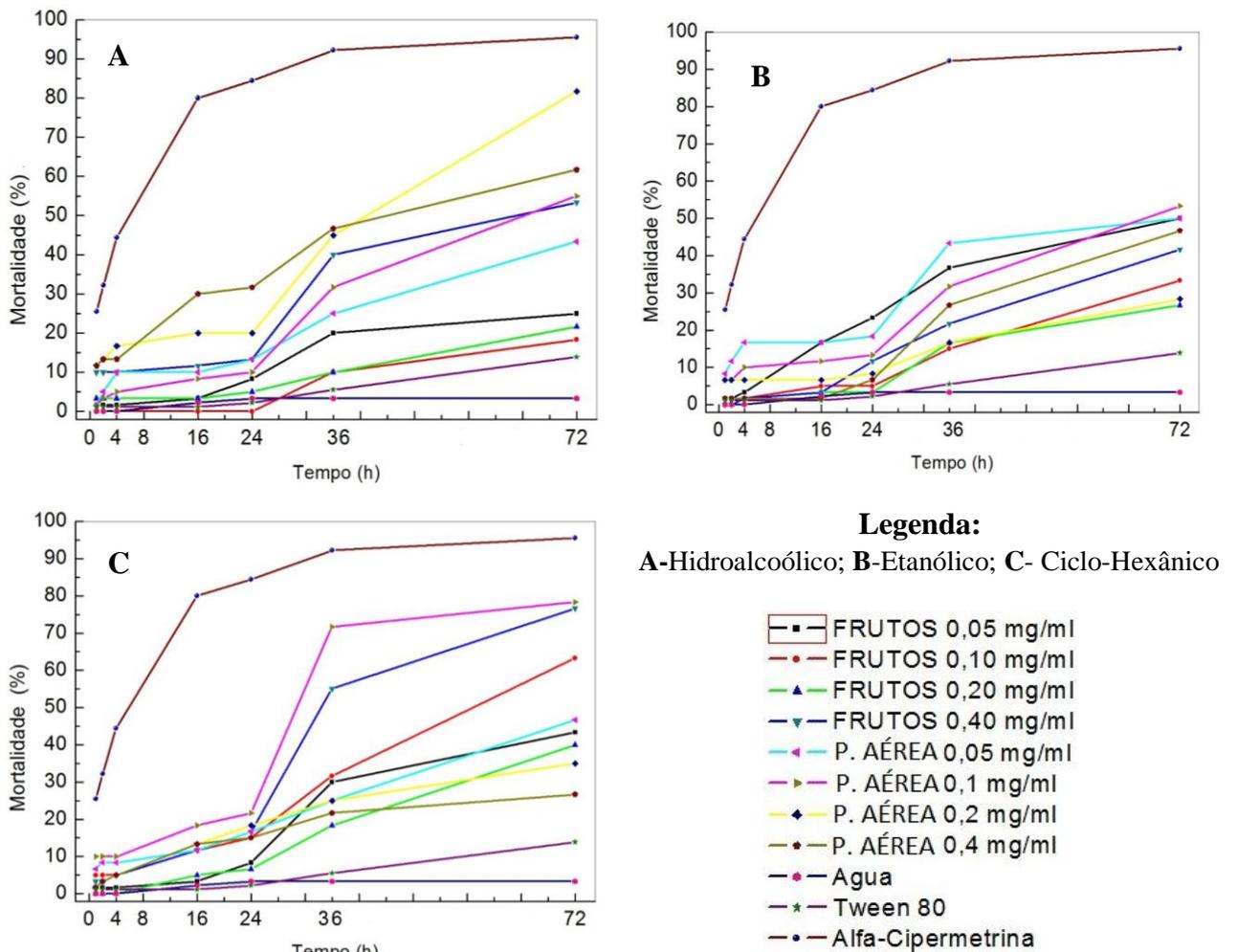
-Teste "Scott-Knott" não diferem entre si em nível de 5% de significância.

-CV- Coeficiente de variação

Comparando os três extratos de frutos de *M. charantia* na concentração 0,05 mg/mL, o melhor extrato foi o etanólico às 72 horas de tratamento (Eficácia $50,00 \pm 8,66\%$), conforme evidenciado na tabela 2. O extrato ciclo-hexânico apresentou maior efetividade nas concentrações de 0,1 mg/mL (Eficácia $63,33 \pm 11,55\%$), 0,2 mg/mL (Eficácia $40,00 \pm 5,00\%$), e 0,4 mg/mL (Eficácia $76,67 \pm 5,77\%$), às 72 horas de tratamento, sendo o mais efetivo no controle de *Lu. longipalpis*, em comparação com os demais extratos dos frutos de *M. charantia*.

Comparando o potencial inseticida dos entre extratos de partes aéreas e frutos (Figura 18), os extratos mais efetivos foram os de partes aéreas. Analisando os tempos de exposição dos insetos aos controles negativos, água e Tween 80. Para os controles negativos não foram observadas variações na eficácia adulticida em relação à todos os tempos avaliados. Esses dados demonstram que o TWEEN 80 não interferiu nos resultados dos bioensaios, atingindo a eficácia máxima de $13,89 \pm 3,47\%$, após 72 horas de tratamento. Estes dados corroboram com outros estudos, onde o uso do TWEEN 80 não interferiu nos resultados dos experimentos (BRAGA *et al.*, 2007; SALLET *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2011).

Figura 18: Mortalidade de *Lutzomyia longipalpis* submetidos à extratos de *Momordica charantia* em diferentes concentrações ao longo dos tempos de observação.



Alguns estudos avaliam o potencial inseticida de plantas sobre *Lu. longipalpis*, os extratos aquosos do caule de *Derris amazonica* foram testados em adultos apresentou

mortalidade de 100% em fêmeas, na concentração de 250 g L⁻¹, após 72 horas de exposição dos insetos à *D. amazonica* (LUITGARDS-MOURA *et al.*, 2002). Nos testes com extrato hidroalcoólico de *Protium heptaphyllum* sobre adultos de *Lu. longipalpis* a taxa de mortalidade dos insetos foi de 81% e 83% após 72 h, em concentrações de 0,1 e 0,25 mg/mL, respectivamente (SINCURÁ *et al.*, 2017). A avaliação do hidroalcoólico de *Monticalia greenmaniana* (Asteraceae) em fêmeas de *Lutzomyia migonei* apresentou atividade adulticida, com mortalidade de 95, 80 e 20% durante a exposição de 1h às concentrações de 10 mg/mL, 1 mg/mL e 0,1 mg/mL, respectivamente, apresentou 100% de mortalidade 24h após a exposição para todas as concentrações testadas (IRERI *et al.*, 2010). Estes valores são superiores aos encontradas no presente estudo para os extratos de *M. charantia*. No trabalho de Ileri *et al.* (2010) o extrato metanólico de *Monticalia greenmaniana* (Asteraceae) aplicado sob fêmeas de *Lutzomyia migonei* apresentou potencial de adulticida com mortalidade de 95 e 90% após 1 hora de exposição a concentrações de 1 mg/mL e 0,1 mg/mL, respectivamente, aumentando a efetividade ao longo do tempo, apresentando 100% de mortalidade 24 horas de tratamento. Estes valores são superiores aos encontradas no presente estudo para os extratos etanólicos de *M. charantia* no presente estudo.

Na literatura não foram encontrados registro de investigação da atividade inseticida da *M. charantia* sobre *Lu. longipalpis*, entretanto, há estudos comprovando o efeito inseticida de extratos da planta sobre insetos-praga da agricultura. Entre esses efeitos está a redução da viabilidade larval e do peso de pupa e inibição da postura na fase adulta da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) submetida a tratamento com extrato de folhas e ramos de *M. charantia* (SANTIAGO *et al.*, 2008). A eficácia inseticida do extrato bruto do caule de *M. charantia* também mostrou atividade sob ninfas da mosca branca (*Bemisia tabaci*), provocando mortalidade superior a 50% da população testada (JESUS *et al.*, 2013). *M. charantia* provocou a mortalidade de 90% na mortalidade do pulgão da couve (*Brevicoryne brassicae*), após 24 horas da aplicação (LIMA *et al.*, 2017).

6. CONCLUSÕES

Alcalóides, cumarinas, saponinas e esteróides e ou/ triterpenos estão entre os metabólitos constituintes de partes aéreas e frutos de *M. charantia*. A análise das propriedades destes metabólitos indica que os mesmos podem estar envolvidos na atividade inseticida de *M. charantia* sobre *Lu. longipalpis*.

A população selvagem de *Lu. longipalpis* testada nesse estudo foi sensível foi à alfa-cipermetrina, bem como todos os extratos de *M. charantia* avaliados mostraram alguma atividade inseticida sobre *Lu. longipalpis*, dentre estes, o extrato mais eficiente foi o hidroalcoólico de partes aéreas.

Tendo em vista os resultados obtidos na presente trabalho e o conhecimento acerca da toxicidade dos inseticidas para o controle da LV, bem como os fatores de resistência desses insetos aos inseticidas usuais, os extratos de *M. charantia* podem ser potenciais protótipos para o desenvolvimento de futuros inseticidas botânicos. Nesse sentido, esse trabalho impulsiona a continuidade dessa investigação, sendo necessários novos experimentos que venham elucidar o potencial dos metabólitos secundários da *M. charantia*, com respectivo isolamento de compostos que apresentem propriedades inseticidas sob *Lu. longipalpis*, e assim poder contribuir como uma alternativa ao controle da leishmaniose visceral.

7. REFERENCIAS

1. ALVAR, J. *et al.* (2012) **Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence**. PLoS ONE 7(5): e35671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
2. ALVES, D. S. *et al.* Plant Extracts as an Alternative to Control *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotrop. entomol.**, v.40, n.1, p.123-128, 2011.
3. ALVES, W. A. Leishmaniose visceral americana: situação atual no Brasil. **BEPA**, v.6, n.71, p.25-29, 2009.
4. AMORA, S. S. A. *et al.* Control of phlebotomine (Diptera: Psychodidae) leishmaniasis vectors. **Neotrop. entomol.**, v. 38, n. 3, p. 303-310, 2009.
5. AMORA, S. S. A. *et al.* Monitoring of *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 in an area of intense transmission of visceral leishmaniasis in Rio Grande do Norte, Northeast Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.19, n.1, p.39-43, 2010.
6. AMORIM, E. P. R. *et al.* Atividade antibacteriana de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Ralstonia Solanacearum* em mudas de bananeira. **Rev. Bras. Frutic.** v.33, n.spe1, p.392-398, 2011.
7. ANJOS-SILVA, J. T. *et al.* Epidemiologia descritiva da leishmaniose visceral humana no município de Diamantina-MG (2012 a 2017). In: ANAIS DO IV SIMPÓSIO BRASILEIRO DE DOENÇAS NEGLIGENCIADAS, 1.,2018, Lavras. **Anais do IV Simpósio Brasileiro de Doenças Negligenciadas**. Lavras: UFLA, 2018. P. 106.
8. AZEVEDO, L.F.P. *et al.* Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. **Rev. bras. plantas med.** Botucatu, v. 16, n. 2, p. 209-215, June, 2014.
9. BARATA, R. A. *et al.* Controle da leishmaniose visceral no município de Porteirinha, Estado de Minas Gerais, no período de 1998 a 2003. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.44, n.3, p. 386-388, 2011.
10. BARATA, R. A.; APOLINÁRIO, E. C. Sandflies (Diptera: Psychodidae) from caves of the quartzite Espinhaço Range, Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.107, n.8, p.1016-1020, 2012.
11. BARREIRO, E. J. ; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Quím. Nova**, v.32, n.3, p.679-688, 2009.
12. BASTOS, T. S. A. **Espécies de flebotomíneos e ecoepidemiologia na cidade de Goiás-GO, Brasil**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

13. BHARATHI, L. K.; JOHN, K. J. *Momordica* genus in Asia—an overview. **Springer**: New Delhi, 2013.
14. BRAGA, L.T. *et al.* Efeito do levamisol e do extrato etanólico de folhas de *Momordica charantia* sobre a dermatofitose experimental em coelhos. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.2, p.285-95, 2007.
15. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº14, de 31 de março de 2010** - Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 05 de abril. 2010.
16. BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.** – Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 120 p. tab.
Disponível:http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_lei_sh_visceral_2006.pdf . Acesso em 14/02/2018.
17. BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses: normas técnicas e operacionais. Secretaria de Vigilância em Saúde.** Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Doenças Transmissíveis. Brasília; Ministério da Saúde; 2016. 121 p. tab. Disponível em: <http://pesquisa.bvsalud.org/bvsmis/resource/pt/mis-38935>. Acesso em: 31/01/2018.
18. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente – MMA, 2014. **Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção.** Portaria n. 443, de 17 de dezembro de 2014. Diário Oficial da União, 18/12/2014, Seção 1, p. 110-121.
19. BRASILEIRO, B. G. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v.42, n.2, p.195-202, 2006.
20. BRITO-JUNIOR, L. de *et al.* . Estudo comparativo da ação anti-helmíntica da batata de purga (*Operculina hamiltonii*) e do melão de são caetano (*Momordica charantia*) em caprinos (*Capra hircus*) naturalmente infectados. **Ciênc. agrotec.**, v.35, n.4, p.797-802, 2011.
21. CAMARGO-NEVES, V. L. F. *et al.* Avaliação do hábito alimentar de *Lutzomyia longipalpis* no Estado de São Paulo. **BEPA**, v.4, n.39, 9 2-7, 2007.
22. CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesq. agropec. bras.**, v. 41, n. 1, p. 9-14, 2006.
23. CELOTO, M. I. B. *et al.* Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. **Rev. bras. plantas med.** v.13, n. 3, p. 337-341, 2011.

24. CELOTO, M. I. B. *et al.* Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Sci., Agron.**, v. 30, n. 1, p. 01-05, 2008.
25. CHAILA, S. *et al.* Competencia de *Sicyos polyacanthus* en caña de azúcar. **Planta Daninha**, v.22, n.4, p.545-551, 2004.
26. CHEN, J. *et al.* Trinorcucurbitane and cucurbitane triterpenoids from the roots of *Momordica charantia*. **Phytochemistry**, v.69, n.4 p.1043-1048, 2008.
27. CHIMMING, B. C.; SILVA, J.R.C.P. Leishmaniose visceral canina – Revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, v.10 n.19, julho, 2012.
28. CORDEIRO, L. N. *et al.* Efeito in vitro do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v.12, n.4, p.421-426, 2010.
29. CORREA, J. C. R.; SALGADO, H.R.N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.500-506, 2011.
30. COSTA, G. S. *et al.* Avaliação sobre a preferência alimentar , produtividade e sobre vida da *Lutzomyia longipalpis* (diptera : psychodidae) submetida a repasto sanguíneo em diferentes mamíferos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.12, n.1, 2014.
31. COURTENAY, O. Deltamethrin-impregnated bednets reduce human landing rates of sandfly vector *Lutzomyia longipalpis* in Amazon households. **Med Vet Entomol.** v.21, n.2, p.168-76, 2007.
32. DALEFFI ZOCOLER, A. M. *et al.* Contribuição ao Controle de Qualidade Farmacognóstico das Folhas e Caules de Melão-de-São Caetano (*Momordica charantia* L. - Cucurbitaceae). **Acta Farm.** Bonaerense, v.25, n.1, p.22-27, 2006.
33. DI STASI L. C.; HIRUMA-LIMA C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2.ed. São Paulo: Editora Unesp, 2002.
34. DRESCHER, M. **Manual de Piloto Agrícola Manual de Piloto Agrícola**. 1.ed. São Paulo: Bianch Pilot Training, 2012.
35. ESQUINAS-ALCAZAR, J.T.; GULICK, P.J. **Genetic resources of Cucurbitaceae**. Roma: IBPGR, 1983.
36. FARIA, F. A.; BUENO, C. R.; PAPA, M. F. S. Atividade fungitóxica de *Momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Acta Sci., Agron.**, Maringá, v.31, n.3, p.383-389, 2009.
37. FELIPE, L. O. ; BICAS, J. L.. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Quím. nova esc.**, São Paulo. v.39, n.2, p.120-130, 2017.

38. FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, 2014.
39. FOGANHOLI, J. N.; ZAPPA, V. Importância da leishmaniose na saúde pública. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. v.9, n.17, p.1-45, 2011.
40. FUMAGALI, E. *et al.* Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v.18, n.4, p.627-641, 2008.
41. GALATI, E. A. B. **Morfologia e taxonomia: classificação de phlebotominae**. In: *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003.
42. GALLO, D. *et al.*, **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.
43. GARCEZ, W. S. *et al.* Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Quim.**, v.5, n.3, p.363-393, 2013.
44. GHORBANI, A. Best herbs for managing diabetes: a review of clinical studies. **Braz. J. Pharm. Sci.**, São Paulo, v.49, n.3, p.413-422, 2013.
45. GOMES-COSTA, G. A.; ALVES, M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Cucurbitaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.63, n.4, p.817-829, 2012.
46. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.** v.7, n.3, p.338-349, 2004.
47. GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Vet. Parasitol.**, v.181, n.1, p.23-30, 2011.
48. GÜDER, A. Influence of Total Anthocyanins from Bitter Melon (*Momordica charantia* Linn.) as Antidiabetic and Radical Scavenging Agents. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v.15, n.1, p 301-309, 2016.
49. GUIMARÃES, S. S. *et al.* Ação repelente, inseticida e fago-inibidora de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.4, p.322-328, 2014.
50. GUPTA, M. P. **270 Plantas Medicinales Liberoamericanas**. Bogotá: CYTED-SECAB, 1995.
51. GUPTA, S. *et al.* Momordicatin purified from fruits of *Momordica charantia* is effective to act as a potent antileishmania agent. **Parasitology International**, v.59, n. 2, p.192-197, 2010.
52. HASHIGUCHI, Y. *et al.* Leishmaniasis in Ecuador: Comprehensive review and current status. **Acta Tropica**, v.166, p.299–315, 2017.

53. HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S. **Chave para a identificação das espécies de abóboras (Cucurbita, Cucurbitaceae) cultivadas no Brasil.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007.
54. IRERI, L. N. *et al.* The potential of the extracts of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae), *Acalypha fruticosa* Forssk (Euphorbiaceae) and *Tarhonanthus camphoratus* L. (Compositae) against *Phlebotomus duboscqi* Neveu Lemaire (Diptera: Psychodidae), the vector for *Leishmania major* Yakimoff and Schokhor. **J Vector Borne Dis.** v.47, p.168–174, 2010.
55. JESUS, A. C. P.; MENDONÇA, F. A. C.; MOREIRA, J. . OT. Atividade inseticida e modos de ação de extratos vegetais sobre mosca branca (*Bemisia tabaci*). **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.6, n.1, p. 117-134, jan./abr. 2013.
56. JUDD, W. S. **Sistemática Vegetal: Um enfoque filogenético.** Porto Alegre: Artmed, 2009.
57. KOTTEK, M. *et al.* World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v.15, n.3, p.259-263, 2006.
58. KUSTER, R.M.; ROCHA, L.M. **Cumarinas, cromonas e xantonas.** In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosman, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 6a ed., Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, RS/SC, Brasil. 2007, p. 537-556.
59. LAGARTO, A. *et al.* Evaluación preclínica y estudio de estabilidad de extractos a partir del follaje de *Momordica charantia* Lin. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.4, p.782-788, 2014.
60. LEITE, J. P. V. **Química dos produtos naturais: Uma abordagem Biossintética.** In: Leite, J.P.V. *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas.* 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009.
61. LIMA, L.A. R. *et al.* Efeito do óleo de Neem Puro (Organix®), do extrato etanólico de melão-de-são-caetano e do inseticida químico Decis 25EC®, em diferentes formas de aplicação contra o pulgão da couve *Brevicoryne brassicae* (L. 1758) (Hemiptera: Aphididae), em laboratório. **Anais do XVII Encontro Regional de Agroecologia do Nordeste.** v.1, n.1, 2017.
62. LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas.** 4.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.
63. LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, parasitas e tóxicas.** 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum da Flora, 2000.
64. LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.
65. LUITGARDS-MOURA, J. F. *et al.* Preliminary assays indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazônica* (Papilionaceae), ichthyotoxic plants used for fishing in Roraima, Brazil, have an insecticide effect on *Lutzomyia*

- longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.737-42, 2002.
66. MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso - Brasil. **Rev. bras. farmacogn.** v.14, ed. suppl., p.45-47, 2004.
67. MACIEL, M.V. *et al.* Chemical composition of *Eucalyptus spp.* essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary Parasitology**. v.167, n.1, p.1-7, 2010c.
68. MACIEL, M. V. *et al.* Atividade inseticida in vitro do óleo de sementes de nim sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v.19, n.1, p.07-11, 2010a.
69. MACIEL, M. V. *et al.* Atividade inseticida dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Coriandrum sativum* sobre *Lutzomyia longipalpis*. **Ciência Animal**, v.19, n.2, p.77-87, 2009.
70. MACIEL, M.V. *et al.* Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v.12, n.1, p.105-112, 2010b.
71. MEDEIROS, J. ; KANIS, L. A. Avaliação do efeito de polietilenoglicóis no perfil de extratos de *Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae, e *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Rev. bras. farmacogn.**, Curitiba , v.20, n.5, p.796-802, 2010.
72. MEDEIROS, J. G. F. *et al.* Extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de *Pterogyne nitens* Tul. **Floresta Ambient.**, Seropédica , v.20, n.3, p.384-390, 2013.
73. MEENATCHI, P.; PURUSHOTHAMAN, A.; MANEEMEGALAI, S. Antioxidant, antiglycation and insulinotrophic properties of *Coccinia grandis* (L.) in vitro: Possible role in prevention of diabetic complications. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v.7, p.54-64, 2017.
74. MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quim. Nova**, v.28, n.5, p.892-896, 2005.
75. MONTEIRO, M. V. B. *et al.* Ethnoveterinary knowledge of the inhabitants of Marajó Island, Eastern Amazonia, Brazil. **Acta Amaz.**, Manaus , v.41, n.2, p.233-242, 2011.
76. MORAES, C. S. *et al.* Relationship between digestive enzymes and food habit of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) larvae: Characterization of carbohydrases and digestion of microorganisms. **Journal of Insect Physiology**, v.58, p.1136–1145, 2012.
77. NASCIMENTO, J. M. *et al.* Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v.15, n.4, supl.1, p. 751-756, 2013.

78. NETO, A. M. D. *et al.* Estudo do efeito acaricida do melão de São Caetano (*Momordica Charantia*) contra ácaros do tipo *Psoroptes ovis* e *Sarcoptes scabiei*. **Ciência Animal**, Edição Especial (SIMPAVET), v.27, n.2, p 42-45, 2017.
79. NETO, J. R. A. *et al.* Conhecimento sobre uso de plantas repelentes e inseticidas em duas comunidades rurais do Complexo Vegetacional de Campo Maior, nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**, v.11, n.1,p 210-224, 2017.
80. NINO, J. *et al.* Diosgenin quantification by HPLC in a Dioscorea polygonoides tuber collection from colombian flora. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo , v. 18, n. 5, p. 1073-1076, 2007.
81. OLIVEIRA, A. M. *et al.* Dispersal of *Lutzomyia longipalpis* and expansion of canine and human visceral leishmaniasis in São Paulo State, Brazil. **Acta Tropica**, v.164, p.233–242, 2016.
82. OLIVEIRA, G. M. G. *et al.* Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev. Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v.1, n.3, p.83-94, 2010.
83. PEREIRA, B. S. *et al.* Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de *Momordica charantia*. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v.12, n.3, p.311-316, 2010.
84. PEREIRA, R. J. ; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology**, v.3, n.4, p.146-152, 2012.
85. PUGEDO, H. *et al.* HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.38, n.1, p.70-72, 2005.
86. QUEIROZ, M. A *et al.* Coleta e introdução de acessos de cucurbitáceas no banco ativo de germoplasma para o nordeste brasileiro. SIMPOSIO DE RECURSOS GENETICOS PARA AMERICA LATINA E CARIBE, 2.,1999, Brasília,DF. **Anais do Simposio de Recursos Genéticos para America Latina e Caribe**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.
87. RANGEL, E. F.; VILELA, M. L. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.12, p.2948-2952, 2008.
88. REBELO, J. M. M. *et al.* Ocorrência de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em focos de leishmanioses, em área de ecoturismo do entorno do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.26, n.1, p.195-198, 2010.
89. RODRIGUES, K. A. F. *et al.* Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Lomordica charantia* L. **Cad. Pesq.**, São Luís, v.17, n.2, 2010.

90. ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, p.43-50, 2001.
91. ROMANO, C. M. *et al.* Polinização manual em abóboras. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2008.
92. SAITO, M. L. *et al.* Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v.14, p.1-10, 2004.
93. SANTANA, S. H.; TORRES, S. B.; BENEDITO, C. P. Biometria de frutos e sementes e germinação de melão-de-são-caetano. **Rev. bras. plantas med.** vol.15, n.2, p.169-175, 2013.
94. SANTIAGO, G. P. *et al.* Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.32, n 3, p.792-796, 2008.
95. SANTOS. M. *et al.*. Piretróides – uma visão geral. **Alim. Nutr.**, v.18, n.3, p.339-349, 2007.
96. SANTOS, D R; FERREIRA, A C; BISETTO JUNIOR, A. The first record of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the State of Paraná, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v.45, n.5, p.643-645, 2012.
97. SANTOS, D. R. **Curso de Capacitação: Coleta e Identificação de Flebotomíneos**. Companhia Paranaense de Energia: COLÍDER/MT, 2014.
98. SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. **Taninos**. In: Simões CMO (org.). Farmacognosia da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007, p. 615-656.
99. SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; ATHAYDE, M. L. **Saponinas**. In Farmacognosia: da planta ao medicamento (C.M.O. Simões; E.P. Schenkel; G. Gosman; J.C.P. Mello; L.A. Mentz & P.R. Petrovick) 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 711- 740, 2007.
100. SECUNDINO, N. F. C. *et al.* Midgut muscle network in *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus duboscqi* sand flies: spatial organization and structural modification after blood meal. **Arthropod Structure & Development.**, v.34, p.167–178, 2005.
101. SHARAPIN, N. **Fundamentos de tecnologia de Produtos Fitoterápicos**. Santafé de Bogotá: Cytod, 2000. p 145-157.
102. SILVA, E. A.; ANDREOTTI, R; HONER, M. R. Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v.40, n.4, p. 420-425, 2007.

103. SILVEIRA L. M. *et al.* **Levantamento sorológico de vírus em espécies de cucurbitáceas na região do submédio São Francisco, Brasil.** *Tropical Plant Pathology* 34: 123-126. , 2009.
104. SIMÕES, C.M.O. *et al.* (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6a ed., Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, RS/SC, Brasil. 2007.
105. SINCURÁ, Y.B. *et al.* **Effect of Aqueous Extract of *Protium heptaphyllum* (Burseraceae) on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), a Proven Vector of Visceral Leishmaniasis in Brazil.** *Vector Biol J* 2:2. (2017).
106. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. (SBFgnosia, 2017). Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/>
107. SPADOTTI, DMA *et al.* **The wild type of *Momordica charantia* is not infected by potyviruses that cause disease in papaya and cucurbit crops.** *Trop. plant pathol.* [online]. 2013, v.38, n.5, p.447-451, 2013.
108. SUCEN. **Manual de Segurança em Controle Químico de Vetores.** - Superintendência de Controle de Endemias, 2001. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/programas/seguranca-do-trabalhador/manual-de-seguranca-em-controle-quimico-de-vetores>. Acesso em: 31/01/2018.
109. UPADHYAY, A. *et al.* Characterization of molluscicidal component of *Moringa oleifera* leaf and *Momordica charantia* fruits and their modes of action in snail *Lymnaea acuminata*. **Rev. Inst. Med. trop.** S. Paulo, São Paulo , v. 55, n. 4, p. 251-259, Aug. 2013.
110. VALE, V. F. *et al.* Carbohydrate digestion in *Lutzomyia longipalpis*' larvae (Diptera – Psychodidae). **Journal of Insect Physiology.** v.58, p.1314–1324, 2012.
111. VENTUROSO, L.R. *et al.* . Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa phytopathol.**, Botucatu , v. 37, n. 1, p. 18-23, Mar. 2011.
112. VIEIRA, P. C; FERNANDES, J. B; ANDREI; C. C. **Plantas inseticidas.** In: Simões, CMO; Schenkel, EP; Gosmam, G; Mello, JCP; Metz, LA; Petrovick, PR. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento.** 6.ed.- Porto Alegre:Editor da UFRGS, 2007.
113. WERNECK, G. L.. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo?. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro , v. 32, n. 6, eED010616, 2016.

114. WHO. **Status of endemicity of visceral leishmaniasis**. worldwide, 2015. Available at: <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en>>
115. WIN, N. K. K.; KIM, Y. H.; JUNG, H. Y. Bitter gourd little leaf disease associated to 'Candidatus Phytoplasma asteris'. **Trop. plant pathol.**, Brasília , v. 39, n. 1, p. 82-88, Feb. 2014.
116. YANNAI, S. Dictionary of food compounds with CD-ROM: Additives, flavors, and ingredients. **Boca Raton**: Chapman & Hall/CRC. (2004).
117. ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. 2007. **Flavonóides**. In Simões CMO (org.) Farmacognosia da planta ao medicamento 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, p. 577-614.