

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS DE  
*Schinus terebinthifolia* EM LARVAS DE *Aedes aegypti*

Estudante: Heidi Luise Schulte – 13/0010031

Orientadora: Profa. Dra. Laila Salmen Espindola

Co-orientadora: Profa. Dra. Mariana Laundry de Mesquita

Brasília - DF

2017

HEIDI LUISE SCHULTE

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS DE  
*Schinus terebinthifolia* EM LARVAS DE *Aedes aegypti*

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

Orientadora: Profa. Dra. Laila Salmen Espindola

Co-orientadora: Profa. Dra. Mariana Laundry de Mesquita

Brasília - DF

2017

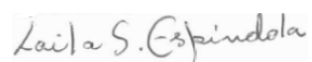
Dedico à minha mãe, Carla, e ao meu  
namorado, Jorge, por sempre estarem ao meu  
lado.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Heidi Luise Schulte

### **Investigação da atividade de extratos de *Schinus terebinthifolia* em larvas de *Aedes aegypti***

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



---

Profa. Dra. Laila Salmen Espindola (Presidente)

Universidade de Brasília

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, em especial à minha mãe, Carla, por todo apoio, suporte, paciência e incentivo que sempre forneceu, por sempre priorizar minha educação e por ser um modelo de profissional e de ser humano.

Aos meus colegas de curso, em especial a Camila e Mariana, que me acompanharam durante toda a graduação e sempre foram meu apoio, e a Dominique por estar sempre me incentivando.

Ao meu namorado, Jorge, por todo o carinho e compreensão, e por estar sempre ao meu lado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Laila Salmen Espindola, pela paciência, apoio, orientação e por ser uma inspiração tanto no âmbito profissional quanto pessoal.

Às professoras Lorena e Mariana, por todo o auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

À Msc. Renata Dusi, por sempre me auxiliar no que fosse preciso.

À toda equipe do Laboratório de Farmacognosia da UnB, pela ajuda no desenvolvimento do projeto e, principalmente, a Dulce Santos, por todo o auxílio e companheirismo.

Aos meus prezados professores do curso, que acompanharam minha jornada e contribuíram para o meu crescimento profissional.

## RESUMO

SCHULTE, H. L. Investigação da atividade de extratos de *Schinus terebinthifolia* em larvas de *Aedes aegypti*. Monografia (Bacharelado em Farmácia). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

*Aedes aegypti* é o principal vetor transmissor de arboviroses como dengue, Zika, chikungunya e febre amarela, doenças que tem sido motivo de grande preocupação em inúmeros países. Apesar dos avanços no desenvolvimento de vacinas, apenas a imunização contra febre amarela está disponível, tornando o combate ao vetor a principal arma no controle da transmissão de arboviroses. Além disso, a resistência aos inseticidas mais utilizados, assim como seus efeitos deletérios ao ambiente, fazem necessária a busca por agentes alternativos para auxiliar no controle do vetor. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi investigar a atividade de extratos de *Schinus terebinthifolia* em larvas de *Aedes aegypti*. Essa pesquisa está inserida dentro do Componente 1 do projeto ArboControl – pesquisa para o controle do vetor *Aedes aegypti*, no âmbito da investigação larvicida do Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado do Laboratório de Farmacognosia/FS/UnB. Foram testados 12 diferentes extratos de *S. terebinthifolia*, dos quais sete apresentaram mortalidade acumulada superior a 90% das larvas testadas. A atividade larvicida se concentrou nos extratos de baixa a média polaridade. Quatro destes extratos foram pré-fracionados em SPE-Diol, e as frações resultantes foram testadas em larvas do 3º estágio. As frações ativas foram analisadas por RMN <sup>1</sup>H, e revelaram a presença predominante de ácidos graxos insaturados. Essa observação preliminar do perfil químico sugere possível atividade larvicida de ácidos graxos insaturados presentes em extratos de *Schinus terebinthifolia*. Estes extratos terão sua atividade investigada mais a fundo e, com continuidade do fracionamento, objetivando a identificação e isolamento das substâncias larvicidas.

**Palavras-chave:** *Schinus terebinthifolia*, Anacardiaceae, *Aedes aegypti*, atividade larvicida, ácidos graxos.

## ABSTRACT

*Aedes aegypti* is the main vector of arboviruses such as dengue, Zika, chikungunya and yellow fever, diseases that are cause of great concern worldwide. Despite advances in vaccine development, only immunization against yellow fever is currently available, making vector control the main weapon in controlling arboviruses transmission. In addition, resistance to the most frequently used insecticides, as well as their deleterious effects on the environment, make it necessary to search for alternative agents to aid in vector control. Thus, the purpose of this study was to investigate the activity of extracts of *Schinus terebinthifolia* in *Aedes aegypti* larvae. This research is part of Component 1 of the ArboControl project - search for control of the vector *Aedes aegypti*, in the scope of larvicidal investigation of the Bank of Plant Extracts of the Cerrado Biome from Laboratório de Farmacognosia/FS/UnB. Twelve different *S. terebinthifolia* extracts were tested, of which seven presented cumulative larvae mortality higher than 90%. The larvicidal activity was concentrated in the extracts of low to medium polarity. Four of these extracts were pre-fractionated in SPE-Diol. The most active fractions in this assay were subjected to <sup>1</sup>H NMR analysis, which revealed predominant presence of unsaturated fatty acids in all samples. Therefore, it was possible to suggest that the larvicidal activity found in extracts of *Schinus terebinthifolia* is related to the presence of unsaturated fatty acids. All extracts will have their activity further investigated and fractionated in the follow-up of this project, aiming at the identification and isolation of larvicidal compounds.

**Keywords:** *Schinus terebinthifolia*, Anacardiaceae, *Aedes aegypti*, larvicidal activity, fatty acids.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Os quatros estágios do ciclo de vida do mosquito: ovo, larva, pupa e adulto	7
<b>Figura 2.</b> Larva de <i>Aedes aegypti</i> .....	8
<b>Figura 3.</b> Progressão da síndrome de Guillain-Barré .....	13
<b>Figura 4.</b> Países e territórios onde casos de chikungunya foram reportados.....	14
<b>Figura 5.</b> Áreas com risco de transmissão de febre amarela no Brasil, 2013-2017 ....	16
<b>Figura 6.</b> (a) <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi. (b) Detalhe dos frutos .....	21
<b>Figura 7.</b> Terpenos presentes em óleo essencial de folhas de <i>S. terebinthifolia</i> . .....	23
<b>Figura 8.</b> Larvas de <i>Aedes aegypti</i> no terceiro estágio. ....	27
<b>Figura 9.</b> Teste larvicida em recipientes descartáveis.....	29
<b>Figura 10.</b> Atividade dos extratos de <i>Schinus terebinthifolia</i> a 500 µg/mL.....	33
<b>Figura 11.</b> Atividade dos extratos de <i>Schinus terebinthifolia</i> a 250 µg/mL.....	33
<b>Figura 12.</b> Atividade das frações do extrato ArboA017E a 125 µg/mL.....	34
<b>Figura 13.</b> Atividade das frações do extrato ArboA017F a 125 µg/mL.....	35
<b>Figura 14.</b> Atividade das frações do extrato ArboA017H a 125 µg/mL. ....	36
<b>Figura 15.</b> Atividade das frações do extrato ArboA017N a 125 µg/mL. ....	36
<b>Figura 16.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da fração ArboA022B.....	38
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da fração ArboA022G. ....	38
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da fração ArboA022L .....	38
<b>Figura 19.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da fração ArboA023G. ....	39
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H de metil petroelinato.....	39
<b>Figura 21.</b> Estrutura química dos ácidos octanoico, decanoico e dodecanoico. ....	41



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Substâncias identificadas em diferentes partes de <i>S. terebinthifolia</i> .....	22
<b>Tabela 2.</b> Extratos de <i>Schinus terebinthifolia</i> e seus respectivos códigos.....	28
<b>Tabela 3.</b> Frações resultantes do pré-fracionamento dos extratos ativos ArboA017E, ArboA017F, ArboA017H e ArboA017N .....	33

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CGEN	Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
DENV	Vírus da dengue
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
HEX	Hexano
DCM	Diclorometano
EtOAc	Acetato de Etila
MeOH	Metanol

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	2
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	5
2.1. OBJETIVO GERAL .....	5
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	6
3.1. <i>Aedes aegypti</i> .....	6
3.1.1. LARVAS.....	7
3.2. ARBOVIROSES.....	8
3.2.1. DENGUE.....	8
3.2.2. ZIKA.....	9
3.2.2.1. MICROCEFALIA.....	10
3.2.2.2. SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ.....	12
3.2.3. CHIKUNGUNYA .....	14
3.2.4. FEBRE AMARELA .....	15
3.3. INSETICIDAS QUÍMICOS.....	17
3.3.1. HISTÓRICO.....	17
3.3.2. RESISTÊNCIA .....	18
3.4. ANACARDIACEAE.....	19
3.4.1. <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi .....	20
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	27
4.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE EM LARVAS DO VETOR <i>Aedes Aegypti</i> .....	27
4.1.1. POPULAÇÃO DE MOSQUITOS.....	27
4.1.2. TESTE LARVICIDA.....	28
4.2. FRACIONAMENTO POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE-DIOL).....	30
4.3. ESPECTROS DE RMN DE HIDROGÊNIO – RMN <sup>1</sup> H .....	30
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
5.1. ATIVIDADE LARVICIDA DOS EXTRATOS DE <i>Schinus terebinthifolia</i> .....	32
5.2. ESPECTROS OBTIDOS POR RMN <sup>1</sup> H.....	37
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	43

## 1. INTRODUÇÃO

*Aedes aegypti* é o principal vetor transmissor das arboviroses dengue, Zika, e chikungunya. Estas doenças podem infligir danos graves à saúde de adultos e crianças, podendo desenvolver complicações incapacitantes ou fatais (OPAS/OMS, 2016a).

Nos últimos 50 anos, a incidência de dengue aumentou cerca de 30 vezes, com ampliação da expansão geográfica para novos países. É estimado que 50 milhões de infecções por dengue ocorram anualmente e que aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas residam em países onde a dengue é endêmica. O maior surto no Brasil ocorreu em 2013, com aproximadamente dois milhões de casos notificados (Ministério da Saúde, 2016). Embora o número de casos tenha caído desde então, só nos primeiros nove meses de 2017 foram registrados 428.698 prováveis casos de dengue e 213 mortes relacionadas à doença no continente americano. Destes casos, 214.990 foram registrados no Brasil, incluindo 83 mortes confirmadas (OPAS/OMS, 2017a).

Inicialmente limitada ao continente africano, a infecção pelo vírus Zika também teve seu alcance geográfico expandido. De janeiro de 2007 a março de 2016, a transmissão autóctone do vírus Zika foi confirmada em um total de 59 países e territórios, com prevalência em países da América Latina e do Caribe (OMS, 2016a). Nas Américas, 47 países e territórios confirmaram a transmissão autóctone de Zika por vetores desde 2015 (OPAS/OMS, 2016b). O número de casos notificados nas Américas desde 2015 soma um total de mais de 580 mil episódios, sendo que mais da metade destes casos foram registrados no Brasil (OPAS/OMS, 2017b).

Também em 2015, foram notificados 693.489 casos de suspeita de transmissão autóctone de chikungunya na região das Américas, resultando em 74 mortes (OPAS/OMS, 2016c). Em 2016, foram notificados mais de 350 mil casos, incluindo 172 mortes relacionadas à doença. Em 2017, até o mês de setembro, foram confirmados 113.910 casos de chikungunya e 86 mortes, sendo que mais de 99% destes casos foram registrados no Brasil (OPAS/OMS, 2017c).

Como evidenciado pelos dados epidemiológicos, essas arboviroses tiveram efeito avassalador ao chegarem no Brasil. Isto ocorre porque o Brasil possui os principais elementos necessários para ocorrência de grandes epidemias: áreas densamente povoadas, com alta densidade de mosquitos e onde a maioria das pessoas tem pouca ou nenhuma imunidade devido à falta de vacinação. Nas condições descritas, basta que pessoas infectadas introduzam o vírus neste cenário para que mosquitos infectados passem a transmitir o vírus de pessoa para pessoa rapidamente (OPAS/OMS, 2017d).

Apesar dos avanços, o desenvolvimento de vacinas para dengue, Zika e chikungunya se provou uma tarefa complexa e estas arboviroses continuam sendo um desafio para a saúde mundial (Dusfour et al. 2011; Sarmiento et al., 2016). Sendo assim, a ferramenta mais importante para combater a dengue e, ao mesmo tempo, Zika e chikungunya, ainda é o controle vetorial integrado do *Aedes aegypti* (OPAS/OMS, 2016a).

Este combate, por sua vez, tem sido dificultado por diversos fatores, dentre eles a falta de infraestrutura de muitas localidades. Sem condições sanitárias adequadas e fornecimento regular de água, os moradores precisam armazenar o suprimento em grandes recipientes que na maioria das vezes não recebem os cuidados necessários e acabam tornando-se focos do mosquito. Portanto, é necessária a conscientização e o comprometimento da população, aliados a medidas governamentais para controlar a proliferação do mosquito (Vieira/IOC, 2017).

Outro fator importante é o desenvolvimento de resistência múltipla do *Ae. aegypti* a inseticidas sintéticos comumente utilizados, como organofosforados e piretroides (Dusfour et al. 2011; Koou, 2014; OPAS/OMS, 2016a). Além disso, os efeitos deletérios dos inseticidas no ambiente e em outros seres vivos tem estimulado a busca por agentes alternativos que sejam ecologicamente corretos, como metabólitos secundários derivados de plantas (Da Silva Góis et al. 2013, Geris et al. 2012, Garcez et al. 2013, Stappen et al. 2014, Anholeti et al. 2015, Bezerra-Silva et al. 2015).

Tendo isso em mente, este trabalho busca colaborar com o arsenal de substâncias a serem testadas para o combate do *Aedes aegypti* e, assim, contribuir para a diminuição de casos de arboviroses. O Laboratório de Farmacognosia/UnB detém uma importante coleção de extratos e substâncias, autorizada pelo CGEN/IBAMA (n. 06/2012 – processo n. 02000.002272/2006-73), intitulada Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado. As espécies vegetais utilizadas na produção desses extratos foram coletadas no bioma Cerrado, juntamente com o saudoso botânico Prof. José Elias de Paula, e as respectivas exsicatas foram depositadas no Herbário da Universidade de Brasília (UB/UnB).

Este projeto de Trabalho de Conclusão de Curso está inserido dentro do Componente 1 do projeto ArboControl – pesquisa para o controle do vetor *Aedes aegypti*, coordenado pelo Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi investigar a atividade de extratos da espécie *Schinus terebinthifolia* (Anacardiaceae), oriundos do “Banco de Extratos e Substâncias de Plantas do Bioma Cerrado” do Laboratório de Farmacognosia/UnB, em larvas de *Aedes aegypti*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar extratos de *Schinus terebinthifolia* em larvas de *Aedes aegypti*;
- Realizar o pré-fracionamento por SPE-diol dos extratos selecionados ativos;
- Testar as frações obtidas em larvas de *Aedes aegypti*;
- Produzir e interpretar os espectros de hidrogênio das frações ativas em Ressonância Magnética Nuclear.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

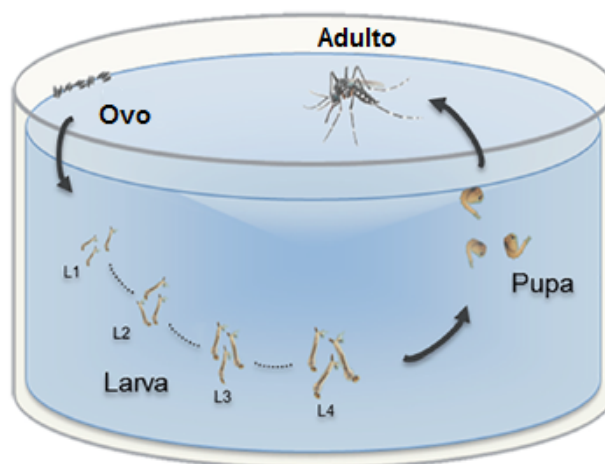
#### 3.1. *Aedes aegypti*

De provável origem africana, o *Aedes aegypti* se propagou ao redor do mundo, adaptando-se facilmente a áreas de clima tropical e subtropical, e se difundindo até algumas regiões de clima temperado. Sua distribuição está associada a áreas urbanas, onde se alimenta preferencialmente de sangue humano (Chouin-Carneiro e Santos, 2017).

Tanto mosquitos machos quanto mosquitos fêmeas se alimentam de substâncias açucaradas, como néctar e seiva, porém fêmeas são adaptadas para hematofagia, já que o sangue é necessário para a maturação dos ovos (Chouin-Carneiro e Santos, 2017; IOC/Fiocruz, 2017a). Geralmente, depois de três a quatro dias após a alimentação, as fêmeas produzem em média de 100 a 200 ovos por vez (Chouin-Carneiro e Santos, 2017).

Além dos ovos, o ciclo de desenvolvimento deste mosquito envolve três outras fases: larva (L1, L2, L3 e L4), pupa e inseto adulto (Chouin-Carneiro e Santos, 2017; Fiocruz, 2016), mostradas na Figura 1. O *Aedes aegypti* possui um ciclo de vida complexo, com mudanças dramáticas na forma, função e habitat. As fêmeas do mosquito colocam seus ovos nas paredes internas de recipientes com água. Os ovos se transformam em larvas quando entram em contato com a água da chuva ou água acumulada pela atividade humana. Quando as larvas estão no quarto estágio e adquirem tamanho e energia suficiente, a metamorfose é ativada, provocando a transformação em pupa, que dão origem aos mosquitos. Em condições favoráveis, o ciclo inteiro dura cerca de 8 a 10 dias (CDC, 2012). Em condições mais adversas, como baixa temperatura, insuficiência de nutrientes e alta densidade de larvas, a duração do ciclo pode se estender por várias semanas (Chouin-Carneiro e Santos, 2017).





**Figura 1.** Os quatros estágios do ciclo de vida do mosquito: ovo, larva, pupa e adulto

(Fonte: Adaptado de Chouin-Carneiro e Santos, 2017).

Após 24 horas, o inseto adulto já está pronto para a cópula, que ocorre normalmente durante o voo. Uma única cópula é suficiente para fecundar todos os ovos que a fêmea venha a produzir ao longo de toda a vida, que tem duração aproximada de 35 dias (Fiocruz, 2016).

No verão, a elevação da temperatura e a intensificação das chuvas propiciam a eclosão de ovos, facilitando a proliferação do mosquito. Para evadir deste cenário, é indispensável adotar medidas permanentes de combate ao vetor (Fiocruz, 2016).

### 3.1.1. LARVAS

A larva do *Aedes aegypti* é composta basicamente de cabeça, tórax e abdômen dividido em oito segmentos. O segmento posterior e anal do abdômen possui quatro brônquias lobuladas para regulação osmótica e um sifão para a respiração na superfície da água. O sifão é curto, grosso e mais escuro que o corpo. Para respirar, a larva vem à superfície, onde fica em posição quase vertical (Funasa, 2001), como mostrado na Figura 2. Larvas de *A. aegypti* são sensíveis a movimentos bruscos na água e, sob feixe de luz, deslocam-se ligeiramente, movimentando-se em forma de serpente e buscando refúgio no fundo do recipiente em que se encontram (Funasa, 2001; IOC/Fiocruz, 2017a).



**Figura 2.** Larva de *Aedes aegypti* (Fonte: Adaptado de Dept. Medical Entomology, 2008).

A fase larval é o período de alimentação e crescimento. A larva se alimenta de partículas orgânicas e microrganismos em suspensão na água (Chouin-Carneiro e Santos, 2017; Fiocruz, 2016) através da filtração da água usando estruturas especializadas presentes em sua boca (Chouin-Carneiro e Santos, 2017). Para possibilitar o crescimento do primeiro ao quarto estágio de desenvolvimento, a larva troca do exoesqueleto três vezes (CDC, 2012). Tendo em vista a maior vulnerabilidade nesta fase, as ações de combate ao mosquito devem, preferencialmente, atuar na fase larvária (Funasa, 2001).

## 3.2. ARBOVIROSES

### 3.2.1. DENGUE

A dengue é uma doença infecciosa causada por um vírus da família Flaviviridae, que pertence ao grupo dos arbovírus, ou seja, vírus transmitidos por artrópodes. Este vírus é chamado de vírus da dengue (DENV) e possui quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (OPAS/OMS, 2017e), que podem causar tanto a forma clássica da doença quanto as formas mais graves na primeira infecção, porém com maior frequência após a segunda ou terceira infecção (Ministério da Saúde, 2007). Ou seja, uma vez infectada por um dos sorotipos do vírus, a pessoa adquire imunidade apenas contra aquele sorotipo específico, podendo ser infectada mais outras três vezes, aumentando o

risco de desenvolver a forma hemorrágica depois da segunda infecção (Ministério da Saúde, 2007, IOC/Fiocruz, 2017b).

As fêmeas de *Aedes aegypti* são a principal fonte de transmissão de dengue. Quando o mosquito pica uma pessoa infectada, ele ingere o sangue contendo o vírus, que passa por um período de incubação de oito a doze dias dentro do mosquito, depois do qual o mosquito passa a transmitir o vírus através da picada. A pessoa infectada geralmente manifesta sintomas de cinco a sete dias após a infecção. Também pode acontecer transmissão mecânica, quando o mosquito interrompe a alimentação em uma pessoa infectada e passa, imediatamente, a alimentar-se de um hospedeiro susceptível. Esta forma de transmissão não requer incubação do vírus (OPAS/OMS, 2017e).

Depois do período de incubação no indivíduo infectado, a doença tem início abrupto e passa por três fases: febril, crítica e de recuperação. Na fase febril, os pacientes apresentam febre alta e repentina, que dura de dois a sete dias, muitas vezes acompanhada de rubor facial, eritema, dor corporal generalizada, mialgias, artralgias, cefaleia e dor retro-ocular. Para fins de diagnóstico diferencial, é importante ressaltar que a dengue não causa rinorreia nem congestão nasal. Podem ocorrer ainda manifestações hemorrágicas menores, como petéquias e equimose na pele. Perto do desaparecimento da febre, normalmente nos primeiros três a sete dias da doença, pode haver um aumento da permeabilidade capilar paralelamente aos níveis do hematócrito. Isto marca o começo da fase crítica, na qual há o risco de choque devido ao extravasamento de plasma, hemorragias graves e comprometimento sério dos órgãos. Quando o paciente sobrevive à fase crítica, a qual não excede 72 horas, ele passa pela fase de recuperação, onde ocorre uma melhoria do estado geral (OPAS/OMS, 2017e).

### 3.2.2. ZIKA

O Zika Vírus é um vírus de RNA do gênero Flavivirus transmitido por mosquitos e foi, pela primeira vez, registrado no ano de 1947, em macacos da Zika Forest, ou Floresta Zika, em Uganda, no leste da África (OPAS, 2016a). Mais tarde, em 1952, o

vírus foi identificado em humanos, em Uganda e na República Unida da Tanzânia. O primeiro grande surto de infecção por Zika foi notificada na ilha de Yap (Estados Federados da Micronésia), em 2007 (OMS, 2016b). Entre 2013 e 2014, a Polinésia Francesa registrou casos de má-formação em fetos e recém-nascidos após a epidemia de Zika que atingiu o território neste período (Bandeira, 2015). Os primeiros registros de casos da doença no Brasil se deram em no início de 2015, nos estados da Bahia e do Rio Grande do Norte (OPAS, 2016).

Em julho de 2015, o Brasil notificou uma associação entre a infecção pelo vírus Zika e a síndrome de Guillain-Barré e, em outubro de 2015, foi notificada a associação entre o vírus Zika e a microcefalia (OMS, 2016b).

Os sintomas da infecção por vírus Zika são semelhantes aos de outras infecções por arbovírus, como a dengue, e incluem febre, erupções cutâneas, conjuntivite, dores nos músculos e nas articulações, mal-estar ou dor de cabeça. Estes sintomas, normalmente, duram de dois a sete dias (OMS, 2016b).

O vírus da Zika é o primeiro vírus, que se tenha conhecimento, que é transmitido para os humanos por picada de mosquitos infectados e através de relações sexuais com uma pessoa infectada. Este vírus já foi detectado em líquidos corporais como sangue, urina, sêmen, líquidos cerebrais e espinhais, saliva, líquido amniótico e leite materno. Alguns estudos revelaram que o vírus persiste por mais tempo na urina e no sêmen do que no sangue. Outros estudos estão sendo realizados para verificar questões importantes, como o tempo de permanência do vírus no organismo e se ele poderia ficar latente e reaparecer em uma fase posterior (OMS, 2017a).

#### 3.2.2.1. MICROCEFALIA

A microcefalia é uma malformação congênita em que o bebê apresenta tamanho de cabeça muito menor do que a de outros bebês da mesma idade e sexo. Os bebês com microcefalia podem ter problemas de desenvolvimento devido ao

crescimento insuficiente do cérebro, podendo apresentar convulsões e desordens físicas e de aprendizado (OMS, 2016c). Além das infecções congênitas, a microcefalia também pode resultar de anormalidades cromossômicas, exposição a drogas, álcool e outras toxinas ambientais, fusão prematura dos ossos do crânio, e de algumas desordens metabólicas (CDC, 2017).

Em setembro de 2015, as autoridades de saúde começaram a receber relatos de médicos do nordeste do Brasil sobre o aumento no número de crianças nascidas com microcefalia e, em outubro, foi confirmado o aumento da prevalência de microcefalia no nordeste do país. Em dezembro, foi identificada a presença do RNA do vírus da Zika em amostras do líquido amniótico de duas mulheres grávidas cujos fetos tinham microcefalia detectada no ultrassom; e em diversos tecidos corporais, incluindo o cérebro, de uma criança com microcefalia que morreu no período neonatal imediato (OPAS, 2015; CDC, 2017).

Este vírus apresenta elevado neurotropismo e pode promover neuroinflamação e neurodegradação, que é a principal correlação entre o vírus da Zika e as mudanças neurológicas (Cugola et al., 2016; Garcez, et al., 2016; Mlakar et al., 2016). Vários estudos apontam possíveis mecanismos de ação. Olmo e colaboradores (2016) concluíram que o vírus induz a morte celular neural desencadeando a liberação de citocinas, incluindo TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , que estão envolvidos no processo de excitotoxicidade e, conseqüentemente, morte das células.

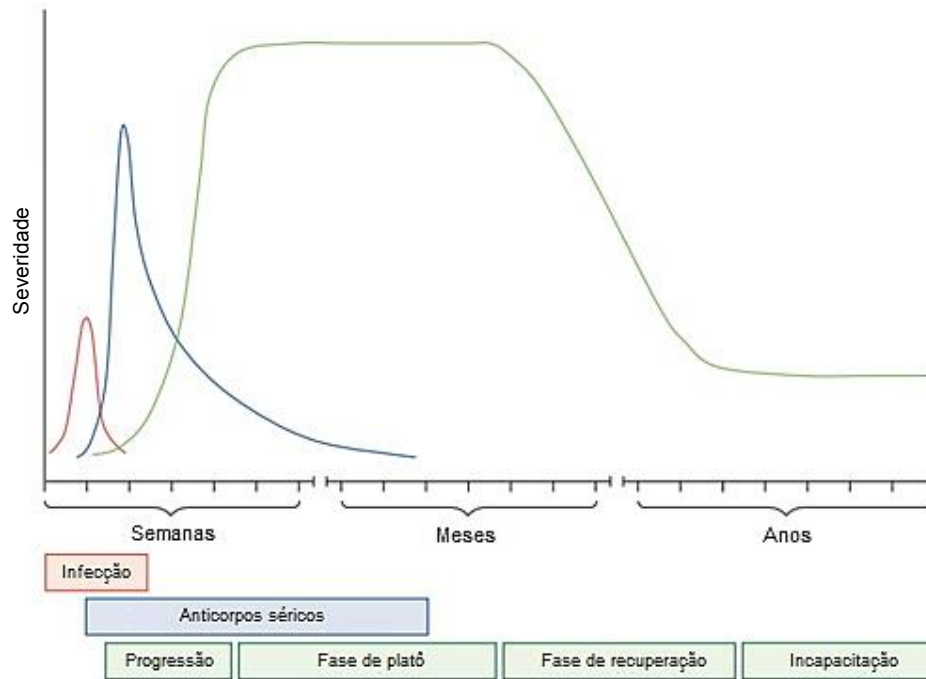
Não existe tratamento específico para microcefalia. Uma equipe multidisciplinar é importante para avaliar e cuidar da criança. Uma intervenção precoce com estimulação e programas de aprendizado pode ter impacto positivo no desenvolvimento. Aconselhamento familiar e suporte à família também são extremamente importantes (OMS, 2016c).

### 3.2.2.2. SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ

Na síndrome de Guillain-Barré, o sistema imune ataca parte do sistema nervoso periférico (OMS, 2016d; Willison et al., 2016), geralmente depois de uma infecção ou outro estímulo imunitário (Willison et al., 2016). De acordo com os dados existentes, o Zika vírus é um desencadeante desta síndrome (Cao-Lormeau et al., 2016; OMS, 2016d; Parra et al., 2016).

De maneira geral, esta síndrome afeta os nervos que controlam o movimento muscular, assim como os que transmitem sensações de dor, temperatura e tato, o que pode resultar em fraqueza muscular e perda de sensibilidade nas pernas e/ou braços. Mesmo no melhor dos contextos, 3-5% dos pacientes morrem das complicações, que podem incluir paralisia dos músculos que controlam a respiração, infecções do sangue, coágulos pulmonares ou parada cardíaca (OMS, 2016d). Por isso, todos os pacientes com síndrome de Guillain-Barré precisam de monitoramento meticuloso e de cuidados especiais (Yuki e Hertung, 2012; OMS, 2016e; Willison et al., 2016). A maior parte dos sintomas aparece depois de quatro semanas, seguidos por um período de recuperação que pode durar meses ou anos (Figura 3), conforme a resposta imune decai e os nervos periféricos passam por um processo endógeno de reparo (Willison et al., 2016).

A severidade e a duração da doença são muito diversas e podem variar de pacientes que sentem apenas uma leve fraqueza, da qual se recuperam espontaneamente, a pacientes que se tornam quadraplégicos e dependentes de ventilação mecânica, sem sinais de recuperação por meses ou mais. Eventualmente, a maior parte dos pacientes começa a melhorar, embora a recuperação possa seguir um curso prolongado e resultar em incapacitação severa e permanente (Van den Berg et al., 2014; Willison et al., 2016).



**Figura 3.** Progressão da síndrome de Guillain-Barré (Fonte: Adaptado de Willison et al., 2016).

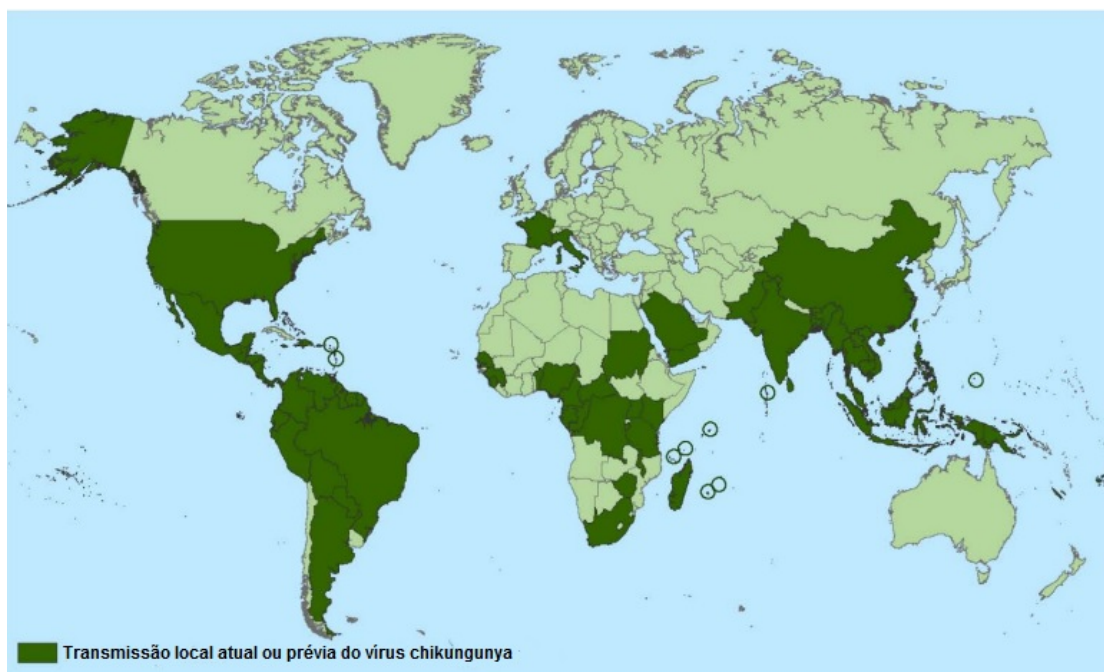
Diferentes fenótipos clinicopatológicos podem estar delineados dentro do espectro da síndrome de Guillain-Barré. Os principais fenótipos são denominados polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda e neuropatia axonal motora aguda. Na polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda, a lesão causada pelo sistema imune acontece especificamente na bainha de mielina e nos componentes de célula de Schwann relacionados. Enquanto na neuropatia axonal motora aguda, as membranas celulares do próprio axônio, os axolemas, são o alvo de um ataque mediado por anticorpos (Willison et al., 2016).

Não há cura conhecida para síndrome de Guillain-Barré, porém, tratamentos como a administração intravenosa de imunoglobulinas (IVIg) ou de plasma se provaram vantajosos, especialmente em pacientes em que a fraqueza progride rapidamente (Hughes et al., 2014; OMS, 2016d). Entretanto, em alguns países, tanto a terapia com IVIg quanto com plasma podem ser muito caras para a maior parte da população. Novos estudos para melhorar o decurso e o desfecho da síndrome de Guillain-Barré são extremamente necessários (Willison et al., 2016).

### 3.2.3. CHIKUNGUNYA

Chikungunya é uma doença viral transmitida por mosquitos. Trata-se de um vírus de RNA pertencente ao gênero alfavírus da família Togaviridae (OMS, 2017b). O nome “chikungunya” significa “aqueles que se dobram” em *swahili*, um dos idiomas da Tanzânia, e refere-se à aparência curvada dos pacientes que foram atendidos na primeira epidemia documentada, na Tanzânia, localizada no leste da África, entre 1952 e 1953 (Ministério da Saúde, 2016; OMS, 2017b).

Antes de 2013, surtos de chikungunya foram identificados na África, Ásia, Europa e nos Oceanos Índico e Pacífico. No final de 2013, a primeira transmissão autóctone de chikungunya nas Américas foi identificada em países e territórios do Caribe. Transmissão autóctone significa que mosquitos da área foram infectados com o vírus e estão espalhando-o para a população. Desde então, transmissão local foi identificada em 45 países ou territórios nas Américas, com mais de 1.7 milhões de suspeitas de casos de chikungunya (CDC, 2016). No Brasil, a circulação do vírus foi identificada pela primeira vez em 2014 (Ministério da Saúde, 2016).



**Figura 4.** Países e territórios onde casos de chikungunya foram reportados (Fonte: CDC, 2016).



A chikungunya provoca febre alta e artralgia severa. Outros sintomas incluem dor de cabeça e muscular, náuseas, fadiga e erupções cutâneas (OMS, 2017b). Ainda que raramente provoque a morte, a dor nas articulações pode durar meses ou anos e, algumas vezes, se converte em dor crônica e pode causar incapacitação. O risco de agravamento da doença é maior para idosos, crianças e gestantes (OPAS/OMS, 2016d).

#### 3.2.4. FEBRE AMARELA

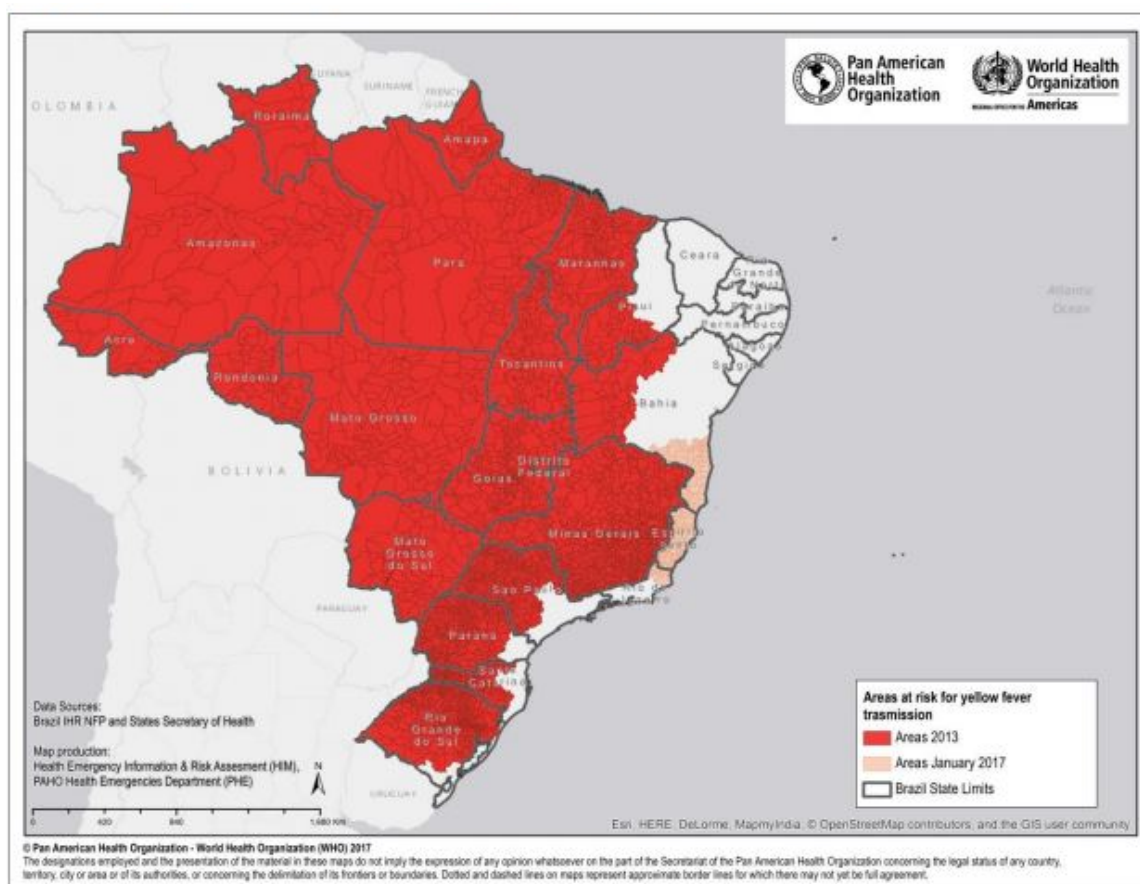
A febre amarela é uma doença viral aguda hemorrágica transmitida por mosquitos infectados. O termo “amarela” faz referência à icterícia que acomete parte dos pacientes. Outros sintomas da febre amarela incluem febre, dor de cabeça, dores musculares, náusea, vômitos e fadiga. Uma pequena proporção de pacientes que contraem o vírus desenvolve sintomas graves, entretanto aproximadamente metade desses morre entre sete e dez dias (OPAS/OMS, 2017e). A forma mais grave da doença costuma aparecer após um breve período de bem-estar (até dois dias), quando podem ocorrer insuficiências hepática e renal, icterícia, manifestações hemorrágicas e cansaço intenso (Bio-Manguinhos/Fiocruz, 2014).

A febre amarela apresenta dois ciclos de transmissão epidemiologicamente diferentes: febre amarela silvestre e urbana. A diferença entre elas resume-se basicamente ao vetor, que na cidade é o *Ae. aegypti* e, na mata, são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* que transmitem o vírus. Além disso, no ciclo silvestre da febre amarela, os macacos são os principais hospedeiros e amplificadores do vírus, o homem participa apenas como hospedeiro acidental ao entrar em contato com áreas de mata, ao contrário do ciclo urbano, onde o homem é o único hospedeiro. Não obstante, o vírus transmitido é o mesmo, assim como a doença proveniente da infecção (Ministério da Saúde, 2017a).

Quarenta e sete países da África e das Américas Central e do Sul são endêmicos ou possuem regiões endêmicas de febre amarela. Um estudo baseado em dados africanos

estima que em 2013 a febre amarela foi responsável por 84 mil a 170 mil casos graves e 29 mil a 60 mil mortes (OPAS/OMS, 2017e).

De acordo com a OMS, o aumento do número de casos de febre amarela no Estado de Minas Gerais, a confirmação de casos em dois novos estados e a ocorrência de epizootias nos estados que relatam casos em humanos demonstram a disseminação geográfica do surto em novas áreas (OPAS/OMS, 2017f). De dezembro de 2016 a agosto de 2017 foram confirmados 777 casos e 261 óbitos por febre amarela (Borgaz, 2017).



**Figura 5.** Áreas com risco de transmissão de febre amarela no Brasil, 2013-2017 (Fonte: adaptado de OPAS/OMS, 2017d).

A vacina contra febre amarela é eficaz, segura e acessível. Apenas uma dose da vacina é suficiente para garantir imunidade ao longo da vida. Entretanto, esta vacina possui algumas limitações. A vacina contra febre amarela não deve ser administrada em: pessoas com histórico de hipersensibilidade a ovos de galinha e/ou seus derivados; mulheres grávidas, exceto em uma emergência epidemiológica e situações em que há

recomendação expressa de autoridades de saúde; pessoas severamente imunossuprimidas por doenças (como câncer, leucemia, HIV/AIDS, entre outras) ou medicamentos; crianças com menos de seis meses de idade; pessoas de qualquer idade com uma doença relacionada ao tifo (OPAS/OMS, 2017e).

Não há, atualmente, nenhum medicamento antiviral específico para febre amarela (OPAS/OMS, 2017e).

### 3.3. INSETICIDAS QUÍMICOS

#### 3.3.1. HISTÓRICO

O controle com inseticidas químicos, de origem orgânica ou inorgânica, é um dos métodos mais utilizados no manejo sustentável do controle de vetores (Braga e Valle, 2007).

O desenvolvimento de inseticidas que permanecem ativos por períodos longos foi um dos mais importantes avanços para o controle de insetos ocorridos no século XX. O primeiro inseticida de efeito prolongado, ou propriedade residual, foi o diclorodifeniltricloroetano (DDT), um organoclorado desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial, que, quando aplicado em paredes e tetos de casas, permanecia ativo contra os insetos por vários meses (Braga e Valle, 2007).

As principais características dos organoclorados incluem solubilidade em líquidos apolares, o que causa o acúmulo do DDT no tecido adiposo de organismos vivos, e a alta estabilidade, que faz com que o DDT demore muito tempo para ser degradado na natureza. Em razão destas características, viu-se a necessidade de desenvolver novas substâncias para o controle de pragas e vetores, o que deu origem aos organofosforados e carbamatos (Braibante e Zappe, 2012).

Os carbamatos foram isolados primeiramente de *Physostigma venenosum* Balf. (Fabaceae), o feijão-de-calabar, natural do oeste da Ásia. Atualmente, os carbamatos estão presentes nas formulações de muitos produtos agroquímicos (Braibante e Zappe, 2012; Soares et al., 2015).

Os piretroides são os derivados sintéticos das piretrinas, ésteres tóxicos isolados das flores das espécies de *Chrysanthemum cinerariaefolium* e espécies relacionadas (Valentine, 1990; Spencer et al., 2001; Nasuti, et al., 2003; Santos et al, 2007; Braibante e Zappe, 2012). As piretrinas foram utilizadas como inseticidas durante muitos anos, devido a sua ação sob uma vasta variedade de insetos e à baixa toxicidade em mamíferos, quando em circunstâncias de uso adequado. Entretanto, as piretrinas naturais apresentam grande instabilidade quando expostas à luz solar e ao ar, o que diminui a sua eficácia (Chen e Wang, 1996).

Sendo assim, é possível notar que, além do papel primordial na terapêutica farmacológica, os produtos naturais também exercem papel fundamental no controle de pragas, podendo atuar inclusive como modelos estruturais para a síntese de novas substâncias (Soares et al., 2015).

### 3.3.2. RESISTÊNCIA

Os inseticidas têm sido vastamente empregados, tanto na agricultura e agropecuária quanto para controlar as mais diversas pragas. Porém, embora os inseticidas sejam uma importante arma no manejo e controle de vetores, seu uso continuado tem levado à seleção de populações resistentes e ocasionado dificuldades para o controle de vetores, especialmente nas Américas e no Caribe (Braga e Valle, 2007; Harris et al., 2010).

O uso contínuo de pesticidas acaba eliminando indivíduos com alelos suscetíveis e não elimina aqueles com alelos resistentes, resultando na manifestação de cepas resistentes. A resistência a inseticidas pode ser vista como um processo de evolução acelerada de uma população que reage a uma intensa pressão seletiva, com a consequente sobrevivência dos indivíduos que possuem alelos que conferem resistência. (Braga e Valle, 2007).

Tal resistência é um grande obstáculo no controle de vetores transmissores de doenças e tem sido detectada para praticamente todas as classes de inseticidas já

usadas contra mosquitos, afetando diretamente o ressurgimento das doenças transmitidas por vetores (Smith et al., 2016). Já existem diversos estudos documentados demonstrando a resistência a inseticidas sintéticos comumente utilizados, entre eles organofosforados, piretroides e carbamatos (Braga et al., 2004; Lima et al., 2006; Dusfour et al. 2011; Koou et al., 2014; Moyes et al., 2017).

A resistência do *Aedes aegypti* a inseticidas piretroides tornou-se um problema mundial (Smith et al., 2016). Moyes e colaboradores (2017) relataram que a prevalência de resistência a deltametrina, o piretroide mais comumente testado para resistência em *Aedes aegypti*, é consistentemente alta no Brasil e na Guiana Francesa e mais baixa em alguns locais do oeste da África. Foram relatados ainda altos níveis de resistência a temefós, organofosforado frequentemente utilizado, no Brasil, na Guiana Francesa e no Caribe. Enquanto a resistência a organofosforados é consistentemente alta para populações de *Aedes aegypti*, a resistência a carbamatos é mais variável, embora evidências de resistência a carbamatos tenham sido reportadas na Ásia, África e América Latina (Moyes et al., 2017).

Neste contexto, o uso de substâncias com modos de ação diferentes dos inseticidas químicos convencionais, assim como monitoramento e o manejo da resistência, são elementos de fundamental importância em qualquer programa de controle de vetores (Braga e Valle, 2007), havendo, portanto, a necessidade do estudo de novos produtos (Braibante e Zappe, 2012).

### 3.4. ANACARDIACEAE

A família Anacardiaceae é constituída por cerca de 70 gêneros e 600 espécies de distribuição geográfica tropical e subtropical (Correia et al., 2006). Estão incluídas nesta família plantas lenhosas resiníferas, cujas partes jovens exalam aroma e sabor típicos, idênticos ao fruto verde da *Mangifera indica* L., popularmente conhecida como manga, uma das espécies mais conhecidas da família Anacardiaceae (Souza e Lorenzi, 2005).

Várias Anacardiaceae têm importância econômica por proverem frutos comestíveis, madeiras de grande utilidade ou por serem usadas como espécies ornamentais. Além da manga, estão inclusos nesta lista os cajás (*Spondias* spp.), o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), o umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) e a seriguela (*Spondias purpurea* L.). *Schinus terebinthifolia* Raddi, *Schinus molle* L. e *Rhus succedanea* L. são comumente usadas na ornamentação de ruas e praças. Enquanto o gonçalvo-alves (*Astronium fraxinifolium* Schott ex Spreng) e o guaritá (*Astronium graveolens* Jacq.) são exemplos de espécies que possuem madeira de boa qualidade (Souza e Lorenzi, 2005).

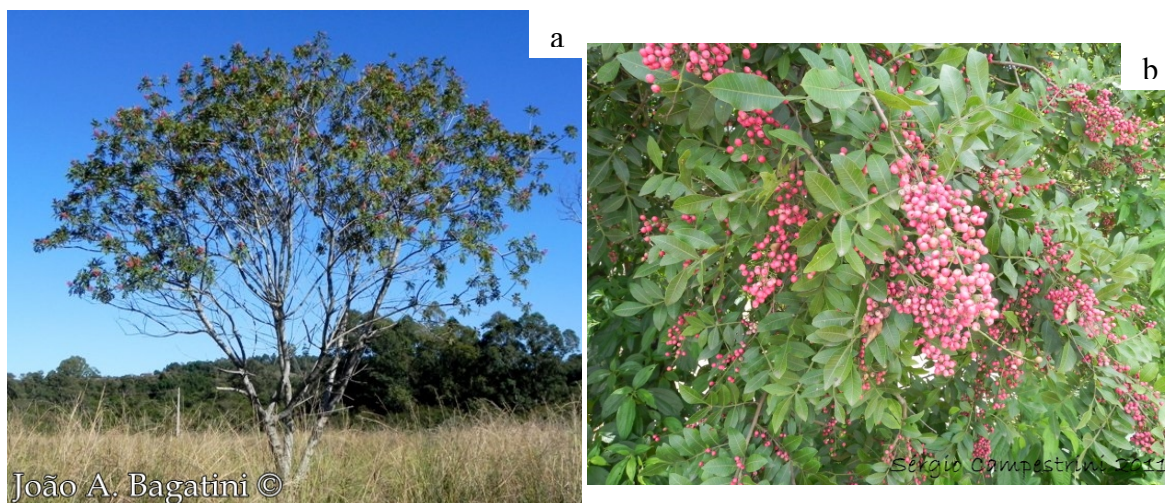
Estudos sobre a fitoquímica de algumas das espécies desta família mostram que certas classes de substâncias são características: flavonoides, terpenos, esteroides, xantonas e, especialmente, lipídeos fenólicos. A diversidade de metabólitos e atividades biológicas tem justificado o interesse no estudo dessa família na busca de produtos bioativos (Correia et al., 2006).

#### 3.4.1. *Schinus terebinthifolia* Raddi

Uma interessante espécie pertencente à família Anacardiaceae é *Schinus terebinthifolia* Raddi (Figura 6), conhecida popularmente como aroeira, aroeira vermelha, aroeira-da-praia, aroeira pimenteira, pimenta rosa, entre outros. Esta espécie é nativa da América do Sul e Central e é encontrada no Brasil de norte a sul, inclusive no Cerrado (Lorenzetti, 2008).

*S. terebinthifolia* é fonte de várias substâncias bioativas, e suas folhas são usadas de forma popular em remédios para tratar úlceras e ferimentos, combater candidíase oral em crianças e para produzir infusões que tem propriedades consideradas antirreumáticas (Lindenmaier, 2008; Procópio et al., 2015), além de ser comumente usada para tratar infecção do trato urinário (Uliana et al., 2016). Atualmente, a aroeira vermelha consta na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais, RENAME, para uso no componente básico como opção de tratamento para afecções vaginais (Ministério da Saúde, 2017b),

apresentando ação cicatrizante e anti-inflamatória ginecológica na forma de óvulo vaginal (Brasil, 2011).



**Figura 6.** (a) *Schinus terebinthifolia* Raddi. (b) Detalhe dos frutos (Fontes: (a) Bagatini, 2014. (b) Campestrine, 2011).

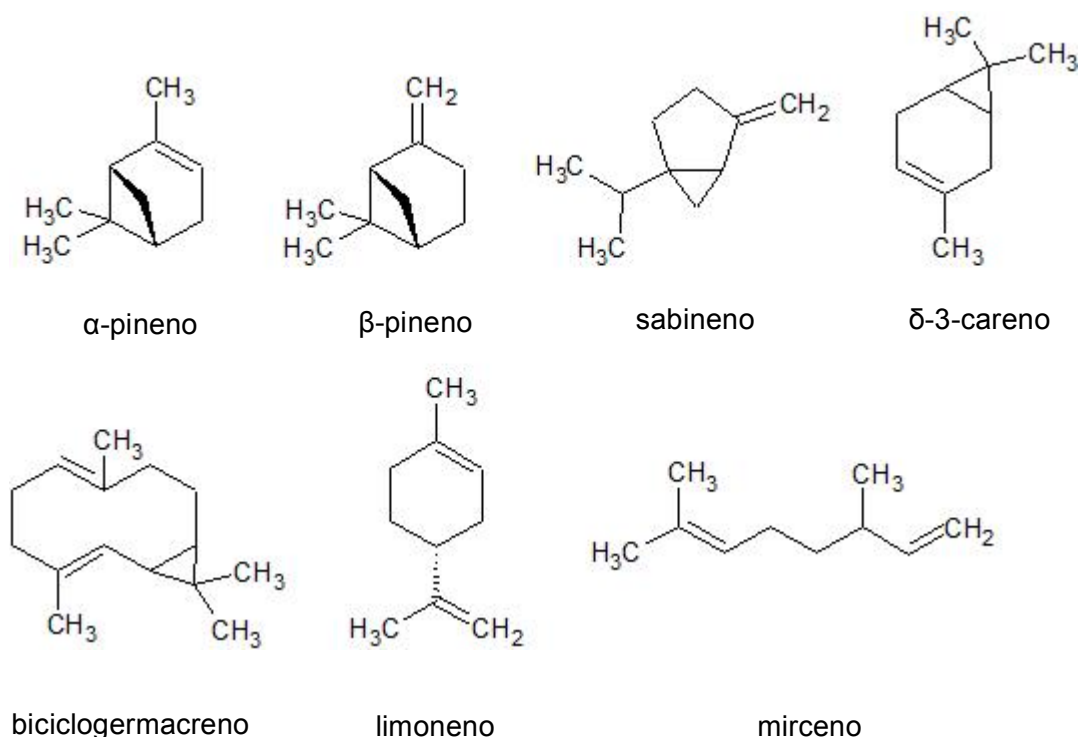
Análises químicas de diversos extratos de *Schinus terebinthifolia* demonstraram a presença majoritária de terpenos e compostos fenólicos (De Lima et al., 2006; Dos Santos, 2010; Santana et al., 2012; Alves et al., 2015; Uliana et al., 2016; D'Sousa'Costa et al., 2015). Foi detectada a presença frequente de flavonas, flavonoides, xantonas e antraquinonas (De Lima et al., 2006; Procópio et al., 2015; Silva et al., 2017). As substâncias mais frequentemente encontradas na literatura foram listadas na Tabela 1.

Gomes (2013) descreveu ação antimicrobiana da infusão de casca de *S. terebinthifolia*, que tem sido usada popularmente para tratar infecções. Este estudo revelou que o prejuízo provocado por esta infusão no crescimento e sobrevivência de bactérias e fungos está relacionado à presença de inibidores de tripsina, lecitina e compostos fenólicos. Outros autores também identificaram atividade antimicrobiana. Alves e colaboradores (2013) mostraram atividade antifúngica de tintura feita a partir da casca do caule de *S. terebinthifolia* em *Candida albicans* e propôs que o mecanismo de ação se baseasse na inibição da formação da parede fúngica.

<b>Parte da planta</b>	<b>Extrato</b>	<b>Substâncias</b>	<b>Referências</b>
Folhas	Etanólico	Derivados fenólicos	De Lima et al, 2006
		Ácido cafeico	Uliana et al, 2016
		Ácido ferúlico	Uliana et al, 2016
		Quercetina	Uliana et al, 2016
		Flavonas	De Lima et al, 2006
		Flavonoides	De Lima et al, 2006
		Xantonas	De Lima et al, 2006
		Antocianinas	De Lima et al, 2006
		Flavononas	De Lima et al, 2006
		Taninos	Silva et al, 2017
		Esteroides livres	De Lima et al, 2006
		Triterpenos	Silva et al, 2017
		Ácidos graxos	Silva et al, 2017
	Óleo essencial	Terpenos	Santana et al; 2012
		- $\alpha$ -pineno	Dos Santos, 2010; Lúcio, 2017
		- $\beta$ -pineno	Alves et al, 2015
		- Sabineno	Dos Santos, 2010
- Biciclogermacreno		Dos Santos, 2010	
- $\delta$ -3-careno		Alves et al, 2015; Lúcio, 2017	
Solução salina	- Limoneno	Alves et al, 2015; Lúcio, 2017	
	- Mirceno	Lúcio, 2017	
	Ácido cinâmico	Procópio et al., 2015	
		Flavonoides	Procópio et al., 2015
		Lecitina	Procópio et al., 2015
Casca do caule	Etanólico	Derivados fenólicos	De Lima et al, 2006
		Antraquinonas	De Lima et al, 2006
		Triterpenos	De Lima et al, 2006
	Hexânico	Flavonas	De Lima et al, 2006
		Flavonoides	De Lima et al, 2006
		Xantonas	De Lima et al, 2006
		Antraquinonas	De Lima et al, 2006
		Esteroides livres	De Lima et al, 2006
		Triterpenos	De Lima et al, 2006
Flores	Óleo essencial	Mono e sesquiterpenos	Santana et al; 2012
Frutos	Etanólico	Derivados fenólicos	Silva et al, 2017
		Flavonoides	Silva et al, 2017
		Ácidos graxos	Silva et al, 2017
		Triterpenos	Silva et al, 2017
	Óleo essencial	Mono e sesquiterpenos	Santana et al; 2012

**Tabela 1.** Substâncias identificadas em diferentes partes de *S. terebinthifolia*.





**Figura 7.** Terpenos presentes em óleo essencial de folhas de *S. terebinthifolia*.

Atividade antifúngica também foi reportada por Johann e colaboradores (2010) e Dos Santos (2010), que associaram esta ação à presença de terpenos e óleo essencial de *S. terebinthifolia*, respectivamente, sendo o óleo essencial ativo em *Botrytis* spp. em testes *in vitro*. Outras espécies da família Anacardiaceae também exibiram ação antifúngica, bem como a diminuição da produção de micotoxinas, relacionada à ação do terpeno lupeol e de lipídeos fenólicos (Ficoseco, 2014). Em contrapartida, De Menezes Torres e colaboradores (2016) não encontraram atividade antifúngica em extrato aquoso de *S. terebinthifolia*, quando testado em espécies de *Candida*.

Os terpenos α-pineno e sabineno, detectados em folhas de *S. terebinthifolia*, possuem atividade bactericida relatada a partir de testes com uma espécie da mesma família, *Lithraea molleoides*, conhecida popularmente como aroeira branca (Shimizu et al., 2006; Dos Santos, 2010). Uliana e colaboradores (2016) relataram atividade antimicrobiana de extratos de *S. terebinthifolia* sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, o que pode ajudar a explicar o uso popular para tratar infecção urinária.

Além disso, esse estudo identificou a presença de compostos fenólicos, como ácido ferúlico, quercetina e ácido cafeico, que foram considerados responsáveis pela atividade antioxidante observada. Atividade em *E. coli* também foi registrada por Silva e colaboradores (2017).

D'Sousa'Costa e colaboradores (2015) também encontraram grande quantidade de compostos fenólicos em extratos obtidos de frutos, casca do caule, caule e folhas de *S. terebinthifolia*, que novamente foram apontados como responsáveis pela ação antioxidante. Este estudo também reportou a atividade antimicrobiana de vários extratos em *Enterococcus faecalis*. Por ser uma planta rica em compostos fenólicos, que possuem propriedades antioxidantes, *S. terebinthifolia* pode prover ainda novas oportunidades para tratamento e prevenção de doenças mediadas por radiação ultravioleta. Extratos de folhas mostraram potencial fotoprotetor de extrato de folhas na região UVB (Bulla et al., 2015).

*S. terebinthifolia* também foi testada para verificar sua atuação em afecções orais. Enxague bucal com uma formulação contendo tintura de casca do caule a 0,3% utilizado por crianças por 10 dias demonstrou ação anti-inflamatória significativa na gengiva, mas não foi capaz de atenuar o acúmulo de biofilme (Freires et al., 2013). Porém, a literatura descreve evidências de potencial antiaderente de *S. terebinthifolia* em biofilmes de *C. albicans* e *Streptococcus mutans* formados *in vitro* (Barbieri et al., 2014). Extrato hidroalcoólico de casca de *S. terebinthifolia* apresentou atividade antimicrobiana em *S. mutans*, um dos patógenos mais frequentemente associados com formação de cáries (Vieira et al., 2014).

A *S. terebinthifolia* também se mostrou ativa em outros patógenos. Morais et al. (2014) registraram atividade de triterpenos de *S. terebinthifolia* em parasitos da leishmaniose e doença de Chagas.

A atividade anti-inflamatória atribuída a *S. terebinthifolia* foi investigada e confirmada através do teste *in vivo* do extrato hidroalcoólico das folhas (Rosas et al.,

2015), assim como a ação cicatrizante, que foi observada em estômago (Santos et al., 2013) e feridas na pele de ratos (Estevão et al., 2013; Estevão et al., 2015).

Foram identificados também compostos aromáticos extraídos de folhas capazes de tratar alergias (Cavalher-Machado et al., 2008). Os resultados de Nunes-Neto e colaboradores (2017) sugerem que a aroeira vermelha possui ação anti-histamínica por meio da interação direta por receptores de histamina H<sub>1</sub>.

Foram, ainda, observados terpenos que induzem apoptose do melanoma e protegem contra metástase (Jain et al., 1995; Matsuto et al., 2011), óleo essencial que inibiu a mitose em alface e cebola (Pawlowski et al., 2012) e derivados fenólicos e flavonoides que demonstraram atividade antirradicalar e citotóxica (Ceruks et al., 2007; Santana et al., 2012). Ademais, extrato metanólico mostrou ação como substância quimiopreventiva, promovendo a integridade do genoma celular em modelos animais e vegetais (Fedel-Miyasato et al., 2014). Já a administração oral de extrato seco mostrou atividade hepatoprotetora promissora (Abdou et al., 2015).

Alves e colaboradores (2015) registraram atividade de terpenos presentes no óleo essencial de *S. terebinthifolia* na inibição do ciclo do caruncho-do-feijão (Alves et al., 2015). Atividade larvicida em *Aedes aegypti* foi detectada em extratos hexânico e diclorometânico de folhas de *S. terebinthifolia*, em extrato hexânico da madeira da raiz (Coelho et al., 2009), e em óleo essencial extraído de seus frutos (Silva et al., 2010; Pratti et al., 2015) e sementes (Pratti et al., 2015). O óleo essencial extraído por Pratti e colaboradores (2015) causou a morte das larvas após 72 horas de maneira dose-dependente e mudou a estrutura das larvas expostas, evidenciando ação direta no exoesqueleto e danificando órgãos internos das larvas.

Derivados de ácido cinâmico e flavonoides extraídos de folhas da aroeira-da-praia também mostraram interferência na sobrevivência e desenvolvimento de formas imaturas de *Ae. aegypti* (Procópio et al., 2015). O biciclogermacreno, presente em folhas de *S. terebinthifolia* (Dos Santos, 2010), possui potencial larvicida observado a partir de testes com as larvas do mosquito *Ae. aegypti* (Santos et al., 2006). De Mendonça e

colaboradores (2005) relataram 35% de mortalidade de larvas para extrato etanólico do tronco de *S. terebinthifolia*, e 100% de mortalidade para óleo essencial de uma espécie da mesma família, a *Anacardium occidentale* L. Cole (2008) relatou mais de 99% de mortalidade em 24 horas para uma solução de óleo essencial a 200 µg/mL. Outras espécies da família Anacardiaceae demonstraram atividade larvicida, como *Anacardium humile* A. St.-Hil, *Schinus molle* L. e *Spondias purpurea* L. (Dias e Moraes, 2014).

A aplicação tópica de formulações com o extrato de folhas de *S. terebinthifolia* não causou nenhuma mudança histológica na pele de ratos, demonstrando não causar toxicidade tópica (Bulla et al., 2015). Os resultados de Lima e colaboradores (2009) mostraram que a administração oral de extratos secos de casca de *S. terebinthifolia* durante 45 dias em ratos de ambos os gêneros não induziu nenhum efeito tóxico. Nenhuma mudança significativa na bioquímica e nos índices hematológicos foi observada, assim como nas características anatômicas e histopatológicas dos animais. Portanto, a ausência de toxicidade aguda e subaguda dos extratos da planta corrobora sua segurança (Lima et al., 2009; Carvalho et al., 2013).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE EM LARVAS DO VETOR *Aedes Aegypti*

#### 4.1.1. POPULAÇÃO DE MOSQUITOS

As colônias de *Aedes aegypti*, cepas Rockefeller, estão estabelecidas no Insetário da Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal e no Insetário ArboControl do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. A sua manutenção é realizada em sala climatizada com temperatura de 25 a 28 °C, 70% de umidade relativa do ar e ciclo natural de foto período 12/12 horas.

As fêmeas de *Aedes aegypti* fazem a oviposição em papel filtro, que é colocado em bandejas com 3 L de água limpa de clorada, a temperatura de  $28 \pm 5$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 5\%$  e fotofase de 12 horas. A eclosão ocorre em cerca de 24 horas, dando origem às larvas do mosquito. Estas são criadas em água limpa, à temperatura de  $28 \pm 5$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 5\%$  e foto período de 12 horas. As larvas são alimentadas com ração autoclavada, a cada 48 horas, até atingirem o 3° estágio de desenvolvimento (Figura 8).



**Figura 8.** Larvas de *Aedes aegypti* no terceiro estágio.

#### 4.1.2. TESTE LARVICIDA

Para o ensaio, dez larvas do terceiro estágio foram transferidas para recipientes descartáveis contendo 20 mL de água (Figura 9). Larvas pequenas ou danificadas foram removidas e substituídas. O volume apropriado das amostras foi adicionado para atingir a concentração desejada.

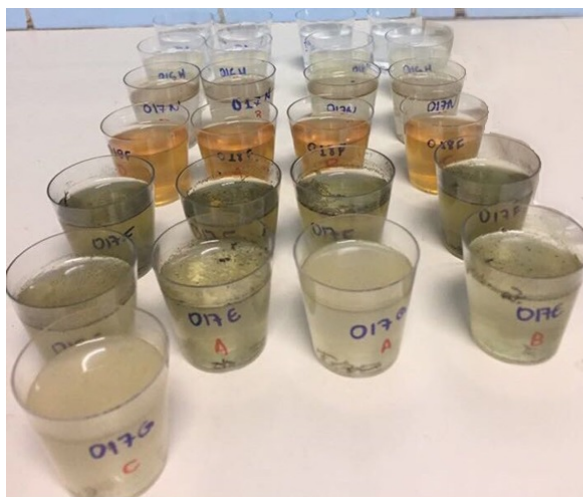
<b>Código do extrato</b>
ArboA017E
ArboA017F
ArboA018Q
ArboA017G
ArboA017H
ArboA017I
ArboA017K
ArboA017L
ArboA017M
ArboA017N
ArboA017O
ArboA017P

**Tabela 1.** Códigos\* dos extratos de *Schinus terebinthifolia*.

\*Observação: Como esse trabalho de TCC está inserido dentro de um projeto de pesquisa em parceria entre a UnB e o Ministério da Saúde - projeto ArboControl, que tem como meta gerar protótipos de produtos larvicidas em *Aedes aegypti*, o sigilo é obrigatório. Portanto não é permitido nesse primeiro momento identificar os códigos (Tabela 1) aos extratos correspondentes.

Cada um dos 12 extratos listados na Tabela 2 foi testado a uma concentração de 500 µg/mL: 40 mg de cada extrato foram, separadamente, dissolvidos em dois Eppendorfs, cada um com 20 mg do extrato e 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). Assim, em cada replicata, foram inseridos 10 mg de extrato em 20 mL de água. Estas misturas foram adicionadas aos recipientes descartáveis com um volume de água destilada

suficiente para completar 20 mL. Foram considerados ativos somente os extratos nos quais a concentração de 500 µg/mL causou mortalidade superior a 90%. Estes foram testados em uma concentração menor, de 250 µg/mL. Cada concentração foi testada em quadruplicata. Como controle, foram utilizados DMSO e água; e como controle positivo, Bti (*Bacillus thuringiensis israelensis*), que é inseticida biológico desenvolvido para controlar as larvas de *Aedes aegypti*.



**Figura 9.** Teste larvicida em recipientes descartáveis.

A temperatura da água foi mantida entre 25 a 28 °C com fotoperíodo de 12 horas (12 horas com luz seguido de 12 horas no escuro). Após 24 horas de exposição, a mortalidade foi avaliada. Foram consideradas mortas as larvas que não reagiram ao serem estimuladas. Se mais de 10% das larvas se transformassem em pupa durante as primeiras 24 horas, o experimento seria descartado e repetido. Se a mortalidade do controle estivesse entre 5% e 20%, a mortalidade dos grupos tratados seria corrigida segundo a fórmula de Abbott:

$$\text{Mortalidade (\%)} = \frac{X - Y}{X} 100$$

em que X é porcentagem de sobreviventes no controle e Y é a porcentagem de sobreviventes tratados.

Para a análise da atividade, foram registradas as porcentagens de mortalidade em 24, 48, 72 e 96 horas, sendo a morte das 40 larvas (teste em quadruplicata) considerada 100% de mortalidade. Foi calculada a mortalidade acumulada, somando as mortalidades obtidas em cada dia, para determinar qual foi a mortalidade total ao final do ensaio.

#### 4.2. FRACIONAMENTO POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE-DIOL)

Os extratos selecionados ativos foram pré-fracionados por SPE-Diol, conforme o seguinte protocolo:

- Extrato (100 mg) solubilizado em 1,6 mL DCM - MeOH (1:1)
- Aplicado e adsorvido em coluna Diol SPE (2 g)
- Dessecação em temperatura ambiente *overnight*
- Eluição de cada coluna SPE em placa de 24 poços com 6 mL de: A = HEX – DCM (9:1), B = DCM – EtOAc (20:1), C = 100% EtOAc, D = EtOAc – MeOH (5:1), E = 100% MeOH, resultando em 5 frações coletadas.
- As 5 frações obtidas foram pesadas e as frações das quais se pode obter mais de 10 mg foram testadas em larvas novamente.

As frações ativas de cada extrato foram analisadas em Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ), com o objetivo de identificar as frações mais interessantes.

#### 4.3. ESPECTROS DE RMN DE HIDROGÊNIO – RMN $^1\text{H}$

Após a determinação da atividade das frações, as ativas foram selecionadas para análise do perfil químico por Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Para esta análise, aproximadamente 10,0 mg de fração foram solubilizados em aproximadamente 0,5 mL de  $\text{CDCl}_3$ , contendo em torno de 0,05% de TMS, e transferidas para tubos de 5 mm. Os espectros foram obtidos em um espectrômetro Bruker Ascend 600 Mhz Avance III HD



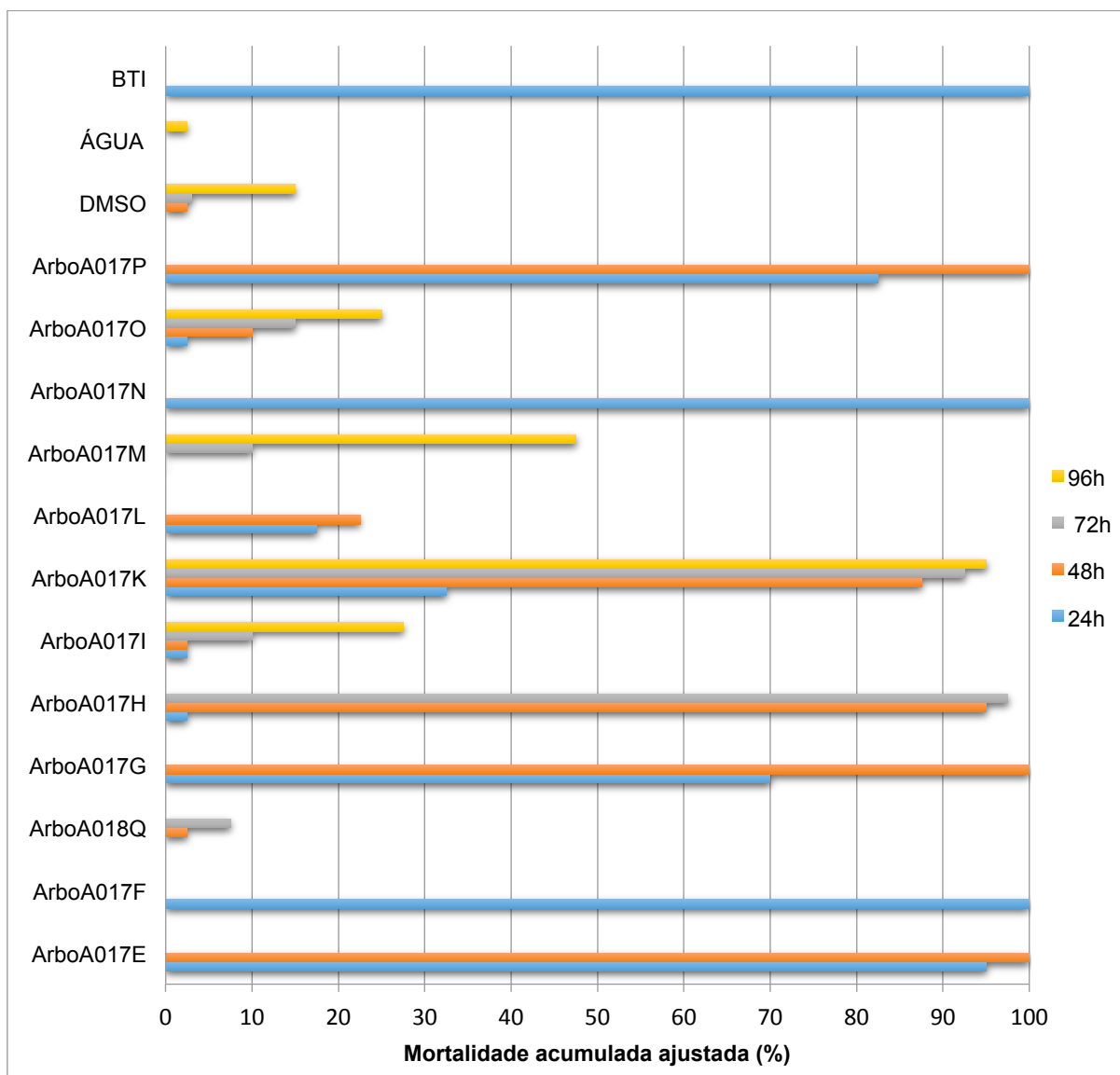
equipado com sonda BBO. Foram obtidos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das frações em sua forma bruta (não purificada).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

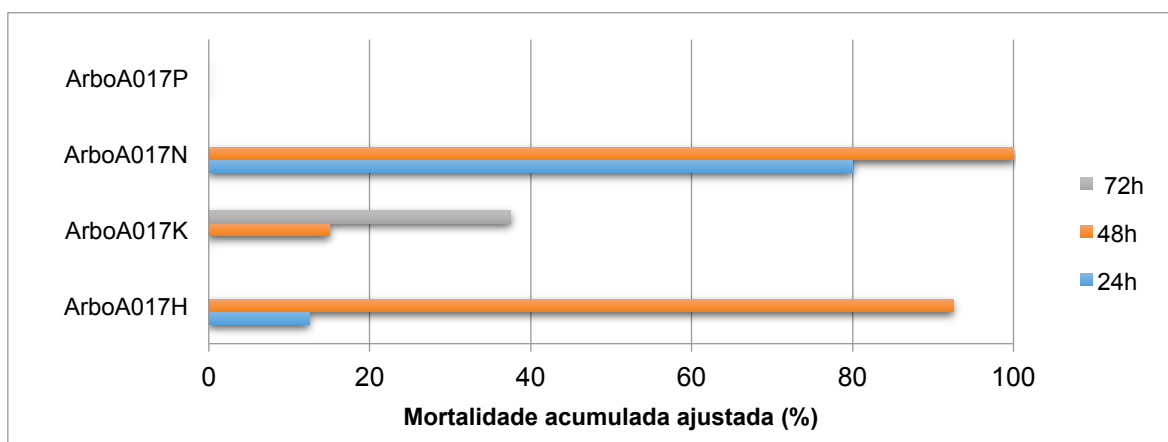
### 5.1. ATIVIDADE LARVICIDA DOS EXTRATOS DE *Schinus terebinthifolia*

Dos 12 extratos analisados em concentração de 500 µg/mL, sete causaram mortalidade superior a 90% das larvas testadas (Figura 10). A 500 µg/mL, os extratos ArboA017F e ArboA017N apresentaram mortalidade de 100% em 24 horas; ArboA017E, ArboA017G e ArboA017P mataram 100% das larvas após 48 horas; ArboA017H obteve 97,5% de mortalidade depois de 72 horas, tendo atingido 95% já em 48 horas; ArboA017K apresentou mortalidade de 92,5% após 48 horas e de 95% depois de 96 horas. Os extratos ativos, com exceção do extrato ArboA017P, têm em comum a polaridade, já que todos eles são extratos hexânicos e diclometânicos, levando a crer que as substâncias com atividade larvicida estão concentradas nos extratos de média a baixa polaridade.

Os extratos ArboA017H, ArboA017K, ArboA017N e ArboA017P foram testados a 250 µg/mL (Figura 11). Os extratos ArboA017N e ArboA017H exibiram 100% e 92,5% de mortalidade das larvas testadas após 48 horas, respectivamente. Já o extrato ArboA017K apresentou apenas 37,5% de mortalidade e o extrato ArboA017P não matou nenhuma larva até o último dia de leitura, ou seja, após 96 horas do início do ensaio. Estes resultados apontam novamente para maior atividade larvicida dos extratos mais apolares, tendo em vista que nenhum dos extratos hidroalcoólicos apresentou atividade a 500 µg/mL e que o único extrato alcaloide que apresentou atividade a 500 µg/mL não apresentou atividade nenhuma quando testado na metade da concentração.



**Figura 10.** Atividade dos extratos de *Schinus terebinthifolia* a 500 µg/mL.



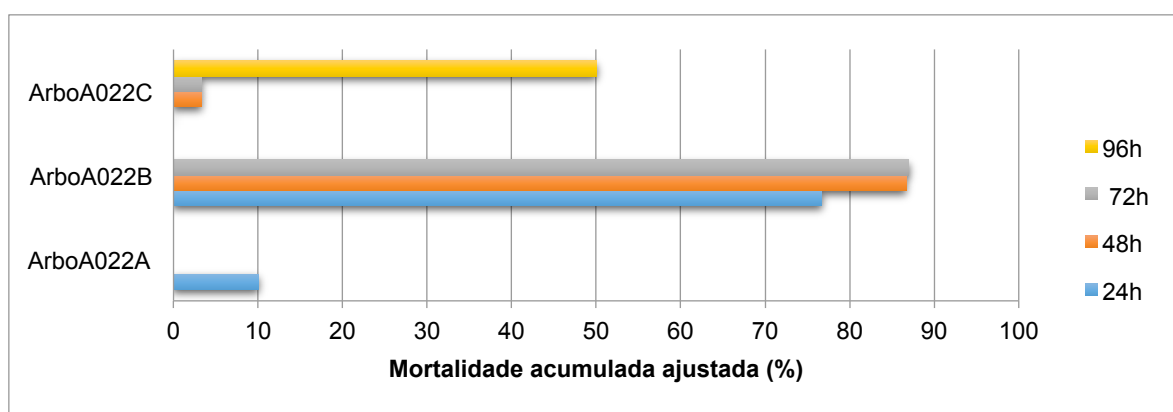
**Figura 11.** Atividade dos extratos de *Schinus terebinthifolia* a 250 µg/mL.

Os extratos ArboA017E, ArboA017F, ArboA017H e ArboA017N foram selecionados para realização de pré-fracionamento ao SPE-Diol por terem se mostrado muito ativos em larvas do 3º estágio de *Aedes aegypti*. Após o pré-fracionamento, cada extrato gerou cinco frações, descritas na Tabela 3, juntamente com a massa obtida de cada uma.

Solventes	Frações de ArboA017E		Frações de ArboA017F		Frações de ArboA017N		Frações de ArboA017H	
	Fração	Massa (mg)	Fração	Massa (mg)	Fração	Massa (mg)	Fração	Massa (mg)
HEX:DCM 9:1	ArboA022A	58,9	ArboA022F	35,7	ArboA022K	46,7	ArboA023F	18,0
DCM:EtOAc 20:1	ArboA022B	28,5	ArboA022G	43,6	ArboA022L	26,9	ArboA023G	41,5
EtOAc 100%	ArboA022C	15,9	ArboA022H	19,2	ArboA022M	18,8	ArboA023H	25,7
EtOAc:MeOH 5:1	ArboA022D	3,0	ArboA022I	5,0	ArboA022N	4,6	ArboA023I	6,8
MeOH 100%	ArboA022E	1,6	ArboA022J	2,7	ArboA022O	11,4	ArboA023J	2,4

**Tabela 3.** Frações resultantes do pré-fracionamento dos extratos ativos ArboA017E, ArboA017F, ArboA017N e ArboA017H.

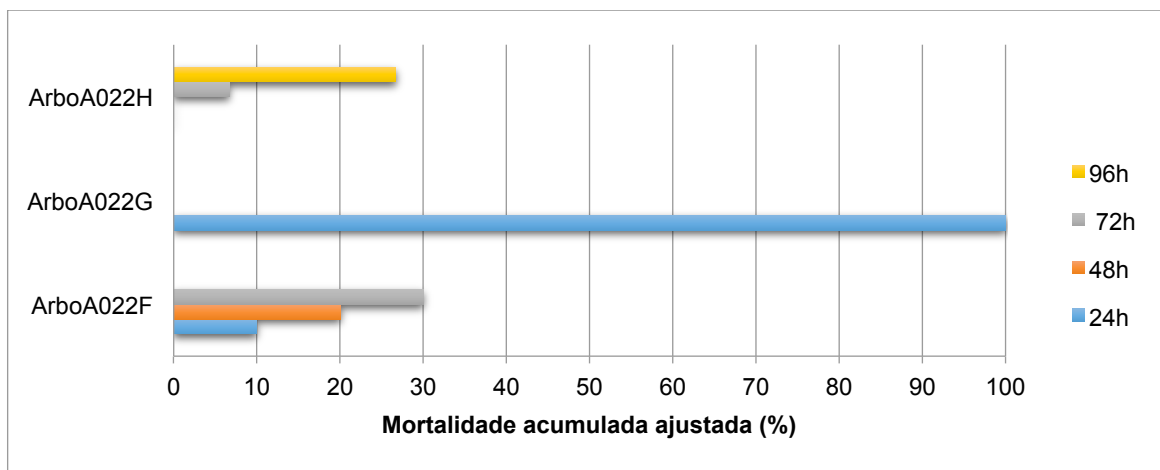
As frações para as quais se obteve massa suficiente (10 mg) foram testadas a 125 µg/mL. Portanto, do extrato ArboA017E, foram testadas as frações ArboA022A, ArboA022B e ArboA022C, das quais a ArboA022B foi a mais interessante, atingindo 87% de mortalidade após 72 horas.



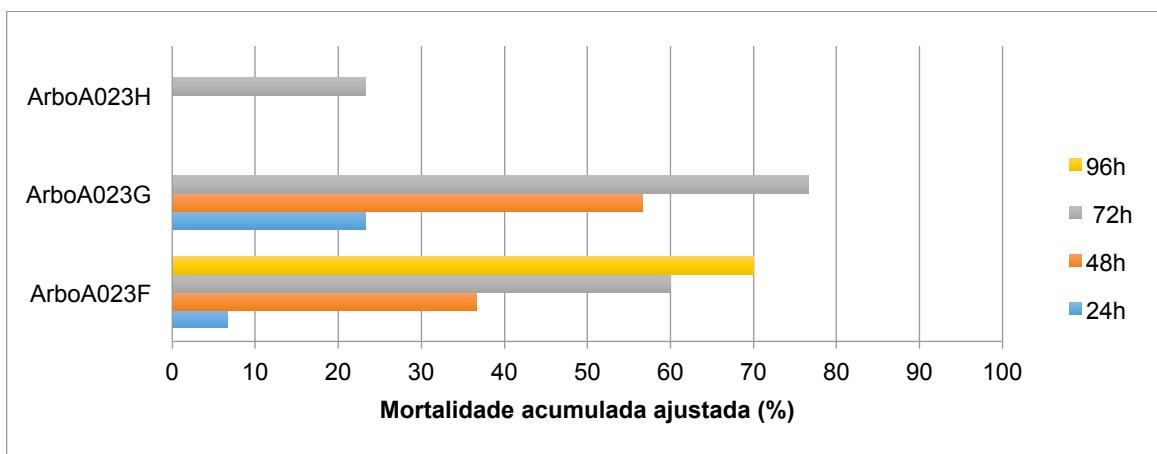
**Figura 12.** Atividade das frações do extrato ArboA017E a 125 µg/mL.

Do extrato ArboA017F foram realizados ensaios larvicidas com as frações ArboA022F, ArboA022G e ArboA022H. Destas, a fração ArboA022G se destacou, com 100% de mortalidade em 24 horas. Nenhuma das frações do extrato ArboA017H exibiu mortalidade superior a 90%. As frações mais ativas deste extrato foram ArboA023G, com mortalidade acumulada de quase 77% em 72 horas e ArboA023F, com 70% em 96 horas.

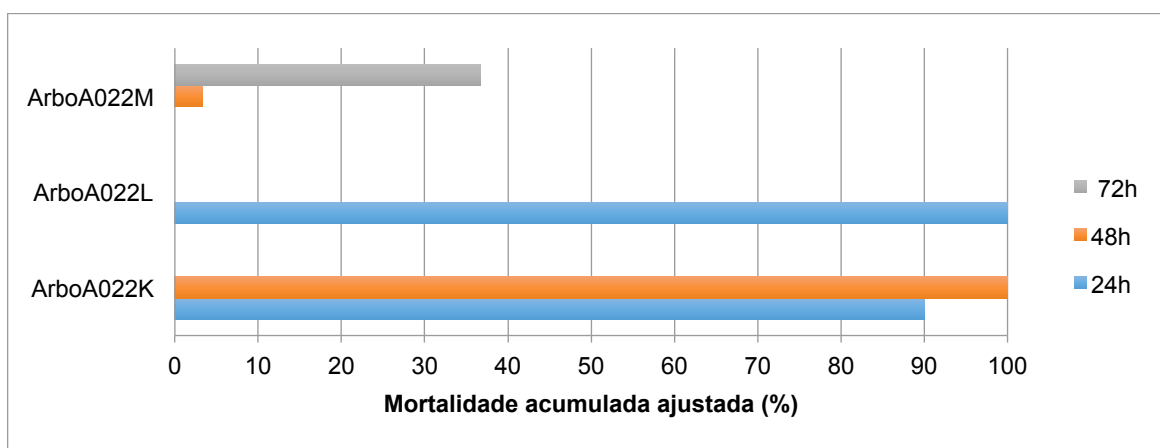
Do extrato ArboA017N duas frações se mostraram as mais interessantes: ArboA022L, que causou 100% de mortalidade em 24 horas, e ArboA022K, que apresentou 90% de mortalidade em 24 horas e completou 100% em 48 horas. Portanto, além de terem sido os extratos mais ativos a 500 µg/mL, tendo apresentado 100% de mortalidade em 24 horas, os extratos ArboA017F e ArboA017N também geraram as frações mais ativas, ArboA022G e ArboA022L, respectivamente. Sendo assim, mais uma vez, a atividade se concentrou nas frações mais apolares, mostrando que as substâncias com atividade larvicida são provavelmente apolares.



**Figura 13.** Atividade das frações do extrato ArboA017F a 125 µg/mL.



**Figura 14.** Atividade das frações do extrato ArboA017H a 125 µg/mL.



**Figura 15.** Atividade das frações do extrato ArboA017N a 125 µg/mL.

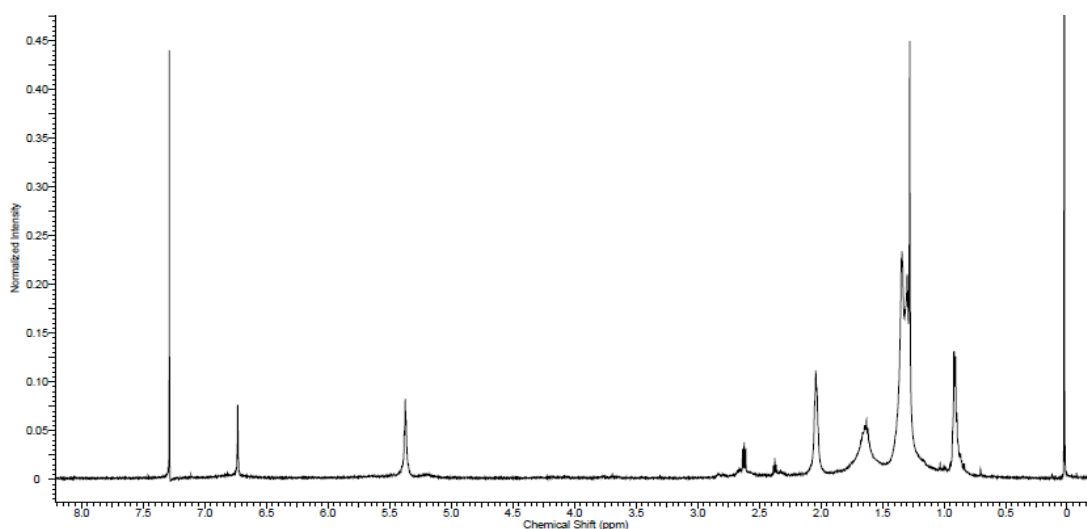
Coelho e colaboradores já haviam relatado atividade larvicida em *Ae. aegypti* de extratos diclorometânico e hexânicos, porém a atividade descrita tinha sido de aproximadamente 50% de mortalidade em 24 horas, na concentração de 500 µg/mL (Coelho et al., 2009). Neste estudo, o extrato diclorometânico (ArboA017F), na mesma concentração, se mostrou capaz de eliminar 100% das larvas em 24 horas, assim como a fração (ArboA022G) obtida em SPE-Diol por meio de mistura DCM:EtOAc 20:1. O extrato hexânico (ArboA017E) também demonstrou maior atividade larvicida neste estudo, eliminando 95% das larvas em 24 horas e o restante das 5% em 48 horas, completando 100% de mortalidade acumulada. Entretanto, suas frações não mostraram mortalidade superior a 90%.

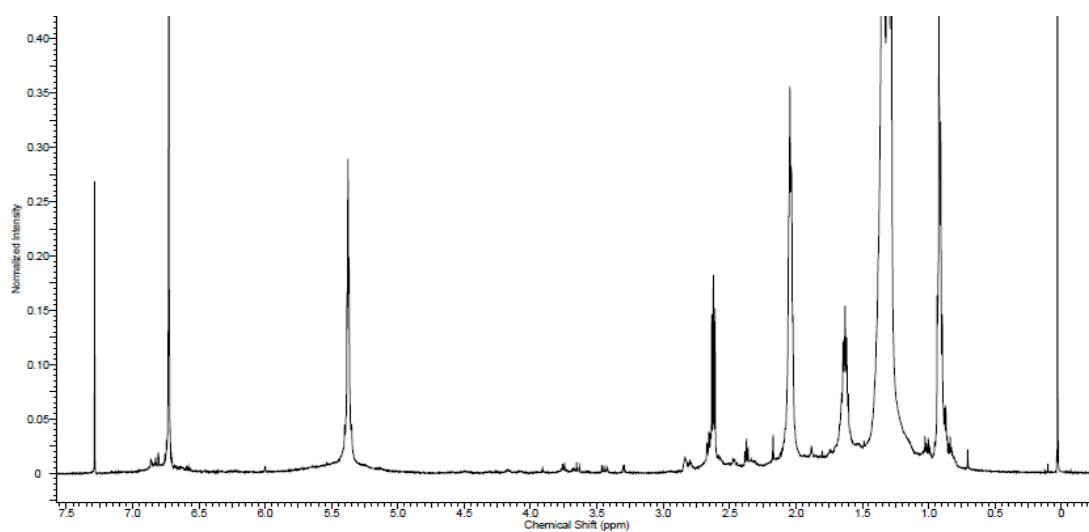
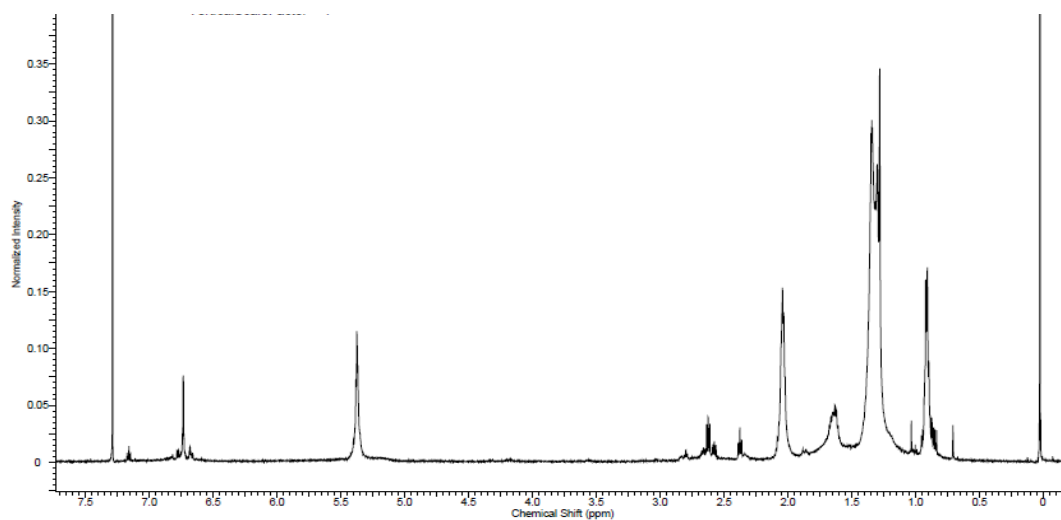
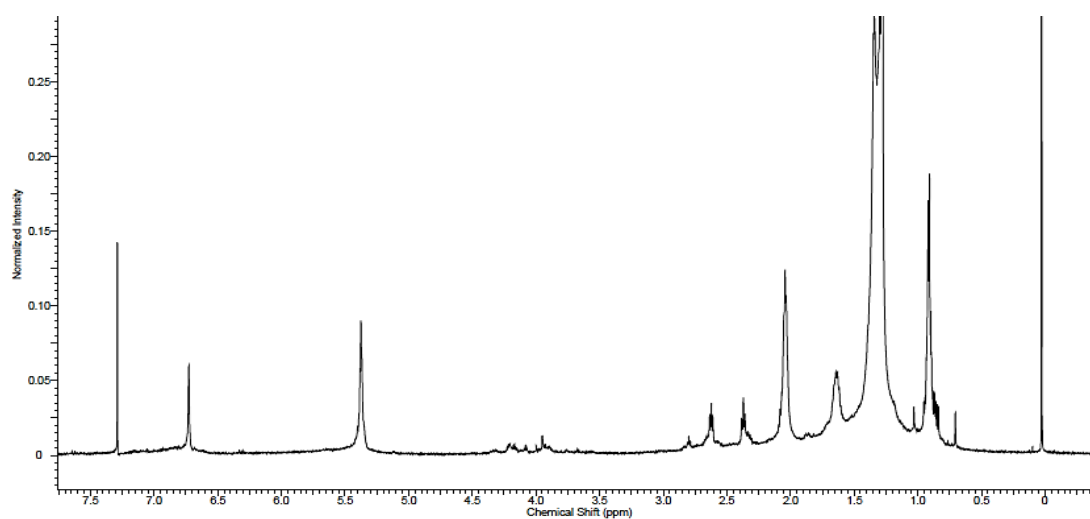
Tendo em vista que o estudo publicado por Coelho e colaboradores também foi realizado no Laboratório de Farmacognosia/UnB, utilizando extratos, provenientes do Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado, é possível descartar variáveis como a sazonalidade, a regionalidade e o método de extração como entendimento para a diferença de resultados encontrados.

## 5.2. ESPECTROS OBTIDOS POR RMN $^1\text{H}$

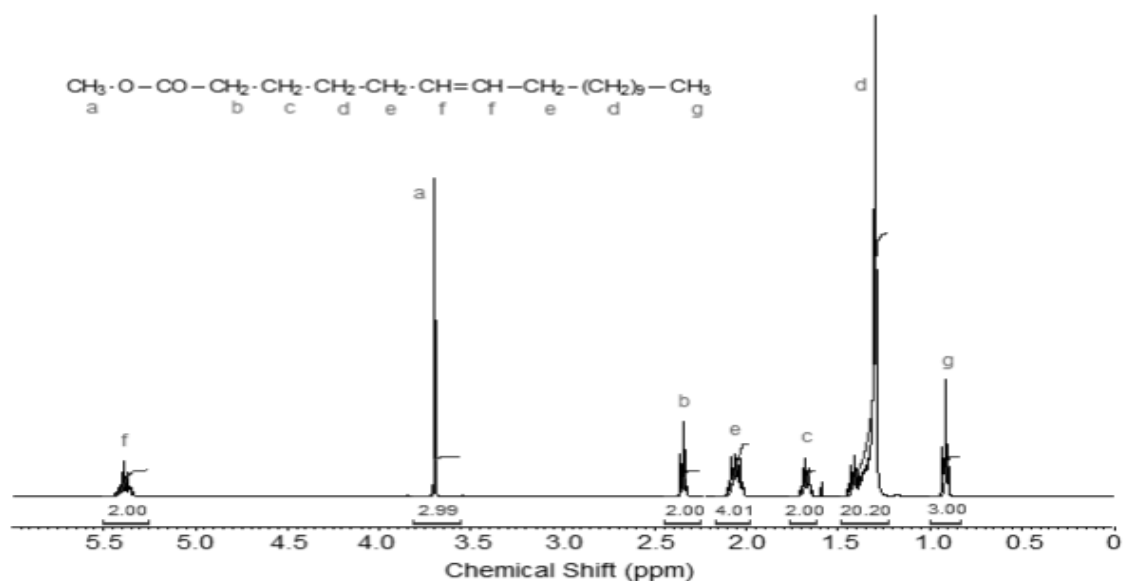
As frações mais interessantes sob o ponto de vista da atividade larvicida (ArboA022B, ArboA022G, ArboA022L e ArboA023G) foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ). Como pode ser observado nas Figuras 16 a 19, os espectros de todas as frações se mostraram muito semelhantes. Basicamente, sinais muito parecidos se repetiram em todos os espectros, de forma a sugerir a presença de substâncias majoritárias comuns em todas as frações.

O padrão exibido pelos sinais levou a crer que estas substâncias poderiam se tratar de ácidos graxos. Para confirmar esta hipótese, os sinais foram analisados individualmente e comparados com espectros referentes a ácidos graxos já publicados, como o espectro apresentado na Figura 20. Ácidos graxos, principalmente os insaturados, fornecem sinais específicos no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , que podem ser usados em sua determinação (Barison et al., 2010).



**Figura 16.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da fração ArboA022B.**Figura 17.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da fração ArboA022G.**Figura 18.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da fração ArboA022L.



**Figura 19.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da fração ArboA023G.**Figura 20.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de metil petroelinato (Fonte: Knothe, 2017).

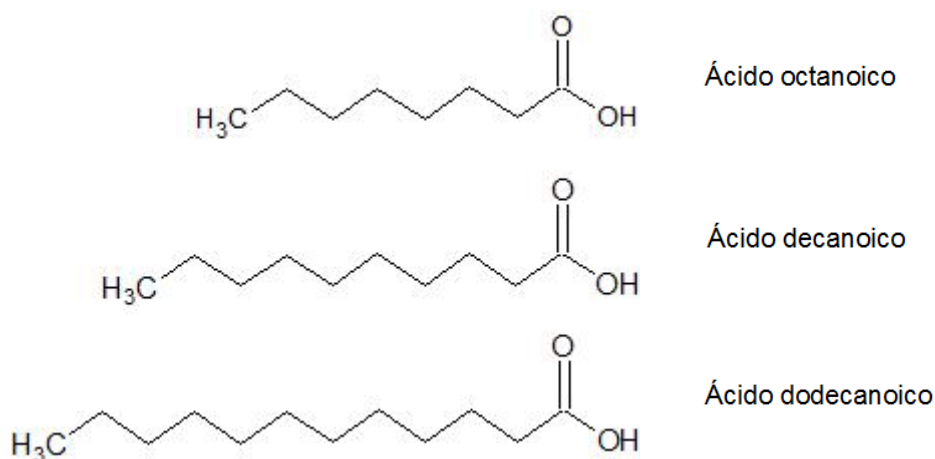
Ácidos graxos livres consistem de uma cadeia de átomos de carbono, ligados a átomos de hidrogênio. O número de átomos de carbono é variável, mas em sistemas biológicos este número costuma estar entre 10 e 28. Em uma das extremidades da cadeia carbônica costuma estar o grupo carboxila ( $-\text{COOH}$ ), e na outra, está um grupamento metil terminal ( $-\text{CH}_3$ ). A carboxila é hidrofílica e ionizada quando solubilizada em água, enquanto a cadeia carbônica é hidrofóbica, conferindo a esta molécula característica anfifílica (Desbois e Smith, 2010).

O sinal em 0,9 ppm pode indicar a presença de metil terminal. O sinal entre 1,0 e 1,5 ppm indica a presença de uma longa cadeia carbônica, enquanto o sinal em 2,05 ppm sugere a presença de hidrogênios alílicos (Knothe, 2017). Os hidrogênios adjacentes ao grupo carbonila costumam aparecer entre 2,1 e 2,5 ppm (Pavia, 2008), tendo aparecido em aproximadamente 2,35 ppm nos espectros das frações. A presença de sinal próximo a 5,3 ppm é típico de insaturação (Knothe, 2017), sugerindo que as amostras contenham ácidos graxos insaturados. Provavelmente, trata-se de ácidos graxos não esterificados, pois não apresentam a metila, que costuma gerar um sinal próximo a 4,0 ppm. Portanto,

a análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  obtidos das frações ativas sugere a presença majoritária de ácidos graxos insaturados, além de outras substâncias minoritárias.

Os resultados obtidos por meio da análise em RMN mostram que a atividade larvívica predominante em extratos e frações provenientes de hexano, diclorometano e acetato de etila pode estar relacionada à presença de ácidos graxos, que são frequentemente apontados como componentes ativos de produtos de origem natural (Desbois e Smith, 2010; Silva et al., 2017). Silva e colaboradores (2017) encontraram evidências de que extratos etanólicos de frutos e folhas de *S. terebinthifolia* possuem ácidos graxos com atividade antimicrobiana em *E. coli*. Alves e colaboradores (2017) associaram a presença de ácidos graxos à menor sobrevivência de mosquitos, já que o óleo de gergelim, rico em ácidos graxos insaturados, apresentou alta mortalidade em larvas de *Culex quinquefasciatus*.

Atividade larvívica também foi detectada em ácidos graxos isolados de *Syagrus coronata*, que também dificultaram o processo de oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti*. A atividade em larvas de *Ae. aegypti* foi atribuída à ação do ácido decanoico e ácido dodecanoico, enquanto o impedimento da oviposição está provavelmente relacionado à presença do ácido octanoico (Santos, 2017), mostrados na Figura 21. Perumalsamy e colaboradores (2015) verificou a ação larvívica de dois ácidos graxos extraídos de sementes de *Millettia pinnata* em três espécies de mosquitos, *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.



**Figura 21.** Estrutura química dos ácidos octanoico, decanoico e dodecanoico.

Os ácidos graxos apontados por Santos (2017) como responsáveis pela atividade larvicida são ambos ácidos graxos saturados. Os dados apresentados neste estudo mostram que ácidos graxos insaturados, provavelmente, também possuem ação larvicida.

Os resultados obtidos por Silva e colaboradores (2013) também demonstraram o potencial de ácidos graxos no combate a mosquitos. Seus dados sugerem que um éster metílico derivado de ácido graxo pode interagir diretamente com a enzima Na,K-ATPase. É possível que a modulação deste éster na atividade da Na,K-ATPase aconteça através de uma perturbação do microambiente da membrana plasmática, que, ao ser modificado, muda a disposição tridimensional da Na,K-ATPase e com isso altere sua atividade. O aumento da atividade desta enzima pode intensificar a necessidade de produção de ATP nas larvas, afetando o desenvolvimento larval (Silva et al., 2013).

Ácidos graxos também agem na membrana celular de bactérias, onde perturbam a cadeia de transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa e, desta forma, interferem com a produção celular de energia, resultando na morte ou inibição do crescimento destas bactérias. Além disso, é possível que os ácidos graxos também causem inibição da atividade enzimática, diminuição da absorção de nutrientes, geração de produtos de degradação ou lises direta das células (Desbois e Smith, 2010).

A presença abundante em fontes naturais, a não-toxicidade e a segurança são vantagens que tornam os ácidos graxos produtos atrativos para o desenvolvimento de formulações com atividade biológica (Desbois e Smith, 2010).

## 6. CONCLUSÃO

Extratos de *Schinus terebinthifolia* demonstraram ser uma potencial fonte de substâncias para ajudar no combate ao vetor *Aedes aegypti*. Dos 12 extratos testados, sete mostraram atividade larvicida, sendo eles os extratos ArboA017E, ArboA017F, ArboA017G, ArboA017H, ArboA017N, ArboA017K e ArboA017P. Estes resultados mostram que a ação larvicida se concentrou nos extratos de média a baixa polaridade.

Os extratos ArboA017E, ArboA017F, ArboA017N e ArboA017H foram fracionados em SPE-Diol e as frações mais ativas em larvas foram obtidas, respectivamente a partir desses quatro extratos: ArboA022B, ArboA022G, ArboA022L e ArboA023G. Os espectros em RMN <sup>1</sup>H dessas frações ativas demonstram a presença majoritária de ácidos graxos insaturados, indicando provável atividade larvicida desses compostos. A não-toxicidade, a segurança e presença abundante em fontes naturais são características vantajosas que fazem dos ácidos graxos produtos atrativos para o desenvolvimento de novas formulações com atividade biológica (Desbois e Smith, 2010).

Este trabalho está inserido em um projeto maior com perspectiva de testar os 12 extratos de *S. terebinthifolia* em ovos, larvas e pupas. Os extratos ativos serão pré-fracionados em SPE-Diol e as frações resultantes serão analisadas em RMN de hidrogênio e testadas nas outras formas imaturas. O fracionamento terá continuidade com as frações ativas usando Sephadex® LH-20, seguido do uso de sílica gel, e, se necessário, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), visando identificação e/ou isolamento de substâncias ativas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANHOLETI, M.C. et al. Biocontrol evaluation of extracts and a major component, clusianone, from *Clusia fluminensis* Planch. & Triana against *Aedes aegypti*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 110, n. 5, p. 629-635, 2015.

ABDOU, R.H.; SALEH, Sherif Y.; KHALIL, Waleed F. Toxicological and biochemical studies on *Schinus terebinthifolius* concerning its curative and hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced liver injury. Pharmacognosy magazine, v. 11, n. Suppl 1, p. S93, 2015.

ALVES, L. A. et al. Effect of *Schinus terebinthifolius* on *Candida albicans* growth kinetics, cell wall formation and micromorphology. Acta Odontologica Scandinavica, v. 71, n. 3-4, p. 965-971, 2013.

ALVES, M. S. et al. Composição e Toxicidade de Óleos Essenciais Testados por Fumigação Contra o *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) Praga do Feijão-Caupi Armazenado. Revista Virtual de Química, v. 7, n. 6, p. 2387-2399, 2015.

ALVES, S. N., DE SOUZA, T. N., GALDINO, A. S. Suscetibilidade de larvas do mosquito *Culex quinquefasciatus* após exposição a diferentes óleos. Conexão Ciência (Online), v. 12, n. 1, p. 86-93, 2017.

BAGATINI, J. A. *Schinus terebinthifolius* Raddi. Flora Digital. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. 2014. Disponível em: <[http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=11237](http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=11237)>. Acesso em: 10 out. 2017.

BANDEIRA, L. Polinésia Francesa também investiga má-formação de fetos após epidemia de zika. BBC Brasil em Londres, 2015. Disponível em: <[http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/11/151126\\_zika\\_gravidez\\_polinesia\\_lab](http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/11/151126_zika_gravidez_polinesia_lab)>. Acesso em: 29 nov. 2017.

BARBIERI, D.S.V. et al. Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. Archives of oral biology, v. 59, n. 9, p. 887-896, 2014.

BARBOSA, L.C.A. et al. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. Química Nova, v. 30, n. 8, p. 1959-1965, 2007.

BARISON, A. et al. A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. Magnetic Resonance in Chemistry, v. 48, n. 8, p. 642-650, 2010.

BENDAOUD, H. et al. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. Journal of food science, v. 75, n. 6, 2010.

BEZERRA-SILVA, P. C. et al. Extract of *Bowdichia virgilioides* and *maackiain* as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito. Experimental parasitology, v. 153, p. 160-164, 2015.

BIO-MANGUINHOS/FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Febre amarela: sintomas, transmissão e prevenção. Disponível em: <<https://www.bio.fiocruz.br/index.php/febre-amarela-sintomas-transmissao-e-prevencao>>. Acesso em: 22 out. 2016.

BORGAZ, C. Ministério da Saúde declara fim do surto de febre amarela. Ministério da Saúde, Brasília-DF, 2017. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/noticias-svs/29503-ministerio-da-saude-declara-fim-do-surto-de-febre-amarela>>. Acesso em: 5 nov. 2017.

BRAGA, I. A. et al. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 99, n. 2, p. 199-203, 2004.

BRAGA, I.A., VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 16, n. 4, p. 179-293, 2007.

BRAIBANTE, M.E.F; ZAPPE, J.A. A Química dos Agrotóxicos. Química Nova na Escola, v.34, n.1, p.10-15, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011.

BULLA, M. K. et al. Evaluation of Photoprotective potential and percutaneous penetration by photoacoustic spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius raddi* extract. Photochemistry and photobiology, v. 91, n. 3, p. 558-566, 2015.

CAMPESTRINI, S. *Schinus terebinthifolius* Raddi. Flora Digital. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. 2011. Disponível em: <[http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=5962](http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=5962)>. Acesso em: 10 out. 2017.

CAO-LORMEAU, V. et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. The Lancet, v. 387, n. 10027, p. 1531-1539, 2016.

CARVALHO, M. G. et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 15, n. 1, p. 158-169, 2013.

CAVALHER-MACHADO, S.C. et al. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. International immunopharmacology, v. 8, n. 11, p. 1552-1560, 2008.

CECÍLIO, A. B. et al. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. Journal of ethnopharmacology, v. 141, n. 3, p. 975-981, 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Mosquito Life-Cycle. Versão de setembro de 2012. Disponível em: <[https://www.cdc.gov/dengue/entomologyecology/m\\_lifecycle.html](https://www.cdc.gov/dengue/entomologyecology/m_lifecycle.html)>. Acesso em: 24 set. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Chikungunya Virus: Geographic Distribution. Versão de maio de 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html>>. Acesso em: 25 set. 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly — Brazil, 2015. Page last reviewed in September 8, 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6503e2.htm>>. Acesso em: 10 out. 2017.

CERUKS, M. et al. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 597, 2007.

CHEN, Z., WANG. Y. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples. *J. Chromatogr. A.*, v.754, p.367-395, 1996.

CHOUIN-CARNEIRO, T. e Santos, F.B. 2017. Transmission of Major Arboviruses in Brazil: The Role of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Vectors, Biological Control of Pest and Vector Insects, Dr Vonnie Shields (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/66946. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/biological-control-of-pest-and-vector-insects/transmission-of-major-arboviruses-in-brazil-the-role-of-aedes-aegypti-and-aedes-albopictus-vectors>>. Acesso em: 06 nov. 2017.

COELHO, A.A.M., PAULA, J.E., ESPINDOLA, L.S. Atividade larvicida de extratos vegetais sobre *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae), em condições de laboratório. *BioAssay*, v. 4, 2009.

CUGOLA, F.R. et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*, v. 534, n. 7606, p. 267-271, 2016.

DA SILVA GÓIS, R. W. et al. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of pacharin from *Bauhinia acuruana*. *Parasitology research*, v. 112, n. 7, p. 2753-2757, 2013.

DE LIMA, M.R.F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, v. 105, n. 1, p. 137-147, 2006.

DE MENDONÇA, F.A.C. et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, v. 76, n. 7, p. 629-636, 2005.

DE MENEZES TORRES, K. A., LIMA, S.M.R.R., UEDA, S.M.Y. Activity of the aqueous extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi on strains of the *Candida* genus. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia/RBGO Gynecology and Obstetrics*, v. 38, n. 12, p. 593-599, 2016.

DEPARTMENT MEDICAL ENTOMOLOGY. *Aedes aegypti* larvae. 2008. Disponível em: <<http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/>>. Acesso em: 09 out. 2017.

DESBOIS, A. P., SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 85, n. 6, p. 1629-1642, 2010.

DIAS, C. N., MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides. *Parasitology research*, v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014.

DOS SANTOS, A. C. A. et al. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Farmacogn*, v. 20, p. 154-159, 2010.

D'SOUSA-COSTA, C. O. et al. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of extracts prepared from different tissues of *Schinus terebinthifolius* Raddi that occurs in the coast of Bahia, Brazil. *Pharmacognosy magazine*, v. 11, n. 43, p. 607, 2015

DUSFOUR, I. et al. Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations compromises the effectiveness of dengue vector control in French Guiana. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 106, n. 3, p. 346-352, 2011.

ELANGO, G. et al. Oviposition-deterrent, ovicidal, and repellent activities of indigenous plant extracts against *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, v. 105, n. 6, p. 1567-1576, 2009.

ESTEVIÃO, L.R.M. et al. Effects of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats. *Acta cirurgica brasileira*, v. 28, n. 3, p. 202-209, 2013.

ESTEVIÃO, L.R.M. et al. Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Acta cirurgica brasileira*, v. 30, n. 4, p. 289-295, 2015.

FEDEL-MIYASATO, L. E. et al. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: a comparative study. *Genet Mol Res*, v. 13, p. 3411-25, 2014.

FICOSECO, A. M. E. et al. Antifungal and antimycotoxigenic metabolites in Anacardiaceae species from northwest Argentina: isolation, identification and potential for control of *Fusarium* species. *Journal of applied microbiology*, v. 116, n. 5, p. 1262-1273, 2014.

FREIRES, I.A. et al. A randomized clinical trial of *Schinus terebinthifolius* mouthwash to treat biofilm-induced gingivitis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, 2013.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). Manejo da Dengue. 2001. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man\\_dengue.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf)>. Acesso em: 27 out. 2016.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Biologia do *Aedes aegypti*. Disponível em: <<http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=1407&sid=8>>. Acesso em: 22 out. 2016.

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

GARCEZ, P.P. et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science*, v. 352, n. 6287, p. 816-818, 2016.

GERIS, R. et al. Bioactive natural products as potential candidates to control *Aedes aegypti*, the vector of dengue. *Studies in natural products chemistry*, v. 37, p. 277-376, 2012.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. *Journal of applied microbiology*, v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013.

GOMES, F.S. Purificação e caracterização de lectinas e inibidor de tripsina presentes em tecidos de *Myracrodruon urundeuva* e *Schinus terebinthifolius*: ação antimicrobiana de preparações. 2013.



HARRIS, A. F.; RAJATILEKA, Shavanthi; RANSON, Hilary. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, v. 83, n. 2, p. 277-284, 2010.

HUGHES, R.A.C., SWAN, A. V.; VAN DOORN, P. A. Intravenous immunoglobulin for Guillain-Barré syndrome. *The Cochrane Library*, 2014.

IBRAHIM, M. T.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* raddi oils. *Bull Fac Pharm*, v. 42, p. 289-296, 2004.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ/FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (IOC/Fiocruz). Dengue, Vírus e vetor: *A. aegypti* x Pernilongo Doméstico. 2017a. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/aedexculex.html>>. Acesso em: 09 out. 2017.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ/FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Dengue, Vírus e vetor: O vírus. 2017b. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/sobreovirus.html>>. Acesso em: 17 ago. 2017.

JAIN, M.K. et al. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry*, v. 39, n. 3, p. 537-547, 1995.

JOHANN, S. et al. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, v. 9, n. 1, p. 30, 2010.

KNOTHE, G. <sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy of Fatty Acids and Their Derivatives. 2017. Disponível em: <<http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40261>>. Acesso em: 31 out. 2017.

KOOU, S.Y. et al. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae) from Singapore. *Journal of medical entomology*, v. 51, n. 1, p. 170-181, 2014.

LIMA, E.P. et al. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 39, n. 3, p. 259-63, 2006.

LIMA, L. B. et al. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 126, p. 468-73, 2009.

LINDENMAIER, D. S. Etnobotânica em comunidades indígenas Guaranis no Rio Grande do Sul. Santa Cruz do Sul: Universidade de Santa Cruz do Sul, 2008.

LORENZI H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum; 2008.

LÚCIO, A. A. et al. Determinação da composição química do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia). *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v. 38, 2017.

MATSUO, A. L. et al.  $\alpha$ -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 411, n. 2, p. 449-454, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dicas em Saúde. Dengue. 2007. Disponível em: <<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/33dengue.html>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue. Disponível em: <[www.saude.gov.br/dengue-descricao-da-doenca](http://www.saude.gov.br/dengue-descricao-da-doenca)>. Acesso em 23 out. 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Prevenção e combate Dengue, Zika e chikungunya. 2016b. Disponível em: <<http://combateaedes.saude.gov.br/pt/tira-duvidas#content>>. Acesso em: 22 out. 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informações técnicas Febre Amarela. 2017a. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/informacoes-tecnicas-febre-amarela>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME). 2017b. Brasília – DF. 2017. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao\\_nacional\\_medicamentos\\_rename\\_2017.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_nacional_medicamentos_rename_2017.pdf)>. Acesso em: 26 out. 2017.

MLAKAR, J. et al. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med*, v. 2016, n. 374, p. 951-958, 2016.

MORAIS, T. R. et al. Antiparasitic activity of natural and semi-synthetic tirucallane triterpenoids from *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae): structure/activity relationships. *Molecules*, v. 19, n. 5, p. 5761-5776, 2014.

MOYES, C. L. et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 11, n. 7, p. e0005625, 2017.

NASUTI, C. et al. Different effects of Type I and Type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology*, v. 191, n. 2, p. 233-244, 2003.

NASUTI, C., CANTALAMESSA, F., FALCIONI, G., GABBIANELLI, R. Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology*, v.191, n.2-3, p.233-244, 2003.

NUNES-NETO, P.A. et al. The Effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) Bark Extract on Histamine-Induced Paw Edema and Ileum Smooth Muscle Contraction. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, 2017.

OLMO, I.G. et al. Zika Virus Promotes neuronal cell Death in a non-cell autonomous Manner by Triggering the release of neurotoxic Factors. *Frontiers in Immunology*, v. 8, p. 1016, 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Zika situation report. 2016a. Disponível em: <<http://www.who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/17-march-2016>>. Acesso em: 04 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Doença do vírus Zika. 2016b. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/pt/>>. Acesso em: 18 out. 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Microcefalia. 2016c. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/microcephaly/pt/>>. Acesso em: 23 out. 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Síndrome de Guillain-Barré. 2016d. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/guillain-barre-syndrome/pt/>>. Acesso em: 22 out. 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Estudio sobre la persistencia del virus de Zika en los líquidos corporales. 2017a. Disponível em: <<http://www.who.int/features/2017/zika-study/es/>>. Acesso em: 10 out. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Chikungunya. 2017b. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/>>. Acesso em: 25 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Epidemiological alert. Increase in microcephaly in the northeast of Brazil—epidemiological alert. Washington DC: World Health Organization, Pan American Health Organization; 2015. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=32636&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=32636&lang=en)>. Acesso em: 10 out. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Zika Vírus: Microcefalia, Sintomas e Tratamentos. 2016. Disponível em: <<http://www.opas.org.br/zika-virus-microcefalia-sintomas-e-tratamentos/>>. Acesso em: 10 out. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2016a. WHO report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases. 2016a. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11780%3AScientists-studying-intensified-vector-control-measures-to-combat-zika-dengue-chikungunya-americas&catid=740%3Apress-releases&Itemid=1926&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11780%3AScientists-studying-intensified-vector-control-measures-to-combat-zika-dengue-chikungunya-americas&catid=740%3Apress-releases&Itemid=1926&lang=es)>. Acesso em 28 ago. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2016b. Zika – Epidemiological Update. 2016b. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=36436&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=36436&lang=en)>. Acesso em: 04 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2016c. Number of Reported Cases of Chikungunya Fever in the Americas, by Country or Territory. 2015 (to week noted). Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=rdmore&cid=7929&Itemid=40931](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rdmore&cid=7929&Itemid=40931)>. Acesso em: 04 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OPAS/OMS). Hoje informativa Chikungunya. 2016d. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=8303&Itemid=40023&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=8303&Itemid=40023&lang=es)>. Acesso em: 25 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2017a. Number of Reported Cases of Dengue and Severe Dengue (SD) in the Americas, by Country: Figures for 2017 (to week noted by each country). Epidemiological Week / EW 31 (Updated August 18, 2017). Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=readall&cid=3274&Itemid=40734&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=readall&cid=3274&Itemid=40734&lang=es)>. Acesso em: 24 ago. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2017b. Zika cases and congenital syndrome associated with Zika virus reported by countries and territories in the Americas, 2015 – 2017. Cumulative cases. Data as of 05 October 2017 2:00 PM EST. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=42362&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=42362&lang=en)>. Acesso em: 08 out. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2017c. Chikungunya: Data, Maps and Statistics. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=readall&cid=5927&Itemid=40931&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=readall&cid=5927&Itemid=40931&lang=en)>. Acesso em: 07 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2017d. OPAS/OMS divulga alerta epidemiológico sobre febre amarela para as Américas. Disponível em: <[http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5329:opas-oms-divulga-alerta-epidemiologico-sobre-febre-amarela-para-as-americas&Itemid=812](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5329:opas-oms-divulga-alerta-epidemiologico-sobre-febre-amarela-para-as-americas&Itemid=812)>. Acesso em: 14 ago. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2017e. Información general: Dengue. Disponível em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=4493&Itemid=40232&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4493&Itemid=40232&lang=es)>. Acesso em: 17 ago. 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 2017f. OPAS e OMS emitem comunicados sobre febre amarela no Brasil. Disponível em: <[http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5337:opas-e-oms-emitem-comunicados-sobre-febre-amarela-no-brasil&Itemid=812](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5337:opas-e-oms-emitem-comunicados-sobre-febre-amarela-no-brasil&Itemid=812)>. Acesso em: 14 ago. 2017.

PARRA, B. et al. Guillain–Barré syndrome associated with Zika virus infection in Colombia. *New England Journal of Medicine*, v. 375, n. 16, p. 1513-1523, 2016.

PAVIA, D. L. et al. *Introdução à Espectroscopia*. Cengage Learning, 2008.

PAWLOWSKI, Â. et al. Essential oils of *Schinus terebinthifolius* and *S. molle* (Anacardiaceae): Mitodepressive and aneugenic inducers in onion and lettuce root meristems. *South african journal of botany*, v. 80, p. 96-103, 2012.

PRATTI, D. L. A. et al. Mechanistic basis for morphological damage induced by essential oil from Brazilian pepper tree, *Schinus terebinthifolia*, on larvae of *Stegomyia aegypti*, the dengue vector. *Parasites & vectors*, v. 8, n. 1, p. 136, 2015.

PERUMALSAMY, H. et al. Larvicidal activity and possible mode of action of four flavonoids and two fatty acids identified in *Millettia pinnata* seed toward three mosquito species. *Parasites & vectors*, v. 8, n. 1, p. 237, 2015.

PROCÓPIO, T. F. et al. *Schinus terebinthifolius* leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae. *PLoS one*, v. 10, n. 5, p. e0126612, 2015.

ROSAS, E. C. et al. Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis. *Journal of ethnopharmacology*, v. 175, p. 490-498, 2015.

ROY, A., SARAF, S. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 29, n. 2, p. 191-201, 2006.

SANTANA, J. S. et al. Isolamento e avaliação do potencial citotóxico de derivados fenólicos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Química Nova*, 2012.

SANTANA, J. S. et al. Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves—chemical composition and in vitro cytotoxicity evaluation. *Pharmaceutical Biology*, v. 50, n. 10, p. 1248-1253, 2012.

SANTOS, R. P. et al. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, n. 5, p. 1027-1030, 2006.

SANTOS, MAT dos, AREAS, M. A., REYES, F. G. R. Piretróides—uma visão geral. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.

SANTOS, O. J. et al. Influence of *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) and *Carapa guianensis* Aublet (andiroba) in the healing process of gastrorrhaphies. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, v. 26, n. 2, p. 84-91, 2013.

SANTOS, L. M. M et al. Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2017.

SARMENTO, U. C. et al. Larvicidal efficacies of plants from Midwestern Brazil: melianodiol from *Guarea kunthiana* as a potential biopesticide against *Aedes aegypti*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, n. AHEAD, p. 0-0, 2016.

SARTORELLI, P. et al. In vitro trypanocidal evaluation of pinane derivatives from essential oils of ripe fruits from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Química Nova*, v. 35, n. 4, p. 743-747, 2012.

SILVA, A. G. et al. The essential oil of Brazilian pepper, *Schinus terebinthifolia* Raddi in larval control of *Stegomyia aegypti* (Linnaeus, 1762). *Parasites & vectors*, v. 3, n. 1, p. 79, 2010.

SILVA, L. N. D. et al. Avaliação do efeito de dois ésteres metílicos de ácidos graxos na atividade da Na, K-ATPase e no perfil bioquímico de larvas de *Culex quinquefasciatus*. *BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports*, v. 2, n. 2esp, p. 54-56, 2013.

SMITH, L. B., KASAI, S., SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pesticide biochemistry and physiology*, v. 133, p. 1-12, 2016.

SOARES, F. S. C. et al. Inseticidas botânicos: extração, identificação de metabólitos secundários e aplicação no controle de pragas. *Avanços Tecnológicos Aplicados à Pesquisa na Produção Vegetal*, p. 219, 2015.

SOUZA, V. C. e LORENZI, H. *Botânica Sistemática: ilustrado para identificação das espécies Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, Nova Odessa. 2005.

SPENCER, C. I. et al. Actions of pyrethroid insecticides on sodium currents, action potentials, and contractile rhythm in isolated mammalian ventricular myocytes and perfused hearts. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 298, n. 3, p. 1067-1082, 2001.

STAPPEN, I. et al. Chemical composition and biological effects of *Artemisia maritima* and *Artemisia nilagirica* essential oils from wild plants of western Himalaya. *Planta medica*, v. 80, n. 13, p. 1079-1087, 2014.

ULIANA, M. P. et al. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. *Industrial Crops and Products*, v. 83, p. 235-240, 2016.

VALENTINE, W. M. Toxicology of selected pesticides, drugs, and chemicals. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, v.20, n.2, p.375-382, 1990.

VAN DEN BERG, B. et al. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nature Reviews Neurology*, v. 10, n. 8, p. 469-482, 2014.

VIEIRA, D. R. P. et al. Plant species used in dental diseases: ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. *Journal of ethnopharmacology*, v. 155, n. 3, p. 1441-1449, 2014.

VIEIRA, G./INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Dengue: prevenção deve priorizar a eliminação de focos do *Aedes aegypti*. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=336&sid=32>>. Acesso em: 06 dez. 2017.

WILLISON, H. J., JACOBS, B.C., VAN DOORN, P.A. Guillain-Barré syndrome. *The Lancet*, v. 388, n. 10045, p. 717-727, 2016.

YUKI, N., HARTUNG, H. Guillain-Barré syndrome. *New England Journal of Medicine*, v. 366, n. 24, p. 2294-2304, 2012.