



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
CITOTÓXICA, INSETICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS VEGETAIS DAS
FOLHAS DE *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass E *Tithonia
diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (ASTERACEAE) CONTRA *Aedes aegypti*.**

MAYARA TANIA PINHEIRO

Macapá

2016

MAYARA TANIA PINHEIRO

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
CITOTÓXICA, INSETICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS VEGETAIS DAS
FOLHAS DE *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass E *Tithonia
diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (ASTERACEAE) CONTRA *Aedes aegypti*.**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida.

**Macapá
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

620.8

P654a Pinheiro, Mayara Tania.

Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e repelente de extratos vegetais das folhas de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (*Kunth*) Cass e *Tithonia diversifolia* (*Hemsl.*) A. Gray (Asteraceae) contra *Aedes aegypti* / Mayara Tania Pinheiro; orientador, Sheylla Susan Moreira da Silva Almeida. – Macapá, 2016.

148 f.

Tese (doutorado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal- BIONORTE.

1. Biotecnologia farmacêutica. 2. Produtos naturais. 3. Inseticidas vegetais. I. Almeida, Sheylla Susan Moreira da Silva, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

MAYARA TANIA PINHEIRO

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,
CITOTÓXICA, INSETICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS VEGETAIS DAS
FOLHAS DE *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass E *Tithonia
diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (ASTERACEAE) CONTRA *Aedes aegypti*.**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida.

Data da aprovação: 29 de Fevereiro de 2015.

Banca examinadora

Profa. Dra. Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida/ PPGBionorte-Amapá
Presidente da banca

Prof. Dr. Marcos Tavares Dias
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) / PPGBionorte-Amapá

Prof. Dr. Breno Marques da Silva e Silva Pasteur
Universidade do Estado do Amapá- UEAP/ PPGBionorte-Amapá

Prof. Dr. Jardel Pinto Barbosa Watson
Universidade do Estado do Amapá- UEAP/ PPGBionorte-Amapá

Profa. Dra. Patrícia Verardi Abdelnur
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA- DF) / Membro externo

Macapá

2016

Todo o esforço e luta para a conclusão deste trabalho dedico à minha mãe Rose Pinheiro, meu amado irmão Mayco Pinheiro e ao meu presente de Deus, meu esposo e companheiro Everton Gomes, que tiveram que suportar minha ausência, lágrimas e angustias durante a realização deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus de Israel, Onisciente, Onipresente e Onipotente. Amém!

A Universidade Federal do Amapá, através do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal –BIONORTE.

Ao coordenador geral da Rede Bionorte Professor Doutor Spartacus Astolfi Filho, que não mediu esforços em sua gestão para garantir qualidade ao programa, juntamente com toda sua equipe.

Ao Professor Doutor José Carlos Tavares Carvalho, responsável pelo incentivo para realização do doutorado.

A Profa. Dra. Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida, na figura de coordenadora regional do programa e posteriormente como Orientadora e Amiga, que no momento em que pensei em desistir e abandonar tudo me estendeu a mão e ajudou a olhar novamente para cima. Palavras não são suficientes para explicar.

Ao Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra, grande amigo, ético e sensato nas palavras, que sempre me adicionou de bons conselhos.

Ao Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto, pelo acolhimento no Arthrolab, pelos conhecimentos compartilhados, a ética profissional e por todo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Raullyan Silva, pelas palavras amigas nas horas difíceis pelas preciosas correções em várias etapas do trabalho.

Ao Doutorando Patrick de Castro Cantuária, curador do HAMAB/IEPA, pela identificação das espécies vegetal e compromisso na sinonímia científica correta.

Aos meus alunos de iniciação científica Deisiane Del Castillo e Christopher Perna, sem vocês o que seria de mim para realização deste trabalho; pois, com vocês aprendi muito!

Ao novos amigos e irmão científicos que não mediram esforços para tudo sair no prazo, Ryan Ramos, Rosany Martins, Ana Luzia Farias a vocês todo o meu carinho e dedicação. E ao grande companheiro Alex Rodrigues que compartilhou vários domingos de muito experimento e a toda paciência em me ensinar e tirar minhas dúvidas.

Aos técnicos Francinaldo Braga, Karen Carmo, Rodrigo e Adriana Marciel e a todos que direta e indiretamente participaram no andamento desta pesquisa e finalização deste trabalho.

A todos os colegas da primeira turma de doutorado da Bionorte, turma 2012.

Aos colegas professores (as) da UNIFAP, Dr. Cleydson Breno, Msc. Carolina Miranda, Msc. Mayara Teles, Dr. Francisco Fábio, Dra. Elizabeth Viana, Msc. Hugo Favacho e Dra. Jocivânia Oliveira amigos mais chegados que irmãos.

Pela grande companheira e amiga Profa. Dra. Clarissa Silva Lima, pelas palavras de ânimo e estímulo.

A Prof. Ms. Beatriz Sá, pelo carinho e proteção juntamente com os amigos do laboratório de pesquisa em Fármacos.

A secretária regional Vilmara Gomes, por sua gentileza, carinho e sempre com um sorriso no rosto para nos receber e ajudar nesta etapa importante de minha vida.

Aos meus alunos do curso de farmácia e biologia da UNIFAP que torceram diretamente pela conclusão desse processo, em especial Luana Karine Gonçalves e Nayara Raulino.

A minha irmã e mãe de criação Maria Madalena Sousa, mulher simples e verdadeira.

Aos amigos que a vida uniu e que de alguma forma contribuíram para execução deste trabalho, meu muitíssimo OBRIGADA!

"Não tô mandei eu? Sê forte e corajoso; não temas, nem te espantes, porque o SENHOR, teu Deus, é contigo por onde quer que andares." Josué 1:9

RESUMO

PINHEIRO, Mayara Tania. **AValiação fitoquímica e da atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e repelente de extratos vegetais das folhas de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass e *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (ASTERACEAE) CONTRA *Aedes aegypti***. 2016. 148f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2016.

O objetivo desta pesquisa foi investigar a composição química dos extratos vegetais das folhas *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*, avaliar a atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e repelente em *Aedes aegypti*. Os extratos brutos aquosos e etanólicos foram obtidos das folhas, a análise fitoquímica das classes de metabólitos secundários foi realizada por reações de coloração e precipitação, a atividade antioxidante foi avaliada a partir do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila, a atividade citotóxica foi avaliada em *Artemia salina*, e as atividades inseticida e repelente seguiram o protocolo padrão indicado pela Organização Mundial da Saúde. A composição fitoquímica indicou 10 classes de metabólitos para os extratos aquosos e 12 para os extratos etanólicos. Onde saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, fenóis, taninos e alcaloides foram encontrados tanto nos extratos aquosos como etanólicos das três espécies, enquanto que heterosídeos cianogênicos e resinas foram encontrados apenas nos extratos aquosos de *A. oleracea* e *T. diversifolia*, esteroides e triterpenos no extrato aquoso e etanólico de *A. oleracea* e cumarinas no extrato aquoso e etanólico de *A. ciliata*. Os metabólitos resinas, proteínas e aminoácidos foram encontrados nos três extratos etanólicos e depsídeos e depsídonas somente no extrato etanólico de *A. ciliata*. Os dados indicam forte similaridade na composição química em função das classes de metabólitos dentro da família Asteraceae, com variações pontuais que podem ter sido influenciadas por fatores abióticos, método extrativo e polaridade dos solventes. A avaliação da atividade antioxidante indicou a melhor atividade antioxidante para os extratos aquosos de *A. ciliata* e *T. diversifolia* com percentual de redução antioxidante igual $84,0\% \pm 2,54$ e $93,0\% \pm 0,72$, respectivamente. Enquanto para o extrato etanólico $86,3\% \pm 0,82$ e $96,1\% \pm 3,75$ para *A. oleracea* e *T. diversifolia*, respectivamente. O bioensaio de atividade citotóxica para *Artemia salina*, demonstrou ausência ou baixa atividade citotóxica para as espécies, com melhor atividade para o extrato bruto aquoso de *Acmella oleracea* com CL_{50} igual $700\mu\text{g/mL}$. A prospecção fitoquímica atestou compostos com atividade citotóxica comprovada, o que não descarta a presença de tal atividade nas espécies. O bioensaio de atividade inseticida em larvas de *A. aegypti* demonstrou potencial atividade larvicida do extrato bruto aquoso de *A. ciliata* nos períodos 24 horas com 76,80% e 48 horas com 92,86% de mortalidade. Seguido do extrato etanólico de *A. oleracea* com índice de mortalidade de 70,69% em 24 horas e 76,59 e, 48 horas. Em relação a atividade inseticida sobre mosquitos adultos de *A. aegypti*, foi observado melhor susceptibilidade ao extrato bruto aquoso de *A. oleracea*, indicando $CL_{50} = 548 \text{ mg/mL}$ para os períodos de avaliação de 24 e 48 horas. Para o teste de atividade repelente observou-se que os três extratos aquosos apresentaram potencial repelente, porém a proteção mais duradoura foi observada para a espécie *A. ciliata*. Conclui-se que as espécies vegetais são promissoras fontes de compostos antioxidantes, citotóxicos e inseticidas naturais no controle de imaturos e insetos adultos de *A. aegypti*.

Palavras chaves: *Acmella*, *Tithonia*, fitoquímica, inseticida e *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

PINHEIRO, Mayara Tania. **PHYTOCHEMICAL, CYTOTOXIC, INSECTICIDE, VEGETABLE EXTRACTS REPELLENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY EVALUATION OF THE LEAVES FROM *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass AND *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (ASTERACEAE) AGAINST *Aedes aegypti*.** 2016. 148f. Thesis (Ph.D.) - University of Amapa, Macapa, 2016.

The objective of this research was to investigate the chemical composition of plant extracts from leaves of *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata*, and *Tithonia diversifolia*, evaluating the antioxidant, cytotoxic, insecticide and repellent activity in *Aedes aegypti*. Aqueous and ethanolic crude extracts were obtained from the leaves. The phytochemical analysis of secondary metabolites classes was performed by staining reactions and precipitation. The antioxidant activity was evaluated from free radical sequestration 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine. The cytotoxic activity was evaluated in *Artemia salina*, and the insecticide and insect repellent activity followed the standard protocol stated by the World Health Organization. The phytochemical composition indicated 10 metabolites classes for aqueous extracts and 12 to the ethanol extracts. Where saponins, organic acids, reducing sugars, phenols, tannins and alkaloids were found in both aqueous and ethanolic extracts of the three species, while cyanogenic glycosides and resins were found only in aqueous extracts of *A. oleracea*, and *T. diversifolia* steroids and triterpenoids in aqueous and ethanol extract of *A. oleracea* and coumarins in aqueous and ethanol extract of *A. ciliata*. The resins metabolites, proteins, and amino acids were found in the three ethanol extracts and depsides and depsidonas only in the ethanol extract of *A. ciliata*. The data indicate a strong similarity in chemical composition depending on the metabolite classes in the Asteraceae family, with occasional variations that may have been influenced by abiotic factors, extraction method and polarity of solvents. The evaluation of the antioxidant activity showed the best antioxidant activity for aqueous extracts of *A. ciliata* and *T. diversifolia* with antioxidant reduction percentage equal to $84.0\% \pm 2.54$ and $93.0 \pm 0.72\%$, respectively. While for the ethanol extract $86.3\% \pm 0.82$ and $96.1 \pm 3.75\%$ for *A. oleracea* and *T. diversifolia* respectively. The bioassay of cytotoxic activity for *Artemia salina*, showed absence or low cytotoxic activity for the species with the best activity for the aqueous crude extract of *A. oleracea* with LC_{50} equal $700\mu\text{g} / \text{mL}$. The phytochemical vouched compounds with cytotoxic activity proven, that does not rule the presence of such activity in the species. The insecticidal activity bioassay in *A. aegypti* larvae showed a potential larvicidal activity of an aqueous crude extract of *A. ciliata* periods in 24 hours with 76.80% and 48 hours with 92.86% mortality. Followed by the ethanol extract of *A. oleracea* with 70.69% mortality rate within 24 hours and 76.59% and 48 hours. Regarding the insecticidal activity against adult mosquitoes of *A. aegypti* was observed better susceptibility to the aqueous crude extract of *A. oleracea*, indicating $LC_{50} = 548 \text{ mg} / \text{mL}$ for the evaluation periods of 24 and 48 hours. To test the repellent activity it was observed that the three aqueous extracts showed repellent potential, but more lasting protection was observed for the species *A. ciliata*. It is concluded that the plant species are promising sources of antioxidant compounds, cytotoxic and natural insecticides in the control of immature and adult insects of *A. aegypti*.

Keywords: *Acmella*, *Tithonia*, phytochemical, insecticide and *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Folhas e flores das espécies *Acmella oleracea* (A), *Acmella ciliata* (B) e *Tithonia diversifolia* (C). 40
- Figura 2 -** Cálculo do % atividade antioxidante (%AA). 42
- Figura 3-** Procedimento para avaliação da atividade larvicida dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* para larvas de terceiro instar de *Aedes aegypti*. 44
- Figura 4-** Procedimento para avaliação da atividade adulticida dos extratos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* sobre insetos adultos de *Aedes aegypti*. 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Classes de metabólitos secundários encontrados após análise fitoquímica dos extratos brutos aquosos das folhas de <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>	50
Tabela 2-	Classes de metabólitos secundários encontrados após análise fitoquímica dos extratos brutos etanólicos das folhas de <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>	51
Tabela 3 -	Média e desvio padrão do percentual de atividade antioxidante dos extratos brutos aquosos das folhas de <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> sobre o radical livre DPPH•.....	57
Tabela 4 -	Média e desvio padrão do percentual de atividade antioxidante dos extratos brutos etanólico das folhas de <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> sobre o radical livre DPPH•.....	58
Tabela 5 -	Teste de toxicidade dos extratos brutos aquosos das espécies <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> frente às larvas de <i>Artemia salina</i>	60
Tabela 6-	Teste de toxicidade dos extratos brutos etanólicos das espécies <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> frente às larvas de <i>Artemia salina</i>	61
Tabela 7 -	Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Acmella oleracea</i> em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.	64
Tabela 8-	Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Acmella oleracea</i> na concentração de 1000mg/mL durante 24 e 48 horas.....	64
Tabela 9-	Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Acmella ciliata</i> em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.....	66
Tabela 10-	Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Tithonia diversifolia</i> em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas....	67
Tabela 11-	Percentual de atividade adulticida do do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Acmella oleracea</i> em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.....	69
Tabela 12-	Percentual de atividade adulticida do do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Acmella ciliata</i> em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.....	70

Tabela 13	Percentual de atividade adulticida do extrato bruto aquoso e etanólico de <i>Tithonia diversifolia</i> em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.....	71
Tabela 14-	Percentual de proteção sobre pele humana do extrato bruto aquoso de <i>Acmella oleracea</i> em diferentes concentrações sobre insetos adultos de <i>A. aegypti</i> em comparação ao repelente comercial (DEET).	72
Tabela 15-	Percentual de proteção sobre pele humana do extrato bruto aquoso de <i>Acmella ciliata</i> em diferentes concentrações sobre insetos adultos de <i>A. aegypti</i> em comparação ao repelente comercial (DEET). (%) $p=[1-(T/C)]*100$	73
Tabela 16-	Percentual de proteção sobre pele humana do extrato bruto aquoso de <i>Tithonia diversifolia</i> em diferentes concentrações sobre insetos adultos de <i>A. aegypti</i> em comparação ao repelente comercial (DEET).....	73

LISTA DE SÍMBOLOS

µg	Micrograma
µL	Microlitro
AA%	Percentagem de Atividade Antioxidante
CL₅₀	Concentração Letal que causa mortalidade de 50% dos indivíduos
Cm	Centímetro
M	Metro
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
Mm	Milímetro
Nm	Nanômetro
EBA	Extrato Bruto Aquoso
°C	Graus centígrados
H	Horas
G	Gramas
%	Percentagem
LSTs	Lactonas sesquiterpênicas
DL₅₀	Dose Letal que causa mortalidade de 50% dos indivíduos
CMI	Concentração inibitória mínima
EBE	Extrato Bruto Etanólico
r²	R ajustado
L	Litro
L₃	Larvas de terceiro instar
mm²	Milímetro quadrado
cm²	Centímetro quadrado
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
OMS	Organização Mundial da Saúde
Ppm	Parte por milhão
DF	Distrito Federal
DENV	Vírus da Dengue
Mol	Molaridade
IC₅₀	Concentração inibitória mínima
HPLC	High performance liquid chromatography
DEET	N-Diethyl-meta-toluamida

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELA	iv
LISTA DE SIMBOLOS	vi
1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 PLANTAS MEDICINAIS	18
2.2 BIODIVERSIDADE E BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS	20
2.3 FAMILIA ASTERACEAE BERCHT. & J. PRESL E SUAS APLICAÇÕES	23
2.4 <i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. JANSEN.	25
2.5 <i>Acmella ciliata</i> (KUNTH).	28
2.6 <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A.Gray	31
2.7 <i>Aedes</i> (<i>Stegomyia</i>) <i>aegypti</i> , L. 1762, SEU CICLO BIOLÓGICO, TRANSMISSÃO E CONTROLE	33
2.7.1 Ciclo biológico do <i>Aedes aegypti</i>	33
2.7.2 Ciclo de transmissão da dengue pelo <i>Aedes aegypti</i>	34
2.7.3 Controle e prevenção da dengue	35
3 OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4 JUSTIFICATIVA	37
5 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DO ESTUDO	39
5.2 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	39
5.3 OBTENÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO	41
5.3.1 Extrato Bruto Aquoso (EBA) das folhas de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>	41
5.3.2 Extrato Bruto Etanólico (EBE) das folhas de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>	41
5.3.3 Avaliação fitoquímica dos extratos brutos aquosos e etanólicos de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>	41

5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTO AQUOSOS E ETANÓLICOS DE <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> SOBRE O RADICAL LIVRE 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•)	42
5.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS	42
5.5.1 Ensaio de toxicidade dos extratos aquosos e etanólicos de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> para <i>Artemia salina</i> Leach.	43
5.5.2 Avaliação da atividade larvicida dos extratos aquosos e etanólicos de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>.	43
5.5.3 Avaliação da atividade adulticida dos extratos aquosos e etanólicos de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>.	45
5.5.4 Avaliação da atividade repelente dos extratos aquosos e etanólicos de <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i>.	46
5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	48
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
6.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS FOLHAS DE <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> .	49
6.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS ESPÉCIES VEGETAIS <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> CONTRA O RADICAL LIVRE (DPPH•)	57
6.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS ESPÉCIES VEGETAIS <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> PARA <i>Artemia salina</i> .	60
6.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS ESPÉCIES VEGETAIS <i>Acmella oleracea</i> , <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> CONTRA <i>Aedes aegypti</i> .	63
6.4.1 Atividade larvicida dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> contra larvas de <i>Aedes aegypti</i>.	63
6.4.2 Atividade adulticida dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais <i>Acmella oleracea</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> contra	

insetos adultos de <i>Aedes aegypti</i>.	68
6.4.3 Atividade repelente dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais <i>Acmella olerace</i>, <i>Acmella ciliata</i> e <i>Tithonia diversifolia</i> contra fêmeas de <i>Aedes aegypti</i>.	72
4 CONCLUSÃO	76
REFERENCIAS	78
CONSIDERAÇÕES FINAIS	124
APÊNDICE	126
ANEXO	129

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para o tratamento de muitas doenças está associado à medicina popular de diferentes partes do mundo. O interesse pela descoberta de extratos vegetais com diferentes atividades biológicas tem crescido muito nos últimos anos. Por isso, plantas que apresentam atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e repelente são de grande interesse para a indústria farmacêutica.

Os antioxidantes vegetais podem ser de grande benefício para a melhoria da qualidade de vida, já que eles têm a capacidade de proteger o organismo dos danos causados pelos radicais livres, prevenindo ou adiando o início de várias doenças, como câncer, diabetes, aterosclerose, processos inflamatórios e envelhecimento (FINKEL; HOLBROOK, 2000; ARAÚJO; LEON, 2001; FABRI et al., 2001).

Da mesma forma, plantas que apresentam atividade citotóxica são utilizadas no tratamento de doenças proliferativas, no controle de bactérias, fungos, larvas e insetos adultos. Para a definição da toxicidade destes extratos vegetais, utiliza-se os ensaios de citotoxicidade *in vitro*, indicando a habilidade intrínseca desses compostos em ocasionar morte celular como consequência aos danos gerados às funções celulares (WEYERMANN; LOCHMANN; ZIMMER, 2005).

O uso de inseticidas direcionado ao combate de formas adultas de dípteros vetores tem sido frequente. Entretanto, o amplo uso de inseticidas sintéticos desde a descoberta do diclorodifeniltricloroetano (DDT) para o controle de pragas domésticas e da agricultura, como também de vetores que transmitem doenças ao homem, levou a uma maior preocupação em relação à toxicidade e impacto ambiental destes agentes.

Assim, a resistência a inseticidas tornou-se uma preocupação crescente na saúde pública o que justifica a busca por extratos vegetais e compostos isolados de espécies de plantas de diferentes áreas geográficas do Brasil e do mundo, capazes de causar efeitos letais e subletais sobre insetos e/ou suas larvas (MACIEL et al., 2010).

Os insetos são importantes transmissores de doenças ocorrendo cada vez mais em áreas periurbanas ou urbanas. Infectando aproximadamente 700 milhões de pessoas anualmente (FRADIN; DAY, 2002; MACIEL et al., 2010).

As estratégias de controle das doenças transmissíveis por vetores biológicos são de difícil execução, principalmente quando associadas à existência de reservatórios domésticos e silvestres e aos aspectos ambientais. Atualmente no Brasil, as principais doenças vetoriais sujeitas a controle são dengue, malária, leishmanioses, doença de Chagas e a filariose (CÔRTEZ, 1993).

Resultados obtidos por pesquisas feitas no Instituto de Pesquisa da Amazônia-INPA, com óleos essenciais da planta amazônica conhecida como pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*) gerou formulações que agem como repelente e inseticida naturais no combate aos mosquitos transmissores de dengue e malária (FREITAS et al., 2009).

A busca por inseticidas menos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente, soma esforços de pesquisadores no mundo. Principalmente para os de ação letal aos principais vetores das chamadas doenças negligenciadas como os de grande impacto epidemiológico, o dengue e atualmente zika vírus, cujo *Aedes aegypti* ainda é o único transmissor.

A presente pesquisa busca aprofundar os estudos na família Asteraceae nas áreas de controle de qualidade de plantas medicinais avaliando o potencial antioxidante, citotóxico e no controle de insetos. Logo, o grupo de pesquisa em produtos naturais da Universidade Federal do Amapá enfatiza o melhor aproveitamento das espécies vegetais amazônicas com potencial bioinseticida devido à grande variedade de espécies e substâncias presentes nesta família, levando-se em consideração que apenas pequena parcela destas plantas foram investigadas com tal finalidade.

Mediante o exposto, foi proposto como hipótese alternativa os extratos vegetais das folhas de *Acmella oleracea* (L.) R.K.Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass e *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, apresentam atividade antioxidante, citotóxica e inseticida no controle de larvas e adultos de *Aedes aegypti*. Na hipótese nula, os extratos vegetais das folhas de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass e *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray não apresentam atividade antioxidante, citotóxica e inseticida no controle de larvas e adultos de *Aedes aegypti*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

O homem sempre buscou na natureza as soluções para seus problemas de saúde. A utilização de plantas medicinais na prevenção e tratamento de doenças é feita desde os tempos mais remotos da humanidade. De fato, descobertas realizadas em restos mortais dos primeiros hominídeos comprovam que há cerca de 60.000 anos atrás já se utilizavam, para fins medicinais, diversas plantas. Há milênios utiliza-se a fitoterapia como fonte de medicamentos, para o alívio e cura das doenças (KARAM et al., 2013).

Segundo Mors (1982) a evolução da "arte da cura" se deu de forma empírica, em processos de descobertas por tentativas de erros e acertos. Neste contexto, os povos primitivos propiciaram a identificação de espécies e partes dos vegetais que se adequavam ao uso medicinal, como o reconhecimento do habitat e a época da colheita (LÉVI-STRAUSS, 1989; SILVA, 2002).

A história da terapêutica começou, provavelmente, no século II a. C. por Mitriades, rei de Porto, considerado o primeiro farmacologista experimental. Nessa época, já eram conhecidos os opiáceos e inúmeras plantas tóxicas. No papiro de Ebers, de 1550 a. C., descobertos em meados do século passado em Luxor (no Egito) foram mencionadas cerca de 700 drogas diferentes, incluindo extratos de plantas, metais e venenos de animais de procedências diversas (ALMEIDA, 1993; SILVA 2002).

No Brasil, a rica flora tem sido objeto de estudo desde os tempos coloniais (SILVA, 2002). Piso em 1648, fez uma das primeiras edições dedicada à flora brasileira, com riqueza de detalhes e ilustrações. Mais tarde, Martius (1843) colaborou com um estudo taxonômico sobre plantas medicinais do Brasil. Seguiram então outros tratados importantes, tais como de Caminhoá (1884), Pio Corrêa (1926-1962), Cruz (1965) e Peckolt (1888-1914), de cunho geral, sobre plantas de interesse econômico ou ornamental e plantas medicinais brasileiras, entre as quais várias são de origem amazônica.

As plantas medicinais têm tido seu valor terapêutico pesquisado mais intensamente pela ciência nos últimos anos, bem como sua utilização recomendada por profissionais de saúde (ARNOUS et al., 2016). A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016) define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, que contém substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos”.

A diferença entre planta medicinal e o fitoterápico reside na elaboração da planta para uma formulação específica, o que caracteriza um fitoterápico. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2016), “fitoterápico é todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais (extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco, e outros) com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. É o produto final acabado, embalado e rotulado”. Na sua preparação podem ser utilizados adjuvantes farmacêuticos permitidos na legislação vigente, mas podem estar incluídas substâncias ativas de outras origens.

Ao considerar o medicamento sob o ponto de vista cronológico, constata-se a preponderância na utilização das plantas até cerca de 1930, época de desenvolvimento das primeiras sulfamidas, ponto de partida para o surgimento de fármacos com grande número de moléculas sintéticas (MARQUES, 2008).

No final do século XVIII, isolou-se e determinou-se a estrutura dos constituintes ativos dos produtos de origem natural dotados de propriedades medicinais. Com o isolamento dos constituintes dotados de ação farmacológica, surge uma nova fase da utilização científica das plantas medicinais, com a substituição progressiva dessas e dos extratos, pelos compostos conhecidos como responsáveis pela ação farmacológica (CUNHA, 2005; CUNHA, 2007). Portanto, é de grande importância os estudos com plantas que podem ser fonte de recursos terapêuticos (FOGLIO, 2016).

Pesquisadores comprovam atividade terapêutica de diversas espécies medicinais. Visto que, diversas culturas das mais diferentes regiões, desenvolvidas ou subdesenvolvidas, utilizam o potencial terapêutico dos vegetais no tratamento de enfermidades (COUTINHO et al., 2004; FABRI et al., 2011).

Plantas medicinais, assim como os medicamentos sintéticos, possuem grupos de compostos farmacologicamente ativos que atuam nos organismos vivos. O uso terapêutico dessas plantas exige o conhecimento prévio dos compostos para a avaliação das potencialidades terapêuticas e toxicidade.

A toxicidade é de grande importância, para uma formulação apropriada, assim como a estratégia adequada para o uso sem maiores riscos. Erroneamente a cultura popular acredita que fazer uso exagerado de determinada planta não causa mal algum, pelo simples fato de ser de origem natural (PERÓN et al., 2008).

Entre as plantas, as Angiospermas são as mais numerosas e mais conhecidas, por serem economicamente importantes. São as plantas que dominam praticamente todos os ecossistemas terrestres e, com raras exceções, formam a maior parte da biomassa destes sistemas. Também este grupo reúne o maior número de especialistas em taxonomia, ecologia

e fisiologia. É também o grupo mais numeroso em termos de espécies e devido a sua enorme importância econômica (alimentos, madeira, fármacos, ornamentais) e ecológica, é claramente prioritária em programas de biodiversidade e sistemática (SHEPHERD et al., 2003; RAVEN et al., 2007; BARBOSA, 2012).

No filo das Angiospermas está à família Asteraceae, que compreende cerca 1.600 gêneros e 23.000 espécies, bem distribuída em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, representando 10% de toda a flora vascular mundial. Nesse filo encontram-se diversas espécies de interesse medicinal (BREMER, 1994; ANDENBERG et al., 2007, FERREIRA et al., 2009).

2.2 BIODIVERSIDADE E BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS

A biodiversidade é o cerne para o desenvolvimento e bem estar da humanidade e grande responsável pelo equilíbrio ambiental global (ASSAD, 2000; SANTOS et al., 2015).

A Convenção sobre Diversidade Biológica (órgão da Organização das Nações Unidas – ONU) elegeu 2010, como o “Ano Internacional da biodiversidade”. O termo biodiversidade (etimologicamente, do grego *biós*, vida, e diversidade, variedade, multiplicidade) permitiu inúmeras interpretações (SANTOS, 2010).

No entanto, a devida relevância da biodiversidade para o bem-estar e a saúde do homem apenas ganhou maior destaque quando o processo de perda da diversidade biológica alertou para a necessidade da conservação e uso racional dos recursos vivos (MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT, 2005; CHIVIAN; BERNSTEIN, 2008; ALHO, 2012).

O Brasil detém entre 15 e 20% de toda a biodiversidade mundial, sendo considerado o maior País do planeta em número de espécies endêmicas. Das 1,5 milhão de espécies registradas, o Brasil já classificou 55 mil espécies de plantas correspondendo a 22% do total mundial, e mais da metade dessas espécies se encontram nas florestas tropicais, cuja área corresponde apenas 7% da superfície da terra (LEWINSONH; PRADO, 2002; MIGUEL, 2007; IBGE, 2008).

A biodiversidade brasileira é considerada uma grande fonte de substâncias biologicamente ativas, assim sua preservação é fundamental tanto pelo valor intrínseco dessa imensa riqueza biológica como pelo seu enorme potencial como fonte de novos fármacos (BARREIRO; FRAGA, 1999; COSTA, 2002; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Diante deste cenário destaca-se a Amazônia, que tem adquirido na atualidade o significado de um notável laboratório para estudos diversos, envolvendo novas tecnologias (principalmente a Biotecnologia) e sistemas de produção, tendo como base o uso sustentável

dos seus recursos naturais. Ainda que incipientes, tratam-se de novas formas de valorizar a natureza amazônica, especialmente a sua biodiversidade, que agora passa a ser considerada como uma promissora fonte de recursos para o desenvolvimento de um novíssimo segmento industrial contemporâneo – a bioindústria (MIGUEL, 2007).

A biotecnologia tem procurado também novos meios de cura com base em novos componentes químicos ou princípios ativos de produtos da biodiversidade, no potencial farmacêutico de inúmeras espécies de microrganismos, plantas e animais, além da busca da medicina preventiva nesses novos produtos da diversidade biológica. Esse segmento de pesquisa científica tem apresentado rápido progresso, com contribuição da biologia molecular, genética, engenharia genética, bioquímica, farmacologia, com descobertas de novos antibióticos, agentes antivirais e vacinas (MINDELL, 2009; ALHO, 2012).

A etnobotânica, têm fornecido valiosas informações sobre a forma de apropriação e manejo dos recursos vegetais por populações locais (ALBUQUERQUE, 2005; BAPTISTEL et al., 2014). Desponta como o campo interdisciplinar que compreende o estudo e a interpretação do conhecimento, significação cultural, manejo e usos tradicionais dos elementos da flora. Com maior frequência, as pesquisas etnobotânicas além de abordarem populações tradicionais, como indígenas, quilombolas e caiçaras, busca conhecer as propriedades das espécies vegetais (CASTELLUCCI et al., 2001; DORIGONI et al., 2001; OLIVEIRA, 2009; SOUSA, 2010).

No Brasil, os estudos etnobotânicos têm crescido consideravelmente, sobretudo enfocando plantas medicinais. As regiões norte e nordeste são as grandes protagonistas no cenário nacional (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002; ARAUJO et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2009; SILVA et al., 2011; SOUSA et al., 2012). A utilização de plantas medicinais e rituais no Brasil são práticas comuns resultante da forte influência cultural dos indígenas locais, miscigenadas as tradições africanas, oriundas de três séculos de tráfico escravo e da cultura europeia trazida pelos colonizadores (ALMEIDA, 2003).

Plantas medicinais são matéria-prima para a produção de fitoterápicos e outros medicamentos (MACEDO, 2009). São fontes importantes de substâncias biologicamente ativas, sendo que a maioria dos fármacos de uso clínico ou são de origem natural ou foram desenvolvidos por síntese química planejada a partir de produtos naturais (BAKER et al., 2008; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

A biodiversidade brasileira também é testemunha de vários casos de sucessos de bioprodutos úteis, inclusive de inovações brasileiras representadas pelas descobertas como o lançamento, em 2004, do fitofármaco Acheflan, anti-inflamatório de uso tópico, obtido de *Cordia verbenacea* pelos Laboratórios Aché. E do Helleva, carbonato de iodenafila,

substância sintética desenvolvida pela indústria Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., reafirmando a capacitação efetiva do setor industrial farmacêutico brasileiro na elaboração de um novo fitofármaco ou fármaco sintético (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Sabe-se que as plantas, como organismos que co-evoluíram com insetos e outros microrganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas. Estas substâncias são produzidas pelos vegetais em resposta a um ataque patogênico (ROEL et al., 2000; SIMAS et al., 2004; AGUIAR, 2011).

Estudos comprovam a atividade de extratos vegetais como inseticida, contra diferentes espécies de mosquitos, inclusive o *Aedes aegypti*, reconhecida nos óleos de muitas frutas cítricas e que nos últimos anos, diversos produtos contendo limoneno ou extrato bruto dessas plantas têm sido elaborados para determinar sua possível atividade repelente.

O uso de inseticida contendo limoneno tem sido aplicado com sucesso no controle de insetos parasitóides de animais domésticos, o que em 2002, promoveu o estabelecimento de uma patente desenvolvida visando produtos de ação repelente e inseticida formados de vários óleos naturais, inclusive limoneno (IBRAHIM et al., 2001).

De acordo com Ferreira et al. (2001), entre os primeiros inseticidas botânicos mais utilizados até 1940, destaca-se o alcaloide nicotina, produto extraído das folhas de *Nicotiana tabacum* L. e *Nicotiana rústica* (Solanaceae), utilizados em associação com a nomicotina e anabasina.

Consolli et al. (1988), testaram a influência de 34 extratos derivados de vegetais na sobrevivência de larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz), constatando que 26,5% dos extratos influenciaram diretamente no ciclo biológico desse inseto.

As vantagens na utilização de inseticidas botânicos quando comparados a inseticidas sintéticos, é porque estes são de recursos renováveis e são rapidamente degradados e apresentam várias substâncias que atuam simultaneamente, fazendo com que o desenvolvimento de resistência dos insetos a essas substâncias ocorra de forma muito lenta. Além disso, não apresentam ação residual nos alimentos e, ainda, sua obtenção é de fácil acesso, o que representa um menor custo de produção para a população. No entanto, para que sejam comercialmente viáveis, além de apresentar eficaz atividade, os produtos naturais precisam apresentar seletividade contra “inimigos” naturais, baixa toxicidade ambiental e para o homem, além da biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade (FERREIRA et al., 2001; AGUIAR, 2011).

2.3 FAMÍLIA ASTERACEAE BERCHT. & J. PRESL E SUAS APLICAÇÕES

Com 1.620 gêneros e 24.000 espécies, a família Asteraceae possui distribuição cosmopolita, encontrada em todos os continentes exceto na Antártica, e constituem a maior família de Eudicotiledôneas (STEVENS, 2012; SILVA; ANDRADE, 2013). Essa ampla distribuição mostra a grande e bem sucedida adaptação dos membros desta família aos mais diversos habitats. Portanto, está presente em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (SOUZA; LORENZI; 2005; PANERO; FUNK, 2008).

Com base em sua morfologia, a família é caracterizada pela inflorescência do tipo capítulo e flores dispostas sobre um receptáculo geralmente discoide (SOUZA; LORENZI, 2005). Este receptáculo é rodeado por um involúcro de brácteas (filárias), desenvolvimento centrípeto, sépalas modificadas formando o pápus, anteras unidas (sinânteras) que, formam um tubo ao redor do estilete permitindo este atravessar o tubo e coletar o pólen apresentando-o aos visitantes florais (JUDD et al., 2009).

A diversidade morfológica desta família com alta riqueza de espécies permite que essa seja organizada em subfamílias, tribos e subtribos. Esses táxons têm sido frequentemente reestruturados, de forma que ainda não há um sistema bem definido e amplamente aceito (BRINGEL, 2007).

Andenberg et al. (2007) publicaram um compêndio sobre Asteraceae, incluindo a descrição morfológica de 1620 gêneros. Nesse estudo, os autores consideram esta família dividida em dois grandes grupos monofiléticos: subfamília Barnadesioideae e o clado das “não-Barnadesioideae”. Contudo, este último grupo tem sido dividido em 4 subfamílias (Mutisioideae, Carduoideae, Cichorioideae e Asteroideae) e 36 tribos. Funk et al. (2009) sugerem uma classificação mais atual para Asteraceae dividindo-a em 12 subfamílias e 43 tribos.

Espécies de Asteraceae são utilizadas para os mais diversos fins do ponto de vista econômico, pois 40 espécies têm importância direta na alimentação do homem em diferentes partes do mundo, tais como alface (*Lactuca sativa* L.), chicória (*Cichorium endívia* L.) e jambu (*Acmella oleracea* L.); e indireta na obtenção de produtos, como girassol (*Helianthus annus* L.), camomila (*Matricaria recutita* L.) e carqueja (*Baccharis trimera* Less.). Algumas espécies silvestres têm potencial nutricional, muitas são de interesse tecnológico ou ornamental, e centenas delas produzem classes de metabólitos secundários para uso farmacêutico ou industrial, ou fornecem néctar e pólen para a apicultura, além de forragem para a produção pecuária como *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) (VITTO; PETENATTI 2009; SILVA et al., 2014).

O Brasil detém boa parte da diversidade de Asteraceae da flora mundial. Foram listadas 2.034 espécies distribuídas em 288 gêneros (NAKAJIMA et al., 2016). Levantamentos florísticos realizados para algumas regiões brasileiras demonstram a importância da Asteraceae na composição da vegetação dessas localidades (ALMEIDA, 2008; ALVES; KOLBEK, 2009; FERREIRA; FORZZA, 2009; BORGES et al., 2010). Com base nas pesquisas realizadas, observa-se uma maior representatividade nos estados de Minas Gerais e Bahia, e poucos registros nas regiões norte e nordeste. Nesses estados, as Asteraceae estão entre as cinco famílias mais frequentes nos levantamentos de flora realizados (GUEDES; ORGE, 1988; HARLEY; SIMMONS, 1986; HIND, 1995; GUEDES et al., 1999; NAKAJIMA; SEMIR, 2001; PIRANI et al., 2003; ZAPPI et al., 2003; BIRAL; LOMBARDI, 2012).

Os estudos etnobotânicos, mediadores entre o conhecimento científico e o conhecimento tradicional, demonstram que o uso de muitas espécies de Asteraceae tem ajudado no progresso e sustento de grande número de povos em todo o mundo, satisfazendo suas necessidades de alimento, forragem, lenha e remédios (SILVA et al., 2009; VITTO; PETENATTI, 2009). Muitas plantas dessa família são conhecidas pelas suas propriedades medicinais e diversas espécies possuem atividade analgésica, anti-inflamatórias e antimicrobianas comprovadas (LORENZI; MATOS, 2002); por possuírem compostos químicos promissores, são de grande interesse para a indústria farmacêutica (ARAÚJO et al., 2008).

O conhecimento bioquímico desta família forneceu dados relevantes à taxonomia, explicou e facilitou a sua utilização em atividades econômicas. Em 1964, Hegnauer estabeleceu marcadores fitoquímicos gerais (HARBORNE, 1977; MABRY; BOHLMANN, 1977; SEAMAN, 1982; STUESSY; GARVER, 1996; BOHM; STUESSY, 2001; ANISZEWSKI, 2007; VITTO; PETENATTI, 2009). O acúmulo desses metabólitos primários e secundários determina a utilidade ou aplicação da planta. Em geral, a família Asteraceae é caracterizada pela presença de ácidos iso e clorogênicos, isoflavonas, lactonas sesquiterpênicas, álcoois triterpenos pentacíclicos, óleos essenciais (predominantemente terpenoides), alcaloides e vários derivados de acetileno (MABRY; BOHLMANN, 1977).

Dentre os constituintes químicos encontrados, estão: os diterpenos (bacrispina, 1-desoxibacrispina, ácido hautriwaico e sua lactona), lactonas diterpênicas do tipo *trans*-clerodano (malonil clerodanos), estigmasterol. Além de óleo essencial composto por α -pineno, canfeno, limoneno, acetato de carquejilo, carquejol, α -ocimeno, ledol e a saponina derivada do ácido equinocístico, diésteres terpênicos relacionados com o carquejol

(ALONSO; DESMARCHELIER, 2006; MARQUES, 2008; FERREIRA et al., 2009; BARROS, 2012; BESSA et al., 2013).

Além de amplamente estudadas quanto a sua composição química e atividade biológica, de algumas espécies têm proporcionado o desenvolvimento de novos fármacos, anti-inflamatório, antimicrobianos, analgésico, hepatoprotetor, antioxidante, citotóxico e inseticida (ZOMLEFER, 1994; VERDI et al., 2005).

2.4 *Acmella oleracea* (L.) R. K. JANSEN.

Acmella oleracea (L.) R. K. Jansen, é uma Asteraceae abundante na região amazônica. É uma hortaliça herbácea perene, semiereta e de ramos decumbentes (COUTINHO et al., 2006; MARTINS et al., 2012).

São atribuídos a *A. oleracea* os seguintes sinônimos; *Spilanthes oleracea* L., *Cotula pyretharia* L., *Pyrethrum spilanthus* Medik., *Acmella oleracea* (*Spilanthes acmella*) var. *oleracea* (L.) C.B. Clarke ex Hook. f., *Spilanthes fusca* Lam (LORENZI; MATOS, 2002), *Bidens fervida* Lam, *Bidens fusca* Lam, *Isocarpa pyretharia* (L.) Cass, *Spilanthes radicans* Schrad. Ex D.C., *Spilanthes oleracea* var. *fusca* (Lam.) D.C. (HIND; BIGGS, 2003; MONDIN et al., 2016).

É conhecido popularmente como “jambu”, agrião-do-pará, abecedária, agrião-bravo, agrião-do-brasil, agrião-do-norte, botão-de-ouro, erva-maluca, jabuaçú e nhambu (FAVORETO; GILBERT, 2010).

Existem mais de 30 espécies deste gênero em todo o mundo. São indicadas na medicina popular tradicional contra dor de dente, feridas na boca, garganta inflamada, estomatite e malária (SPELMAN et al., 2011).

É cultivada, por pequenos produtores em hortas familiares, desta planta se consome o caule, as folhas e inflorescências menos desenvolvidas, as mais desenvolvidas são removidas. De baixo valor calórico, dentre as suas características principais está a presença do espilantol, substância que causa sensação de dormência e aumento de salivação quando consumido (SILVA, 2015).

Essa hortaliça é uma importante fonte de renda para pequenos produtores dos municípios do estado do Pará, Amapá e Amazonas. Essa espécie tem várias utilidades (condimentar, medicinal e ornamental), reunindo elementos essenciais para formação de um sistema sustentável (GUSMÃO et al., 2003).

O jambu é consumido durante o ano inteiro, principalmente na região de Belém do Pará, nos pratos típicos como o tacacá, pato no tucupí, arroz paraense e pizza de jambu.

Sua demanda é maior nos períodos festivos, como nas festas juninas, Natal e principalmente no Círio de Nazaré. Porém, nesta região, sua comercialização é fresca, após lavagem da planta com água corrente para remoção de resíduos de terra (SILVA, 2015).

Acmella oleracea é encontrada em regiões tropicais e subtropicais próximas à linha do Equador na África, Ásia, América do Sul, Norte da Austrália, Malásia, Bornéu, Índia e Sri Lanka (LEWIS et al, 1988; YADAV; INGH, 2010). A ausência de grandes populações selvagens indica que esta planta não é nativa do Brasil, sendo encontrada apenas em residências e adjacências em forma domesticada (FAVORETO; GILBERT, 2010).

É uma planta herbácea anual, perene, de 20-50 cm de altura, semiereta ou quase rasteira, com caule cilíndrico, carnoso e de ramos decumbentes, geralmente sem raízes nos nós. A raiz principal é pivotante, com abundantes ramificações laterais (LORENZI; MATOS, 2002). As folhas são compostas, opostas, membranáceas, pecioladas; pecíolos de 20-60 mm de comprimento; achatados, com sulcos sobre a superfície, ligeiramente alados e pouco pilosos. O limbo é geralmente oval, com 53-106 mm de comprimento e 40–79 mm de largura, apresentando base truncada, atenuada na parte superior da folha e pelos esparsos sobre ambas as superfícies, principalmente sobre a nervura central da folha. A borda do limbo é dentada e o ápice é agudo. Esta espécie é constituída por grupos foliares campanulados, com 3-7 mm de altura e 9-15 mm de diâmetro. Os folíolos são trisseriados, imbricados, verdes, lanceolados, com ápices de cor púrpura a vermelho, bordas completas, ciliadas e de ápices agudos.

Esta espécie apresenta de 5-6 folíolos externos com 5,87,3 mm de comprimento e 5 - 6 folíolos internos com 5,5-6,5 mm de comprimento. O receptáculo é cônico, branco, áspero, com 8,3-21,5 mm de altura e 1,01,2 mm de diâmetro, paleáceo, com pálea de 5,3-6,2 mm de comprimento e 1-1,2 mm de largura, branca, com ápice de púrpura a vermelho, com 0,5 mm, glabro, exceto na ponta; os pêlos são translúcidos, unisseriados, curtos, de base pálea, em ângulo reto, e ápice agudo (HIND; BIGGS, 2003; FAVORETO; GILBERT, 2010).

Segundo Hind e Biggs (2003), as inflorescências são isoladas, com capítulos globosos axilares e terminais pedunculados. Os pedúnculos apresentam de 3,5-12,5 mm de comprimento são abraceolados e ocos, de glabro a esparsamente piloso e os pelos são aglandulados. Os capítulos pedunculados, homogêneos, discóides, apresentam de 10,5-23,5 mm de altura e 11–17 mm de diâmetro. As flores são pequenas, amareladas, com áreas púrpuras distintas na pálea do cálice, bem visível em capítulos imaturos, dispostas em capítulos globosos terminais que medem cerca de 1,0cm de diâmetro.

São hermafroditas, numerosas (400 a 620) e férteis e o tubo da corola mede entre 2,7-3,3 mm de comprimento é verde, glabro, reduzido em um tubo na base; o tubo mede de 0,5-0,7 mm de comprimento e 0,2-0,4 mm de diâmetro, tem abertura inflada de 2,2-2,6 mm de comprimento e 0,5-1,0 mm de diâmetro; os lóbulos da corola (4-5) medem de 0,5-0,6 mm de comprimento, são amarelos e de interior papiloso. As anteras são cilíndricas e localizadas dentro da abertura da corola; os filamentos são brancos, atados à base da abertura da corola, lisos, desprovidos de um colar evidente na antera; apresenta 5 anteras pretas; antera apical é suplementar e triangular, com ápice grosso, largo e longo; a antera basal é suplementar, curta e triangular.

O fruto desta espécie é um aquênio pequeno, com 2,0-2,5 mm de comprimento e 0,9-1,1mm de largura, com pericarpo cinza-escuro, quase preto, parcialmente envolvido por partes membranáceas. Está resumido a duas nervuras marginais, que são longitudinalmente alongadas, ciliadas, completas, de faces setulíferas, com pares de sétulas descentralizadas e não divididas em ápices; o carpopódio é levemente ovalado, grosso, seco, de cor marrom-amarelada e com uma parte dorsal branca, grossa e alongada; os filetes são persistentes, com dois pelos desiguais e discretamente espinhento, que medem 2,0 - 2,5 mm de comprimento (HIND; BIGGS, 2003; FAVORETO; GILBERT, 2010).

O pólen apresenta coloração variando entre alaranjado brilhante a amarelo pálido. A base do estilo possui um nó distinto e glabro; o estilo tem haste glabra, com três ramificações e os seus ápices são truncados e papilhosos (HIND; BIGGS, 2003; FAVORETO; GILBERT, 2010).

Na análise química das folhas de *Acmella oleracea* identifica-se o espilantol (*N*-isobutilamida-2*E*,6*Z*,8*E*-decatrienóico), uma isobutilamida, como composto majoritário da espécie (LENG et al.,2011). Nas folhas, também, são encontrados alcaloides, carboidratos, taninos, amida, esteroides, carotenoides, óleo essencial, aminoácidos e sesquiterpenos não voláteis como poligodial e eudesmanolide II (SAVADI; YADAV; YADAV, 2010). Porém, métodos modernos de separação continuam a revelar novas alquilamidas. (BOONEN et al, 2010). O espilantol é o componente principal responsável pelo senso de formigamento e anestesia na língua produzida pelas folhas. No entanto, os demais análogos também contribuem num grau menor.

São atribuídas ao espilantol diversas atividades biológicas (DUBEY et al., 2013), como analgésica (MOLINA-TORRES et al., 1996; HIND; BIGGS, 2003; WU et al., 2008; CILIA-LÓPEZ et al., 2010; TIWARI et al., 2011; DIAS et al., 2012; SHARMA et al., 2012; ABEYSIRI et al., 2013; DUBEY et al., 2013; PRACHAYASITTUKAL et al., 2013; PAULRAJ et al., 2013; RIOS; OLIVO, 2014; DANDIN et al., 2014; HAJDU, 2014),

antifúngica (MOLINA-TORRES et al., 2004; RANI; MURTY, 2006; DUBEY et al., 2013), antinociceptiva (RIOS et al., 2007; DÉCIGA-CAMPOS et al., 2012), antioxidante (ABEYSIRI et al., 2013), anti-inflamatória (WU et al., 2008; HERNÁNDEZ et al., 2015); DIAS et al., 2012), antimutagenica (ARRIAGA-ALBA et al., 2013), inseticida (KADIR et al., 1989; SHARMA et al., 2012), antimalárico (SHARMA et al., 2012), atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (RAMSEWAK et al., 1999), e atividade moluscicida (JOHNS et al., 1982).

Dentre outras atividades farmacológicas cita-se diurética (RATNASOORIYA, et al., 2004; YADAV et al., 2011) vasodilatadora (WONGSAWATKUL et al., 2008) e imunomoduladora (TANWER et al., 2010). Foram também descritas atividades anticonvulsante, afrodisíaca, inibidor da lipase pancreática, contra o vírus da imunodeficiência humana e dor de dente (BOONEN et al., 2010a, b; DUBEY et al., 2013; VERYSER et al., 2014).

Pandey et al. (2009) descreveram alta atividade larvicida para o extrato hexânico das flores de *Acmella oleracea* contra larvas dos vetores da malária, e da filariose *Anopheles stephensi*, *A. culicifacies* e *Culex quinquefasciatus*. Cuja letalidade superou a provocada por carbaril, bioresmetrina e lindano (inseticidas sintéticos).

Em um estudo anterior, o espilantol dos capítulos florais foi letal aos ovos, larvas e às pupas de mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Aedes*, à concentração de 3 ppm/21 h, 7,5 ppm/ 24h, e 4-5 ppm/3-5 h, respectivamente (IRCHARIA et al., 1997). Posteriormente, SARAF et al. (2002) evidenciaram que o espilantol apresenta grande atividade inseticida contra os mosquitos *Anopheles culicifacies* (Giles), *Culex quinquefasciatus* (Say) e *Aedes aegypti* (Linnaeus).

2.5 *Acmella ciliata* (KUNTH).

Tem, provavelmente origem africana e foi trazida para o Brasil pelos escravos das áreas de Benin e Nigéria. É considerada folha sagrada da cultura africana (candomblé) nos rituais de iniciação, banhos de purificação e sacudimentos (PANIZZA, 1997; LORENZI; MATOS, 2008). A documentação mais antiga dessa espécie foi feita erroneamente como *Spilanthes ciliata* (CHUNG et al., 2008).

São atribuídos a *Acmella ciliata* os seguintes sinônimos *Vernonia condensata* Baker, *Spilanthes ciliata* Kunth, *Spilanthes melampodioides* Gardner. Sendo popularmente conhecido como alcachofra, boldo-chinês, boldo-japonês, boldo-baiano, falso-boldo, aloma,

luman, árvore-do-pingüço, boldo-goiano, cidreira-da-mata, heparém, figatil e assa-peixe (LORENZI; MATOS, 2008, MONDIN et al., 2016).

Acmella ciliata não é endêmica do Brasil, está distribuída nas regiões Norte (Acre, Amazonas, Pará, Tocantins), Nordeste (Bahia, Paraíba, Piauí), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso), Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina). Cujo domínios fitogeográficos são Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (MONDIN et al., 2016).

Conhecido como boldo baiano, é uma das espécies mais usada na medicina popular. Somente as folhas são utilizadas, e sua coleta pode ser feita em qualquer época do ano, de preferência antes do surgimento de flores (MOLINA; GARCÍA, 2001). Apresenta propriedades analgésica, sedativa, anti-ulcerogênica, antibacteriana, antifúngica e digestiva, vem sendo testada como antitumoral (FRUTUOSO et al., 1994; CARIBÉ et al., 2013).

Atividades analgésicas e anti-inflamatórias foram descritas em roedores tratados com extrato bruto, e com uma fração polar desta planta (FRUTUOSO et al., 1994). O glicosídeo esteroide Vernonioside B2, foi sugerido como o princípio ativo com ação analgésica do extrato bruto polar das folhas de *A. ciliata* (VALVERDE et al., 2001; RISSO et al., 2010).

Acmella ciliata é um arbusto alto, muito ramificado, atingindo até 5 m de altura. Apresenta folhas alternas, alongadas ou lanceoladas. Possui flores esbranquiçadas, reunidas em capítulos terminais, apresentando crescimento rápido (VICENTE et al, 2008). O limbo é simples e apresenta uma lâmina inteira com uma forma elíptica, um ápice com formato de agudo a acuminado, uma base cuneiforme e margem denteada. Sua consistência é membranácea e a superfície cheia de pelos. O padrão de venação é pinada, craspedódromo e semicraspedódromo. As folhas são inseridas num padrão em espiral (MILAN et al., 2006).

As folhas são anfihipoestomática. Na vista frontal, a epiderme unisseriada tem estômatos anomocíticos e tricomas, particularmente na superfície abaxial, onde a cutícula é ornamentada ao longo do limbo foliar. Na superfície adaxial o padrão cuticular ocorre como estrias e isso foi visto somente nas células adjacentes às células-guarda ou à base de tricomas. Há diferentes 12 tipos de tricomas glandulares. Usualmente eles são unisseriados com um número variado de células pedunculares e a célula terminal tem um formato de semiesférico a alongado.

Essa planta tem tricomas curtos com um pedúnculo uni ou bisseriado com uma cabeça esférica bisseriada. Esses tricomas podem estar ou não inseridos em uma depressão devido às invaginações das células epidermais adjacentes. No ápice, o mesófilo é dorsiventral e tem de duas a três camadas de parênquima paliçádico com células justapostas

ligeiramente alongadas. O parênquima esponjoso foi composto por quatro a cinco camadas de células frouxamente arranjadas com vários formatos. A terceira parte mediana do mesófilo é descrita como ápice, embora as células do parênquima esponjoso sejam mais espaçadas.

Algumas células do parênquima clorofiliano apresentam pequenas drusas. Na margem, os parênquimas paliçádico e esponjoso apresentam um número menor de camadas celulares. Abaixo da epiderme, há uma camada de colênquima. Na base da folha, há de três a cinco camadas de colênquima angular adjacente à epiderme e entre as células do parênquima fundamental, as quais apresentam drusas, há idioblastos. A nervura central no terço médio da lâmina foliar tem cinco feixes vasculares colaterais, sendo um grande, três médios e um de pequeno tamanho, organizados em um arco aberto. As veias laterais do sistema vascular também são colaterais e deve apresentar ou não extensões de bainha em direção às superfícies. Ambas as células da bainha e células das extensões da bainha tem cloroplastos (LOLIS; MILANEZE-GUTIERRE, 2003; MILAN et al., 2006).

Estudos fitoquímicos da espécie revelaram a presença de diferentes metabólitos secundários, como: compostos fenólicos, alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, ácidos graxos, terpenoides e esteroides, lactonas sesquiterpênicas, saponinas esteroidais, flavonoides, cumarinas, óleos voláteis e ácidos graxos são os principais compostos que já foram isolados e/ou identificados nas folhas da espécie (ERASTO et al., 2006; SILVA et al., 2011).

As folhas de *A. ciliata* são utilizadas contra problemas gastrointestinais, tais como diarreia, constipação, dor de estômago, vermes intestinais e infecções bacterianas. A planta também é frequentemente usada para o tratamento de infecções urinárias, inflamação, diabetes e malária o que confirma a sua importância como fonte de moléculas bioativas (TOYANG; VERPOORTE, 2013). A folha apresenta um gosto amargo característico, que é obtido, conforme o uso popular, pela maceração, extração ou quaisquer outros procedimentos com água (ARENE, 1972).

A maior parte dos estudos com extratos de *Acmella ciliata* foram realizados na área de farmacologia pré-clínica, desde estudos *in vitro* e *in vivo*, envolvendo espécies de roedores e não-roedores. Atividades como antioxidante (OBOH et al., 2008; KHALAFALLA et al., 2009; ANYASOR et al., 2010; SALIU et al., 2012), antibacteriana, antifúngica, antiviral (COS et al., 2002), anticâncer (IZEVBIGIE et al., 2004; CAMERON et al., 2013), anti-inflamatória, antidiabética, anti-hipertensivo (SALIU et al., 2012), antimalárica, anti-hemolítica (ADESANOYE et al., 2012), anti-leishmania (ALAWA et

al.,2012), cicatrizante (ADETUTU et al., 2011), anti-trypanossoma (114), hipoglicemiante (ERASTO et al.,2009), imunomoduladora (115) e antiplasmódica (ZOFOU et al., 2011).

Alguns estudos obtiveram resultados interessantes com derivados da espécie vegetal para uso odontológico, baseando-se, principalmente, no uso popular da mastigação de galhos e raízes descascados para a limpeza dos dentes e como alternativa anticárie (ANIBIJUWON et al.,2012).

Odukoya et al. (2007) correlacionaram a adstringência relativa (isto é, a relação entre o teor de tanino presente em relação ao ácido tânico) do extrato aquoso dos galhos de *Acmella ciliata* com a atividade antisensibilidade dentária, uma vez que a adstringência, segundo os autores, é importante para o tratamento de dentes sensíveis.

2.6 *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A.Gray

Tithonia diversifolia é descrita como planta herbácea com 1,5 a 4,0 m, possui ramos fortes, com folhas alternadas, pecioladas, variando de 7,0 a 20,0 cm de comprimento e, com 4,0 a 20,0 cm de largura. Apresenta de 3 a 5 lóbulos profundos cuneados até subtruncarem na base, decorrentes em sua maioria da base do pecíolo, bordas serradas, pedúnculos de 4,0 a 20,0 cm de comprimento, língulas amarelas e alaranjadas de 3,0 a 6,0 cm de comprimento e corolas amarelas de 8,0 mm de comprimento. Sua inflorescência se apresenta em capítulos e são de cor amarela (NASH, 1976).

É uma espécie ruderal utilizada em sistemas agroflorestais e frequentemente encontrada em lixões, áreas de descarte, margens de rios poluídos ou próximos a cidades e ao longo de rodovias (MOBOT, 2016). O nome da espécie é atribuído a Titão, esposo de Aurora, e refere-se ao fato de as flores se abrirem de madrugada (CRONQUIST, 1965; BARROSO et al., 1991; CASTRO et al.,2010). Pertence à Divisão: Sphermatophyta, Classe: Dicotiledoneae, Subclasse: Metaclamídeas, Ordem: Campanuladas, Família: Asteraceae, Gênero: *Tithonia* (SOUZA JUNIOR, 2007).

Na Colômbia a *Tithonia diversifolia* é conhecida como girasol comum, bóton de oro, girasola, mirasol. Em Cuba é conhecido como margaritona ou arnica da terra e na Guatemala de quil amargo e mirasol. Na Venezuela, como tara, flor amarillo e arnica, no México, como wild sun flower e mexican mun flower (ROIG; MESA, 1974; NASH, 1976; RODRÍGUEZ, 1990; RÍOS, 1993; CAIRNS, 1996) Outras denominações são: margaridão amarelo, boldo japonês, unha de gavião e rayo de sol. Especialmente no Brasil é conhecida como girassol-mexicano, flor-do-amazonas e margaridão (NASH, 1976; RODRÍGUEZ, 1990; RÍOS, 1993).

Tithonia diversifolia, encontra-se amplamente distribuída na zona tropical, tendo sido encontrada no Sul do México, Honduras, El Salvador, Guatemala, Costa Rica, Panamá, Sri Lanka, Índia e Ceilão (NASH, 1976), Venezuela e Colômbia (RÍOS, 1993), Cuba (ROIG; MESA, 1974), Quênia e Filipinas, dentre outros países da África Tropical e do sudeste da Ásia (WANJAU et al., 1998). No Brasil, pode ser encontrada em todo o território nacional, sendo semelhante ao girassol (AZANIA et al., 2003).

Cerca de 150 compostos químicos têm sido encontrados em *Tithonia diversifolia* cita-se sesquiterpenos, incluindo lactonas, terpenos, flavonoides como luteolina e derivados do ácido clorogênico (AMBROSIO et al., 2008; CHAGAS-PAULA et al., 2011; KURODA et al., 2007; CHAGAS PAULA et al., 2012). Outras classes menores também foram identificadas, tais como fitoesteróis, xantonas, cumarinas, ceramidas, cromonas e cromenos, (BOBBERT et al, 2006; RAGASA et al., 2007).

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC) detectou a presença de Tagitinina C e A, lactonas sesquiterpênicas (GOFFIN et al., 2002). Foram, ainda, isolados do extrato acetato de etila das partes aéreas de *T. diversifolia*, três novos sesquiterpenoides a 2- α -hidroxitirotundina, tithofolinolide e 3- α -acetoxidiversifolola, juntamente com oito lactonas sesquiterpênicas conhecidas como 3 β -acetoxi-8 β -Isobutirloxireinosina, tagitinina A e tirotundina (GU et al., 2002; CASTRO et al., 2010).

Enquanto que o óleo essencial é composto predominantemente de hidrocarbonetos monoterpenos, tais como β -ocimeno, α -pineno e limoneno (GBOLADE, BIONDI, RUBERTO, 2008).

Na medicina popular, as partes aéreas de *T. diversifolia* são indicadas no tratamento de diabetes (HUI et al., 2009), malária (NJOROGE; BUSSMANN, 2006a) e doenças infecciosas (HEINRICH et al, 1998; NJOROGE; BUSSMANN, 2006b; MAREGESI et al, 2007). A espécie é de particular interesse, uma vez que demonstrou diversas atividades farmacológicas, tais como antiplasmódica (GOFFIN et al, 2002; MADUREIRA et al., 2002; ELUFIOYE; AGBEDAHUNSI, 2004; MAREGESI et al., 2009; MUGANGA et al, 2010), amebicida (TONA et al., 1998; 2000), antivirais (COS et al., 2002; CHIANG et al., 2004), anti-inflamatório (RÜNGELER et al., 1998; OWOYELE et al., 2004) e antidiabético (MIURA et al., 2002; 2005). A espécie tem potencial para se tornar um medicamento de referência vegetal o que justifica mais estudos sobre sua atividade biológica.

2.7 *Aedes (Stegomyia) aegypti*, L. 1762, SEU CICLO BIOLÓGICO, TRANSMISSÃO E CONTROLE

Aedes aegypti (aêdês do grego "odioso" e *aegypti* do latim "do Egípto"), popularmente conhecido como mosquito da Dengue, é uma espécie de mosquito da classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae, subfamília Culicinae, tribo Aedini, gênero *Aedes* e subgênero *Stegomyia* (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; GONÇALVES, 2010).

É originário da África e se espalhou pela Ásia e Américas ao longo dos séculos XV até o XIX, principalmente pelos meios de transportes cada vez mais rápidos, usando vias aérea, marítima ou terrestre (REBELO et al., 1999). Chegou ao Brasil durante o período colonial, provavelmente na época do tráfico de escravos. Atualmente, está distribuído por quase todo o mundo, com ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; GONÇALVES, 2010).

Aedes aegypti apresenta as seguintes características fenotípicas: é um mosquito rajado, de coloração escura, com escamas brancas pelo corpo. Sua identificação é facilitada pelo desenho em forma de lira presente no dorso, que pode ser observado a olho nu. Apresenta escamas brancas, alternando-se com escamas escuras, são encontradas na região posterior da cabeça e nos segmentos abdominais (GADELHA; TODA, 1985; REY, 2001).

É um mosquito de hábito diurno com atividade no período vespertino. O seu controle é difícil, devido ao fato de ser muito versátil na escolha dos criadouros (lugares escolhidos pelas fêmeas para efetuar a postura de seus ovos). Os ovos são extremamente resistentes à dissecação, podendo sobreviver vários meses até que a chegada de água propicie seu desenvolvimento larval (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; GONÇALVES, 2010).

2.7.1 Ciclo biológico do *Aedes aegypti*

Os Dípteros se desenvolvem através de metamorfose completa (holometabolía), e o ciclo de vida compreende quatro fases: ovo, larva (4 estádios larvários), pupa (aquática) e adultos (terrestre) (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; GONÇALVES, 2010). O desenho esquemático mostrando as fases de desenvolvimentos do *A. aegypti*.

É um mosquito predominantemente doméstico, a oviposição ocorre durante o dia e se faz nas paredes dos criadouros pouco acima da superfície da água. Os ovos são menores que 1mm de comprimento, inicialmente brancos mas após duas horas tornam-se quase negros devido ao processo de oxidação. Os embriões no interior dos ovos necessitam de 1 a 3 dias com umidade para atingirem seu desenvolvimento. Se durante este período for assegurado um perfeito desenvolvimento, os ovos se tornam resistentes a dessecação e podem sobreviver por vários meses até um ano (GADELHA; TODA, 1985; GONÇALVES, 2010).

A larva que emerge da ruptura do ovo é a primeira dos quatro estágios larvais (PEREIRA et al., 2006). Ela cresce sequencialmente de 1 a 7mm de comprimento. A passagem de um estágio larval para o próximo é feita pelo processo de muda durante o qual ocorre o desprendimento do exoesqueleto. A larva passa a maior parte do seu tempo comendo.

O desenvolvimento larval se completa entre cinco dias desde que ocorram condições favoráveis de temperatura (25°C a 29°C) e se inicia a fase de pupa. O estágio pupal não requer alimentação e seu desenvolvimento dura em média de 1 a 3 dias, a partir de então aparecem as características dos adultos como asas, probóscide e patas. Assim que o ciclo gonadotrófico (amadurecimento dos ovos) é completado, a fêmea está apta para a postura. O tempo médio de vida do mosquito adulto é de 30 dias e a cada oviposição, a fêmea coloca de 50 a 200 ovos (GADELHA; TODA, 1985; BESERRA et al., 2006; GONÇALVES et al., 2010).

2.7.2 Ciclo de transmissão da dengue pelo *Aedes aegypti*

O processo dinâmico e progressivo de seleção adaptativa para a sobrevivência das espécies, que ocorre cotidianamente na natureza, envolve importantes fenômenos que interferem no estado de saúde das populações humanas e isto pode ser bem evidenciado na força da reemergência das infecções causadas pelos vírus da dengue (DENV), pois as agressões dos quatro sorotipos destes agentes às populações humanas vêm crescendo em magnitude e extensão geográfica, desde meados do século XX (HALSTEAD, 1997; TEIXEIRA et al., 1999).

Assim, as primeiras evidências do ciclo de transmissão do DENV foram publicadas por Bancroft em 1906, que levantou a hipótese de o *A. aegypti* ser o vetor da Dengue, logo depois foi confirmado por Agramonte e outros pesquisadores. A partir deste

conhecimento, foi possível estabelecer os elos epidemiológicos envolvidos na transmissão da doença conforme cadeia abaixo (TEIXEIRA et al., 1999; GONÇALVES, 2010).

Após uma pessoa ser picada por um mosquito infectado, o vírus passa por um período de incubação em média de 4 a 7 dias no qual os sinais e sintomas da fase aguda da doença são apresentados. Este período é a fase de viremia, onde o vírus circula no sangue periférico. Se outros mosquitos (não infectados) se alimentarem no hospedeiro infectado durante esta fase podem tornar-se infectados e, subsequentemente, podem transmitir o vírus a outras pessoas susceptíveis após um período de incubação extrínseco que dura de 8 a 14 dias (GUBLER, 1998; GONÇALVES, 2010).

2.7.3 Controle e prevenção da dengue

Em 2008, o laboratório farmacêutico francês, Sanofi Pasteur anunciou a produção de uma vacina tetravalente contra Dengue testada em um estudo clínico pediátrico na Tailândia, essa é a primeira vacina candidata no combate da doença que atingiu esse estágio de desenvolvimento clínico. No Brasil, o Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) desenvolveu em 2009 uma vacina tetravalente de vírus inativado, purificado contra a dengue. Os pesquisadores acreditam de que o antígeno de vírus inativado, purificado e tetravalente em combinação com os Sistemas Adjuvantes de sua propriedade apresenta a máxima probabilidade de sucesso em comparação com outras abordagens.

Como a maioria das vacinas ainda estão em fase de teste a melhor prevenção ainda é combater a reprodução do mosquito vetor, principalmente no peridomicílio das residências onde a maioria das transmissões ocorre. Estes incluem: a redução dos locais de reprodução do mosquito, melhoria no manejo dos resíduos sólidos, organização do ambiente urbano, maiores investimentos e efetividade nos programas de educação da rede pública (MALAVIGE et al., 2004; GONÇALVES, 2010).

O controle ao *A. aegypti*, envolve ações do estado e da sociedade. As medidas preventivas são direcionadas principalmente aos criadouros, constituindo-se de ações simples e eficazes, especialmente aquelas que consistem em cuidados a serem adotados pela população. A tecnologia hoje disponível abrange tantas medidas de controle físico, químico e biológico. Análises laboratoriais também são indispensáveis para a prevenção, pois o diagnóstico correto e o tratamento imediato possuem um papel crucial na prevenção do sofrimento e morte causados pela Dengue (DONALÍSIO; GLASSER, 2002; GONÇALVES, 2010)

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e repelente dos extratos vegetais das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) contra *Aedes aegypti*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar as principais classes de metabólitos secundários dos extratos aquosos e etanólicos das espécies *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*;

Avaliar a atividade antioxidante dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*;

Avaliar a toxicidade dos extratos brutos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra larvas de *Artemia salina*;

Avaliar a atividade larvicida dos extratos brutos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra larvas de *Aedes aegypti*;

Avaliar a atividade adulticida dos extratos brutos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra mosquitos adultos de *Aedes aegypti*;

Avaliar a atividade repelente dos extratos brutos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra fêmeas adultas de *Aedes aegypti*.

4 JUSTIFICATIVA

O uso de plantas medicinais, no tratamento de diversas patologias, é uma prática milenar, sendo encontrada ao longo da história em todas as populações mundiais e em diferentes grupos étnicos. Com base no uso popular foram encontrados diversos medicamentos utilizados na medicina tradicional, como fonte importante para a descoberta de novos fármacos (MARTINS, 2000; HOCAYEN et al., 2012; BUSSMANN, 2016).

As plantas medicinais e seus metabólitos têm sido alvo de inúmeros estudos visando a contribuição ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e de sua inserção nos cuidados primários à saúde. Por isso, as pesquisas com plantas medicinais buscam gerar medicamentos alternativos em menor tempo, com custos menores e mais acessíveis a população (BRITO; BRITO, 1993).

Dentre as propriedades biológicas das plantas medicinais e seus metabólitos, destaca-se a ação antioxidante (GUTIÉRREZ et al., 2008; FREIRE et al., 2012). Onde tais plantas e seus compostos atuam sequestrando as espécies reativas de oxigênio complexando e quelando os íons metálicos (MELO et al., 2008; RETO et al., 2008; FREIRE et al., 2012).

Destaca-se também a citotoxicidade celular, cujos testes *in vitro* são necessários na definição da toxicidade de extratos vegetais, indicando a habilidade intrínseca desses em ocasionar dano ou morte celular como consequência as alterações nas funções celulares. Para isso, diferentes parâmetros visando a identificação da proliferação e da morte celular podem ser empregados nos ensaios, avaliando-se a colorimetria e absorvância por meio da incorporação de determinadas substâncias no cultivo (WEYERMANN et al., 2005).

Outra interessante perspectiva das plantas medicinais e seus constituintes é sua utilização no controle de larvas e insetos. Pesquisas mostram o uso de produtos naturais como bioinseticidas produzindo pequenos impactos ao meio ambiente (YANG et al., 2002; ARAUJO et al., 2003; ALBUQUERQUE et al., 2004). Os mosquitos atuam como vetores de inúmeras doenças, causando sérios problemas à saúde do homem e em alguns casos levando ao desenvolvimento de epidemias de difícil controle. Desta forma, pesquisas estão sendo realizadas no sentido de descobrir inseticidas naturais, efetivos e seguros. Os produtos de origem vegetais são produzidos, em resposta a agressões físicas, químicas e mecânicas, esses por vez, apresentam diversas atividades sejam antioxidantes, citotóxica e inseticida (CHARIANDY et al., 1999; MOHAN; FIELDS, 2002; SANTIAGO et al., 2005).

O emprego de substâncias extraídas de plantas, na qualidade de inseticidas, tem inúmeras vantagens quando comparado aos sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos de

recursos renováveis e são rapidamente degradáveis; o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias, compostas da associação de vários princípios ativos é processo lento; estes pesticidas são de fácil acesso e obtenção e não deixam resíduos em alimentos, além de apresentarem baixo custo de produção (ROEL, 2001).

Na busca pelo desenvolvimento de novos agentes ativos baseados em produtos naturais, esforços são feitos para selecionar, isolar, e desenvolver bioprodutos com atividade pesticida (MULLA; TIANYUN, 1999). Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos de origem natural contra insetos. De uma maneira geral, a pesquisa inicia-se com extratos brutos de plantas preparados com diversos solventes, tais como hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água (SHAALAN et al., 2005; MACIEL et al., 2010).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DO ESTUDO

As espécies foram coletadas no distrito da fazendinha, localizado a nove quilômetros da capital Macapá-Amapá. O critério de escolha baseou-se em pertencerem a família de estudo - Asteraceae e suas indicações populares. Foram coletadas folhas de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Lat. 00°02'30.40''S/Long. 51°06'37.5''W), *Acmella ciliata* (Kunth) Cass. (Lat. 0°00'26.8''S/Long. 51°05'04.6''W), e *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Lat. 00°03'12.5''S Long.: 51°07'59.5''W)

5.2 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As exsiccatas obtidas na coleta foram identificadas e depositadas no Herbário Amapaense-HAMAB/Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá- IEPA, sob os respectivos códigos (IAN): 018878, 018879 e 018880 (**Figura 1**).

Figura 1 – Folhas e flores das espécies *Acmella oleracea* (A), *Acmella ciliata* (B) e *Tithonia diversifolia* (C).

A



B



C



Fonte: Autor.

5.3 OBTENÇÃO E ANÁLISE QUÍMICA DOS EXTRATOS

Os extratos brutos aquosos e etanólicos foram obtidos por hidrodestilação e maceração das folhas conforme metodologias da Farmacopeia Brasileira (2010) e Barbosa (2004), respectivamente.

5.3.1 Extrato Bruto Aquoso (EBA) das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*

As folhas das três espécies vegetais, foram limpas com papel toalha e submetidas a desidratação em estufa com circulação de ar a 36°C, após secas foram trituradas em triturador mecânico. Então, 50 gramas do granulado foram suspensas em 500 mL de água destilada. O extrato bruto aquoso (EBA) foi obtido após o processo de hidrodestilação (temperatura 100 °C) em aparelho tipo Clevenger durante 2 h (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Realizada a extração, o EBA foi rotaevaporado, e posteriormente, diluído em solventes e concentrações adequadas para realização dos ensaios biológicos.

5.3.2 Extrato Bruto Etanólico (EBE) das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

Após trituração de 50g do material vegetal, de cada espécie, este foi transferido para um recipiente apropriado onde acrescentou-se álcool etílico (70%) até a completa submersão do material totalizando volume de 500mL. O extrato ficou em maceração por 3 dias. Realizada a extração, o extrato bruto etanólico (EBE) foi rotaevaporado e posteriormente diluído em solventes e concentrações adequadas para realização dos ensaios biológicos (BARBOSA et al, 2004).

5.3.3 Avaliação fitoquímica dos extratos brutos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*

Os testes fitoquímicos realizados fundamenta-se em reações de precipitação e coloração. Esses foram utilizados para verificar a presença de saponinas, ácidos orgânicos, polissacarídeos, açúcares redutores, alcaloides, depsídeos e depsidonas, esteroides e triterpenos, fenóis e taninos, glicosídeos cardioativos, antraquinonas, proteínas e

aminoácidos, flavonoides, purinas, catequinas, heterosídeos antociânicos e resinas (MATOS, 1988; WAGNER et al., 1996; COSTA, 2001; BARBOSA et al., 2004; SIMÕES et al., 2010).

5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DE *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* SOBRE O RADICAL LIVRE 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•)

A avaliação da atividade antioxidante, com algumas modificações, foi baseada na metodologia proposta por Sousa et al. (2007) e Lopez-Lutz et al. (2008) por meio da capacidade sequestrante do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). A atividade antioxidante foi calculada de acordo com Souza et al. (2009) (**Figura 2**).

Figura 2- Cálculo do % atividade antioxidante (%AA).

$$(AA\%) = 100 - \left\{ \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{controle}} \times 100 \right\}$$

AA% -Porcentagem da atividade antioxidante

Ab_{Samostra} – Absorbância da Amostra

Ab_{Sbranco}- Absorbância do Branco

Ab_{Scontrole}- Absorbância do controle

Preparou-se uma solução metanólica de DPPH na concentração de 40µg/mL. Os extratos brutos aquosos e etanólicos foram diluídos em metanol nas seguintes concentrações (5/2,5/1,0/0,75/0,5 e 0,25 mg/mL). Para avaliação da atividade antioxidante foram feitas triplicatas com volume de 0,3 mL de extrato por tubo, adicionados a 2,7mL da solução de DPPH. Paralelamente, foi preparado o branco de cada concentração, sendo este a mistura de 2,7mL de metanol mais 0,3 mL da solução metanólica do EBA e EBE. Após 30 minutos de incubação em temperatura ambiente e protegido da luz, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro (Biospectro SP-22) no comprimento de onda 517nm, em cubeta de quartzo.

5.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios biológicos para o desenvolvimento desta pesquisa foram realizados em primeiro momento avaliando a toxicidade dos extratos frente a larvas de *Artemia salina* e posteriormente sobre os estágios do ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*: larvas e insetos

adultos. O efeito dos extratos sobre os insetos adultos foi avaliado quanto ao efeito inseticida e repelente.

5.5.1 Ensaio de toxicidade dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* para *Artemia salina* Leach.

O ensaio de citotoxicidade frente *Artemia salina* Leach baseou-se na técnica de Araújo et al. (2010) e Lôbo et al. (2010) com adaptações. Preparou-se uma solução de sal marinho sintético a 35 g/L, nesta foram incubados 45 mg de ovos de *A. salina* Leach. A solução foi incubada em um recipiente escuro e expostas a fonte de calor artificial, no período de 24 horas para eclosão das larvas (náuplios). Em seguida os náuplios foram separados e colocados em ambiente claro a temperatura ambiente, por mais 24 horas para alcançarem estágio de metanáuplios. Após obtenção dos metanáuplios, foram preparadas as soluções mãe dos extratos brutos aquosos (EBA) e extratos brutos etanólicos (EBE) adicionando 18 mg dos extratos secos a 9,0 mL de solução salina, com concentração final de 2mg/mL.

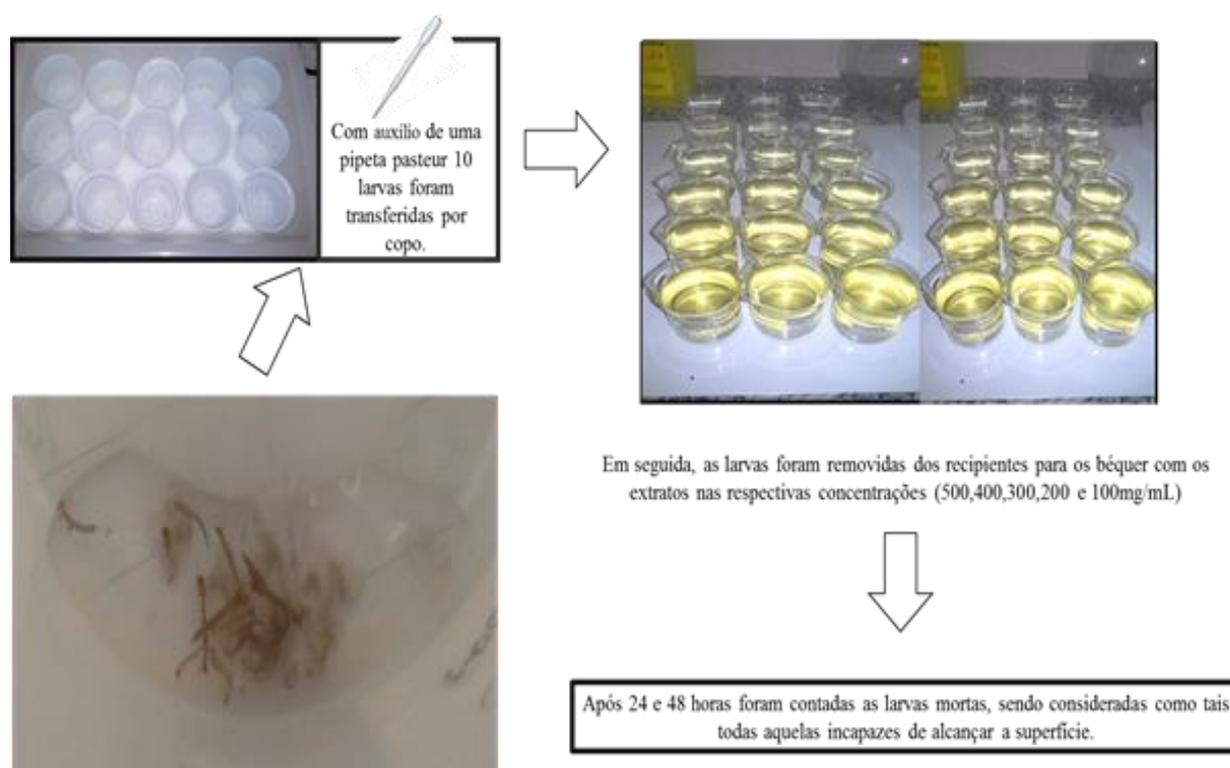
Posteriormente, ao término do período em claro os mesmos foram selecionados e divididos em 7 grupos com 10 metanáuplios em cada tubo de ensaio, em cada grupo foram adicionadas alíquotas da solução mãe dos EBA e EBE (2500, 1900, 1250, 625, 250 e 125 μ L) e completado o volume para 5 mL com solução de sal marinho sintético (35g/mL), obtendo-se soluções com concentrações finais de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50 μ g/mL. Dessa forma os grupos foram designados de acordo com suas respectivas concentrações e todas as concentrações, incluindo o grupo controle, foram realizadas em triplicatas. Ao final foram contabilizados o número de não sobreviventes para determinação de CL₅₀ por meio da análise PROBIT do software SPSS®.

5.5.2 Avaliação da atividade larvicida dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

As larvas de *A. aegypti* utilizadas nos bioensaios foram provenientes da colônia mantida no insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Os ensaios biológicos foram conduzidos em condições climáticas controladas com temperatura de 25 \pm 2°C e umidade relativa do ar de 75 \pm 5% e ciclo de claro e escuro de 12 horas.

Os bioensaios foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Oliveira et al. (2002), Costa et al. (2005) e Pimenta et al. (2006) usando triplicatas nas concentrações 500, 400, 300, 200 e 100 mg/mL dos EBA e EBE frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti* no 3º estágio jovem (L_3). Os extratos secos foram dissolvidos em 500mL em água destilada. Para cada concentração foram utilizadas 10 larvas, pipetadas para um béquer de 100 mL contendo água destilada. Em seguida, as larvas foram removidas de cada béquer para os recipientes com os extratos, minimizando-se assim, o tempo entre o preparo da primeira e última amostra. Foi verificada a toxicidade do solvente empregado na diluição das concentrações, estando o mesmo presente, também nas réplicas do controle. Durante o experimento, a temperatura média da água foi de 25 °C. Após 24 e 48 horas foram contadas as larvas mortas, sendo consideradas como tais todas aquelas incapazes de alcançar a superfície (**Figura 3**).

Figura 3- Procedimento para avaliação da atividade larvicida dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* para larvas de terceiro instar de *Aedes aegypti*.



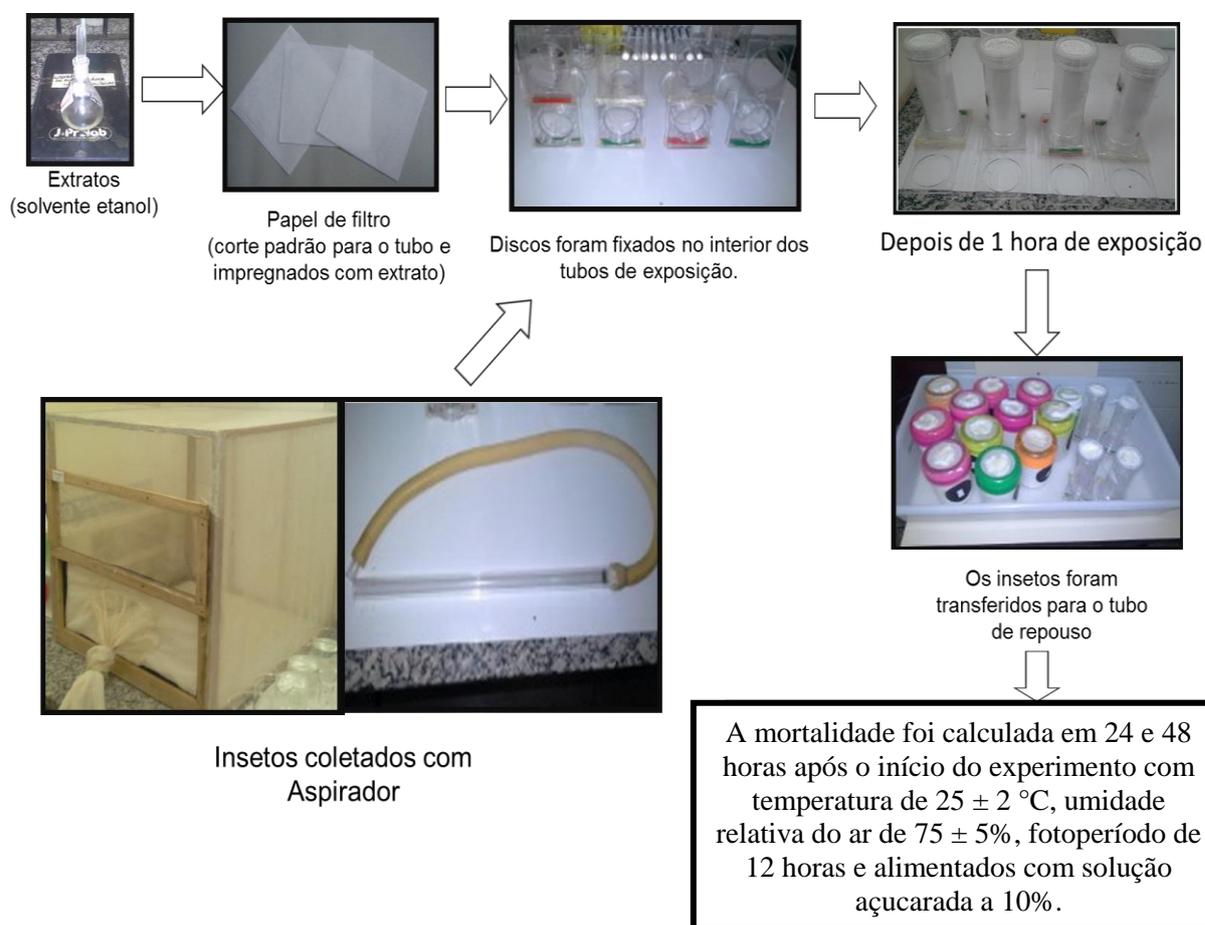
Fonte: Autor.

5.5.3 Avaliação da atividade aduítica dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

A avaliação da atividade aduítica em *Aedes aegypti* foi realizada de acordo com a metodologia da OMS. Em tubos de 44 mm de diâmetro e 125 mm de comprimento, uma das extremidades foi tampada com uma rede de malha fina e na outra extremidade foi acoplada uma tampa deslizante com um orifício de 20 mm, por onde são introduzidos insetos adultos, machos ou fêmeas, originárias da cepa Rockefeller, com idades entre 2 e 5 dias com o auxílio de um aspirador bucal.

As soluções etanólicas dos EBA e EBE foram avaliadas nas concentrações de 600, 500, 400 e 300 mg/mL e 1 mL de cada concentração foi impregnada em papel de filtro de 5.500 mm², após volatilização do solvente, os discos foram fixados no interior dos tubos de exposição. Depois de uma hora de exposição, os mosquitos foram transferidos para o tubo de repouso e a mortalidade foi calculada em 24 e 48 horas após o início do experimento com temperatura de 25±2 °C, umidade relativa do ar de 75±5%, fotoperíodo de 12 horas e alimentados com solução açucarada a 10%. Posteriormente, contabilizou-se os mosquitos mortos, considerando como tais aqueles incapazes de voar ou andar dentro e que deslizam sobre o próprio eixo no recipiente utilizado (**Figura 4**). Para os recipientes em que a mortalidade ultrapassava 20%, o bioensaio foi repetido. Para aqueles que a mortalidade ficou entre 5 e 20% foram corrigidos através da fórmula de Abbot (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Figura 4 - Procedimento para avaliação da atividade aduictida dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* sobre insetos adultos de *Aedes aegypti*.



Fonte: Autor

5.5.4 Avaliação da atividade repelente dos extratos aquosos e etanólicos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

Para a realização do ensaio foi utilizado o protocolo padrão de avaliação de repelentes em humanos, recomendado pela Organização mundial da Saúde (OMS, 2009). Utilizou-se fêmeas adultas, cepa Rockefeller, pertencentes a espécie *A. aegypti* provenientes da colônia mantida no insetário do Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá.

Os mosquitos foram mantidos em temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar de $75 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Antes da realização dos ensaios 50 fêmeas adultas com 5 a 7 dias de idade foram acondicionadas em gaiolas de 40x40x40 cm; estas não

receberam comida sanguínea e foram privadas de solução açucarada 10% por 24 horas antes do ensaio.

Adultos saudáveis de ambos os sexos, com idades entre 20 e 35 anos, sem antecedentes de reações alérgicas a picada de mosquitos e sem enfermidades dermatológicas; foram utilizados como voluntários neste estudo. Todos os voluntários que participaram foram informados sobre os objetivos da pesquisa a metodologia e os possíveis efeitos adversos dos produtos antes de assinar o termo de consentimento esclarecido (Apêndice). Antes da realização dos bioensaios de repelência foi solicitado a cada participante a abstinência de produtos hidratantes no corpo por 12 horas antes do ensaio.

No dia do experimento cada participante lavou abundantemente os antebraços e mãos com água e sabão neutro. Posteriormente, os antebraços foram higienizados com álcool 70% e deixou-se secar. No momento do ensaio as mãos foram protegidas por luvas de látex os braços foram envoltos por papel filme (Lusafilm R105[®]), posteriormente foi realizado corte no papel filme, sobre o antebraço de 7 por 7 cm² (totalizando 49cm²).

O antebraço direito foi selecionado como controle (solvente) e o esquerdo como teste dos extratos, que foram aplicados em ordem crescente de concentração. O primeiro procedimento para realização do bioensaio consistiu em que cada voluntário introduzisse o braço direito (controle) na gaiola contendo 50 mosquitos fêmeas durante 30 minutos, foram contados o número de mosquitos que pousaram e picaram nesse intervalo, devendo ser igual ou superior a 10 para validar o experimento.

Em seguida, aplicou-se 1mL do solvente de diluição dos extratos (etanol) no antebraço direito, e deixou-se secar durante 2 minutos e então cada voluntário introduziu novamente o antebraço na gaiola contendo os mosquitos, durante 30 minutos. Com a finalidade de considerar válido o ensaio, o número de mosquitos que pousou e picou, durante 30 minutos, deveria ser superior ou igual a 10. Posteriormente aplicou-se 1 mL do extrato no antebraço esquerdo, e deixou-se secar por 2 minutos e então introduziu-se o antebraço na gaiola por 30 minutos, neste intervalo foram contados o número de mosquitos que pousaram e picaram. Finalmente aplicou-se uma quantidade equivalente do repelente comercial no antebraço direito seguindo as recomendações do fabricante, e foi novamente solicitado ao voluntário introduzir o antebraço na gaiola e contabilizou-se o número de mosquitos que pousaram e picaram por 30 minutos.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos dos bioensaios foram expressos através de Médias e Desvio Padrão, organizados em tabelas e gráficos. As diferenças significativas entre os tratamentos foram avaliadas utilizando o teste ANOVA Um critério. Os valores de CL₅₀ foram determinados em regressão PROBIT, através do programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) com limite probabilístico de erro igual a 0,05.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS FOLHAS DE *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

A análise fitoquímica dos extratos aquosos *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*, revelou presença de saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, fenóis, taninos, alcaloides, esteroides, triterpenos, cumarinas, heterosídeos cianogênicos e resinas (**Tabela 1**). Para os extratos etanólicos a análise fitoquímica revelou os mesmos encontrados nos extratos aquosos acrescido apenas de depsídeos, depsidonas, proteínas e aminoácidos (**Tabela 2**).

A análise revelou ausência unanime de polissacarídeos, glicosídeos cardiotônicos, catequinas, purinas, antraquinonas e flavonoides.

Tabela 1- Classes de metabólitos secundários encontrados após análise fitoquímica dos extratos brutos aquosos das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

Metabólito Secundário	Extrato Bruto Aquoso (EBA)		
	<i>A. oleracea</i>	<i>A. ciliata</i>	<i>T. diversifolia</i>
Saponinas	+	+	+
Ácidos orgânicos	+	+	+
Açúcar redutor	+	+	+
Fenóis	+	+	+
Taninos	+	+	+
Alcaloides	+	+	+
Heterosídeos cianogênicos	+	-	+
Resinas	+	-	+
Esteroides e Triterpenos	+	-	-
Cumarinas	-	+	-
Flavonoides	-	-	-
Antraquinonas	-	-	-
Polissacarídeos	-	-	-
Depsídeos e depsidonas	-	-	-
Glicosídeos cardíacos	-	-	-
Catequinas	-	-	-
Purinas	-	-	-
Proteínas e aminoácidos	-	-	-

(+) Presente / (-) Ausente

Tabela 2- Classes de metabólitos secundários encontrados após análise fitoquímica dos extratos brutos etanólicos das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia*.

Metabólito Secundário	Extrato Bruto Etanólico (EBE)		
	<i>A. oleracea</i>	<i>A. ciliata</i>	<i>T. diversifolia</i>
Saponinas	+	+	+
Ácidos orgânicos	+	+	+
Açúcar redutor	+	+	+
Fenóis	+	+	+
Taninos	+	+	+
Alcaloides	+	+	+
Heterosídeos cianogênicos	+	-	+
Resinas	+	+	+
Esteroides e Triterpenos	+	-	-
Cumarinas	-	+	-
Flavonoides	-	-	-
Antraquinonas	-	-	-
Polissacarídeos	-	-	-
Depsídeos e depsidonas	-	+	-
Glicosídeos cardíacos	-	-	-
Catequinas	-	-	-
Purinas	-	-	-
Proteínas e aminoácidos	+	+	+

(+) Presente / (-) Ausente

Uma das principais características da família Asteraceae é sua capacidade de produzir uma grande diversidade de metabólitos secundários com efeitos terapêuticos ou tóxicos (BREMER, 1994). Os principais metabólitos reportados pertencem às classes dos

poliacetilenos, flavonoides, cumarinas e terpenoides (HEYWOOD et al., 1977; ZDERO; BOHLMANN, 1990). Dentro dos terpenoides, cabe realçar a ocorrência das lactonas sesquiterpênicas (LST) presentes em quase todas as 17 tribos, as quais apresentam diferentes atividades biológicas e são consideradas marcadores quimiotaxonômicos (PICMAN, 1986; RODRIGUEZ et al., 1976; SCHMIDT, 1999).

Diante das espécies estudadas *A. oleracea* (L.) R.K. Jansen, é amplamente utilizada na medicina popular como, antibacteriano, antifúngico, antimalárico, larvicida, inseticida, citotóxica e antioxidante (GERTSCH, 2008; PANDEY et al., 2007; CHAKRABORTY et al., 2010; RIOS et al., 2007; WONGSAWATKUL et al., 2008; PRACHAYASITTIKUL et al., 2009). Diante da análise fitoquímica do EBA de *A. oleracea*, observa-se um grande potencial antioxidante e citotóxico da espécie. Que estariam atribuídas à presença de flavonoides, e outros compostos fenólicos como taninos, alcaloides, saponinas, ácidos orgânicos e açúcares redutores (SIMÕES et al., 2010).

Os metabólitos podem também justificar as atividades farmacológicas da *Acmella ciliata* anti-inflamatório, antimalarial, antitumoral, hipotensora, anti-histaminico, antibacteriano, citotóxico, imunomodulador e antioxidante. Essas atividades podem ser atribuídas à presença de flavonoides, saponinas, alcaloides, taninos, fenóis e cumarinas (ERASTO et al., 2006; ALVES; NEVES, 2003; PÉREZ-AMADOR et al., 2008; NERGARD et al., 2004; COSTA et al., 2008).

E para espécie *Tithonia diversifolia*, também é utilizada como anti-diarréico, antiamebiano, antimalarial, antiplasmódio e antioxidante. As folhas por apresentarem propriedades antiinflamatórias são usadas no tratamento de hematomas e feridas. (RÜNGELER et al., 1998; KUO; CHEN, 1998; TONA et al., 1999; GOFFIN et al., 2002; MIURA et al., 2002; GU et al., 2002; SILVA, 2003; SAMPAIO et al., 2015).

As funções biológicas atribuídas aos metabólitos secundários, despertam grande interesse para indústria farmacêutica, alimentar e agrônômica (SIMÕES et al., 2007). As saponinas, por exemplo, são classes de metabólitos secundários que apresentam propriedades detergentes e surfactantes. Nas plantas que as produzem, apresentam funções regulatória do crescimento, e na defesa contra insetos e patógenos. Essas funções revelam a importância desses compostos na adaptação e sobrevivência vegetal.

Dentre seus efeitos no organismo humano destacam-se ação antioxidante, em que se ligam a sais biliares e colesterol no tubo digestivo, impedindo sua absorção, citotóxica atuando contra células tumorais e anti-inflamatória (SCHENKEL et al., 2007). Apresentam também atividade anti-helmíntica, antiviral, espermicida, hemolítica e molusquicida (SIMÕES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013). Devido ao comportamento anfipático dessas

moléculas e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolípidos de membrana, sugere-se que algumas saponinas têm a capacidade de romper a membrana plasmática de microrganismos, o que resulta em extravasamento do conteúdo celular e, finalmente, a morte (citotoxicidade) (KAISER et al., 2010).

As saponinas atuam também na redução do colesterol, o suposto mecanismo dessa ação poderia ser explicado através do aumento da excreção do colesterol, por formação de complexo com as saponinas administradas por via oral, ou, ainda, através do aumento da eliminação fecal de ácidos biliares. Outra proposta mais recente, leva em consideração as propriedades irritantes das saponinas com a formação de complexos entre as saponinas e o colesterol das membranas celulares da mucosa intestinal, levando a uma esfoliação, perda de função e conseqüente redução da área de absorção o que pode ocasionar um efeito laxativo dessas biomoléculas (SIMÕES et al., 2010).

Os polifenóis podem regular a atividade das enzimas antioxidantes endógenas e detoxificantes, inibindo as enzimas produtoras de carcinógenos, no processo de detoxificação do organismo. Os polifenóis inibem o câncer por bloquearem a formação de substâncias cancerígenas; suprimem a ativação da carcinogênese e aumentam a detoxificação de agentes cancerígenos (SALGADO, 2009; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os polifenóis, também têm mostrado elevado efeito cardioprotetor possivelmente pela habilidade em reduzir o colesterol total e LDL-c, inibir a agregação plaquetária, estimular a vasodilatação e enzimas antioxidantes, bem como inibir vias pró-inflamatórias (RAHMAN et al., 2008). Conforme efeitos observados conclui-se que os polifenóis previnem ou reduzem o estresse oxidativo por meio da atividade varredores de radicais livres, complexação com metais oxidantes, associação com a LDL-c aumentando sua resistência à oxidação, aumento de antioxidantes endógenos e por meio da modulação da atividade de enzimas-chave na defesa antioxidante. A modulação das enzimas antioxidantes por polifenóis parece ocorrer via ativação do fator de transcrição “Nuclear factor-E2-related factor” (Nrf2) (CHUANG; MCINTOSH, 2011; PALSAMY; SUBRAMANIAN, 2011). Este pode ser um mecanismo crucial pelo qual os polifenóis conferem cardioproteção.

Em condições basais, o Nrf2 encontra-se no citoplasma ligado ao complexo repressor Kelchlike ECH-associated protein 1 (KEAP-1), o qual promove ubiquitinação e degradação do Nrf2 no proteasoma. No entanto, em resposta ao estresse oxidativo ou eletrofílico, o Nrf2 dissocia-se do KEAP-1 e transloca-se para o núcleo onde se liga aos elementos de resposta antioxidante (ARE) ou elementos de resposta à eletrófilo (EpRE), ativando a transcrição de enzimas antioxidantes/detoxificantes (CHAPPLE et al., 2012; TAKAYA et al., 2012). Em adição, o Nrf2 inibe a expressão de mediadores pró-

inflamatórios por meio da regulação de enzimas anti-inflamatórias, como a heme oxigenase-1(HO-1) (KIM et al., 2010).

Pesquisas também associam aos polifenóis efeito vasodilatador, Ndiaye et al (2003) buscando investigar os mecanismos envolvidos na ação dos polifenóis como agente relaxante, observaram aumento do radical superóxido nas artérias coronárias suínas tratadas com os polifenóis do vinho tinto. Segundo os autores, a produção deste radical está relacionada com a formação do fator hiperpolarizante dependente de endotélio (EDHF), o qual conduz à hiperpolarização, fenômeno correlato ao relaxamento.

Ou seja, os polifenóis atuam como vasodilatadores das artérias coronárias por estimularem a formação de EDHF endotelial, o que ocorre por meio de um mecanismo redoxsensível (dependente de superóxido). Considerando os polifenóis como potentes agentes varredores de radicais livres, os autores acreditam que, provavelmente, a geração de superóxido pelos polifenóis seja realizada localmente e de forma controlada para ativar vias de transdução envolvidas na hiperpolarização da membrana ou para afetar diretamente a atividade de canais de potássio nas células endoteliais, os quais medeiam a ação do EDHF.

Outra classe de compostos fenólicos são os taninos. Estes são solúveis em água, contudo formam complexos insolúveis com alcaloides, gelatina e outras proteínas. São importantes componentes gustativos, sendo responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais. Sugere-se que os possíveis mecanismos de ação dos taninos no organismo estejam relacionados a três propriedades: a complexação com íons metálicos (quelante); a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de complexar com macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (NIEMETZ; GROSS, 2005; SIMÕES et al., 2007).

No organismo humano atuam como antioxidante, antisséptico, cicatrizante e vasoconstritor. Em excesso podem reduzir significativamente a biodisponibilidade mineral e a digestão de proteínas da refeição (COZZOLINO, 2009).

No tocante aos açúcares redutores, apresentam grandes benefícios a saúde por possuírem atividade antioxidante e antimutagênica (SILVA et al., 2003; QUADROS et al., 2010). Bem como a presença de ácidos orgânicos também sugere atividade antifúngica, antimicrobiana e antioxidante dessas espécies (SIMÕES, 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

Os esteroides também são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, dentre seus benefícios à saúde humana destaca-se a redução da absorção do colesterol da dieta, com consequente redução dos níveis sanguíneos; a redução do risco de doenças cardiovasculares; e inibição do crescimento de certos tipos de tumores malignos (SALGADO, 2009; KHACHA-ANANDA et al., 2013).

Outro metabólito que pode estar envolvido na ação citotóxica são os alcaloides, que devido ao seu amargor e toxicidade atuam como amebicida, antitumorais e antivirais (Simões et al., 2010). Alguns podem ser cancerígenos e outros antitumorais. Os alcaloides pirrolizidínicos, presentes em confrei (*Symphytum sp.*), são exemplos de causadores de câncer. Via de regra, as plantas com alcaloides podem ser tóxicas, se usadas em quantidades maiores ou de forma inadequada.

A produção de resinas pelas plantas está intimamente associada a fatores climáticos e a estímulos externos, como a herbívoros e fungos endofíticos e que são percebidos pelas abelhas que as coletam, modificam e depositam no interior da colméia como estratégias de prevenção de doenças e ocorrência de patógenos.

O conhecimento das propriedades das resinas levou o homem a elaborar e desenvolver técnicas de coleta. As utilizações das resinas vegetais vêm ganhando espaço em experimentos de área médica, demonstrando suas eventuais aplicações por apresentam propriedades antimicrobianas, inseticida, inibidores de tumores, regeneração de tecidos, ação cicatrizante, atividade anti-cariogênica, anti-inflamatória, antioxidante, hepatoprotetora, analgésica, atividade estrogênica, antiangiogênica e regenerativa de cartilagens (MENEZES, 2005, ADELMANN, 2005).

Diante da análise fitoquímica preliminar dos extratos das espécies vegetais, observa-se forte relação desses com os objetivos aqui propostos, quanto a atividade antioxidante que permiti a utilização dessas espécies no controle de qualidade e na estabilidade de produtos farmacêuticos para os mais diversos fins. E para atividade citotóxica e bioinseticida interferindo no metabolismo celular, em nível de membrana ou citosol, alterando a permeabilidade celular, ocasionando a morte de diferentes microorganismos, como fungo, bactérias, vírus, e larvas de vetores.

Pesquisadores não afirmam ausência de flavonoides, mas sim que encontram-se em pequenas quantidades para algumas espécies, o que estabelece baixa atividade antioxidante. Romão et al. (2015), corroboram com esta hipótese, demonstraram no extrato aquoso de flores de *A. oleracea* a presença de flavonoides, com a ressalva de que o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais pode ser considerado baixo, assim como sua atividade antioxidante.

Para a espécie *A. ciliata*, os resultados aqui obtidos também estão em desacordo com Kasper et al. (2010) que estudaram a constituição fitoquímica de *A. ciliata* e conseguiram identificar e isolar setes flavonoides, dois inéditos a quercetina-3-O-(3-O-acetil- β -D-glucuronopiranosídeo) e a quercetina-3-O-(2-O-acetil- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6) β -D-glucopiranosídeo).

Como discutido anteriormente a atividade antioxidante mais evidente dos extratos de *A. ciliata*, foi observada no EBA, com a presença dos mesmos metabólitos secundários para os dois extratos, o que nos permitiu sugerir que o método extrativo tem forte participação na composição química, devido a polaridade do solvente influenciar na concentração das substâncias extraídas (AFONSO et al., 2009).

Em atenção às cumarinas, essas foram identificadas apenas na *A. ciliata* tanto no EBA e EBE o que reforça sua indicação hipotensora, antioxidante e citotóxica. As cumarinas possuem uma extensa variedade de efeitos biológicos incluindo anticoagulante, estrogênico, fotossensibilizante, anti-helmíntico, vasodilatador, moluscicida, sedativo, hipnótico, analgésico, hipotérmico (HOULT; PAYÁ, 1996; OJALA et al., 2000), antioxidante (RAJ et al., 1998; MORABITO et al., 2010) e antitumoral (DEXEUS et al., 1990; NOGUCHI et al., 1995; JIMENEZ-OROZCO et al., 1999; CHIMICHI et al., 2002; YANG, 2010).

Muitos pesquisadores correlacionam a atividade antifúngica de alguns compostos com sua atividade antioxidante. Muitos compostos antifúngicos podem atuar como inibidores da produção de micotoxinas, por agirem na regulação da peroxidação lipídica, inibindo a formação de peróxidos e conseqüentemente o estresse oxidativo, que está relacionado à biossíntese de aflatoxinas (JAYASHREE et al., 2000; RASOOLI et al., 2004; VIANA, 2011).

A atividade citotóxica das cumarinas tem sido elucidada ao inibirem o crescimento de vários tipos celulares em cultura, incluindo linhagens de carcinoma brônquico humano (NSCLC-N6) (KOFINAS et al., 1998), câncer pulmonar (A549) (ROSSELLI et al., 2009), carcinoma hepatocelular humano (HepG2) (YU et al., 2009), câncer gástrico humano (SGC-7901) (ZHANG et al., 2009) e carcinoma prostático humano (DU145) (KANG et al., 2009). Fato esse presenciado sobre larvas de *Aedes aegypti* aqui expressos no capítulo IV.

A triagem fitoquímica das partes áreas de *T. diversifolia* não revelaram a presença de flavonoides, porém resultado divergente foi obtido por Gama et al. (2014), e que além de identificar flavonoides também identificaram taninos, fenóis totais, alcaloides e saponinas, como aqui observado tanto no extrato aquoso como etanólico das folhas de *T. diversifolia*. Anteriormente Essiett e Akpan (2013) confirmaram a presença dos mesmos compostos fenólicos, com exceção das saponinas, o que pode estar envolvido com a parte vegetal utilizada.

6.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS ESPÉCIES VEGETAIS *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* CONTRA O RADICAL LIVRE (DPPH•)

Os extratos brutos aquosos de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* mostraram atividade antioxidante dose dependente. A análise estatística mostra diferenças, $p < 0,05$, entre as concentrações de 5mg/mL e 2,5mg/mL. Os valores de IC₅₀ obtidos para os extratos aquosos das três espécies mostram elevada significância para a concentração de 5mg/mL (**Tabela 3**).

Tabela 3- Média e desvio padrão do percentual de atividade antioxidante dos extratos brutos aquosos das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* sobre o radical livre DPPH•.

Extrato bruto aquoso	% Atividade Antioxidante			
	Concentração	<i>A. oleracea</i>	<i>A. ciliata</i>	<i>T. diversifolia</i>
5mg/mL		56,1±0,53 ^a	84,0±2,54 ^a	93,0±0,72 ^a
2,5mg/mL		50,2±0,99 ^{a, b}	78,5±1,22 ^{a, b}	65,9±1,61 ^{a, b}
1,0mg/mL		44,3±1,21 ^{a, b}	55,6±1,04 ^{a, b}	25,9±1,47 ^{a, b}
0,75mg/mL		44,3±0,64 ^{a, b}	51,7±0,48 ^{a, b}	12,0±1,21 ^{a, b, c}
0,5mg/mL		43,6±0,61 ^{a, b}	49,1±0,62 ^{a, b}	12,5±1,70 ^{a, b, c}
0,25mg/mL		42,3±0,89 ^{a, b}	47,8±0,54 ^{a, b}	12,8±1,76 ^{a, b, c}
IC ₅₀		2,760*	0,321*	2,273*
<i>p</i> -valor		0,000	0,005	0,000

Na vertical, valores de (%AA) seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas para ANOVA (* $p < 0,05$).

A análise da atividade antioxidante dos extratos brutos etanólicos confirma o potencial antioxidante com média de redução de 86,35±0,82 para a concentração de 5mg/mL do extrato de *A. oleracea*, seguido de 96,1%±3,75 de percentual antioxidante para o extrato de *T. diversifolia*. Os valores de IC₅₀ obtidos para todos os extratos etanólicos apresentaram resultados significativos de atividade antioxidante (**Tabela 4**).

Tabela 4- Média e desvio padrão do percentual de atividade antioxidante dos extratos brutos etanólico das folhas de *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* sobre o radical livre DPPH•.

Extrato bruto etanólico	% Atividade Antioxidante		
	Concentração	<i>A. oleracea</i>	<i>A. ciliata</i>
5mg/mL	86,3±0,82 ^a	48,4±1,09 ^a	96,1±3,75 ^a
2,5mg/mL	68,3±14,22 ^b	44,4±0,11 ^{a, b}	95,0±2,65 ^b
1,0mg/mL	53,7±3,19 ^a	42,2±0,28 ^{a, b}	86,8±10,73 ^{a,b}
0,75mg/mL	50,6±4,35 ^a	41,4±0,26 ^{a, b}	60,4±5,13 ^{a, b, c, d}
0,5mg/mL	45,0±0,95 ^{a, b}	41,1±0,30 ^{a, b}	46,9±3,32 ^{a, b, c}
0,25mg/mL	45,6±3,06 ^{a, b}	41,1±0,25 ^{a, b}	32,3±1,27 ^{a, b, c, d}
IC ₅₀	2,760*	6,024*	0,630*
<i>p</i> -valor	0,000	0,000	0,000

Na vertical, valores de (%AA) seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas para ANOVA (**p*<0,05).

Diante da análise das três espécies, observa-se que *Tithonia diversifolia* foi a que expressou melhor atividade antioxidante nos dois extratos estudados. Resultado semelhante foi observado por Gama et al. (2014), ao analisar o extrato etanólico de partes aéreas de *T. diversifolia* com valores significativos de IC₅₀ mostrando forte atividade antioxidante, sugerindo a possibilidade da utilização da *T. Diversifolia* para a prevenção do envelhecimento celular. Sampaio et al. (2015) e Figueiredo et al. (2014), reiteram a forte atividade atintioxidante de extratos obtidos das partes aéreas de *T. diversifolia*.

A atividade antioxidante é atribuída ao perfil fitoquímico dos compostos que constituem os extratos vegetais, porém levando-se em consideração a complexidade desses compostos, torna-se difícil fazer uma correlação entre atividade antioxidante e substâncias presentes. Com o intuito de explicar tal atividade, pesquisadores sugerem o conceito de sinergismo, antagonismo e aditividade (MIRANDA, 2010).

A análise fitoquímica realizada nos extratos brutos aquosos e etanólicos das folhas de *A. oleracea*, *A. ciliata* e *T. diversifolia* confirmam a presença de compostos fenólicos como taninos, alcaloides, açúcares redutores, saponinas e ácidos orgânicos capazes de sequestrar radicais livres agindo como antioxidante (BIANCHI et al., 1999; ROMÃO et al., 2015).

Como os ácidos orgânicos, encontrados nas três espécies, enfatizam suas aplicações antifúngica, antimicrobiana e antioxidante, podendo ser amplamente utilizadas na

indústria alimentícia como aditivos e conservantes (SIMÕES, 2010; OLIVEIRA et al., 2013). Diversas plantas tem a capacidade de acumular ácidos orgânicos encontrado nos sucos de frutas cítricas, devido a presença do ácido cítrico, no entanto estes ácidos não estão presentes apenas em frutos mas também nas folhas de algumas espécies vegetais (IHEJIRIKA, 2011; KUMAR et al., 2011).

O ácido cítrico apresenta grande potencial antioxidante o que mostra que as espécies *A. oleracea*, *A. ciliata* e *T. diversifolia* são uma promissora fonte dessa substância. As mesmas funções são atribuídas aos compostos fenólicos, abundantes em diversas espécies vegetais, estão fortemente associados à redução no risco de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas, que independente da classe todos tem potencial antioxidante. (BANDONIENE; MURKOVIC, 2002; SPENCER et al., 2008)

A capacidade dessas substâncias em sequestrar radicais livres e metais pró-oxidantes (ação antioxidante) explica, em parte, esta associação. Evidências recentes sugerem que estes compostos possam atuar por meio de outros mecanismos além da capacidade antioxidante, como modulação da atividade de diferentes enzimas como telomerase, lipoxigenase e cicloxigenase, interações com receptores e via de transdução de sinais, regulação do ciclo celular, entre outras, essenciais para a manutenção da homeostase dos organismos vivos (D'ARCHIVIO et al., 2007).

Os açúcares redutores também apresentam propriedades antioxidantes o suposto mecanismo, está na capacidade que tem de ligar-se aos radicais livres reduzindo-os e promovendo a excreção do corpo, sem a ajuda de transportadores, diminuindo a atividade celular sem causar stress oxidativo e envelhecimento prematuro da célula (SILVA et al., 2003; QUADROS et al., 2010).

Os esteroides também são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, dentre seus benefícios à saúde humana destaca-se a redução da absorção do colesterol da dieta, com consequente redução dos níveis sanguíneos; a redução do risco de doenças cardiovasculares; e inibição do crescimento de certos tipos de tumores malignos (SALGADO, 2009).

São atribuídas aos taninos atividade antioxidantes, estimulação das células fagocíticas e a ação tumoral (LOGUERCIO, 2005). A atividade antioxidante e ação em úlceras gástricas do extrato de *Syzygium jambos* cujos princípios ativos nas folhas são flavonoides, taninos e óleos voláteis; foi investigada por DONATINI et al. (2009).

O mecanismo de atividade antioxidante atribuída aos taninos auxilia no processo de cura, já que os radicais livres são um fator importante na formação de várias doenças degenerativas, tais como câncer, esclerose múltipla e aterosclerose (BORRELLI; IZZO,

2000; CARBONEZI et al., 2007). Os taninos atuam como captadores de radicais, interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis (MELLO; SANTOS, 2001).

Nas classes das saponinas existem também importantes metabólitos capazes de sequestrar radicais livres (SIEDENTOPP, 2008). O mecanismo da ação poderia ser explicado pelo aumento da excreção do colesterol por formação de complexo com as saponinas administradas por via oral, ou pelo aumento da eliminação fecal de ácidos biliares com maior utilização do colesterol para síntese dessas substâncias o que sugere uma ação antioxidante indireta (CASTEJON, 2011).

6.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS ESPÉCIES VEGETAIS *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* PARA *Artemia salina*.

Testes com espécies da família Asteraceae demonstram forte potencial citotóxico (NIÑO et al., 2006). Dados da literatura científica sugerem a classificação dos extratos vegetais em graus de toxicidade contra larvas de *Artemia salina* foi estabelecida, conforme intervalo no qual são considerados os valores de CL₅₀ menores que 100µg/mL apresentaram alta toxicidade, entre 100 e 500µg/mL toxicidade moderada, CL₅₀ entre 500 e 1000µg/mL fraca toxicidade e CL₅₀ acima de 1000µg/mL são considerados atóxicos (NGUTA et al., 2011).

As **tabelas 5 e 6** mostram os resultados obtidos após exposição da *Artemia salina* as diferentes concentrações dos extratos durante 24 horas.

Tabela 5 - Teste de toxicidade dos extratos brutos aquosos das espécies *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* frente às larvas de *Artemia salina*.

Extrato Bruto Aquoso CONCENTRAÇÃO (µg/mL)	Percentual de Mortalidade <i>Artemia salina</i> (%M)		
	<i>A. oleracea</i>	<i>A. ciliata</i>	<i>T. diversifolia</i>
1000	73,5	36,5	23,40
750	52,39	19,28	6,72
500	26,17	1,73	3,41
250	9,46	0,92	1,72
100	3,75	0,72	0,68
50	0	0,59	0,57
CL ₅₀	700*	1595*	3660
<i>p</i> -valor	0,001	0,018	0,124

**p*<0,05 estabelece CL₅₀ dentro do limite probalístico de erro.

Tabela 6 - Teste de toxicidade dos extratos brutos etanólicos das espécies *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* frente às larvas de *Artemia salina*.

Extrato Bruto Etanólico CONCENTRAÇÃO (µg/mL)	Percentual de Mortalidade <i>Artemia salina</i> (%M)		
	<i>A. oleracea</i>	<i>A. ciliata</i>	<i>T. diversifolia</i>
1000	43,43	49,96	43,28
750	23,49	28,64	24,55
500	13,31	4,07	13,42
250	7,13	2,94	6,38
100	2,91	0,77	1,50
50	1,84	0	0
CL ₅₀	1794*	1112*	1403*
<i>p</i> -valor	0,016	0,016	0,018

* $p < 0,05$ estabelece CL₅₀ dentro do limite probalístico de erro.

Conforme as **tabelas 5 e 6** observa-se que o extrato bruto aquoso de *A. oleracea* foi o que apresentou, menor CL₅₀ (700µg/mL, $p < 0,05$) para *A. salina*, classificado como fracamente tóxico. Os extratos brutos aquosos de *A. ciliata* e *T. diversifolia* foram atóxicos para *A. salina* com CL₅₀ igual a 1595µg/mL ($p < 0,05$) e 3660µg/mL, respectivamente. Para os extratos etanólicos as CL₅₀ mostram ausência de toxicidade, porém a análise estatística revela que os valores obtidos para *A. oleracea*, *A. ciliata* e *T. diversifolia*, estão dentro do limite probabilístico de erro sugerindo ação citotóxica mediante concentrações elevadas.

A mesma ausência de toxicidade para os extratos aquosos de *A. ciliata* e *T. diversifolia* também foi presenciada no extrato aquoso de *Wedelia paludosa* D.C. (Asteraceae) CL₅₀ > 1000 µg/mL, mostrando-se inativo (BATISTA et al., 2009). Hocayen et al. (2012) também demonstraram baixa toxicidade da espécie *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) para *A. salina*. Cujo resultados mostraram uma CL₅₀ de 1008,51µg/mL e 921,32µg/mL em 24 e 48h respectivamente, sendo necessária uma concentração muito alta para ser considerada letal.

Os resultados para o extrato bruto etanólico de *A. oleracea* crooboram com Simas et al. (2013), que também obtiveram ausência de toxicidade do extrato bruto etanólico e frações de *A. oleracea* para *Artemia salina*, porém com intuito de potencializar ação tóxica do extrato os autores testaram isobutilamidas isoladas e obtiveram êxito na atividade citotóxica e larvicida (KADIR et al, 1989; DUBEY et al, 2013). No entanto, esse mesmo grau de toxicidade não foi observada para a espécie *Acmella ciliata* (MONTEIRO et al., 2001).

Castro et al. (2010) demonstraram atividade antifúngica sobre *Candida albicans* do extrato hidroalcoolico de *Tithonia diversifolia*, cuja concentração inibitória mínima (CMI) foi de 128 µg/mL. No ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*, obtiveram 100% de

mortalidade com a CL_{50} igual a 10 $\mu\text{g/mL}$ demonstrando alta toxicidade, e desaconselhando totalmente o uso interno dessa espécie. Recentemente Passoni et al. (2013), corroboram com a afirmativa anterior ao observarem que o uso prolongado de extratos da folha de *T. diversifolia* promoveram alterações renais e hepáticas em roedores. Estudos anteriores demonstraram atividade antiplasmódica dessa planta que pode ser atribuída principalmente a lactona sesquiterpênica, Tagitinina C (GOFFIN et al., 2002; BIDLA et al., 2004; ELUFIOYE; AGBEDAHUNSI, 2004).

No ensaio de toxicidade da espécie *Gochnatia polymorpha* (Asteraceae) sobre *Artemia salina* os índices de mortalidade variaram entre zero e 16,1%. A concentração necessária para matar 50% das larvas (DL_{50}) foi calculada em 4.400 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato etanólico dos ramos sendo também considerada inativa (STEFANELLO et al., 2006).

Resultado diferente foi obtido por Moreira et al. (2003) com extratos em clorofórmio e em metanol de folhas da espécie *Baccharis pseudotenuifolia* (Asteraceae) submetidos ao bioensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS), sendo que ambos foram considerados ativos ($TAS < 1000 \mu\text{g/mL}$). A maior atividade concentrou-se no extrato clorofórmico ($TAS = 115 \mu\text{g/mL}$), no qual foi detectada a presença do triterpeno ácido oleanólico.

Os resultados aqui obtidos não descartam o possível efeito citotóxico das espécies, porém corroboram com o exposto pelos autores acima de que as substâncias isoladas expressam melhor atividade bilógica.

Os compostos aqui identificados nos extratos vegetais como saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, fenóis, taninos e alcalóides, dependendo da concentração desses, possam bloquear os efeitos conhecidos das alquilamidas (*A. oleracea*), das lactonas sesquiterpênicas-LSTs (classe de triterpenoides, *T. diversifolia*) e vernonioside B2 e suas variações (*A. ciliata*). Visto que a maioria das atividades relatadas para essas espécies são atribuídas a tais compostos (SILVA, 2004; SILVA et al., 2013).

A atividade citotóxica pode também ser atribuída aos compostos fenólicos que apresentam ação bacteriostática e fungicidas (ZHAO et al., 2007).

Sundarraaj et al. (2012) demonstraram atividade citotóxica *in vitro* de compostos fenólicos contra células de câncer de pulmão e mama. Boutennoun et al. (2014) também confirmaram atividade citotóxica e antioxidante de compostos fenólicos do extrato metanólico de *Achillea odorata* (Asteraceae).

Segundo Nascimento et al. (2008) e Araújo et al. (2010) essa atividade pode, também, ser atribuída as saponinas que apresentam atividade anti-helmíntica, antiviral, espermicida, hemolítica e molusquicida (SIMÕES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

Devido ao comportamento anfipático das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolípídeos de membrana. Sugere-se que algumas saponinas têm a capacidade de romper a membrana plasmática de microrganismos, o que resulta em extravasamento do conteúdo celular e, finalmente, a morte (KAISER et al., 2010).

Outro metabólito que pode estar envolvido na ação citotóxica são os alcaloides, que devido ao seu amargor e toxicidade atuam como amebicida, antitumorais e antivirais (SIMÕES et al., 2010). As funções destes compostos nas plantas não estão bem esclarecidas. Inicialmente, foram atribuídos aos alcaloides os papéis de proteção, resultante da toxicidade elevada que conferem ao vegetal. No entanto, acredita-se que os alcaloides atuem também como reserva da síntese de proteínas, estimulantes ou reguladores do crescimento, do metabolismo interno ou da reprodução sendo, ainda, agentes finais da desintoxicação e da transformação simples de outras substâncias, cujo acúmulo pode ser nocivo ao vegetal.

6.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA E REPELENTE DOS EXTRATOS BRUTOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DAS ESPÉCIES VEGETAIS *Acmella olerace*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* CONTRA *Aedes aegypti*.

6.4.1 Atividade larvicida dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais *Acmella olerace*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra larvas de *Aedes aegypti*.

O percentual de atividade larvicida em diferentes concentrações e solventes foram avaliados em 24 e 48 horas após o início do ensaio biológico. O experimento foi considerado válido, pois não houve mortalidade em nenhum dos grupos controles de cada espécie e extrato, os resultados estão expressos nas tabelas seguintes:

Tabela 7- Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de *Acmella oleracea* em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Larvicida (%)			
	EBA (<i>A. oleracea</i>)		EBE (<i>A. oleracea</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
500	0	0	70,69	76,59
400	0	0	22,84	35,37
300	0	0	8,78	10,72
200	0	0	1,07	4,40
100	0	0	0	1,70
Controle	0	0	0	0
CL ₅₀ (mg/mL)	-	-	454,8*	430,5*
<i>p</i> -valor	-	-	0,0000	0,0000

* $p < 0,05$ estabelece CL₅₀ dentro do limite probalístico de erro.

Os resultados não demonstraram mortalidade de imaturos no extrato bruto aquoso (EBA) de *A. oleracea* em nenhuma das concentrações testadas nos tempos de 24 e 48 horas, com mortalidade de 0%. Porém, efeito larvicida foi observado no extrato bruto etanólico (EBE) de *A. oleracea* tanto em 24 como 48 horas após o tratamento, cuja CL₅₀=454,8 mg/mL mostrou-se altamente significativa, conforme *p*-valor igual a 0,0000 após 24 horas de tratamento e CL₅₀ = 430,5 mg/mL com $p=0,0000$ após 48 horas aceitando a hipótese alternativa. Na análise dos resultados observa-se mortalidade de 70,69% e 76,59% nas doses de 500mg/mL do extrato bruto etanólico das folhas de *A. oleracea* em 24 e 48 horas, respectivamente (**Tabela 7**).

Contudo, mortalidade de 100% foi obtida para a concentração de 1000mg/mL de EBE de *A. oleracea* em 24 horas de exposição (**Tabela 8**).

Tabela 8-Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de *Acmella oleracea* na concentração de 1000mg/mL durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Larvicida (%)			
	EBA (<i>A. oleracea</i>)		EBE (<i>A. oleracea</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
1000	100	100	100	100
Controle	0	0	0	0

Resultado semelhante foi obtido por Simas et al. (2013) onde demonstraram que o extrato bruto etanólico das folhas de *A. oleracea* apresentaram percentual de mortalidade dose dependente, contra larvas de *A. aegypti*, com 6, 26 e 28% de toxicidade para 180, 380 e 480 mg/mL. No intuito de melhorar a atividade do extrato, os pesquisadores obtiveram frações do extrato bruto etanólico, cuja fração larvicida foi a hexânica com $CL_{50} = 145,6$ mg/mL e a não larvicida diclorometano com CL_{50} de 1200mg/mL. Os pesquisadores conseguiram isolar dois novos compostos (isobutilamidas) sugerindo que a atividade larvicida presenciada nas folhas de *Acmella oleracea* pode ser atribuída a amina ácido acetilênico 2-feniletilamina, sendo este o primeiro relato desse composto em *A. oleracea* o que pode justificar sua atividade larvicida (RAMSEWAK et al., 1999; DUBEY et al., 2013).

Saraf e Dixit (2002), demonstraram atividade ovicida, inseticida e pubicida do extrato etanólico das flores de *Acmella oleracea*, na concentração de 7,5mg/mL, com 100% de atividade contra *Anopheles*, *Culex* e *Aedes aegypti*.

Estudos anteriores demonstraram atividade larvicida do extrato hexânico das flores de *A. oleracea* em *A. aegypti* (PITASAWAT et al., 1998).

Bernard et al. (2012), também, obtiveram 100% de mortalidade das larvas de *A. aegypti* para os extratos metanólico e hexânico de *A. oleracea*, nas concentrações acima de 1000mg/mL. Os resultados, aqui obtidos, sugerem que a espécie *A. oleracea* tem potencial larvicida, ao expressar 100% de mortalidade, e que o método extrativo contribui para a presença ou ausência de classes de metabólitos secundários capazes de alterar o metabolismo das larvas induzindo sua morte.

Achado semelhante foi demonstrado por Sukhthankar et al. (2014), ao avaliarem atividade larvicida do extrato aquoso de *Chromolaena odorata* L. (Astereaceae) contra larvas de *A. aegypti* cuja mortalidade de 42,5% foi obtida na concentração de 55mg/mL e 100% na maior concentração de 900mg/mL.

Com relação ao extrato bruto aquoso e etanólico de *A. ciliata*, os dados de mortalidade em função da concentração estão expressos na tabela seguinte:

A análise dos resultados conclui mortalidade de 76,80% e 92,86% em 24 e 48 horas, respectivamente, para o extrato bruto aquoso na concentração de 500mg/mL, no entanto a mesma, expressiva, atividade não foi observada para o extrato bruto etanólico de *A. ciliata* com 0% e 29,90% de mortalidade para a maior concentração de 500mg/mL em 24 e 48 horas. O EBA de *A. ciliata* expressou CL_{50} estimada em 374,7 mg/mL para 24 horas e CL_{50} de 190,1 mg/mL para 48 horas, o que sugere uma duradoura e significativa ação larvicida do extrato com respectivos $p=0,0002$ (24 horas) e $p=0,001$ (48 horas). Porém, para o extrato bruto etanólico de *A. ciliata* a CL_{50} estimada foi de 620,0 mg/mL e $p= 0,02$ com

baixa atividade larvicida considerando que em 24 horas foi completamente atóxico, para todas as concentrações testadas (**Tabela 9**).

Tabela 9- Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de *Acmella ciliata* em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Larvicida (%)			
	EBA (<i>A. ciliata</i>)		EBE (<i>A. ciliata</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
500	76,80	92,86	0	29,90
400	52,69	79,62	0	14,88
300	34,56	67,71	0	9,75
200	17,77	52,33	0	4,41
100	6,72	35,23	0	0
Controle	0	0	0	0
CL₅₀(mg/mL)	374,7*	190,1*	-	620,0*
p-valor	0,0002	0,001	-	0,02

*p < 0,05 estabelece CL₅₀ dentro do limite probalístico de erro.

Da mesma forma, Raghavendra et al. (2009) relataram toxicidade apenas do extrato hexânico do fruto seco da *Solanum nigrum* contra três das cinco espécies de mosquito testadas: E Das et al. (2007) relataram que apenas o extrato etanólico das folhas de *A. squamosa* apresentaram atividade larvicida, quando comparado aos demais extratos das outras espécies.

Apesar de muitas plantas medicinais apresentarem compostos químicos com atividade larvicida. A diferença nas respostas aqui observadas, seja na ausência de mortalidade, baixa mortalidade ou presença dela. Podem ser influenciadas por diversos fatores, como a parte vegetal utilizada, o solvente de extração, a técnica de extração, a localização geográfica, e o período de coleta (SUKUMAR et al.,1991; SHAALAN et al.,2005).

Estudo feito com as folhas da espécie *Wedelia chinensis* (Asteraceae) reforçam essa hipótese, onde a atividade larvicida contra *A. aegypti* revelou o menor nível de mortalidade (30,0%) para o extrato hexânico e o nível mais alto (57,2%) para o extrato metanólico. A atividade larvicida do extrato do caule *W. chinensis*, revelou o menor nível de mortalidade (24,6%) também para o extrato hexânico e o nível mais alto (48,4%) para o extrato metanólico (DURGA et a., 2014).

Um estudo realizado por Govindarajan e Karuppanan (2011) demonstraram os valores de CL₅₀ (151,38; 165,10; 154,88; 127,64 e 146,28 mg/mL) para os extratos

benzênico, hexânico, acetato de etila, metanólico e clorofórmico, respectivamente das folhas de *Eclipta alba* (Asteraceae) contra larvas de terceiro instar de *A. aegypti*. Onde a máxima atividade larvicida foi observada no extrato metanólico seguido de clorofórmio, benzeno, acetato de etilo e o extrato hexânico. Concluindo que os extratos brutos de *E. alba* são excelentes larvicidas para o controle de *A. aegypti*, porém baixa atividade larvicida foi evidenciada para a espécie *T. diversifolia*.

A influência da polaridade dos solventes quanto aos compostos extraídos pode justificar a baixa toxicidade do EBE de *T. diversifolia*, no período de 24 horas, com CL_{50} de 1019,8 mg/mL e $p=0,4$. E no período de 48 horas CL_{50} de 549,4 mg/mL com $p=0,002$, inferior ao limite probabilístico de erro. Os maiores percentuais de mortalidade observados para o EBE de *T. diversifolia* foram obtidos na maior dose 500mg/mL, para 24 e 48 horas, com 3,22% e 32,25%, sendo considerado atóxico. Enquanto, que o EBA mais polar que o EBE apresentou maior percentual de mortalidade em 48 horas com 50% na dose 500mg/mL (Tabela 10).

Tabela 10- Percentual de atividade larvicida do extrato bruto aquoso e etanólico de *Tithonia diversifolia* em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Larvicida (%)			
	EBA (<i>T. diversifolia</i>)		EBE (<i>T. diversifolia</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
500	0	50	3,22	32,35
400	0	16,65	1,63	7,4
300	0	11,62	1,10	1,24
200	0	5,50	0	0
100	0	2,25	0	0
Controle	0	0	0	0
CL_{50} (mg/mL)	-	532,1*	1019,8	549,4*
p -valor	-	0,003	0,4	0,002

* $p < 0,05$ estabelece CL_{50} dentro do limite probalístico de erro.

Abdurrachman et al. (2015) avaliaram a atividade larvicida do extrato bruto aquoso de *T. diversifolia* sobre o mosquito *Culex sp.* nas concentrações de 15, 30, 45, 60, 75, 90, e 100% verificaram que a concentração de 60% matou todas as larvas de *Culex sp.*, sendo a mais eficaz e significativa quando comparado ao controle negativo.

Conforme análise fitoquímica dos extratos a presença de saponinas, fenóis, taninos e alcaloides pode justificar a atividade larvicida aqui apresentada pelos extratos etanólico de *A. oleracea*, e aquoso de *A. ciliata* e *T. diversifolia*. Visto que, as classes de

metabólitos secundários são subdivididas em várias subclasses cuja afinidade química ao solvente influencia na mistura desses no extrato obtido.

A presença de compostos fenólicos e taninos no extrato aquoso de *T. diversifolia* corroboram com o estudo de Taofik et al. (2010). O efeito larvicida dos compostos fenólicos e taninos estão na capacidade de inibir o sistema respiratório e interromper o processo de transporte de elétrons em nível celular diminuindo assim a produção de ATP e reduzindo o uso de oxigênio pelas mitocôndrias. De acordo com Santos e Mello (2004), os taninos tem a capacidade de complexação com proteínas podendo ser a base para propriedades de controle de insetos, fungos e bactérias.

Entende-se que o comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolipídeos de membranas possibilitam ações biológicas variadas que podem alterar a permeabilidade de membranas celulares podendo levar à lise celular (SCHENKEL et al., 2001). Dentre essas ações cita-se atividades hemolíticas, ictiotóxica, molusquicida e inseticida. (SIMÕES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013).

Santiago et al. (2005) testaram a atividade larvicida de quatro saponinas monodesmosídicas (1-4) isoladas de *Pentaclethra maculosa* e de uma saponina bidesmosídica (5) isolada de *Cordia piauhiensis* observaram que a saponina 1, a qual contém dois açúcares em sua unidade osídica apresentou a melhor atividade larvicida, com um valor de CL_{50} igual $18,6 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$. Foi também possível concluir que aquelas saponinas que continham um menor número de açúcares apresentaram uma melhor atividade.

6.4.2 Atividade adulticida dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra insetos adultos de *Aedes aegypti*.

A atividade inseticida dos extratos aquosos e etanólicos de *A. oleracea*, *A. ciliata* e *T. diversifolia* foi avaliada em relação a mortalidade de insetos adultos de *A. aegypti* em período de 24 e 48 horas sob diferentes concentrações.

Em relação a espécie *A. oleracea*, o EBA, a dose de 300mg/mL, apresentou comportamento atóxico, não diferindo muito do EBE com índice de mortalidade 1,13 e 1,73%, respectivamente 24 e 48 horas. Em ambos os extratos a mortalidade de adultos aumentou progressivamente chegando a 76,31% para EBA em 24 horas mantendo-se constante até 48 horas, e 13,66% para EBE em 24 horas, progredindo para 18,81% em 48horas.

A CL_{50} estimada para o EBA de *A. oleracea* foi de 548,1mg/mL, para o período de 24 horas e 48 horas com $p = 0,0000$, demonstrando elevada significância estatística dos dados. No entanto, o mesmo efeito não foi observado para o EBE de *A. oleracea* cuja CL_{50} para 24 horas foi igual a 910,1 mg/mL e 48 horas igual a 838,0 mg/mL, com $p = 0,2$ e $0,1$, respectivamente (**Tabela 11**).

Tabela 11- Percentual de atividade adulticida do extrato bruto aquoso e etanólico de *Acmella oleracea* em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Adulticida (%)			
	EBA (<i>A. oleracea</i>)		EBE (<i>A. oleracea</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
600	76,31	76,31	13,66	18,81
500	46,26	46,26	6,28	8,34
400	4,92	4,92	4,39	5,89
300	0	0	1,13	1,73
Controle	0	0	0	0
CL_{50}(mg/mL)	548,1*	548,1*	910,1	838,0
p-valor	0,0000	0,0000	0,2	0,1

* $p < 0,05$ estabelece CL_{50} dentro do limite probalístico de erro.

O potencial inseticida aqui observado do EBA de *A. oleracea* pode ser atribuído ao espilantol, as alquilamidas, aos sesquiterpenóides e saponinas (MUKHARYA; ANSARI et al., 1987; DUBEY et al., 2013). O espilantol ($C_{14}H_{23}NO$ 221,339 g / mol) é o composto bioativo de uma variedade de plantas usadas com fins medicinais em todo o mundo (MOLINATORRES et al., 1996; PRACHAYASITTUKAL et al., 2013; PAULRAJ et al., 2013; RIOS; OLIVO, 2014). As alquilamidas são compostos anfífilos constituídos por uma amida relativamente polar e um grupo acil menos polar, presente em extratos que utilizam metanol, etanol ou hexano (NAKATANI; NAGASHIMA, 1992; SHARMA et al., 2011; DIAS et al., 2012; ABEYSINGHE et al., 2014).

Resultado contrário foi observado para o extrato etanólico das flores de *A. oleracea* com 100% de mortalidade sobre insetos adulto de *A. aegypti* na dose de 7,5 mg/mL (KRISHNASWAMY et al., 1975; KADIR et al., 1989; SPELMAN et al., 2011; SHARMA et a., 2012).

Em relação à toxicidade dos extratos em adultos de *A. aegypti*, supõem-se que o principal canal de entrada para o organismo do inseto seja através da traquéia, difundindo-se

para a hemolinfa sendo absorvido por proteínas e transportados até chegar ao local de ação (LUCIA; ZERBA; MASUH, 2013).

Na sequência, a **tabela 12**, mostra ausência de toxicidade do EBA de *A. ciliata* em todas as concentrações e tempo de exposição, com uma discreta toxicidade abaixo de 50%, do EBE com valores mais significativos na dose de 600mg/mL, 21,73% em 24 horas e 25,7% de mortalidade para 48 horas. A CL₅₀ estimada foi de 768,4mg/mL para 24 horas e 763,2 mg/mL para 48 horas, com $p= 0,09$ e $0,1$ respectivamente não apresentando diferença estatística entre os dados com comportamento atóxico.

Tabela 12- Percentual de atividade adulticida do extrato bruto aquoso e etanólico de *Acmella ciliata* em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Adulticida (%)			
	EBA (<i>A. ciliata</i>)		EBE (<i>A. ciliata</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
600	0	0	21,73	25,7
500	0	0	10,27	12,96
400	0	0	6,74	8,80
300	0	0	0,58	2,36
Controle	0	0	0	0
CL₅₀(mg/mL)	-	-	768,4	763,2
p-valor	-	-	0,09	0,1

* $p < 0,05$ estabelece CL₅₀ dentro do limite probalístico de erro.

Para a espécie *T. diversifolia* o aumento da mortalidade foi proporcional as doses testadas nos dois extratos segundo **tabela 13**, com 34,96% de mortalidade para 24 horas e 42,63% para 48 horas no EBA. O índice de mortalidade de 10,38% foi o mais expressivo e constante no EBE. Observa-se CL₅₀ estimada de 678,4 mg/ml e $p =0,03$, para EBA, nas primeiras 24 horas de exposição, com significância estatística quando comparado ao demais dados. E CL₅₀ de 632,0mg/mL e $p= 0,01$ após 48 horas, mostrando atividade tóxica persistente do EBA de *T. diversifolia* sobre as formas adultas de *A. aegypti*.

Tabela 13- Percentual de atividade adulticida do extrato bruto aquoso e etanólico de *T. diversifolia* em diferentes concentrações durante 24 e 48 horas.

Concentração (mg/mL)	Percentual de Atividade Adulticida (%)			
	EBA (<i>T. diversifolia</i>)		EBE (<i>T. diversifolia</i>)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
600	34,96	42,63	10,38	10,38
500	15,93	22,98	0,0003	0,0003
400	7,8	12,21	0,022	0,022
300	2,44	2,49	1,68	1,68
Controle	0	0	0	0
CL₅₀(mg/mL)	678,4	632,0	927,4	927,4
p-valor	0,03	0,01	0,2	0,2

*p < 0,05 estabelece CL₅₀ dentro do limite probalístico de erro.

O mesmo efeito não foi observado no EBE com CL₅₀ estimada de 927,4 mg/mL e p=0,2, permanecendo após 48 horas confirmando ausência de toxicidade para as concentrações testadas. Diferentemente Bernard et al. (2012) demonstraram efeito inseticida total com extrato metanólico das folhas de *T. diversifolia* em doses acima de 2430 mg/mL, o que pode justificar a ausência de mortalidade nos testes aqui realizados cuja maior concentração foi de 600mg/mL.

Aguilera et al. (2003) e Luna et al. (2004) verificaram que o efeito do extrato sobre as diferentes fases de desenvolvimento do mosquito pode estar relacionado com a tolerância da fase biológica de *A. aegypti* aos mecanismos de ação do extrato, além dos métodos e das concentrações utilizadas.

Os dados do EBA de *A. ciliata* e EBE de *T. diversifolia* corroboram com Freitas et al. (2009) cujo extrato metanólico do caule de *Spathelia excelsa* (Rutaceae) apresentou atividade larvicida porém não foi tóxico para as formas adultas de *A. aegypti*. Com potencial larvicida fortemente ligado a presença de triterpenos como o limoneno.

Recentemente Rodrigues et al. (2015) demonstrou atividade inseticida dos óleos essenciais de *A. triplinervis* (Asteraceae), tanto para morfotipo A como B, com CL₅₀ de 63,498mg/mL e 40,11mg/mL para A em 24 e 48 horas respectivamente. E CL₅₀ de 39,894mg/mL após 24 horas, e 34,306mg/mL após 48 horas para morfotipo B. De acordo com a classificação da USAID (2012) - United State Agency for International Development- é possível sugerir que as formas adultas de *A. aegypti* são susceptíveis ao extrato aquoso da espécie *A. oleraceae* e *T. diversifolia* em altas concentrações.

6.4.3 Atividade repelente dos extratos brutos aquosos e etanólicos das espécies vegetais *Acmella oleracea*, *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* contra fêmeas de *Aedes aegypti*.

Os resultados obtidos sugerem prospecção repelente dos extratos aquosos de *A. oleracea*, com percentual de proteção de 90%, 100% e 90%, frente as doses de 500 µg/mL, 600 µg/mL e 800 µg/mL, respectivamente, para o primeiro tempo de exposição (zero minuto). No segundo tempo de exposição, após 30 minutos, observa-se percentual de proteção de 100% e 80% para doses de 600 µg/mL e 800 µg/mL quando comparados entre as diferentes doses. Porém, em comparação ao controle positivo N, N-dietil-m-toluamida (DEET) não houve diferença significativa para nenhum dos extratos $p=0,1$ (Tabela 14).

Tabela 14- Percentual de proteção sobre pele humana do extrato bruto aquoso de *Acmella oleracea* em diferentes concentrações sobre insetos adultos de *A. aegypti* em comparação ao repelente comercial (DEET).

Concentração (µg/mL)	Percentual de Proteção (%)			
	EBA (<i>A. oleracea</i>)			
	0 minutos	30 minutos	60 minutos	90 minutos
1500	50	0	0	0
800	90	80	0	0
600	100	100	0	0
500	90	0	0	0
DEET	100	100	100	90

(%) $p=[1-(T/C)]*100$, onde T corresponde ao número de pousos e picadas no braço teste e C o número de pousos e picadas no braço controle impregnado com o solvente. **Controle=10**

Para a espécie *A. ciliata* o percentual de proteção repelente observado nas doses de 600 µg/mL, 800 µg/mL e 1500 µg/mL foi de 100% para as três concentrações no primeiro minuto de exposição (zero minuto), sendo reduzida abaixo de 50% no segundo tempo de exposição (30 minutos). Contudo, após a segunda exposição, a dose de 1500µg/mL foi a que apresentou mais duradoura proteção, sugerindo a prospecção dessa espécie como bioinseticida (Tabela 15).

Tabela 15- Percentual de proteção sobre pele humana do extrato bruto aquoso de *Acmella ciliata* em diferentes concentrações sobre insetos adultos de *A. aegypti* em comparação ao repelente comercial (DEET). (%) $p=[1-(T/C)]*100$

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Percentual de Proteção (%)			
	EBA (<i>A. ciliata</i>)			
	0 minutos	30 minutos	60 minutos	90 minutos
1500	100	33	20	0
800	100	33	0	0
600	100	13	0	0
500	60	0	0	0
DEET	100	100	100	90

(%) $p=[1-(T/C)]*100$, onde T corresponde ao número de pousos e picadas no braço teste e C o número de pousos e picadas no braço controle impregnado com o solvente. **Controle=15**

O mesmo não foi observado para a espécie *T. diversifolia* cujo percentual de proteção foi menor ou igual a 50% em relação ao controle (repelente comercial) nas quatro concentrações testadas ainda no primeiro tempo de exposição (zero minuto) (**Tabela 16**).

Tabela 16- Percentual de proteção sobre pele humana do extrato bruto aquoso de *Tithonia diversifolia* em diferentes concentrações sobre insetos adultos de *A. aegypti* em comparação ao repelente comercial (DEET).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Percentual de Proteção (%)			
	EBA (<i>T. diversifolia</i>)			
	0 minutos	30 minutos	60 minutos	90 minutos
1500	40	30	0	0
800	40	0	0	0
600	50	0	0	0
500	50	0	0	0
DEET	100	100	100	90

(%) $p=[1-(T/C)]*100$, onde T corresponde ao número de pousos e picadas no braço teste e C o número de pousos e picadas no braço controle impregnado com o solvente. **Controle=10**

Os resultados aqui obtidos sugerem que a espécie *A. oleracea* e *A. ciliata*, tem efeito repelente contra *A. aegypti*, ainda que inferior quanto ao tempo de proteção obtido do repelente comercial. Possivelmente, o efeito repelente da *A. oleracea* pode ser atribuída ao espilantol e alquilamidas presente nas partes aéreas dessas espécies juntamente com as saponinas (MUKHARYA; ANSARI 1987; KRISHNASWAMY et al., 1975).

O espilantol é um dos mais fortes compostos vegetais com ação repelente a mosquitos *A. aegypti* e *Anopheles*. Sendo 1.3, 3.8 e 2.6 vezes mais potente que os inseticidas artificiais carbarilo, lindano, bioresmetrina, respectivamente (SHARMA et al., 2012).

Estudos fitoquímicos demonstram tanto para *A. oleracea* como *A. ciliata* a presença de mais de 20 alquilamidas (MARTIN; BECKER, 1984,1985; SHARMA et al.,2012). O que pode justificar a ação tóxica dos extratos e seus constituintes contra insetos (RATNASOORIYA et al, 2004; CASADO et al, 2009), bactérias, fungos e nematóides. Escassos são os trabalhos científicos avaliando a atividade repelente de *A. ciliata*, o que torna relevante os resultados aqui obtidos.

As duas espécies são fontes segura e eficaz de compostos químicos capazes de repelir insetos. Embora o mecanismo de ação dos repelentes não seja bem estabelecido, várias linhas sugerem que as moléculas de repelentes reduzem o contato dos insetos com o hospedeiro, interagindo com os receptores odorantes de membrana celular do hospedeiro, e também com os receptores olfativos do mosquito, afetando assim, em última análise o comportamento olfativo-dirigido do mosquito (DAVIS, 1985; BOHBOT et al., 2011; DICKENS; BOHBOT,2013).

Sharma et al. (2012) também relataram poderoso efeito inseticida de *A. oleracea* contra insetos de importância agrícola extrapolando o uso repelente em humanos.

Chaurasia et al. (2015) demonstram após obtenção de compostos isolados de *Azadiracta indica*, *Cymbopogon citratus* (Lemon grass), *Andrographis paniculata* (Kalmegh) e *Acmella oleracea*, em combinação trevalente dessas substâncias isoladas uma forte atividade repelente do espilantol, da citronela e da kalmegh cuja concentração de 7,5 µl causou 100% de mortalidade de ovos, larvas e pupas de mosquito *Anopheles*, *Culex* e *Aedes*. Concluindo que a combinação tetravalente (CT) inibiu 100% do desenvolvimento das larvas de *A. aegypti* e também foi capaz de matar eficazmente o mosquito na concentração de espilantol (5,3µL), óleo de erva-cidreira (0,7µL), azadiractina (1,5µL) e kalmegh. (1,5 µL).

Keziah et al. (2015) também realizaram testes de repelência elaborando formulações, produto da mistura de extratos brutos de *Ocimum gratissimum* e *Lantana camara*. Observaram que todas as formulações apresentaram boa proteção contra as picadas de mosquito, sem qualquer reação alérgica aos voluntários. Entre as formulações testadas, observaram o tempo máximo de proteção em (120 min) para o extrato bruto metanólico (EBE) e FAE (150 min) para fração acetato de etila de *O. gratissimum*; A mistura dos extratos brutos metanólicos (150 min) e das frações hexano (120min). O que sugere um possível efeito sinérgico dos extratos das plantas de *O. gratissimum* e *L. camara* para formulação de um repelente natural, utilizando pequena quantidade de extratos.

Quanto aos resultados aqui obtidos para *T. diversifolia*, estão em desacordo com Oyewole et al. (2008) cujo óleo essencial obtido das folhas dessa espécie apresentou atividade repelente em diferentes concentrações contra as picadas de *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Seu efeito repelente ou inseticida pode estar relacionado a presença de lactonas sesquiterpênicas (hispidulina) e diterpenos, porém não há indícios reais sobre esse efeito. O uso popular dessa espécie está muito relacionado a repelência de pragas da agricultura, seja no campo ou armazenamento, embora não haja trabalhos publicados para relatar evidência para esses efeitos (CHAGAS-PAULA et al., 2012). Conforme demonstrado anteriormente (GOFFIN et al, 2002; BIDLA et al., 2004; ELUFIOYE; DAHUNSI, 2004).

A análise dos extratos de *A. oleracea* e *A. ciliata* mostram espécies vegetais capazes de serem utilizadas na prevenção de doenças transmitidas por vetores. O que coloca a família Asteraceae como promissora fonte de recursos químicos com potencial bioinseticida. O que ajudará a reduzir o uso excessivo de inseticidas sintéticos, que vem causando preocupação e riscos ao ambiente e à saúde humana há algum tempo.

4 CONCLUSÃO

A composição fitoquímica indicou 10 classes de metabólitos para os extratos aquosos e 12 para os extratos etanólicos. Saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, fenóis, taninos e alcaloides foram encontrados tanto nos extratos aquosos como etanólicos das três espécies. Enquanto que heterosídeos cianogênicos e resinas foram encontrados apenas nos extratos aquosos de *Acmella oleracea* e *Tithonia diversifolia*, respectivamente. Esteroides e triterpenos no extrato aquoso e etanólico de *Acmella oleracea* e cumarinas no extrato aquoso e etanólico de *Acmella ciliata*. Os metabólitos resinas, proteínas e aminoácidos foram encontrados nos três extratos etanólicos e isoladamente depsídeos e depsidonas no extrato etanólico de *Acmella ciliata*. Os dados indicam forte similaridade na composição química em função das classes de metabólitos dentro da família asteraceae, com variações pontuais que podem ter sido influenciadas por fatores abióticos, método extrativo e polaridade dos solventes.

A avaliação da atividade antioxidante indicou melhor atividade antioxidante para os extratos aquosos de *Acmella ciliata* e *Tithonia diversifolia* com percentual de redução antioxidante igual $84,0\% \pm 2,54$ e $93,0\% \pm 0,72$, respectivamente. Enquanto para o extrato etanólico $86,3\% \pm 0,82$ e $96,1\% \pm 3,75$ para *Acmella oleracea* e *Tithonia diversifolia*, respectivamente. A espécie com resultados mais expressivos foi *Tithonia diversifolia*, tais resultados contribuem para o enriquecimento das informações científicas que buscam alternativas naturais de novas substâncias antioxidantes.

O bioensaio de atividade citotóxica para *Artemia salina*, demonstrou ausência ou baixa atividade citotóxica para as espécies, com melhor atividade para o extrato bruto aquoso de *Acmella oleracea* com CL_{50} igual $700\mu\text{g/mL}$. A prospecção fitoquímica atestou compostos com atividade citotóxica comprovada, o que não descarta a presença de tal atividade nas espécies.

O bioensaio de atividade inseticida em larvas de *A. aegypti* demonstrou potencial atividade larvicida do extrato bruto aquoso de *Acmella ciliata* nos períodos 24 horas com 76,80% e 48 horas com 92,86% de mortalidade. Seguido do extrato etanólico de *Acmella oleracea* com índice de mortalidade de 70,69% em 24 horas e 76,59 e, 48 horas. Em relação a atividade inseticida sobre mosquitos adultos de *A. aegypti*, foi observado melhor susceptibilidade ao extrato bruto aquoso de *Acmella oleracea*, indicando $CL_{50} = 548\text{ mg/mL}$ para os períodos de avaliação de 24 e 48 horas. Para o teste de atividade repelente observou-

se que os três extratos aquosos apresentaram potencial repelente, porém a proteção mais duradoura foi observada para a espécie *Acmella ciliata*.

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que as espécies vegetais são promissoras fontes de compostos antioxidantes, citotóxicos e inseticidas naturais no controle de imaturos e insetos adultos de *Aedes aegypti*.

REFERENCIAS

- ABDOLLAHI, M.; et al. Pesticides and oxidative stress: a review. **Medical Science Monitor**. v. 10, n. 6, p. 141-147, 2004.
- ABDURRACHMAN, H. A.; et al. Larvicidal Effects of *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray Leaf Water Extract against *Culex sp.* Larvae. **Althea Medical Journal**, v. 2, n. 1, p. 100-103, 2015.
- ABEYSINGHE, D. C.; et al. Secondary metabolites contents and antioxidant capacities of *Acmella oleraceae* grown under different growing systems. **World Journal of Agricultural Research**. v. 2, n. 4, p. 163-167, 2014.
- ABEYSIRI, G. R. P. I. et al. Screening of phytochemical, physico-chemical and bioactivity of different parts of *Spilantes Acmella* Murr.(Asteraceae), a natural remedy for toothache. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 852-856, 2013.
- ACHOLA, K. J. J.; et al. Pharmacological activities of *Vernonia glabra*. **Pharmaceutical Biology**, v. 34, n. 2, p. 141-144, 1996.
- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana / antioxidante**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- ADESANOYE, O. A. et al. Modulatory effect of methanolic extract of *Vernonia amygdalina* (MEVA) on tert-butyl hydroperoxide-induced erythrocyte haemolysis. **Cell Biochemistry and Function**, v. 31, n. 7, p. 545-550, 2012.
- ADETUTU, A.; MORGAN, W. A.; CORCORAN, O. Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 50-56, 2011.
- AFONSO, S.; et al. Influência do solvente extrator no processo de extração de metabólitos secundários da *Rollinia mucosa* (Jacq.) baill pelos parâmetros de snyder. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 49, **Anais**. Porto alegre – 2009.
- AGOSTINI, F. et al. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 215-220, 2005.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 171, p. 114-140, 2007.

AGUIAR, D. L. **Utilização de óleos essenciais como tecnologia alternativa aos inseticidas sintéticos para o controle do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências e tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.

AGUILERA, L.; et al. Efecto letal de myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Cubana Medicina Tropical**, v. 55, n. 2, p. 100-104, 2003.

AGUILERA, P. M.; HONFI, A. I.; DAVIÑA, J. R. Estudios cromosómicos en *Acmella bellidioides* (Sm.) R.K.Jansen (Asteraceae) del nordeste de Argentina. **Gayana Botánica**, v. 68, n. 1, p. 23-27, 2011.

ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013.

ALAWA, J. N. et al. Infectivity of macrophages and the histopathology of cutaneous lesions, liver and spleen is attenuated by leaf extract of *Vernonia amygdalina* in Leishmania major infected BALB/c mice. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-17, 2012.

ALBUQUERQUE, M. R.; et al. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, n. 22, p. 6708-6711, 2004.

ALBUQUERQUE, U. P. et al. How ethnobotany can aid biodiversity conservation: reflections on investigations in the semi-arid region of NE Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 18, n. 1, p. 127-150, 2009.

ALBUQUERQUE, U. P. **Introdução a etnobotânica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 93p. 2005.

ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L. H. C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 3, p. 273-285, 2002.

ALHO, C. J. R. The importance of biodiversity to human health: an ecological Perspective. **Estudos Avançados**, v. 26, n.74, p. 151-166, 2012.

ALMEIDA, E. R. de. **Plantas medicinais: conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: HEMUS, 341 p. 1993.

ALMEIDA, G. S. S. **Asteraceae nos campos rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil**. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. 2 ed. Salvador: EDUFBA, 221p. 2003.

ALONSO, J.; DESMARCHELIER, C. **Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud**. Buenos Aires: LOLA, 663p. 2006.

ALVES, C. Q.; et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p.2202-2210, 2010.

ALVES, R. J. V.; KOLBEK, J. Summit vascular flora of Serra de São José, Minas Gerais, Brazil. **Check List**, v. 5, n. 1, p. 35-73, 2009.

ALVES, V. F. G.; NEVES, L. J. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). **Revista da Universidade Rural do Rio de Janeiro, Série Ciências da Vida**, v. 22, n. 2, p. 1-8, 2003.

AMATATONGCHAI, M.; et al. Simple flow injection for screening of total antioxidant capacity by amperometric detection of DPPH radical on carbon nanotube modified glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 97, p. 267-272, 2012.

AMBROSIO, S. R. et al. Constituents of glandular trichomes of *Tithonia diversifolia*: relationships to herbivory and antifeedant activity. **Phytochemistry**, v. 69, n. 10, p. 2052-2060, 2008.

AMBRÓSIO, S. R.; et al. Glandular trichomes of *Tithonia diversifolia*: relationships to herbivory and antifeedant activity. **Phytochemistry**, v. 69, n. 10, p. 2052-2060, 2008.

ANDENBERG, A. A et al. Compositae. In: KADEREIT, J. W.; JEFFREY, C. (Eds.). **Flowering Plants Eudicots Asterales**, The Families and Genera of Vascular Plants, K. Kubitzki (Ed.). Springer – Verlag, 2007.

ANIBIJUWON, I. I. et al. Antimicrobial activities of *Vernonia amygdalina* against oral microbes. **Global Journal of Pharmacology**, v. 6, n. 3, p. 178-185, 2012.

ANISZEWSKI, T. **Alkaloids, Secrets of Life**. Amsterdam: Elsevier, 334 p. 2007.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/farmacopeia/saiba_mais_farmacopeia.htm> Acesso em 18 jan. 2016.

ANYASOR, G. N. et al. Comparative antioxidant, phytochemical and proximate analysis of aqueous and methanolic extracts of *Vernonia amygdalina* and *Talinum triangulare*. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 9, n. 3, p. 259-264, 2010.

ARAÚJO, E. C.; et al. Insectidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 51, n. 13, p. 3760-376, 2003.

ARAÚJO, E. L. et al. *Acanthospermum hispidum* DC (Asteraceae): perspectives for a phytotherapeutic product. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 777-784, 2008.

ARENE, E. O. 7,24(28)-stigmastadien-3 β -ol from *Vernonia amygdalina*. **Phytochemistry**, v. 11, n. 9, p. 2886-2887, 1972.

ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas Medicinais de Uso Caseiro - Conhecimento Popular e Interesse por Cultivo Comunitário. **Espaço Saúde**, v. 2, n. 6, p. 01-06, 2005

ARRIAGA-ALBA, M.; RIOS, M. Y.; DÉCIGA-CAMPOS, M. Antimutagenic properties of affinin isolated from *Heliopsis longipes* extract. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 8, p. 1035-1039, 2013.

ASSAD, A. L. D. **Biodiversidade: Institucionalização e Programas Governamentais no Brasil**. Tese (Doutorado em Política Científica e Tecnológica) – Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2000.

AURICCHIO, M. T., BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55-61. 2003.

BAE, G. U.; et al. Hydrogen peroxide activates p70 (S6k) signaling pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 46, p. 32596-32602, 1999.

- BAE, S. S.; et al. A Validated Liquid Chromatography– Electrospray Ionization–Mass Spectrometry Method for quantification of Spilanthol in *Spilanthes acmella* (L.) Murr. **Phytochemical Analyzes**, v. 21, n. 5, p. 438–443, 2010.
- BAKER, D. D.; CHU, M.; OZA, U.; RAJGARHIA, V. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 6, p. 1225-1244, 2007.
- BAKER, J. G. Compositae (Asteroideae, Inuloidae). In MARTIUS, C. F. P.; EICHLER, A. G. (Eds.). **Flora Brasiliensis**. Munique, Wien, Leipzig. v. 6, n. 3, p. 409-412, 1884.
- BANDONIENE, D.; MURKOVIC, M. On-line HPLC–DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples (*Malus domestica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2482-2487, 2002.
- BAPTISTEL, A. C. et al. Plantas medicinais utilizadas na Comunidade Santo Antônio, Currais, Sul do Piauí: um enfoque etnobotânico. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 406-425, 2014.
- BARBOSA, S. B. **Evolução da taxonomia vegetal: perspectiva histórica**. Princípios e Práticas em Identificação Botânica e Técnicas de Herbário. São Paulo: UNESP, 16p. 2012.
- BARBOSA, W. L. R.; et al. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, p. 1-19. 2004.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. A utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafráz, na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: antiinflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 744-759, 1999.
- BARROS, M. C. T. C. **Preparação de novos derivados flavonóides com potencial atividade biológica**. Dissertação (Mestrado em Química Farmacêutica Industrial) - Departamento de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.
- BARROSO, G. M et al. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Editora UFV, 1991.
- BARUAH, R. N.; LECLERCQ, P. A. Characterization of the essential oil from flower heads of *Spilanthes acmella*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, n. 6, p. 693-695, 1993.

- BATISTA, J. S. Estimativa da variabilidade genética intra-específica da dourada - *Brachyplatystoma rousseauxii* Castelnau 1855 (Pimelodidae - Siluriformes) no sistema Estuário-Amazonas-Solimões. **Biota Neotropica**, v. 6, n.1, 2006.
- BERG, J. M. T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p. 2008.
- BERNARD, L. K.; et al. Larvicidal Action of Extracts from *Tithonia diversifolia* Against the Dengue Mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 2, n. 1, p. 46-49, 2012.
- BESERRA, E. B. et al. Biologia e Exigências Térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Provenientes de Quatro Regiões Bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 6, p. 853-860, 2006.
- BESSA, N. G. F. de et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.
- BESSA, N. G. F.; et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.
- BHATT, S.; et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, 504-507, 2013.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**, v. 12, n. 1, p. 123-130, 1999.
- BIDLA, G.; et al. Antiplasmodial activity of seven plants used in African folk medicine. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 36, n. 4, p. 245-246, 2004.
- BIRAL, L.; LOMBARDI, J. A. Flora vascular da Mata da Pavuna, Botucatu, SP, Brasil. **Rodriguésia**, v. 63, n. 2, p. 441-450, 2012.
- BISSET, J. A. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 54, n. 3, p. 202-219, 2002.
- BISSET, J. A.; RODRIGUEZ, M. M.; CÁCERES, L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos em 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 55, n. 3, p. 191-195, 2003.

- BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.
- BOHBOT, J. D.; et al. Multiple activities of insect repellents on odorant receptors in mosquitoes. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 25, n. 4, p. 436-444, 2011.
- BOHM, B. A.; STUESSY. T. F. **Flavonoids of the Sunflower Family (Asteraceae)**. Vienna: Springer-Verlag, 840p. 2001.
- BOLZANI, V. S., et al. **Patently Apple**. 0076799, 2008.
- BOONEN, J. et al. LC–MS profiling of N-alkylamides in *Spilanthes acmella* extract and the transmucosal behavior of its main bioactive spilanthol. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 53, p. 243–249, 2010b.
- BOONEN, J. et al. LC–MS profiling of Nalkylamides in *Spilanthes acmella* extract and the transmucosal behaviour of its main bio-active spilanthol. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, n. 3, p. 243-249, 2010.
- BOONEN, J. et al. Transdermal behaviour of the N-alkylamide spilanthol (affinin) from *Spilantes acmella* (Compositae) extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 1, p. 77–84, 2010a.
- BORATE, P.; DISALE, S. D. Studies on Antibacterial Activity of *Acmella oleracea* (L.) Murr. **International Journal of Pharmaceutical Science and Health Care**, v. 5, n. 3, p. 36-42, 2013.
- BORGES, R. A. X. et al. The Asteraceae flora of the Serra do Ibitipoca: analyses of its diversity and distribution compared with selected areas in Brazilian mountain ranges. **Systematics and Biodiversity**, v. 8, n. 4, p. 471-479, 2010.
- BORRELLI, F.; IZZO, A. A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v. 14, n. 8, p.581-591, 2000.
- BOUBERTE, M. Y. et al. Tithoniaquinone A and tithoniamide B: a new anthraquinone and a new ceramide from leaves of *Tithonia diversifolia*. **Zeitschrift für Naturforschung B**, v. 61b, p. 78-82, 2006.
- BRAGA, I. A.; et al. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 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*: Insecticides, Mechanisms of Action and Resistance. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 2014a.

BRASIL. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52**, Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. Volume 47. Nº 3 – 2016.

BRASIL. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamento Fitoterápicos**. Ministério da Saúde, Brasília 2006. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/.../politica_nacional_fitoterapicos.pdf>. Acesso em: 18 Jan. 2016.

BRASIL. **Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília. Ministério da Saúde, 2014.

BREMER, K. **Asteraceae: Cladistics and Classification**. Portland: Timber Press, 752p. 1994.

BRINGEL, J. B. A.; CAVALCANTI, T. B. **A tribo *Heliantheae cassini* (Asteraceae) na bacia do rio Paranã (GO, TO)**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

BROUSSALIS, A. M.; et al. Argentine Plants as Potential Source of Insecticidal Compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 219-223, 1999.

CAIRNS, M. F. Study on Farmer Management of Wild Sunflowers (*Tithonia diversifolia*) short communication. ICRAF S E. Asian Regional Research Programme, 66p. 1996.

CAMERON, K. S. et al. Sensitivity and mechanisms of taxol-resistant prostate adenocarcinoma cells to *Vernonia amygdalina* extract. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 65, n. 6, p. 759-765, 2013.

CAMINHOÁ, J. M. Elementos de botânica geral e médica. Rio de Janeiro: Tipographia Nacional, v. 3, p. 2600, 1877.

CAPELARI-OLIVEIRA, P.; et al. A. Anti-inflammatory activity of *Lychnophora passeria*, Asteracea (Brazilian “Arnica”). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 2, p. 393-398. 2011.

CARBONEZI, C. A.; et al. Bioactive flavone dimers from *Ouratea multiflora* (Ochnaceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 319-324, 2007.

CARIBÉ, R. A. et al. Bioensaio da *Vernonia condensata* Baker. **Natural Resources**, v. 3, n. 2, p. 33, 2013

CARVALHO, L. A. F.; SILVA, I. G. Avaliação longitudinal da atividade do temephós a 1% sobre o *Aedes aegypti* (Lin,1762). **Entomologia y Vectores**, v. 7, p. 191-201, 2000.

CASADO, M.; et al. Two new alkamides from roots of *Acmella decumbens*. **Natural Product Research**, v. 23, n. 14, p. 1298-1303, 2009.

CASTEJON, F. V. **Taninos e saponinas**. Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2011.

CASTELLUCCI, S. et al. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na estação ecológica de Jataí, município de Luís Antônio/SP: uma abordagem Etnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 3, n. 1, p. 51-60, 2000.

CASTRO, M. N. M.; et al. Atividade Antifúngica e Toxicidade das Inflorescências de Flor do Amazonas (*Tithonia diversifolia*). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 7, p. 72-81, 2010.

CDC. Clinical Evaluation & Disease. Center for Disease Control and Prevention. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/chikungunya/hc/clinicalevaluation.html>. 2014>. Acesso em: 20 de janeiro de 2016.

CHAGAS-PAULA, D. A. et al. Chlorogenic acids from *Tithonia diversifolia* demonstrate better antiinflammatory effect than indomethacin and its sesquiterpene lactones. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, p. 355-362, 2011.

CHAGAS-PAULA, D. A. et al. Ethnobotany, chemistry, and biological activities of the genus *Tithonia* (Asteraceae). **Chemistry and Biodiversity**, v. 9, n. 2, p. 210-235, 2012

CHAGAS-PAULA, D. A.; et al. Chlorogenic acids from *Tithonia diversifolia* demonstrate better anti-inflammatory effect than indomethacin and its sesquiterpene lactones. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, 355-362, 2011.

CHAGAS-PAULA, D. A.; et al. Ethnobotany, Chemistry, and Biological Activities of the Genus *Tithonia* (Asteraceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, n. 2, 210-235, 2012.

CHAIN E. The early years of the penicillin discovery. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 1, n. 1, p. 6-11, 1979.

CHAIN, E. et al. Penicillin as a chemotherapeutic agent. **Lancet**, v. 236, n. 6104, p. 226-228, 1940.

CHAKRABORTY, A. et al. Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthes acmella* Murr. in experimental animals models. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 42, n. 5, p. 277-279, 2010.

CHAKRABORTY, A.; et al. Preliminary studies on antiinflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 36, p. 148-150, 2004.

CHAKRABORTY, A.; et al. Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthes acmella* Murr. in experimental animal models. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 42, n. 5, p. 277-279, 2010.

CHAKRABORTY, A.; et al. Preliminary studies on local anesthetic and antipyretic activities of *Spilanthes acmella* Murr. in experimental animal models. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 42, n. 5, p. 277-279, 2010.

CHAPPLE, S. J.; SIOW, R. C. M.; MANN, G. E. Crosstalk between Nrf2 and the proteasome: Therapeutic potential of Nrf2 inducers in vascular disease and aging. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 44, n. 8, p. 1315-1320, 2012.

CHARIANDY, C. M.; et al. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, n. 3, p. 265-270, 1999.

CHAURASIA, J. P.; SHUKLA, J. P.; PANDEY, N. Antimalarial Property of Tetra Combination (TC) Of Biomaterial with Special Reference to *Spilanthes Acmella*. **International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology**, v. 3, n. 7, p. 352-356, 2015.

- CHEAH, S. X.; et al. Larvicidal, oviposition, and ovicidal effects of *Artemisia annua* (Asterales: Asteraceae) against *Aedes aegypti*, *Anopheles sinensis*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 112, n. 9, 3275-3282, 2013.
- CHIANG, L. C. et al. In vitro anti-leukemic and antiviral activities of traditionally used medicinal plants in Taiwan. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 32, n. 5, p. 695-704, 2004.
- CHIPAULT, J. R.; et al. The antioxidant properties of natural spices. **Food Research**, v. 17, n. 1-6, p. 46-55, 1952.
- CHIVIAN, E.; BERNSTEIN, A. (Ed.). **Sustaining Life: How Human Health depends on biodiversity**. New York: Oxford University Press, 568p. 2008.
- CHUANG, C. C.; MCINTOSH, M. K. Potential Mechanisms by Which Polyphenol-Rich Grapes Prevent Obesity-Mediated Inflammation and Metabolic Diseases. **The Annual Review of Nutrition**, v. 31, p. 155-76, 2011.
- CHUNG, K. et al. Notes on *Acmella* (Asteraceae: Heliantheae) in Taiwan. **Botanical Studies**, v. 49, p. 73-82, 2008.
- CILIA-LÓPEZ, V.G. et al. Analgesic activity of *Heliopsis longipes* and its effect on the nervous system. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 2, p. 195-200, 2010.
- COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Atividade Larvídica de Extratos Vegetais sobre *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), em Condições de Laboratório. **BioAssay**, v. 4, p. 1-6, 2009.
- CONSOLI, A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 228p. 1994.
- CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 228p. 1994.
- CONSOLI, R. A.G.B.; et al. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência de larvas de *Aedes fluviatilis* (LUTZ) (DIPTERA: CULICIDAE) em laboratório. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, n. 1, p. 87-93, 1988.
- CORREA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. **Química Nova**, v. 18, n. 5, p. 460-467, 1995.

- CORREIA, C. R. D.; COSTA, P. R. R.; FERREIRA, V. F. Vinte e Cinco Anos de Reações, Estratégias e Metodologias em Química Orgânica. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 82-89, 2002.
- CÔRTEZ, J. A. **Epidemiologia conceitos e princípios fundamentais**. São Paulo: Livraria Varela,. 286p. 1993.
- COS, P. et al. Antiviral activity of Rwandan medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). **Phytomedicine**, v. 9, n. 1, p. 62-68, 2002.
- COS, P. et al. Further evaluation of Rwandan medicinal plant extracts for their antimicrobial and antiviral activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 155-163, 2002.
- COS, P.; et al. Antiviral activity of Rwandan medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). **Phytomedicine**, v. 9, n. 1, p. 62-68, 2002.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1032p. 2001.
- COSTA, F. J. P.; et al. Constituintes químicos de *Vernonia chalybaea* Mart. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1691-1695, 2008.
- COSTA, J. G. M. I.; et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005.
- COUTINHO, L. N.; APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B. Galhas e deformações em Jambu (*Spilanthes oleraceae* L.) causadas por *Tecaphora spilanthes* (Ustilaginales). **Summa Phytopathology**, v. 32, n. 3, p. 283-285, 2006.
- COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1200p. 2009.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. p.1021-1028, 1981.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. New York: Botanical Garden, 1965
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2. ed. New York: Botanical Garden, 555p. 1988.
- CRUZ, G. L. da. **Livro Verde das Plantas Mediciniais Industriais do Brasil**. 1. ed. Belo Horizonte: Brasil, 863p. 1965.

CUNHA, A. P. **Aspectos Históricos Sobre Plantas Medicinais, seus constituintes ativos e Fitoterapia.** Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos_historicos.pdf>, 2005. Acesso em: 28 Jan. 2015.

CUNHA, A. P. **O emprego das plantas aromáticas desde as antigas civilizações até ao presente.** 2007. Disponível em: <www.antoniopcunha.com.sapo.pt>. Acesso em: 28 Jan. 2015.

DANDIN, V. S. et al. Rapid regeneration and analysis of genetic fidelity and scopoletin contents of micropropagated plants of *Spilanthes oleracea* L. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 79-85, 2014.

D'ARCHIVIO, M.; et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanita**, v. 43, n. 4, 348-361, 2007.

DAS, N. G.; GOSWAMI, D.; RABHA, B. Preliminary evaluation of mosquito larvicidal efficacy of plant extracts. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 44, n. 2, p. 145-148, 2007.

DAVIS, E. E. Insect repellents: concepts of their mode of action relative to potential sensory mechanisms in mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 22, n. 3, 237-243, 1985.

DE CARVALHO, M. G.; DA COSTA, P. M.; ABREU, H. D. S. Flavanones from *Vernonia difusa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 2, p. 163-166, 1999.

DÉCIGA-CAMPOS, M. et al. Pharmacological and toxicological profile of extract from *Heliopsis longipes* and affinin. **Drug Development Research**, v. 73, p. 130-137, 2012.

DEMPEWOLF, H.; RIESEBERG, L. F.; CRONK, Q. C. Crop domestication in the Compositae: a family-wide trait assessment. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, p. 1141-1157, 2008.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1430-1435, 2011.

DIAS, A. M. A. et al. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 61, p. 62-70, 2012.

- DIAS, A. M. A.; et al. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 61, p. 62-70, 2012.
- DICKENS, J. C.; BOHBOT, J. D. Mini review: mode of action of mosquito repellents. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 106, n. 3, p. 149-155, 2013.
- DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259-272, 2002.
- DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 260-272, 2002.
- DONATINI, R. S.; et al. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1a, p. 89-94, 2009.
- DORIGONI, P. A. et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine, RS - Relação entre enfermidades e espécies utilizadas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 1, p. 69-80, 2001.
- DUBEY, S. et al. Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: a review. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2013, p. 1-9, 2013.
- DUBEY, S.; et al. Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: a review. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2013, p. 1-9, 2013.
- DURGA, A.; et al. Larvicidal activity of *Wedelia chinensis* (Asteraceae) plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Indian Journal of Applied Research**, v. 4, n. 7, 537-539, 2014.
- DUTTA, P.; CHAUDHURI, R. P.; SHARMA, R. P. Insect feeding deterrents from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. **Journal of Environmental Biology**, v. 14, p. 27-33, 1993.
- EKANEM, A. P.; et al. Antiobesity properties of two African plants (*Aframomum meleguetta* and *Spilanthes acmella*) by pancreatic lipase inhibition. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 12, p. 1253-1255, 2007.
- ELUFIOYE, T. O.; AGBEDAHUNSI, J. M. Antimalarial activities of *T. diversifolia* (Asteraceae) on mice *in vivo*. **Journal Ethnopharmacol.** v. 93, p. 167-171, 2004.

- ELUFIOYE, T. O.; AGBEDAHUNSI, J. M. Antimalarial activities of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae) on mice in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2/3, p. 167-171, 2004.
- ELZEBROEK, T.; WIND, K. **Guide to cultivated plants**. In: Koop Wind (Ed.), London: CABI Series, 525p. 2008.
- EMERENCIANO, V. P. et al. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 9, 947-957, 2001.
- ERASTO, P. et al. Effect of leaf extracts of *Vernonia amygdalina* on glucose utilization in chang-liver, C2C12 muscle and 3T3-L1 cells. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 2, p. 175-181, 2009.
- ERASTO, P.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Bioactive sesquiterpen lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, n. 1, p. 117-120, 2006.
- ERASTO, P.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, n. 1, p. 117-120, 2006.
- ESSIETT, U.A.; AKPAN, E. M. Proximate composition and phytochemical constituents of *Aspilia africana* (Pers) C. D. Adams and *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray Stems (Asteraceae). **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 2, n. 4, p. 33-37, 2013.
- FABRI, R. L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011.
- FABRY, W.; OKEMO, P. R. ANSORG. Fungistatic and Fungicidal Activity of East African Medicinal Plants. **Mycoses**, v. 39, n. 1-2, p. 67-70, 1996.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: ANVISA, 546p. 2010.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: ANVISA, 904p. 2010.
- FAVORETO, R.; GILBERT, B. State of the Art - *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu. **Revista Fitos**, v. 5, n. 1, 83-91, 2010.
- FERREIRA, F. M.; FORZZA, R. C. Florística e caracterização da vegetação da Toca dos Urubus, Baependi, Minas Gerais, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, p. 131-148, 2009.

FERREIRA, J. T. B.; CORREA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**, São Carlos: Edufscar, p.30, 2001.

FERREIRA, S. C.; CARVALHO-OKANO, R. M.; NAKAJIMA, J. N. A. Família Asteraceae em um Fragmento Florestal. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p. 903-942, 2009.

FIGUEIREDO, F. Portal G1 Amapá, Zona Sul de Macapá concentra maior índice de focos para o *Aedes aegypti*. Disponível em: <<http://www.g1.globo.com/ap/amapa/noticia/2015/11/zona-sul-de-macapa-concentra-maior-indice-de-focos-para-o-aedes-aegypti.html>>. Acesso em 12 de janeiro de 2015.

FIGUEIREDO, S. A.; et al. *In vitro* and *in vivo* photoprotective/photochemopreventive potential of *Garcinia brasiliensis* epicarp extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v. 131, p. 65-73, 2014.

FOGLIO, M. A. et al. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. Revista Interdisciplinar dos Centros e Núcleos da Unicamp. Disponível em: <www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_04_7.pdf>. Acesso em: 18 Jan. 2016.

FORZZA, R. C. et al. **Introdução. In Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010>> Acesso: 02 de Janeiro de 2016.

FRADIN, M. S.; DAY, J. F. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. **The New England Journal of Medicine**, v.347, p.13-8, 2002.

FRANCO, O. Reinfestação do Pará por *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 21, n. 4, p. 729-731, 1969.

FREIRE, J. M.; et al. Avaliação de compostos funcionais e atividade antioxidante em farinhas de polpa de goiabas. **Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal - SP**, v. 34, n. 3, p. 847-852, 2012.

FREITAS, A. C. et al. Constituintes químicos do caule de *Spathelia excelsa* (Rutaceae) e atividade frente a *Aedes aegypti*. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2068-2072, 2009.

FREITAS, A. C.; et al. Constituintes químicos do caule de *Spathelia excelsa* (Rutaceae) e atividade frente a *Aedes aegypti*. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2068-2072, 2009.

- FRITEL, X.; et al. Chikungunya virus infection during pregnancy, Reunion, France, **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, 418-425, 2010.
- FRUTUOSO, V. S., et al. Analgesic and anti-ulcerogenic effects of a polar extract from leaves of *Vernonia condensata*, **Planta Medica**, v. 60, n.21. 1994
- FUNK, V.A. et al. **Systematics, Evolution and Biogeographics of Compositae**. Viena: IAPT, 965p. 2009.
- FURTADO, R. F. F.; et al. Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843-847, 2005.
- GADELHA D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira Malariologia de Doença Tropical**. v. 37, p. 29-36, 1985.
- GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 37, p. 29-36, 1985.
- GAMA, R. M.; et al. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray dry flowers. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 9, p. 740-742, 2014.
- GARCÍA, D. E.; et al. Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales. **Archivos Zootecnia**, v. 55, n. 212, p. 373-384, 2006.
- GBOLADE, A. A.; BIONDI, D. M.; RUBERTO, G. Comparative analysis of the essential oil from two Asteraceous plants found in Nigeria, *Acanthospermum hispidum* and *Tithonia diversifolia*. **Natural Product Communications**, v. 3, n. 10, p. 1735-1738, 2008.
- GÉRARDIN, P.; et al. Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Réunion. **PLOS Medicine**, v. 5, n. 3, p. 60, 2008.
- GERTSCH, J. Immunomodulatory lipids in plants: plant fatty acid amides and the human endocannabinoid system. **Planta Medica**, v. 74, n. 6, p. 638-650, 2008.
- GOFFIN, E. et al. In vitro antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituent: tagitinin C. **Planta Medica**, v. 68, n. 6, p. 543-545, 2002.
- GOFFIN, E.; et al. In vitro antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituent: tagitinin C. **Planta Medica**, v. 68, n. 6, p. 543-545, 2002.

GONÇALVES, C. M. **O estudo da competência vetorial das populações de *Aedes aegypti* da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - FIOCRUZ, Belo Horizonte, 2010.

GOVINDARAJAN, M.; KARUPPANNAN, P. Mosquito larvicidal and ovicidal properties of *Eclipta alba* (L.) Hassk (Asteraceae) against chikungunya vector, *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 1, p. 24-28, 2011.

GU, J. Q., et al. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential cancer chemopreventive agents. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 65, n. 4, p. 532-536, 2002.

GU, J. Q.; et al. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential cancer chemopreventive activity. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 4, p. 532-536, 2002.

GUBLER, D. J. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. **Clinical Microbiology Review**, v. 11, n. 3, p. 480-496, 1998.

GUEDES, M. L. S. et al. Diversidade florística e distribuição das plantas da Chapada Diamantina, Bahia. In: Araújo, F. D. de; PRENDERGAST, H. D. V.; MAYO, S. J. (Eds.). Plantas do nordeste: anais do workshop. **Royal Botanic Gardens, Kew**. p.76-82, 1999.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, v. 1, cap.1, p.13-28. 2004.

GUIMARÃES, V. P.; et al. Atividade larvicida do extrato bruto etanólico de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Aedes albopictus* (Skuse,1894) (Diptera, Culicidae). **Revista de Patologia Tropical Goiás**, v. 34, p. 159-165, 2001.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

GUSMÃO, S.A.L. et al. Caracterização do cultivo de jambu nas áreas produtoras que abastecem a grande Belém. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, **Anais** 2003.

GUTIÉRREZ, R. M.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava* : A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 1-27, 2008.

GUTTERIDGE, J. M.; HALLIWELL, B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 393, n. 4, p. 561-564, 2010.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue: an update. **The Lancet. Infectious Diseases**. v. 2, n. 1, p. 33-42, 2001.

HAJDU, A. **An Ethnopharmacological Survey Conducted in the Bolivian Amazon, and Identification of N-alkylamides and Lignans from *Lepidium meyenii* and *Heliopsis helianthoides* var. *scabra* with Effects on the Central Nervous System**. University of Szeged, Szeged, Hungary, 2014.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, our consequence? **The Lancet**, v. 344, n. (8924), p. 721-724, 1994.

HALSTEAD, S. B. Dengue. **Lancet**, v. 370, n. (9599); p. 1644–1652, 2007.

HALSTEAD, S. B. Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Editors). **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. New York: CAB International, p. 23-44. 1997.

HARBORNE, J. B. Flavonoid profiles in the Compositae. In: Heywood, Harborne & Turner (eds.). **The Biology and Chemistry of the Compositae**. London: Academic Press. v. 1, pp. 359-384. 1977.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992 **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, 481-504, 2000.

HARLEY, R. M.; SIMMONS, N. A. Flórmula de Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. **Kew, Royal Botanic Gardens**, 1986.

HEINRICH, M. et al. Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. **Social Science & Medicine**, v. 47, n. 11, p. 1859-1871, 1998.

HEINRICH, M.; et al. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 38, p. 539-565, 1998.

HENDRA, R.; et al. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 6, p. 3422-3431, 2011.

HERNÁNDEZ-MORALES, A. et al. Larvicidal activity of affinin and its derived amides from *Heliopsis longipes* A. Gray Blake against *Anopheles albimanus* and *Aedes aegypti*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**. v. 18, p. 227–231, 2015.

HIDAYATULFATHI, O.; SALLEHUDDIN, S.; IBRAHIM, J. Adulticidal activity of some Malaysian plant extracts against *Aedes aegypti* Linnaeus. **Tropical Biomedicine**. v. 21, n. 2, p. 61-67, 2004.

HIND, D. J. N. Compositae. In: B. L. Stannard (ed.). Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. **Kew, Royal Botanic Gardens**, p. 175-278, 1995.

HIND, N.; BIGGS, N. *Acmella oleracea*: Compositae. **Curtis's Botanical Magazine**, v. 20, n. 1, p. 31-39, 2003.

HUANG, D.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

HUI, H.; TANG, G.; GO, V. L. W. Hypoglycemic herbs and their action mechanisms. **Chinese Medicine**, v. 4, n. 1, p. 11-21, 2009.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/mapas>>. Acesso em: 18 jan. 2016.

IBRAHIM, M. A. et al. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and fitotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests: review. **Agricultural and Food Science**, v. 10, p. 243-259, 2001.

IHEJIRIKA, G. O. Determination of anti-microbial properties of *Ocimum viride* concentrations on *Rhizopus stolonifer* infection and germination of soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Archives Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, n. 19, p. 1894-1900, 2011.

IRCHARIA, R.; DIXIT, V. K.; SARAIF, D. K. Spilanthol – a more potent and ecofriendly larvicidal compound from *Spilanthes acmella*. Murr. **Asian Journal of Experimental Science**, v. 11, p. 37-44, 1997.

ISHAK, R. Dengue: Aspectos clínico, epidemiológico, laboratorial e de profilaxia. **Brasília Médica**, v. 24, p. 5-10, 1987.

IZEVBIGIE, E. B.; BRYANT, J. L.; WALKER, A. A novel natural inhibitor of extracellular signal-regulated kinases and human breast cancer cell growth. **Experimental Biology and Medicine**. v. 229, p. 163-169, 2004.

- JANSEN, R. K. Systematics of *Spilanthes* (Compositae: Heliantheae). **Systematic Botany**, v. 6, p. 231-257, 1981.
- JAYASHREE, T.; SUBRAMANYAM, C. Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Free Radical Biology Medical**, v. 29, p. 981-985, 2000.
- JENSEN, R. K. The systematics of *Acmella* (Asteraceae-Heliantheae). **Systematic Botany Monographs**, v. 8, p. 1-115, 1985.
- JOHNS, T.; GRAHAM, K.; TOWERS, G. H. N. Molluscicidal activity of affinin and other isobutylamides from the *Asteraceae*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 11, p. 2737-2738, 1982.
- JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 7. ed. São Paulo: Cia Editora Nacional, 1967.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; ONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: ARTMED, p. 508-515, 2009.
- KADIR, H. A. et al. Toxicity and electrophysiological effects of *Spilanthes acmella* Murr. extracts on *Periplaneta americana* L. **Pest Management Science**, v. 25, n. 4, p. 329-335, 1989.
- KADIR, H. A.; et al. Toxicity and electrophysiological effects of *Spilanthes acmella* Murr. extracts on *Periplaneta americana* L. **Pesticide Science**, v. 25, p. 329-335, 1989.
- KANG, T. J.; et al. Anti-tumor activity of oxypeucedanin from *Ostericum koreanum* against human prostate carcinoma DU145 cells. **Acta Oncologica**, v. 48, p. 895-900, 2009.
- KANIS, L. A.; et al. Larvicidal effect of dried leaf extracts from *Pinus caribaea* against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 373-376, 2009.
- KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, p. 41-60, 2009.
- KARAM et al., Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 15, n. 2, p. 280-286, 2013.
- KASPER, J.; MELZIG, M. F.; JENETTSIEMS, K. New Phenolic Compounds of *Acmella ciliate*. **Planta Medica**, v. 76, n. 6, p. 633-635, 2010.

- KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.
- KEZIAH, E. A.; et al. Creams Formulated with *Ocimum gratissimum* L. and *Lantana camara* L. Crude Extracts and Fractions as Mosquito Repellents Against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Journal of Insect Science**, v. 5, n. 1, p. 45, 2015.
- KHACHA-ANANDA, S.; et al. Antioxidant and anti-cancer cell proliferation activity of propolis extracts form two extraction methods. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 14, p. 6991-6995, 2013.
- KHALAFALLA, M. M. et al. Antileukemia activity from root cultures of *Vernonia amygdalina*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 8, p. 556-562, 2009.
- KIM, J.; CHA, Y. N.; SURH, Y. J. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. **Mutation Research**, v. 690, p. 12-23, 2010.
- KINGANDS, B. L.; B. JONES. Chemosystematics of *Vernonia* series flexuosae (Vernonieae: compositae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 109, n. 3, p. 279-286, 1982.
- KOFINAS, C.; et al. Flavonoids and bioactive coumarins of *Tordylium apulum*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 637-641, 1998.
- KOLACZINSKI, J. H.; CURTIS, C. F. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroids insecticides: a review of the debate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 5, p. 697-706, 2004.
- KRISHNASWAMY, N. R. et al. Alpha- and β -Amyrin esters and sitosterol glucoside from *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 7, p. 1666-1667, 1975.
- KRISHNASWAMY, N. R.; et al. α - and β -Amyrin esters and sitosterol glucoside from *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 7, p.1666-1667, 1975.
- KUMAR, A.; et al. Chemical composition of *Ocimum basilicum* L. essential oil and its efficacy as a preservative agains fungal and aflotoxin contamination of dry fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 9, p. 1840-1846, 2011.
- KUO, Y H.; CHEN, C. H. Sesquiterpenes from the leaves of *Tithonia diversifolia*, **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 6, p. 827-828, 1998.

KURODA, M. et al. Sesquiterpenoids and flavonoids from the aerial parts of *Tithonia diversifolia* and their cytotoxic activity. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, n. 8, p. 1240–1244, 2007.

LAEKEMAN, G. M.; et al. Isolation and pharmacological characterization of vernolepin. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 2, p. 161–169, 1983.

LARSON, R. A. **Naturally Occurring Antioxidants**, New York: Lewis Publishers, p. 1. 1997.

LENG, T. C. et al. Detection of bioactive compounds from *Spilanthes acmella* (L.) plants and its various in vitro culture products. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 3, p. 371-378, 2011.

LENGLET, Y.; et al. Chikungunya infection in pregnancy: Evidence for intrauterine infection in pregnant women and vertical transmission in the parturient. Survey of the Reunion Island outbreak. **Journal de Gynécologie, Obstétrique et Biologie de la Reproduction**. V. 35, n. 6, p. 578-583, 2006,

LÉVI-STRAUSS, C. A ciência do concreto. In: **O pensamento selvagem**. Campinas: Papirus. p. 15-50, 1989.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. **Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento**. Relatório final. Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais e Instituto de Biologia. Unicamp, Campinas, SP, 2000. Disponível em: <www.mma.gov.br/port/sbf/chm/relpub.html>. Acesso em 05 de Janeiro de 2015.

LEY, J. P. et al. Isolation and synthesis of acmellonate, a new unsaturated long chain 2-ketol ester from *Spilanthes acmella*. **Natural Product Research**, v. 20, n. 9, p. 798-804, 2006b.

LEY, J.P. et al. Structure-activity relationships of trigeminal effects for artificial and naturally occurring alkamides related to spilanthol. **Developments in Food Science**, v. 43, p. 21-24, 2006a.

LIMA, J. B.; et al. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several Municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 68, n. 3, p. 329-333, 2003.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

LIMA, R. K.; et al. Bactericidal and antioxidant activity of essential oils from *Myristica fragrans* Houtt and *Salvia microphylla* H.B.K. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 523-528, 2012.

LIN, Y.; et al. Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. **Current Cancer Drug Targets**, v. 8, n. 7, p. 634-646, 2008.

LOGUERCIO, A. P.; et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LOLIS, M.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil". **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, 68-71, 2003.

LOPES-LUTZ, D.; et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oil. **Phytochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1732-1738, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas**. São Paulo: Nova Odessa, 512p. 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 1. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 512p. 2002.

LUCAS, E. et al. **Checklist das espécies vasculares do morro do Pai Inácio (Palmeiras) e Serra da Chapadinha (Lençóis) Chapada Diamantina, Bahia – Brasil**. Universidade Federal da Bahia, Salvador. 1988.

LUCIA, A.; ZERBA, E.; MASUH, H. Knockdown and larvicidal activity of six monoterpenes against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and their structure-activity relationships. **Parasitology Research**, v. 112, n. 12, p. 4267-4272, 2013.

LUMSDEN, W. H. An Epidemic of Virus Disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53 II. General description and epidemiology. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 1, p. 33-57. 1955.

LUNA, J. E. D.; et al. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 824-843, 2004.

MABRY, T. J. F. BOHLMANN. Summary of the chemistry of the Compositae. In: HEYWOOD, V. H.; HARBORNE, J. B.; TURNER, B. L. (eds.). **The Biology and Chemistry of the Compositae**. London: Academic Press, v. 2, p. 1097-1104, 1977.

MACEDO, E. V.; GEMAL, A. L. A produção de Fitomedicamentos e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 4, p. 290-297, 2009.

MACIEL, M. V. et al. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 105-112, 2010 .

MADUREIRA, M. C. et al. Antimalarial activity of medicinal plants used in traditional medicine in S. Tomé and Príncipe islands. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 1, p. 23-29, 2002.

MALAVIGE, G. N. et al. Dengue Viral Infections. **Postgraduate Medical Journal**, v. 80, n. 948, p. 588-601, 2004.

MAREGESI, S. M. et al. Ethnopharmacological survey of the Bunda district, Tanzania: plants used to treat infectious diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 3, p. 457-470, 2007.

MAREGESI, S. M. et al. Screening of Tanzanian medicinal plants against Plasmodium falciparum and human immunodeficiency virus. **Planta Medica**, v. 76, n. 2, p. 195-201, 2009.

MARKHAM, K.R. **Techniques of flavonoid identification**. London: Academic Press, 1982.

MARQUES, O. C. P. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de Uncaria tomentosa com atividade antioxidante**. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Farmácia) - Departamento de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2008.

MARTIN, R.; BECKER, H. Amides and Other Constituents from *Acmella ciliata*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 10, p. 2295-2300, 1985.

MARTIN, R.; BECKER, H. Spilanthol-Related Amides from *Acmella ciliata*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 8, p. 1781-1783, 1984.

- MARTINS, C. P. S., et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de jambu (*Spilanthes oleracea* L.) nas condições do Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira Plantas Medicinai Botucatu**, v. 14, n. 2, p. 410-413, 2012.
- MARTIUS, K. F. P. **Systema materiae e medicae vegetabilis brasiliensis**. Lpsiae: Frid Fleischer, 156p. 1843.
- MARTUCCI, M. E. P. **Análise da interação ecoquímica entre a lagarta-do-girassol *Chlosyne lacinia* (Lepidoptera: Nymphalidae) e as Asteraceae *Tithonia diversifolia* e *Vernonia polyanthes* utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas**. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.
- MARZOCHI, K. B. F. Dengue in Brazil - Situation, transmission and control - a proposal for ecological control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 2, p. 235-245, 1994.
- MARZZOCO, A. E.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 736p. 2007.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 150p, 1988.
- MATTOS, L. M., et al. **Protocolo de Análise para Determinação da Atividade Antioxidante Total em Hortaliças no Sistema Beta-Caroteno/ Ácido Linoléico**. Brasília-DF: Comunicado técnico 68, 5p. 2009.
- MAUROIS, A. **La vie de Sir Alexander Fleming**, Paris: French & European Pubns, 293p. 1959.
- MELLO, J. C. P.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS/Ed.UFSC. cap. 24, p. 517-543, 2001.
- MELO, E. A.; et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.
- MIGUEL, L. M. **Uso sustentável da biodiversidade na amazônia brasileira: experiências atuais e perspectivas das bioindústrias de cosméticos e fitoterápicos**. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Departamento de Geografia da Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MILAN, P.; HAYASHI, A.H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 135-144, 2006.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. **Ecosystems and Human Well-Being: Health Synthesis**. Washington DC: Island Press, 63p. 2005.

MINDELL, D. P. Environment and health: humans need biodiversity. **Science**, v. 323, n. 5921, p. 1562-1563, 2009.

MIURA, T. et al. Antidiabetic effect of nitobegiku, the herb *Tithonia diversifolia*, in KKAY diabetic mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 11, p. 2152-2154, 2005.

MIURA, T. et al. Antidiabetic effect of nitobegiku in KK-Ay diabetic mice. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2002.

MIURA, T.; et al. Antidiabetic effect of nitobegiku in KK-Ay diabetic mice. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 30, n. 1, p. 81-86, 2002.

MOBOT. Disponível em: <www.mobot.org/mobot/tropicos/most/welcome.shtml>. Acesso em: 20 Jan. 2016.

MOHAMED, A. H. et al. Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herbaalba*. **Records of Natural Products**, v. 4, n. 1, p. 1-25, 2010.

MOHAN, S.; FIELDS, P. G. A simples technique to assess compounds that are repellent or attractive to storedproducts insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 1, p. 23-31, 2002.

MOLINA, J.; GARCÍA, A. Alcamidas en plantas: distribución e importancia. **Avance y Perspectiva**, v.20, p. 377-387, 2001.

MOLINA-TORRES, J. et al. Fungistatic and bacteriostatic activities of alkamides from *Heliopsis longipes* roots: Affinin and reduced amides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4700-4704, 2004.

MOLINA-TORRES, J. et al. Purely olefinic alkamides in *Heliopsis longipes* and *Acmella (Spilanthes) oppositifolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 1, p. 43-47, 1996.

MOLINA-TORRES, J.; et al. Purely olefinic alkamides in *Heliopsis longipes* and *Acmella (Spilanthes) oppositifolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 1, 43-47, 1996.

- MONATH, T. P. Dengue: The risk to developed and developing countries. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 7, p. 2395-2400, 1994.
- MONDIN, C. A. et al. *Acmella* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15913>>. Acesso em: 20 Jan. 2016.
- MONZON, R. B.; et al. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **The Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health**, v. 25, n. 4, p. 755-759, 1994.
- MOON, J. K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1655-1666, 2009.
- MORS, W. Plantas medicinais. **Ciência Hoje**, v. 1, n. 3, p. 51-54, 1982.
- MOURA, L.; ROQUE, N. Asteraceae no município de Jacobina, Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil. **Hoehnea**, v. 41, n. 4, p. 573-587, 2014.
- MUGANGA, R. et al. Antiplasmodial and cytotoxic activities of Rwandan medicinal plants used in the treatment of malaria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p. 52-57, 2010.
- MUKHARYA, D. K.; ANSARI, A. H. Olean-12-en-3-O-betaD-galactopyranosyl (1-4)-O-alpha-L-rhamnopyranoside: a new triterpenoidal saponin from the roots of *Spilanthes acmella* (Murr.). **Indian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 86-87, 1987.
- MUNGARULIRE, J. Some developments in the search for cytotoxic constituents from Rwandese medicinal plants. **Acta Horticulturae**. v. 333, n. 211, 1993.
- MWINE, J. et al. Ethnobotanical survey of pesticidal plant used in South Uganda. Case study of Masaka district. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 7, p. 1155-1163, 2011.
- NAKAJIMA, J. et al. Asteraceae. In: **Lista de espécies da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 678-750. 2010.
- NAKAJIMA, J. et al. Asteraceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB55>>. Acesso em: 19 Jan. 2016.

NAKAJIMA, N. J.; SEMIR, J. Asteraceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira Botânica**. Vol. 24. nº 4: 471-478. 2001.

NAKATA, H.; et al. Concentrations and compositions of organochlorine contaminants in sediments, soils, crustaceans, fishes and birds collected from Lake Tai, Hangzhou Bay and Shanghai city region, China. **Environmental Pollution**, v. 133, n. 3, p. 415-429, 2005.

NAKATANI, N.; NAGASHIMA, M. Pungent alkamides from *Spilanthes acmella* L. var. *oleracea* Clarke. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 5, p. 759-762, 1992.

NASH, D. **Flora de Guatemala**. Chicago: Fieldiana Botany, v. 24, p. 323-325, 1976.

NAYAK, B. S.; PINTO PEREIRA, L. M. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, p. 41, 2006.

NDIAYE, M. et al. Red wine polyphenols cause endothelium-dependent EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries via a redox-sensitive mechanism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 310, p. 371-377, 2003.

NERGARD, C. S.; et al. Isolation, partial characterisation and immunomodulating activities of polysaccharides from *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 1, p. 141-152, 2004.

NIEMETZ, R.; GROSS, G. G. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2001-2011, 2005.

NJOROGE, G. N.; BUSSMANN, R. W. Diversity and utilization of antimalarial ethnophytotherapeutic remedies among the Kikuyus (Central Kenya). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n. 1, p. 8-14, 2006a.

OBOH, G.; RADDATZ, H.; HENLE, T. Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 14, p. 2486-2492, 2008.

ODUKOYA, A. O. et al. Astringency as antisensitivity marker of some nigerian chewing sticks. **Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 1, p. 121-125, 2007.

OLIVEIRA, D. S. B.; RAMOS, R. S.; ALMEIDA, S. S. M. S. Phytochemical study, microbiological and cytotoxicity activity in *Artemias alina* Leach, aerial parts of *Petiveria alliacea* L. Phytolaccaceae. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 3, p. 76-82, 2013.

OLIVEIRA, F. C. et al. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 590-605, 2009.

OLIVEIRA, M. F.; et al. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 2, p. 211-221, 2002.

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Estratégia de Medicina Tradicional 2002-2005**. Disponível em: <www.who.int> Acesso em 18 Jan. 2016.

ONDETTI, M. A. et al. **Chronicles of Drug Discovery**. BINDRA, J. S.; LEDNICER, D. (Eds.). New York: Wiley, p. 1-32, 1983.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Guidelines for efficacy testing of mosquito repellents for human skin**. Disponível em: <<http://www.who/htm/ntd/whopes/4>>. Acesso em: 20 de Jan. 2016.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Alerta Epidemiológica. Fiebre por chikungunya y dengue en las Américas**. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=27048&Itemid&lang=es>. Acesso em: Acesso em: 20 de Jan. 2016.

OWOYELE, V. B. et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2/3, p. 317-321, 2004.

OWOYELE, V. B.; et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 317-321, 2004.

OYEWOLE, I. O.; et al. J. A. Anti-malarial and repellent activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaf extracts. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 2, n. 8, p. 171-175, 2008.

PALSAMY, P.; SUBRAMANIAN, S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2–Keap1 signaling. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1812, p. 719–731, 2011.

PANDEY, R. Application of Botanicals for Management of Root-Knot Nematode Disease of *Ammi majus* L. **Indian Journal of Nematology**, v. 32, n. 2, p. 198-200, 2002.

- PANDEY, V.; AGRAWAL, V. Efficient micropropagation protocol of *Spilanthes acmella* L. possessing strong antimalarial activity. **In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 45, n. 4, p. 491-499, 2009.
- PANDEY, V.; et al. Strong larvicidal activity of three species of *Spilanthes* (Akarkara) against malaria (*Anopheles stephensi* Liston, *Anopheles culicifacies*, species C) and filaria vector (*Culex quinquefasciatus* Say). **Parasitology Research**, v. 102, n. 1, p. 171-174, 2007.
- PANERO, J. L.; FUNK, V. A. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the *Asteraceae* revealed. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 47, n. 2, p. 757-782. 2008.
- PANIZZA, S. **Plantas que Curam - Cheiro de Mato**. 4. ed. São Paulo: IBRASA, 1997.
- PARK, I. K.; et al. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 7, p. 1866-1870, 2002.
- PAULRAJ, J.; GOVINDARAJAN, R.; PALPU, P. The genus *Spilanthes* ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological properties: a review. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2013, p. 1-22, 2013.
- PAULRAJ, J.; GOVINDARAJAN, R.; PALPU, P. The genus *Spilanthes* ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological properties: a review. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2013, p. 1-22, 2013.
- PECKOLT, T.; PECKOLT, G. **História das Plantas Mediciniais e Úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Laemmert & Cia, 1914.
- PEIRIS, K. P. P.; SILVA, G. K. J.; RATNASOORIYA, W. D. Analgesic activity of water extract of *Spilanthes acmella* flowers on rats. **Journal of Tropical Medicinal Plants**, v. 2, n. 2, p. 120-126, 2002.
- PELAH, D.; et al. The use of commercial saponin from *Quillaga saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 81, n. 3, p. 407-409, 2002.
- PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. ALEXANDER FLEMING (1881-1955) Da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). **Revista da Faculdade de Letras**, v. 6, n. 3, p. 129-151, 2005.

- PEREIRA, M O. S. **Estudo Comparativo de Métodos de Avaliação da Capacidade Antioxidante de Compostos Bioativos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar). Instituto Superior de Agronomia. Universidade técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.
- PEREIRA, P. S. et al. Sesquiterpene lactones from Brazilian *Tithonia diversifolia*. **Phytochemistry**, v. 45, p. 1445-1448, 1997.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.
- PÉREZ, A. et al. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. **Pastos y Forrajes**, v. 32, n. 1, p. 1, 2009.
- PÉREZ, A. L.; OLGA, L. M.; ROMO DE VIVAR, A. Sesquiterpenoids and diterpenoids from *Tithonia longiradiata*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 12, p. 4227-4231, 1992.
- PÉREZ, A. L.; ORTEGA, A.; ROMO DE VIVAR, A. An acyclic diterpene and sesquiterpene lactones from *Tithonia pendunculata*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 12, p. 3897-3901, 1998.
- PÉREZ, A.; et al. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. **Pastos y Forrajes**, v. 32, n. 1, p. 1-1, 2009.
- PÉREZ-AMADOR, M. C.; et al. *Vernonia patens* Kunth, an Asteraceae species with phototoxic and pharmacological activity. **Phyton**, v. 77, p. 275-282, 2008.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.
- PERÓN, A. P. et al. Avaliação mutagênica das plantas medicinais *Baccharis trimera* Less. e *Solanum melongena* L., em células de medula óssea de ratos Wistar. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 2, p. 127-30, 2008.
- PIMENTA, A. T. A.; et al. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade larvívica de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 501-505, 2006.
- PINHEIRO, F. P.; CORBER, S. J. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever and its emergence in the Americas. **World Health Statistics Quarterly**, v. 50, n. 3-4, p. 161-169, 1997.

- PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, p. 1926-1969. 1984.
- PIRANI, J. R.; MELLO-SILVA, R.; GIULIETTI, A. M. Flora de Grão Mogol, Minas Gerais, **Boletim Brasileiro de Botânica da Universidade São Paulo**, v. 21, n. 1, p.1-24, 2003.
- PISO, W. *India Litriusque Naturali et Medica Libri Quatuordecim*. Amstelaedami, Apud Ludovicum et Danielem, 327p. 1648.
- PITASAWAT, B.; et al. Screening for larvicidal activity of ten carminative plants **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 29,n. 3, p. 660-662, 1998.
- POLJŠAK, B.; DAHMANE, R. Free Radicals and Extrinsic Skin Aging. **Dermatology Research and Practice**, v. 2012, p. 1-4, 2012.
- POURMORAD, F.; HOSSEINIMEHR, S. J.; SHAHABIMAJD, N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 11, p. 1142-1145, 2006.
- PRACHAYASITTIKUL, S.; et al. V. Bioactive Metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. **Molecules**, v. 14, p. 850-867, 2009.
- PRACHAYASITTUKAL, V. et al. High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review. **EXCLI Journal**, v. 12, p. 291-312, 2013.
- PRACHAYASITTUKAL, V.; et al. High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review. **EXCLI Journal**, v. 12, p. 291-312, 2013.
- QUADROS, D. A.; et al. Qualidade de batata para fritura, em função dos níveis de açúcares redutores e não-redutores, durante o armazenamento à temperatura ambiente. **Acta Scientiarum Technology**, v. 32, n. 4, p. 439-443, 2010.
- RAGASA, C. Y.; TEPORA, M. M.; RIDEOUTB, J. A. Terpenoids from *Tithonia diversifolia*. **Journal of Research in Science Computing, and Engineering**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2007.
- RAGHAVENDRA, K.; et al. Laboratory studies on mosquito larvicidal efficacy of aqueous & hexane extracts of dried fruit of *Solanum nigrum* Linn. **The Indian Journal of Medical Research**, 130, n. 1, p. 74-77, 2009.

- RAHMAN, I. Dietary polyphenols mediated regulation of oxidative stress and chromatin remodeling in inflammation. **Nutrition Reviews**, v. 66, n. 1, p. 42-45, 2008.
- RAMSEWAK, R. S.; ERICKSON, A. J.; NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 728-732, 1999.
- RAMSEWAK, R. S.; ERICKSON, A. J.; NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes Acmella*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 6, p. 729-732, 1999.
- RANI, S. A.; MURTY, S. U. Antifungal Potential of Flower Head Extract of *Spilanthes acmella* Linn. **African Journal of Biomedical Research**, v. 9, n. 1, p. 67-68, 2006.
- RANI, S. A.; MURTY, S. U. Antifungal potential of flower head extract of *Spilanthes acmella* Linn. **African Journal of Biomedical Research**, v. 9, p. 67-69, 2006.
- RASOOLI, I.; ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, v. 15, n. 6, p. 479-483, 2004.
- RATHEE, P.; et al. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. **Inflammation & Allergy Drug Targets**, v. 8, n. 3, p. 229-235, 2009.
- RATNASOORIYA, W. D. et al. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 2-3, p. 317-320, 2004.
- RATNASOORIYA, W. D.; et al. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 2-3, 317-320, 2004.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 830p. 2007.
- RAWLINS, S. C.; WAN, J. O. Resistance in some Caribbean population of *Aedes aegypti* to several insecticides. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 11, n. 1, 59-65, 1995.
- REBELO, J. M. M. et al. Distribuição de *Aedes aegypti* e do dengue no Estado do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, n. 3, p. 477-486, 1999.
- RETO, M.; et al. Teor de fluoreto em infusos de chá verde (*Camellia sinensis*). **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 317-320, 2008.
- REVILLA, J. **Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais**. Manaus: Editora SEBRAE/INPA, 102 p. 2004.

REY, L. **Parasitología: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 856 p. 2001.

RÍOS, C. I. Botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. En: GÓMEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, L.; MURGUEITIO, E.; RÍOS, C. I.; MÉNDEZ, M. R.; MOLINA, C. H.; MOLINA, C. H.; MOLINA, H.; MOLINA, J. P. Árboles utilizados en alimentación animal como fuente proteica: matarraton (*Glirícidia septum*), nacedero (*trichanthera gigantea*), pizamo (*erythrinafusca*) y botón de oro (*Iithonia diversifolia*). **Centro para la Investigación em Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuária: CIPAV**, p. 115-126, 2002.

RÍOS, C. I. Efecto de la densidad de siembra y altura de corte sobre la producción de biomassa del botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, evaluada en cortes sucesivos. Investigación, validación y capacitación en Sistemas Agropecuarios Sostenibles. Convenio CETEC - IMCA - CIPAV. **Informe de Avance**. Cali. p. 81-83. 1993.

RÍOS, M. R.; OLIVO, H. F. **Natural and synthetic alkylamides: applications in pain therapy**. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*. New York: Elsevier, p. 79-118. 2014.

RÍOS, M. R.; OLIVO, H. F. Natural and synthetic alkylamides: applications in pain therapy. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.), **Studies in Natural Products Chemistry**. New York: Elsevier, p. 79-118, 2014.

RÍOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B.; GUTIERREZ, M. D. Analgesic activity of affinin, an alkamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 364-367, 2007.

RÍOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B.; GUTIERREZ, M. D. Analgesic activity of affinin, an alkamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 364-367, 2007.

RISSO, W. E.; SCARMINIO, I. S.; MOREIRA, E. G. Antinociceptive and acute toxicity evaluation of *Vernonia condensata* Baker leaves extracted with different solvents and their mixtures. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, n. 8, p. 811- 816, 2010.

RISSO, W. E.; SCARMINIO, I. S.; MOREIRA, E. G. Antinociceptive and acute toxicity evaluation of *Vernonia condensata* Baker leaves extracted with different solvents and their mixtures. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, n. 8, p. 811-816, 2010.

ROBINSON, M. C. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. I. Clinical Features. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 1, p. 28-32, 1955.

RODRIGUES, A. B. L. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante, de citotoxicidade e inseticida de óleos essenciais de morfotipos de *Ayapana triplinervis* (VAHL) R.M.KING & H. ROB (Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2015.

RODRÍGUEZ, E. **Mirasol (*Tithonia diversifolia*, Hemsl y Gray) posible alternativa forrajera no convencional para la alimentación animal en el trópico**. 1990. Disponível em: <www.utafoundation.org/botondeoro.htm>. Acesso em: 20 de Jan. 2016.

RODRIGUEZ, M. M.; et al. O. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 56, n. 1, p.54-60, 2004.

ROEL, A. R. et al. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 799-808, 2000.

ROIG, J. T.; MESA, A. Plantas Medicinales, aromáticas e venenosas de cuba. **La Habana**, p. 709, 1974.

ROMÃO, N. F.; et al. Phytochemical analyses and antioxidant potential of *Spilanthes acmella* flowers extract. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n. 2. p. 23-32, 2015.

ROSALES, M. Nutritional value of colombian fooder trees. Internal report. Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción **Agropecuaria and Natural Resources Institute**, United Kingdom, 50p. 1992.

RÜNGELER, P. et al. Study of three sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* on their anti-inflammatory activity using the transcription factor NF-kappa B and enzymes of the arachidonic acid pathway as targets. **Planta Medica**, v. 64, n. 7, p. 588-593, 1998.

RÜNGELER, P.; et al. Study of three sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* on their anti-inflammatory activity using the transcription factor NF-kappa B and enzymes of the arachidonic acid pathway as targets, **Planta Medica**, v. 64, n. 7, p. 588-593, 1998.

SALGADO, J. M. **Guia dos Funcionais: Dieta Alimentar para Manter a Saúde e Evitar Doenças**. Rio de Janeiro: Ediouro, 192p. 2009.

SALIU, J. A. et al. In vitro antidiabetes and antihypertension properties of phenolic extracts from bitter leaf (*Vernonia amygdalina* Del.). **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 5, p. 569-576, 2012.

SAMPAIO, L. B.; et al. Evaluation of the antioxidant, photoprotective and photochemopreventive potential in vitro of *Iithonia diversifolia* extracts by an environmental metabolomics approach. In: 5th BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS (BCNP) and the XXXI ANNUAL MEETING ON MICROMOLECULAR EVOLUTION, SYSTEMATICS AND ECOLOGY (RESEM) Atibaia, **Anais...** São Paulo, Brasil, de 26 a 29 Outubro, 2015.

SANA, H.; RANI, A. S.; SULAKSHANA, G. Determination of Antioxidant Potential in *Spilanthes acmella* using DPPH assay. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v. 3, n. 7, p. 219-223, 2014.

SANTIAGO, G. M. P.; et al. Avaliação da atividade larvicida de saponinas triterpênicas isoladas de *Pentaclethra maculosa* (Willd.) Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Fresen (Boraginaceae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 187-190, 2005.

SANTOS, F. S. dos. A importância da Biodiversidade. Revista Científica de Educação a Distância. Edição Especial, 17p. 2010. Disponível em: <http://revistapaideia.unimesvirtual.com.br>>. Acesso em: 07 Mar. 2015.

SANTOS, S. C.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p. 615-656, 2004.

SANTOS, U. et al. Antibacterial Property of fruit Sucupira-White (*P. pubescens*). **Revista Eletrônica de Biologia**, v. 3, n. 4, p. 77-88, 2010.

SARAF, D. K., et al. *Spilanthes Acmella* Murr.: Study on its extract spilanthol as larvicidal compound. **Asian Journal of Experience Sciences**, v. 16, n. 1/2, p. 9-19, 2002.

SARAF, D. K.; DIXIT, V. K. *Spilanthes acmella* Murr.: study on its extract spilanthol as larvicidal compound. **Asian Journal of Experimental Science**, v. 16, n. 1-2, p. 9-19, 2002.

- SAVADI, R. V.; YADAV, R.; YADAV, N. Study on immunomodulatory activity of ethanolic extract *Spilanthes acmella* Murr. Leaves. **Indian journal of natural Products and Resources**, v. 1, n. 2, p. 204-207, 2010.
- SCHENKEL, E. P.; et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1104p. 2007.
- SCHENKEL, E. P.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, p.597-619, 2001.
- SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654-658, 2009.
- SCHMUTTERER, H. Potential of Azadirachtin Containing Pesticides for Integrated Pest Control in Developing and Industrialized Countries. **Journal of Insect Physiology**, v. 34, n. 7, p. 713-719, 1988.
- SEAMAN, F. C. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. **Botanical Review**, v. 48, n. 2, p. 121-595, 1982.
- SENGUL, M.; et al. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Science**, v. 22, n. 1, p. 102-106, 2009.
- SHAALAN, E. A.; et al. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, n. 8, p. 1149-1166, 2005.
- SHAFER, T. J.; MEYER, D. A.; CROFTON, K. M. Developmental neurotoxicity of pyrethroids insecticides: critical review and future research needs. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 2, p. 123-136, 2005.
- SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, 227-236, 2004.
- SHARMA, A. et al. Insecticidal toxicity of spilanthol from *Spilanthes acmella* Murr. Against *Plutella xylostella* L. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, n. 11, p. 1568-1572, 2012.
- SHARMA, A.; et al. Insecticidal toxicity of Spilanthol from *Spilanthes acmella* Murr. against *Plutella xylostella*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, n. 11, p. 1568-1572, 2012.

SHARMA, G. V. M.; SHEKHARAM, T.; UPENDER, V. Stereoconvergent Synthesis of a Potent Mosquito Larvicide: (2E,4E,8E,10Z)-N-(2-methylpropyl)-2,4,8,10-dodecatetraeneamide. **Tetrahedron**, v. 46, n. 16, p. 5665-5672, 1990.

SHARMA, V.; et al. *Spilanthes acmella* ethanolic flower extract: LC-MS alkylamide profiling and its effects on sexual behavior in male rats. **Phytomedicine**, v. 18, n. 13, 1161-1169, 2011.

SHEPHERD, G. J. **Avaliação do Estado do Conhecimento da Diversidade Biológica do Brasil: Plantas Terrestres**. Campinas: Ministério do Meio Ambiente. 60p. 2003.

SIDNEI, S. **Dispositivo para controle de larvas de mosquitos em ambientes aquáticos** BR nº PI0801273-3 A2, 24/11/2009.

SIEDENTOPP, U. El regaliz, una planta medicinal eficaz para la tos y las efeciones de estómago. **Revista Internacional de Acupuntura**, v. 2, n. 2, 249-252, 2008.

SILVA, A. A.; ANDRADE, L. H. C. Utilização de espécies de Asteraceae por comunidades rurais do nordeste do Brasil: relatos em Camocim de São Félix, Pernambuco. **Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 93-104, 2013.

SILVA, A. E. **Jambu (*Spilanthes oleracea* Linn.) minimamente processado: compostos bioativos e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

SILVA, F. S. et al. Dynamics of traditional knowledge of medicinal plants in a rural community in the Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 382-391, 2011.

SILVA, G. A. R. **The subtribe *Ecliptinae* Less. (Heliantheae – Asteraceae) for the brazilian Amazonia**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Museu Paraense Emílio Goeldi/Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém1, 2008.

SILVA, G. A.R.; SANTOS, J. U. M. *Acmella marajoensis* G.A.R. Silva & J.U.M. Santos: Uma nova espécie de Asteraceae para a Amazônia brasileira. **Acta Amazonia**. v. 41, n. 2, p. 191-194, 2011.

SILVA, H. H. G.; et al. Adaptação do *Aedes aegypti* (Linnaeus,1762) em criadouros artificiais com água poluída. **Entomologia y Vectores** 6:383-391, 1999.

SILVA, H. H. G.; et al. Estudo comparativo de eficiência das técnicas de ultra baixo volume (UBV) e termonebulização (FOG) no controle de *Aedes aegypti*. **Informe Epidemiológico do Sistema Único de Saúde**. 10:45-46, 2001.

SILVA, H. H. G.; et al. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 40(3):264-267, 2007.

SILVA, H. H. G.; et al. Larvicidal activity of tannins isolated of *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 37(5): 396-399, 2004.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo evolutivo de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 32:349-355, 1999.

SILVA, J. B., et al. New Approaches to Clarify Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of the Ethanol Extract from *Vernonia condensata* Leaves. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 12, 8993-9008, 2011.

SILVA, J. B.; et al. *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae): A Promising Source of Antioxidant. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1-9, 2013.

SILVA, J. B.; et al. New approaches to clarify antinociceptive and anti-inflammatory effects of the ethanol extract from *Vernonia condensata* leaves. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 12, p. 8993-9008, 2011.

SILVA, M. P.; BARBOSA, F. S. Q.; BARROS, R. F. M. Estudo taxonômico e etnobotânico sobre a família Asteraceae (Dumortier) em uma comunidade rural no Nordeste do Brasil. **Gaia Scientia**. Volume Especial Populações Tradicionais, p. 110-123, 2014.

SILVA, P. B. **Análise fitoquímica de *Tithonia diversifolia* cultivada no herbário de plantas medicinais do hospital universitário (HU)**. Trabalho de conclusão do curso de Química (Estágio Supervisionado na Universidade Federal de Santa Catarina) – UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, 2003.

SILVA, R. B. L. **A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá-AP, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2002.

SILVA, R. N.; et al. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

SIMÃO, V. **Avaliação da qualidade de alimentos para aves de companhia quanto ingredientes, corantes artificiais, fungos e micotoxinas**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue? Atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (Óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

SIMAS, N. K.; et al. Acetylenic 2-phenylethylamides and new isobutylamides from *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, a Brazilian spice with larvicidal activity on *Aedes aegypti*. **Phytochemistry Letters**. Volume 6, Issue 1, Pages 67–72. 2013.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. 1.reimp. Porto Alegre: Editora UFRGS, Florianópolis: Editora UFSC, 2010.

SIMÕES, C. M. O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p. 2007.

SIQUEIRA, J. M.; et al. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* leach. **Química Nova**, v. 21, n. 5, 1998.

SODERLUND, D.M.; et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology** 171: 3-59. 2002.

SOUSA, C. M. M.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351- 355, 2007.

SOUSA, R. S. **Etnobotânica e Etnozoologia de Comunidades Pesqueiras da Área de Proteção Ambiental (Apa) do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente da Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

SOUZA, C. R. F.; et al. Antioxidant activity and physical-chemical properties of spray and spouted bed dried extracts of *Bauhinia forficata*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 45, n. 2, p. 209-218, 2009.

SOUZA, O. F. **Influência de espaçamentos e da época de corte na produção de biomassa e valor nutricional de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray.** Dissertação (Mestre em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade de Marília, Unimar, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II.** 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 704 p, 2008.

SOUZA, V.C., LORENZI. H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 640 p. 2005.

SPELMAN, K. et al. The Traditional Medicine *Spilanthes acmella*, and the Alkylamides Spilanthol and Undeca-2E-ene-8,10-diynoic Acid Isobutylamide, Demonstrate *In Vitro* and *In Vivo* Antimalarial Activity. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 7, p. 1098-1101, 2011.

SPELMAN, K.; et al. The traditional medicine *Spilanthes acmella*, and the alkylamides spilanthol and undeca-2E-ene- 8,10-diynoic acid isobutylamide, demonstrate *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity. **Phytother. Res.** 25, 1098–1110. 2011.

SPENCER, J. P. E.; et al. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 1, 12-22, 2008.

STEVENS, P.F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website.** Version 2, July 201 [and more or less continuously updated since]. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 09 de março de 2015.

STUESSY, T. F., D. GARVER. The defensive role of pappus in heads of Compositae. In: CALIGARI P. D. D.; HIND, D. J. N. (eds.). **Compositae: Biology and Utilization.** Kew: Royal Botanic Gardens, p.81-91, 1996.

SUKHTHANKAR, J. H.; et al. Larvicidal activity of methanolic leaf extracts of plant, *Chromolaena odorata* L. (Asteraceae) against vector mosquitoes. **International Journal of Mosquito Research**, v. 1, n. 3, p. 33-38, 2014.

SUKUMAR, K.; PERICH, M. J.; BOOBER, L. R. Botanical derivatives in mosquito control: a review. **Journal of the American Mosquito Control Association** 1991, 7:210– 237.

TAKAYA, K.; et al. Validation of the multiple sensor mechanism of the Keap1-Nrf2 system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, n. 4, p. 817-827, 2012.

- TAKEDA, K.; HARBORNE, J. B.; SELF, R. Identification and distribution of malonated anthocyanins in plants of the Compositae. **Phytochemistry**, v. 25, n. 6, 1337-1342, 1986.
- TANWER, B. S.; CHOUDHARY, R. K.; VIJAYVERGIA, R. In vitro and in vivo Comparative Study of Primary Metabolites and Antioxidant Activity in *Spilanthes Acmella* Murr. **International Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 6, n. 5, p. 819– 825, 2010.
- TAOFIK, M.; et al. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif Ekstrak air daun paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai bahan insektisida botani untuk pengendalian hama tungau Eriophyridae. **Alchemy**. 2(1):132–9. 2010.
- TINKEL, J.; HASSANAIN, H.; KHOURI, S. J. Cardiovascular Antioxidant Therapy: A Review of Supplements, Pharmacotherapies, and Mechanisms. **Cardiology in Review**, v. 20, n. 2, p. 77-83, 2012.
- TIWARI, K. L.; JADHAV, S. K.; JOSHI, V. An updated review on medicinal herb Genus *Spilanthes*. **Journal Chinese Integrative Medicine**, v. 9, n. 11, p. 1170-1178, 2011.
- TONA, L. et al. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 57-65, 1998.
- TONA, L. et al. Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo. **Phytomedicine**, v. 7, n. 1, p. 31-38, 2000.
- TONA, L.; et al. Biological screening of traditional preparations from some medicinal plants used as antidiarrhoeal in Kinshasa, Congo. **Phytomedicine**, v. 6, n. 1, p. 59-66, 1999.
- TONGMA, S.; KOBAYASHI, K.; USUI, K. Allelopathic activity of Mexican sunflower [*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray] in soil under natural field conditions and different moisture conditions. **Weed Biology and Management**, v.1, p.115-119, 2001.
- TOYANG, N. J.; VERPOORTE, R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, p. 3, p. 681-723, 2013.
- UFPE. Universidade Federal de Pernambuco (Recife-PE), Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro. **Novo larvicida para *Aedes aegypti* derivado de ácidos de 1,2,4- oxidazol** BR nº PI0800792-6 A2, 19/10/2010.

UNITED STATE AGENCY FOR INTERNATIONAL DEVELOPMENT. **Entomology Manual Malaria For Entomology and Technical Control Vectors** (Basic Level). 1 ed., p.91, 2012.

VALVERDE, A. L., et al. Analgesic and antiinflammatory activities of vernonioside B2 from *Vernonia condensata*. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 3, 263-264, 2001.

VARGAS, J. E. Caracterización de recursos forrajeros disponibles en tres agroecosistemas del Valle del Cauca. En: MEMORIAS II SEMINARIO INTERNACIONAL DESARROLLO SOSTENIBLE DE SISTEMAS AGRARIOS. MAESTRÍA EN SISTEMAS SOSTENIBLES DE PRODUCCIÓN ANIMAL EN LOS TRÓPICOS. Cali, **Colombia**. p. 135. 1994.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero baccharis (asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

VERYKOKIDOU-VITSAROPOULOS, E.; BECKER, H. Flavonoide aus *Spilanthes oleracea*. **Jacq. Archives der Pharmazie**, v. 316, p. 815-816, 1983.

VERYSER, L. et al. N-alkylamides: from plant to brain. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 4, n. 6, p. 264-275, 2014.

VIANA, L. C. **Efeito dos extratos aquosos de Hyptis fruticosa e Baccharis trimera sobre a proliferação do fígado após hepatectomia parcial em ratos**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente.) – Universidade Tiradentes, Aracaju. 2011.

VICENTE, M. A. A. **Multiplicação in vitro e aclimação de plantas medicinais (Vernonia condensata e Justicia pectoralis)**. Dissertação (Mestre em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2008.

VILEGAS, W.; CARDOSO, C. A. L. Controle químico de qualidade de fitoterápicos e plantas medicinais. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. C. (orgs). **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 1. ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, p. 157-159, 2007.

VITTO, L. A.; PETENATTI, E. M. Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. **Multequina**, v. 18, n. 2, p. 87-115, 2009.

- WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E. M. **Plant Drug Analysis**. Berlin: Springer Verlag, 320p. 1996.
- WALL, M. E. **Chronicles of Drug Discovery**. BINDRA, J. S.; LEDNICER, D. (Eds.). Washington: ACS Professional Reference Book, p. 328-348, 1993.
- WANJAU, S. et al. Transferencia de biomasa: cosecha gratis de fertilizante. **Boletín de ILEIA**, v. 13, n. 3, p. 25, 1998
- WIRTH, M. C.; GEORGHIOU, G. P. Selection and characterization of temephos in a population *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Island. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 15: 315-320.1999.
- WONGSAWATKUL, O. et al. Vasorelaxant and Antioxidant Activities of *Spilanthes acmella* Murr. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 12, p. 2724-2744, 2008.
- WONGSAWATKUL, O.; et al. Vasorelaxant and Antioxidant Activities of *Spilanthes acmella* Murr. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, 2724-2744, 2008.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue/dengue haemorrhagic fever prevention and control. Regional Office for South-East Asia** 1-33, 2003.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. WHO/CDS/NTD/WHOPES/ GCDPP/ 2005.
- WU, L. C. et al. Antiinflammatory effect of spilanthol from *Spilanthes acmella* on murine macrophage by down-regulating LPS-induced inflammatory mediators. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 7, p. 2341-2349, 2008.
- YADAV, K.; SINGH, N. Micropropagation of *Spilanthes acmella* Murr. – An Important Medicinal Plant. **Nature and Science**, v. 8, n. 9, p. 5-11, 2010.
- YADAV, R. et al. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* Murr. Leaves extract in rats. **International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 57-61, 2011.
- YANG, Y. C.; et al. piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. **J Agric Food Chem** 50: 3765-3767. 2002.
- YASUDA, I.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H. The geometric structure of spilanthol. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, p. 2251-2253, 1980.

YU, T.; et al. Synthesis and Cytotoxic Activity of Coumarin Derivatives Containing Benzotriazole Moieties. *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*, v. 184, p. 2655-2663, 2009.

ZAPPI, et al. Lista das plantas vasculares de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Boletim Brasileiro de Botânica da Universidade São Paulo*, v. 21, n. 2, p. 251-400, 2003.

ZHANG, H.; et al. Cytotoxic activity of some novel dicoumarin derivatives in vitro. *Chemical Research in Chinese Universities*, v. 25, p. 644-647, 2009.

ZOFOU, D. et al. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts of selected medicinal plants used by traditional healers of Western cameroon. *Malaria Research and Treatment*, v. 2011, p. 561342, 2011.

ZOMLEFER, W. B. *Guide to flowering plant families*. Carolina: Chapel Hill & London, 424p. 1994.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo de produtos naturais como fonte de medicamentos é uma tarefa extremamente árdua. No que tange os recursos de biodiversidade vegetal da região Amazônica, estes representam grande alternativa para descoberta e introdução de novos produtos farmacêuticos. Assim é sabido que os produtos naturais provenientes de plantas têm grande potencial antioxidante, citotóxico no controle de insetos, uma vez que o conhecimento sobre a sua atividade biológica revelada por um programa de triagem ("screening"), pode levar as mais varadas aplicações. Esta aplicação pode ser do próprio produto natural, diretamente, ou de seus análogos resultantes de modificações estruturais.

A expansão do conhecimento das estruturas químicas dos produtos naturais, bem como da sua função nas interações das plantas com os insetos, permite uma melhor compreensão dos mecanismos bioquímicos dessas interações, o que torna possível abordagens biorracionalis no desenvolvimento de novos agentes biocidas.

Os testes aqui realizados buscaram avaliar deste as características químicas preliminares das espécies, sua possível relação com a atividade antioxidante, citotóxica e bioinseticida. Em geral, os resultados obtidos nas análises e experimentos foram relevantes e de grande satisfação para que essas espécies sejam melhor aproveitadas pela população amazonida.

Assim, quanto à análise fitoquímica, o estudo preliminar atende as expectativas dos tipos de metabólitos presentes na família, no gênero e nas espécies. Chamando atenção para a ausência de flavonoídes (visto como macador) neste estudo. O que não invalida suas funções biológicas visto que esse composto pode está presente, porém em pequena quantidade.

Quanto aos demais metabólitos foi marcante a presença dos tepernos, taninos, alcaloíde, saponinas, açúcares redutores, cumarinas e resinas conhecidas por fortes funções farmacológicas. Em relação a avaliação antioxidante as espécies atenderam a expectativa sobre sequestradores de radicais livres o que promove agregação de valor e melhor aproveitamento dos recursos vegetais.

Quanto ao potencial citotóxico frente a *A. salina* o extrato com melhor atividade foi *A. oleracea*, mostrando-se uma promissora fonte de compostos bioativos com atividade bioinseticida. A maioria dos extratos apresentou efeito dose dependente cuja maior dose de 1000µg/mL foi estatisticamente significativa quando comparada as demais.

Na avaliação bioinseticida os resultados são promissores na busca dos compostos ativos. Demonstrando serem fontes de recursos naturais utilizados na indústria farmacêutica.

Por fim, a realização deste trabalho demonstrou a complexidade que envolve o estudo de um produto fitoterápico, partindo de um extrato bruto. Com os resultados obtidos, podemos inferir que as espécies da família Asteraceae são promissoras fonte de recursos naturais com a finalidade antioxidante, citotóxica e inseticida. E que os esforços desse grupo de pesquisa estão sendo alcançados seja na iniciação científica, ou na pós-graduação, os trabalhos são infidáveis e estimulantes.

APENDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado como voluntário a participar da pesquisa: AVALIAÇÃO LARVICIDA, ADULTICIDA E REPELENTE DE EXTRATOS VEGETAIS DE TRES ESPÉCIES DA FAMÍLIA ASTERACEAE (ASTERALES) CONTRA *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (DIPTERA, CULICIDAE).

A JUSTIFICATIVA, OS OBJETIVOS E OS PROCEDIMENTOS: O motivo que nos leva a estudar o problema é descobrir substâncias química, oriundas de plantas medicinais, capazes de repelir insetos, a pesquisa se justifica O uso de inseticidas direcionado ao combate de formas adultas de dípteros vetores tem sido frequente. O que levou a uma maior preocupação em relação à toxicidade e impacto ambiental destes agentes. Assim, a resistência a inseticidas tornou-se uma preocupação crescente na saúde pública o que justifica a busca por extratos vegetais de espécies de plantas de diferentes áreas geográficas do Brasil e do mundo, capazes de causar efeitos letais e subletais sobre insetos e/ou suas larvas. O objetivo desse projeto é Investigar o potencial repelente dos extratos vegetais das espécies *Acmella oleracea* (L.) R.K.Jansen, *Acmella ciliata* Kunth.) Cass. e *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray família Asteraceae (ASTERALES). Os Procedimentos foram detalhadamente explicados aos participantes. Esses não poderiam apresentar histórico de reações alérgicas a picada de mosquitos e nem enfermidades dermatológicas aparentes. Antes da realização dos bioensaios de foi solicitado a cada participante a abstinência de produtos hidratantes no corpo por 12 horas antes do ensaio. No dia do experimento cada participante lavou abundantemente os antebraços e mãos com água e sabão neutro. Posteriormente, os antebraços foram higienizados com álcool 70% e deixou-se secar. No momento do ensaio as mãos foram protegidas por luvas de látex. Os braços foram envoltos por papel filme (Lusafilm R105®), posteriormente foi realizado corte sobre o antebraço de 7 por 7 cm² (totalizando 49cm²), e as mãos foram protegidas por luvas de procedimento. O antebraço direito foi selecionado como controle e o esquerdo como teste (extratos), os extratos foram aplicados em ordem crescente de concentração. O primeiro procedimento para realização do bioensaio consistiu em que cada voluntário introduzisse o braço direito (controle) na gaiola contendo 50 mosquitos fêmeas durante 30 minutos, foram contados o número de mosquitos que pousaram e picaram nesse intervalo, devendo ser igual ou superior a 10 para validar o experimento. Em seguida, aplicou-se 1mL do solvente de diluição dos

extratos (etanol) no antebraço direito, e deixou-se secar durante 2 minutos e então cada voluntário introduziu novamente o antebraço na gaiola contendo os mosquitos, durante 30 minutos. Com a finalidade de considerar válido o ensaio, o número de mosquitos que pousou e picou, durante 30 minutos, deveria ser superior ou igual a 10. Posteriormente aplicou-se 1 mL do extrato no antebraço esquerdo, e deixou-se secar por 2 minutos e então introduziu-se o antebraço na gaiola por 30 minutos, neste intervalo foram contados o número de mosquitos que pousaram e picaram. Finalmente aplicou-se uma quantidade equivalente do repelente comercial no antebraço direito seguindo as recomendações do fabricante, e foi novamente solicitado ao voluntário introduzir o antebraço na gaiola e contabilizou-se o número de mosquitos que pousaram e picaram por 30 minutos.

DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS: Dentre o desconforto cita-se possíveis reações alérgicas a picada do mosquito ou a substância testada.

DECLARAÇÃO DA PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELA

PARTICIPANTE: Eu, _____ fui informada (o) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. O(a) professor(a) orientador(a) _____ e o(a) professor(a) co-orientador(a) _____ certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar a estudante _____ o(a) professor(a) orientador(a) _____ ou o(a) professor(a) co-orientador(a) _____ no telefone (____) _____ ou o

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome	Assinatura do Participante	Data

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

ANEXO**Antioxidant and cytotoxic potential of aqueous crude extract of *Acmella oleracea* (L.)****R.K. Jansen.**

Mayara Tania P.^{1*}, Deisiane Del Castelo B.², Alex Bruno Lobato R.³, Ryan da Silva R.³,
Sheylla Susan Moreira da Silva de A.³

1. Department of biological and health sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Post Graduate Program in Biodiversity and Biotechnology of the Amazon (Bionorte), General and Analytical Chemistry Laboratory of the Federal University of Amapá, Macapá-Amapá- Brazil, may_farmacia@hotmail.com
2. Undergraduate course of Pharmaceutical Sciences, General and Analytical Chemistry Laboratory of the Federal University of Amapá; deisianedelcbastos@gmail.com
3. Laboratory of Pharmacognosy and Phytochemistry of the Federal University of Amapá; sheyllasusan@yahoo.com.br / alexrodrigues.quim@gmail.com

Rodovia Juscelino Kubitschek, Km-02. Jardim Marco Zero - 68.902280 -Macapá-AP, Brazil. Telephone: (96) 4009-2921

ABSTRACT

Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen (Asteraceae), popularly known in Brazil as Jambu is a vegetable distributed in tropical and subtropical regions, with important chemical properties. Its leaves and flowers are used in traditional medicine with antioxidant and cytotoxic. The present study aims to evaluate the chemical composition of crude aqueous from the extract of the leaves of *A. oleracea* its antioxidant potential against the radical DPPH and cytotoxic potential front of the larvae of *Artemia Salina*. The aqueous crude extract was obtained from this dilution in distilled water and submitted to hydrodistillation .The evaluation of antioxidant activity, was based on the methodology through the

*sequestering capacity of DPPH. There was prepared a methanol solution of DPPH at the concentration of 40µg/mL. The EBA *Acmella oleracea* was diluted with methanol at the following concentrations (5/2.5 /1.0/0.75/0.5 and 0.25 mg/mL). The cytotoxicity assay with *A. salina* was based on the technique of Araújo et al. (2010) and Lôbo et al. (2010) with adaptations. The preliminary phytochemical analysis of crude aqueous extract of the leaves of *A. oleracea* showed the presence of saponins, organic acids, reducing sugar, phenols, alkaloids, steroids and triterpenoids. *A. oleracea* showed reduction activity on the DPPH directly proportional to extract concentration using the (DE50%=2.76mg). The data show the effective and lethal concentration CL50 of 730.85µg/mL from EBA *A.oleracea* on *A. salina*. Based on these results it is concluded that the EBA of *A.oleracea* leaves presents in its chemical composition secondary metabolites with antioxidant and / or cytotoxic action.*

Keywords: Antioxidant, Cytotoxic, Jambu, *A. oleracea*.

INTRODUCTION

Medicinal plants are rich in secondary metabolites such as flavonoids, anthocyanins, polyphenols, anthraquinones, alkaloids, tannins, catechins, terpenes and others. The majority of these metabolites have anti-inflammatory, antibacterial, cytotoxic, antifungal, anti-hypertensive, and anti-oxidant action [1].

Among the various vegetal species used for herbal purposes, are the Asteraceae family species that stands out for being a highly diverse family, where the species *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen possesses numerous applications in the field of popular medicine in the Amazon, and its pharmacological activities have been the subject of many studies [2,3].

Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen, popularly known in Brazil as Jambu is a vegetable distributed in tropical and subtropical regions, with important chemical properties. It is well appreciated in the northern region of Brazil, which is part of the local cuisine and folk

medicine. It has many popular synonyms such as agrião from Pará, agrião from Brazil, agrião from North, jabuaçú, crazy plant, jaburama, buttercup, and toothache plant [4-7].

The synonyms of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen are: *Spilanthus oleracea* L., *Cotula pyretharia* L., *Pyrethrum spilanthus* Medik., *Spilanthus acmella* var *oleracea* (L.), *Spilanthus fusca* MART [8], *Bidens fervida* Lam., *Bidens fusca* Lam., *Isocarpa pyretharia* (L.) Cass, *Spilanthus radicans* Schrad., *Spilanthus oleracea* b *fusca* (Lam.) D. C. [9].

Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen is characterized by being a herbaceous plant, from 30 to 60 cm tall, semi-upright or nearly tripped, with a cylindrical stem, with fleshy and decumbent branches [10]. Its leaves are simple, with broadly ovate blade, sparse hair on both surfaces [9]. The flowers are small and yellow, arranged in globose chapters that measure about 1 cm in diameter Figure 1 [11,12].



Figure 1: Leaves and flowers of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen.

Source: Author

Its leaves and flowers are used in traditional medicine in the form of infusion and macerated. It helps the treatment of diseases such as dyspepsia, malaria, infections of the mouth and throat [13-16], sexual deficiencies, especially due to the aging, [17], it is diuretic [11], anti-inflammatory [18], larvicides, insecticides [19], local anesthetic [20], analgesic [21], antioxidant and cytotoxic [22,23]. According to Borges (2012) [24], the pharmacological effect is due to their chemical substances, of which the trans-caryophyllene, germacrene D, L-dodecene and spathulenol and espilantol.

The espilantol, a substance found in species *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen, is an aliphatic amide (N-isobutylamides) of molecular formula $C_{14}H_{23}NO$, described as a yellow burning viscous oil, which produces an anesthetic effect and tingling on the tongue, because of that, it is used in diseases of the mouth and throat and as a treatment of dental pain [25]. Its chemical composition has potential for industrial use as an additive for food and beverages; cleaning agent in preparations for the body and hair; product used as an insecticide for the control of insects and microorganisms in plants, and it is also referred to as target for various diseases [26].

Addition of the espilantol, *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen is also rich in bioactive phenolic compounds such as coumarin (scopoletin) and triterpenoids, which can be attributed to these a possible antioxidant activity [23]. Among *Asteraceae* family species, is cited *Achillea odorata* [27] and *Erioccephalus africanus* [28] that not only were confirmed the presence of phenolic compounds in the extracts of the leaves but also cytotoxic and antioxidant activity.

Scientific research intensifies efforts in the search for antioxidants less harmful to health, with the product source of antioxidants plant replacing synthetic origin. Phenolic compounds found in fruits, vegetables and herbs have received increasing attention for their potential in preventing degenerative diseases. It is known the importance of the antioxidant in scavenging free radicals helping to prevent and treat many degenerative chronic diseases, inflammations, allergies, hypertension, tumors as well as the better preservation of the food thereby increasing shelf-life [1,29].

Scientific studies have tried to correlate the toxicity of *Artemia salina* Leach with activities such as antifungal, virucidal, antimicrobial, parasiticide, trypanocidal, and in the preliminary evaluation of antitumor plant extracts. *Artemia salina* is a saltwater microcrustacean, which is used as live food for fish, and their eggs are easily found in stores of aquarists. The

simplicity of the bioassay favors its routine use, and it may be developed in the laboratory [30].

Studies for cytotoxic activity using the bioassay with *A. salina* Leach, which is characterized by being low-cost, fast and does not require aseptic techniques. Numerous bioactive constituents of plant extracts have been obtained using this test in the monitoring phytochemical studies [31].

Given the above, the present study aims to evaluate the chemical composition of crude aqueous from the extract of the leaves of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen (*Asteraceae*) its antioxidant potential against the radical DPPH and cytotoxic potential front of the larvae of *Artemia Salina* Leach.

EXPERIMENTAL SECTION

Plant Material

Samples of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen were collected in the district of Fazendinha (S 0 ° 02'30.40 " / W 51 06'37.5 "), Macapá-Amapá, one of the largest suppliers of Jambu for various street markets in the city of Macapá. The herbarium specimens obtained in the collection were identified and deposited in the Herbarium Amapaense (HAMAB / Institute of Scientific and Technological Research of the State of Amapá- IEPA), under the code (IAN): 188088. The selected leaves were dried at 40°C and then crushed in a mill to obtain a fine-grained powder.

Obtaining the aqueous crude extract (EAB)

The aqueous crude extract was obtained from this dilution in distilled water in an approximate proportion of 1/20 (w / v) and submitted to hydrodistillation process (100 °C) in a Clevenger-type apparatus for 2h [32]. Held the extraction, the EBA evaporated under

reduced pressure and further diluted in suitable solvents and concentrations to achieve the phytochemicals and biological assays [33].

Prospecting Phytochemistry

Phytochemical tests were conducted to verify the presence of Saponins, organic Acids, reducing Sugars, Phenols, Tannins, Alkaloids, Flavonoids, Anthraquinones and Triterpenes [33-37].

Determination of antioxidant activity by DPPH free radical capture

The evaluation of antioxidant activity, with some modifications, was based on the methodology proposed by Sousa et al. (2007) [38] and Lopez-Lutz *et al.* (2008) [39], through the sequestering capacity of DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazila). There was prepared a methanol solution of DPPH at the concentration of 40µg/mL. The EBA *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen was diluted with methanol at the following concentrations (5-2.5-1.0-0.75-0.5 and 0.25 mg / mL). To evaluate the antioxidant activity were made triplicate with the volume of 0.3 ml of extract per tube, added to 2.7 mL of DPPH solution. Meanwhile, the white of each concentration was prepared, and it is the mixture of 2.7 mL of methanol plus 0.3 mL of the methanolic solution of EBA. After 30 minutes of incubation at room temperature and protected from light, the readings were performed with a spectrophotometer (Biospectro SP-22) at a wavelength of 517nm in a quartz cuvette. The antioxidant activity was calculated according to Souza et al. (2009) [40].

$$(AA\%) = 100 - \left\{ \left[\frac{(Abs_{\text{sample}} - Abs_{\text{white}})}{Abs_{\text{control}}} \right] 100 \right\}$$

Cytotoxicity assay with *Artemia salina* Leach

The cytotoxicity assay with *Artemia salina* Leach. was based on the technique of Araujo *et al.* (2010) [41] and Lobo *et al.* (2010) [42] with adaptations. It was prepared as synthetic sea

salt solution at 35 g/L and were incubated 45 mg of eggs from *A. salina* Leach. The solution was incubated in a dark container and exposed to a source of artificial heat, within 24 hours to hatch larvae (*nauplii*). Then the *nauplii* were separated and placed in a bright environment, at room temperature for 24 hours, to achieve the metanauplius stage. The mother solution of EBA from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen was prepared containing 18 mg of dry extract, solubilized in 1.5 mL of Tween 80 to 5% to facilitate the solubilization of it. 7,5mL of saline solution were added to amounting the final volume of 9 mL, the final concentration obtained was 2mg/mL. Subsequently, the end of the light period, the metanauplius were selected and divided into 7 groups with 10 individuals in each test tube. For group, were added aliquots of 2500, 1900, 1250, 625, 250 and 125 μ L of EBA, respectively, completing the final volume of 5 mL with a synthetic sea salt solution (35g/L). It was obtained the final solutions with the following concentrations of 1000, 750, 500, 250, 100 and 50 μ g/mL, thereby the groups were designated according to their respective concentration and all tests were performed in triplicate. After 24 hours, the number of survivors was counted to determine CL₅₀ by the PROBIT analysis from the SPSS® software.

Statistical analysis

The results obtained from the bioassays were expressed by averages \pm standard deviation (SD) organized, according to the relevance, in tables, charts, tables and figures. Data were subjected to one way analysis of variance (ANOVA). The CL₅₀ values were determined in PROBIT regression, using SPSS (Statistical Package for Social Sciences) with probabilistic limit $p \leq 0.05$.

RESULTS

Phytochemical analysis of the EBA *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen

The preliminary phytochemical analysis of crude aqueous extract of the leaves of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen showed the presence of saponins, organic acids, reducing sugar, phenols, alkaloids, steroids and triterpenoids as shown in Table 1.

Table 1: Preliminary result of phytochemical screening of the leaves of EBA *Acmella oleracea*.

Secondary metabolite	EBA <i>Acmella oleracea</i> (L.).
Saponines	+
Organic acids	+
Reducing sugars	++
Phenols	++
Alkaloids	+++
Tannins	-
Anthraquinones	-
Flavonoids	-
Steroids	-
Triterpenoids	-

Antioxidant activity of EBA *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen in eliminating free radical DPPH

Figure 2 shows the radical DPPH calibration curve (40 μ g/mL). For assessing the percentage of antioxidant activity of the EBA *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen showed reduction activity on the DPPH directly proportional to extract concentration using the following

equation of the line ($Y=2,8947X+42,0089$, $R^2= 0,9856$ e $DE_{50}=2,76\text{mg}$) as shown in

Figure 3.

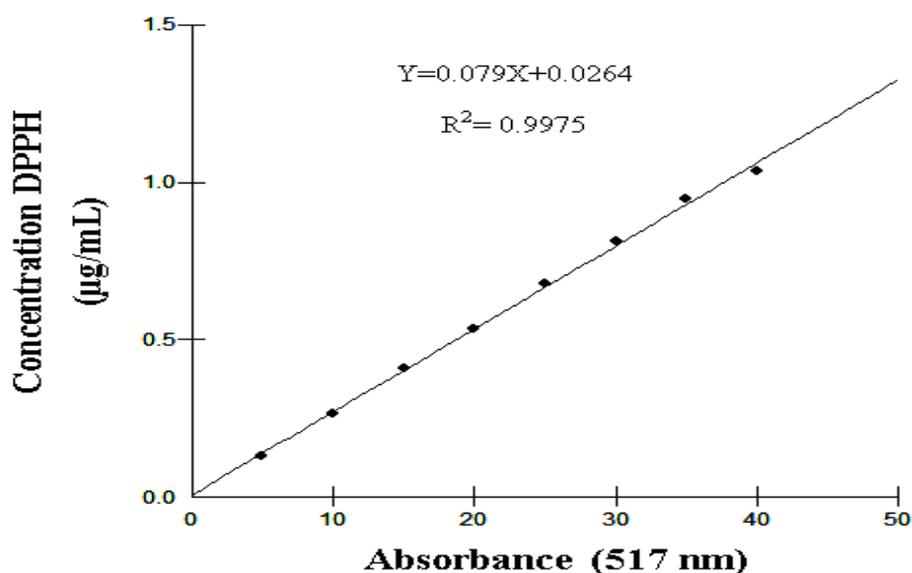


Figure 2: Analytics of DPPH curve in length from 517 nanometer (nm).

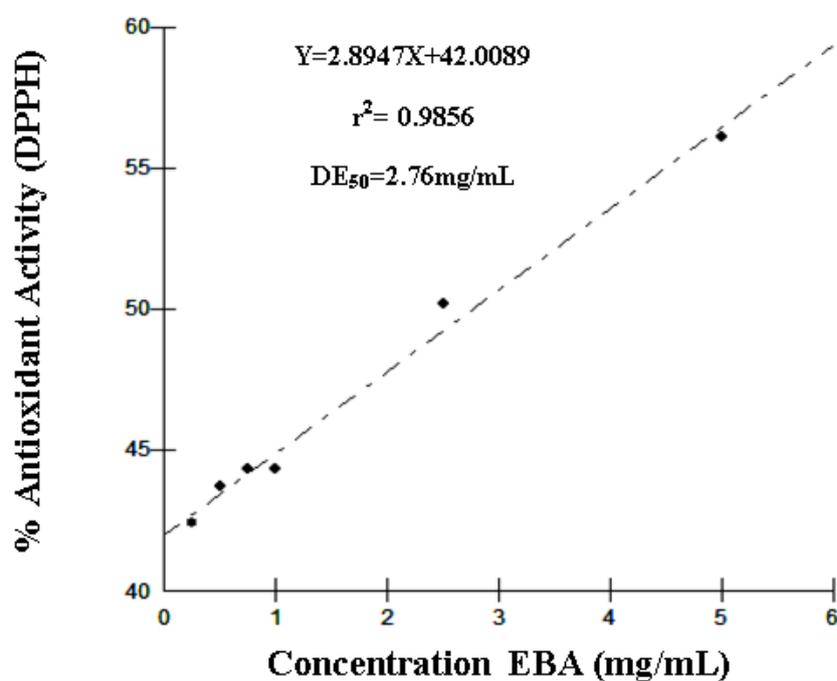


Figure 3: Percentage of EBA antioxidant activity *Acemella oleracea* (L.) RK Jansen on the free radical DPPH.

Cytotoxicity in vitro against *Artemia salina* Leach.

The cytotoxic activity of EBA from *A. oleracea* (L.) R.K. Jansen was evaluated against larvae of the parasite *Artemia Salina* Leach. in different concentrations of the extract. The data show the effective and lethal concentration CL_{50} of $730.85\mu\text{g/mL}$ from EBA *A. oleracea* on *A. salina* as shown in **Figure 4**.

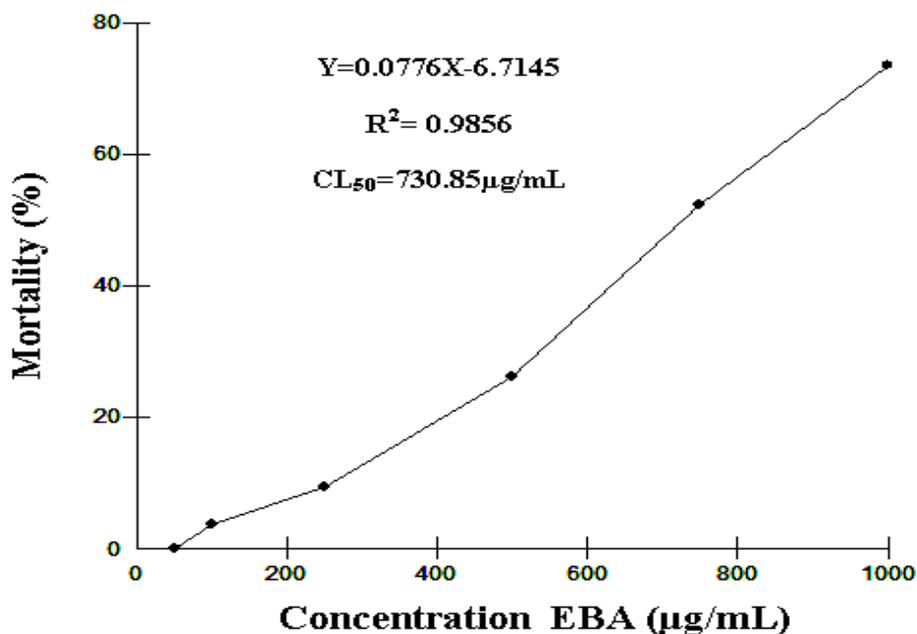


Figure 4: EBA toxicity Test *Acemella oleracea* (L.) RK Jansen at different concentrations on *A. Salina* Leach.

DISCUSSION

Free radicals and other oxidants have been considered in recent years as a major cause of various diseases such as cancer, cardiovascular disease, cataracts, immune system decline, brain dysfunction and diabetes mellitus type I [40]. This evidence has suggested that diseases caused by oxidative reactions can be reduced by the intake of natural antioxidants found in the diet [43].

The *A.oleracea* species (L.) R.K. Jansen has been well documented for its popular use as antibacterial, antifungal, antimalarial, larvicide, insecticidal, cytotoxic and antioxidant [18-23].

Before the phytochemical analysis of the EBA *A.oleracea*, there is a great antioxidant and cytotoxic potential of the species (Table 2). According to Alves et al. (2007) the higher the consumption of DPPH by the sample, the higher its antioxidant activity (AA%) [44]. In (Figure 3) it is observed that the consumption of DPPH was directly proportional to the concentration of EBA *A.oleracea* as the equation of $Y=2,8947X+42,0089$ e DE50 de 2.76mg (effective dose) below the largest 5mg of EBA *A.oleracea* corroborating Wongsawatkul et al. (2008) [22].

Table 2: Mean \pm standard deviation (SD), $p < 0.001$ to 5 mg / mL when compared to other concentrations.

Concentration EBA <i>Acmella oleracea</i> (L.).	% Antioxidant Activity (DPPH)
5mg/mL	56.128 \pm 0,538
2.5mg/mL	50.245 \pm 0,998 ^a
1.0mg/mL	44.328 \pm 1,211 ^a
0.75mg/mL	44.398 \pm 0,641 ^a
0.5mg/mL	43.663 \pm 0,615 ^a
0.25mg/mL	42.367 \pm 0,893 ^a

The presence of organic acids (Table 1) reinforces their antifungal, antimicrobial and antioxidant application. It is widely used in food industry as an additive and preservative [43,45]. Several plants have the ability to accumulate organic acids found in citrus juices, due to the presence of citric acid, however, these acids are not only present in fruit, but also in the leaves of some plant species [46,47].

It is known the large antioxidant potential of the citric acid, which shows that *A.oleracea* species is a promising source of this substance. The same functions are attributed to phenolic compounds, abundant in many plant species, which regardless of the compounds class [48]. Phenolic compounds are abundant in fruits, vegetables, and foods derived of the plant, that are consistently associated with reduced risk of cardiovascular disease, cancer and other chronic diseases [49].

The ability of these substances to scavenge free radicals and pro-oxidant metals (antioxidant action) explains in part this association. Recent evidence suggests that these compounds may act through other mechanisms besides the antioxidant capacity as modulation of the activity of different enzymes such as telomerase, lipoxygenase, and cyclooxygenase, interactions with receptors and signal transduction pathways, cell cycle regulation, among others, essential for the maintenance of homeostasis of living organisms [50].

About the reducing sugars, present major health benefits to possessing antioxidant and antimutagenic activity. The putative mechanism of antioxidant activity for the reducing sugars is the ability it has to bind to free radicals reducing them and promoting excretion from the body, without the aid of carriers, reducing cell activity without causing oxidative stress and premature aging cells [51,52].

The steroids are also known for their antioxidant properties, among its benefits to human health there is the reduction of dietary cholesterol absorption, with a consequent reduction in blood levels; reducing the risk of cardiovascular disease; and inhibiting the growth of certain malignant tumors [53].

As to the cytotoxic potential, it is known that certain phenolic compounds are bacteriostatic, fungicidal and able to inhibit tumor development [54]. Sundarraj et al. (2012) [55] demonstrated in vitro cytotoxic activity of phenolic compounds against lung and breast cancer cells . Boutennoun et al. (2014) [27] also confirmed cytotoxic and antioxidant activity of phenolic compounds from the methanol extract of *Achillea odorata*.

In this study, it is observed by the adjusted coefficient of determination (R^2) of 0.9856. The relation between the mortality of the larvae of *A. salina* L facing the EBA *A. oleracea* concentrations, whose minimum lethal concentration CL_{50} was $730.85\mu\text{g/mL}$, shows the significant toxicity below the highest dose of $1000\mu\text{g/mL}$ (Figure 4) according to Born et al. (2008) [41] and Araújo et al. (2010) [56].

This activity can also be assigned to saponins, which have anthelmintic activity, antiviral, spermicidal, haemolytic and molusquicida [43,45]. Due to the amphipathic behavior of saponins and the ability to form complexes with steroids, proteins, and phospholipids membrane. It is suggested that some saponins have the ability to disrupt the cell membrane of microorganisms, resulting in leakage of cellular contents and eventually death [57].

Another metabolite that may be involved in cytotoxic activity are the alkaloids, which due to its toxicity and bitterness, act as amebicide, antiviral and antitumor [43].

CONCLUSIONS

Based on these results it is concluded that the EBA of *A. oleracea* (L.) R.K. Jansen leaves presents in its chemical composition secondary metabolites with antioxidant and / or cytotoxic action. Proving to be a promising source of natural resources, used in the pharmaceutical industry.

ACKNOWLEDGEMENTS

The Bionorte Doctoral program and to everyone who contributed directly and indirectly to this research, especially to the great friend and collaborator Francinaldo Sarges Braga, for their considerations.

REFERENCES

- [1] H Sana; AS Rani; G Sulakshana. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, **2014**, 3(7), 219–223.
- [2] AM Nascimento; LM Souza; CH Baggio; MFP Werner; D Maria-Ferreira; LM Silva; GL Sasaki; PAJ Gorin; M Iacomini; TR Cipriani. *Phytochemistry*, In Press, Corrected Proof, Available online 24 September **2012**. 50-55.
- [3] NK Simas; ECL Dellamora; J Schripsema; CLS Lage; AMO Filho; L Wessjohann; A Porzel; RM Kuster. *Phytochem. Lett.*, **2013**, 6(1), 67–72.
- [4] MC Poltronieri; NRM Muller; LS Poltronieri. *Circular técnica: Embrapa Amazônia Oriental*. **2000**. 50-55.
- [5] LN Coutinho; CC Aparecido; MB Figueiredo. *Summa phytopathol.* **2006**, 32(3), 283–285.
- [6] KL Tiwari; SK Jadhav; V Joshi. *J. Chin. Integr. Med.* **2011**, 9(11), 1170–1178.
- [7] DS Rodrigues; MS Camargo; ES Nomura; VA Garcia; JN Correa; TCM Vidal. *Rev. bras. plantas med.* **2014**, 16(1), 71-76.
- [8] H Lorenzi & FJA Matos. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*, 2nd edition, Plantarum, Nova Odessa, **2008**; 544p.
- [9] N Hind; N Biggs. *Curtis's Bot. Mag.* **2003**, 20(1), 31–39.
- [10] B Gilbert & R Favoreto. *Revista Fitos.* **2010**, 5(1), 83–90.
- [11] WD Ratnasooriya; KPP Pieris; U Samaratunga; JRAC Jayakody. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, 91, 4317-320.
- [12] VMS Cavalcanti. *Extração de espilantol de Spilanthesacmellavar oleraceaecom dióxido de carbono supercrítico*. Thesis (Doctorate degree in Chemistry) - Universidade Estadual de Campinas, **2008**. 140-150.
- [13] MP Corrêa & LA Pena. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas*. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, **1926**.747p.
- [14] C Rocque. *Grande enciclopédia da Amazônia*. Amel, Belém, **1967**.1815p.

- [15] AM Álvaro & P Pimentel. Olericultura no trópico úmido: hortaliças na Amazônia, 1st edition, Agronômica Ceres, São Paulo, **1985**; 322p.
- [16] K Spelman; D Depoix; M Mccray; E Mouray; P Grellier. *Phytother Res.* **2011**, 25(7), 1098-1101.
- [17] V Sharma; J Boonen; NS Chauhan; M Thakur; B De Spiegeleer; VK Dixit. *Phytomed.* **2011**, 15(18), 1161–1169.
- [18] J Gertsch. *Planta Med.* **2008**, 74(6), 638-650.
- [19] V Pandey; V Agrawal; K Raghavendra; AP Dash. *Parasitol. Res.* **2007**, 102(1), 171-174.
- [20] A Chakraborty; BR Devi; R Sanjebam; S Khumbong; IS Thokchom. *Indian J. Pharmacol.* **2010**, 42(5), 277-279.
- [21] MY Rios; AB Aguilar-Guadarrama; MC Gutierrez. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, 110(2), 364-367.
- [22] O Wongsawatkul; S Prachayasittikul; C Isarankura-Na-Ayudhya; J Satayavivad; S Ruchirawat; V Prachayasittikul. *Int. J. Mol. Sci.* **2008**, 9(12), 2724-2744.
- [23] S Prachayasittikul; S Suphamong; A Worachartcheewan; R Lawung; S Ruchirawat; V Prachayasittikul. *Molecules.* **2009**, 14(2), 850-867.
- [24] LS Borges; MAR Vieira; MOM Marques; F Vianello; GPP Lima. *Am. J. Plant Physiol.* **2012**, 7, 135-142.
- [25] J Boonen; B Baert; C Burvenich; P Blondeel; S De Saeger; B De Spiegeleer. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, 53(3), 243-249.
- [26] SAL Gusmão; MTA Gusmão; W Velasco; D Silvestre; PRA Lopes. *Hort. Bras.* **2005**, 23(2). Eletronic Version (CD-ROM).
- [27] H Boutennoun; L Boussof; A Rawashdeh; K Al-Qaoud; S Abdelhafez; M Kebieche; K Madani. *Arab. J. Chem.* **2014**, Available online, in press.

- [28] MD Catarino; AMS Silva; SC Saraiva; AJFN Sobral; SM Cardoso. *Arab. J. Chem.* **2015**, Available online, in press.
- [29] B Uttara; AV Singh; P Zambani; RT Mahajan. *Curr. Neuropharmacol.* **2009**, 7(2), 65-74.
- [30] JM Siqueira; MD Bomm; NFG Pereira. *Química Nova.* **1998**, 21(5), 557-559.
- [31] JL McLaughlin; C-J Chang; DL Smith. In *Human Medicinal Agents from Plants*, Kinghorn, A. D. & Balandrin, M. F. (Eds.), **1993**, Symposium Series No. 534, American Chemical Society, Washington, D.C. 112-137.
- [32] Brasil. Farmacopeia Brasileira, 5th edition, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **2010**. 546p.
- [33] WLR Barbosa; E Quignard; ICC Tavares; LN Pinto; FQ Oliveira; RM Oliveira. *Rev. Cient. UFPA.* **2001**, 4, 1-19.
- [34] FJA MATOS. *Introdução à Fitoquímica Experimental*, 1st ed., Imprensa Universitária da UFC, Fortaleza, **1988**, 128 p.
- [35] H Wagner; S Bladt; EM Zgainski. *Plant Drug Analysis*, 2nd edition, Springer-Verlag, Berlin, **1996**, 384p.
- [36] AF Costa. *Farmacognosia*, 3rd edition, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **2001**.1032p.
- [37] CMO Simões; EP Schenkel; G Gosmann; JCP Mello; LA Mentz; PR Petrvick. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5th edition, Editora da UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, **2004**.
- [38] CMM Sousa; HR Silva; GM Vieira-Jr.; MCC Ayres; CLS Costa; DS Araújo; LCD Cavalcante; EDS Barros; PBM Araújo; MS Brandão; MH Chaves. *Química Nova*, **2007**, 30(2), 351-355.
- [39] D Lopes-Lutz; DS Alviano; CS Alviano; PP Kolodziejczyk. *Phytochemistry*, **2008**, 69, 1732-1738.

- [40] CRF Souza; SR Georgetti; MJ Salvador; MJV Fonseca; WP Oliveira. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2009**, 45(2), 209-218.
- [41] MGF Araújo; WR Cunha; RCS Veneziani. *Rev. Ciênc. Farmac. Bás. Aplic.*, **2010**, 31(2), 205-209.
- [42] KMS Lôbo; ACR Athayde; AMA Silva; FFG Rodrigues; IS Lôbo; DAC Bezerra; JGM Costa. *Rev. Bras. Plantas Med.* **2010**, 12 (2), 227-233.
- [43] CMO Simões. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6th edition, Editora UFRGS/ Editora UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, **2010**.
- [44] CQ Alves; HN Brandão; JM David; JP David; LS Lima. *Diálogos e ciência – Revista da rede ensino FTC.* **2007**, 5(12), 7-8.
- [45] DSB Oliveira; RS Ramos; SSMS Almeida. *Biota Amazônia.* **2013**, 3(3), 76-82.
- [46] GO Ihejirika. *Arch. Phytopathol. PFL.* **2011**, 44(19), 1894-1900.
- [47] A Kumar; R Shukla; P Singh; B Prakash; NK Dubey. *Int. J. Food Sci. Tech.* **2011**, 46(9), 1840-1846.
- [48] D Bandoniene; M Murkovic. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 2482-2487.
- [49] JPE Spencer; MMAE Mohsen; AM Minihane; JC Mathers. *Br. J. Nutr.* **2008**, 99(1), 12-22.
- [50] M D'Archivio; C Filesi; R Di Benedetto; R Gargiulio; C Giovannini; R Masella. *Ann. Ist. Super Sanità*, **2007**, 43, 348-361.
- [51] RN Silva; VN Monteiro; JX Alcanfor; EM Assis; ER Asquieri. *Revi. Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **2003**, 23(3), 337-341.
- [52] DA Quadros; MC Iung; SMR Ferreira; RJS Freitas. *Acta Scientiarum. Technol.*, **2010**, 32(4), 439-443.
- [53] JM Salgado. *Guia dos Funcionais: Dieta Alimentar para Manter a Saúde e Evitar Doenças*, 1st edition, Ediour, Rio de Janeiro, **2009**; 192p.

- [54] M Zhao; B Yang; J Wang; Y Liu; L Yu; Y Jiang. *Int. Immunopharmacol.* **2007**, 7, 162–166.
- [55] S Sundarraj; R Thangam; V Sreevani; K Kaveri; P Gunasekaran; S Kannan. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, 141 (3), 80-809.
- [56] JE Nascimento; AFM Melo; TCL Silva; JV Filho; EM Santos; UP Albuquerque; ELC Amorim. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* **2008**, 29(1), 145- 150.
- [57] S Kaiser; C Pavei; GG Ortega. *Rev. Bras Farmacogn.* **2010**, 20 (3), 300-309.