

---

## Efeito larvicida e repelente do extrato aquoso de *Uncaria tomentosa* frente ao *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)

### Larvicidal and repellent effects of aqueous extract from *Uncaria tomentosa* against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)

---

**Juliana C. Maccagnan**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0373-0992>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ, Brasil.

E-mail: [ju08@unochapeco.edu.br](mailto:ju08@unochapeco.edu.br)**Marcelo Monteiro**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8809-6777>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ, Brasil.

E-mail: [marcelo.monteiro@unochapeco.edu.br](mailto:marcelo.monteiro@unochapeco.edu.br)**Viviane L. Simomura**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7745-0718>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ, Brasil.

E-mail: [viviane.simomura@unochapeco.edu.br](mailto:viviane.simomura@unochapeco.edu.br)**Maíke Buzatto**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5416-8667>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ, Brasil.

E-mail: [maikebuzatto@unochapeco.edu.br](mailto:maikebuzatto@unochapeco.edu.br)**Max V. Gutiérrez**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8518-2146>

Universidad de Sonora, Navjoa Sonora, Mexico.

max.vidalgtz@gmail.com

**Maria Assunta Busato**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0043-7037>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ, Brasil.

E-mail: [assunta@unochapeco.edu.br](mailto:assunta@unochapeco.edu.br)**Walter A. Roman Junior**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8363-8795>

Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ, Brasil.

E-mail: [romanwa@unochapeco.edu.br](mailto:romanwa@unochapeco.edu.br)

---

## RESUMO

O *Aedes aegypti* é o principal transmissor da febre amarela, dengue, Chikungunya e Zika. Dentre as estratégias de enfrentamento ao mosquito está o uso de inseticidas químicos. Contudo, há evidências de insetos resistentes, além do potencial de toxicidade ambiental e humano. Nesse contexto, este estudo objetivou realizar estudo químico e avaliar as atividades larvicida e repelente do extrato aquoso das cascas de *Uncaria tomentosa* (EAUt). No bioensaio larvicida o EAUt (10, 50, 100, 250 e 500 µg/mL) (n =5), foi avaliado por 72 h. Para avaliação repelente, uma solução hidroalcolica de EAUt (10% v/v) foi utilizada frente a fêmeas adultas de *A. aegypti* com avaliação de repelência a cada 30 min totalizando 4 h de exposição (n =3). As análises fitoquímicas (ESI-MS) apontaram a presença de 12 compostos. O EAUt revelou atividade larvicida (250 e 500 µg/mL) a partir de 48 h, com CL<sub>50</sub> de 157,20 e CL<sub>90</sub> de 164,70 µg/mL. Além disso, EAUt apresentou forte efeito repelente desde o tempo zero, até o final do experimento (240 min), reduzindo em 87,69% as tentativas de picada. Este trabalho, contribui para o estudo químico de produtos naturais e para a prospecção de novos agentes larvicidas e repelente.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais; Bioinseticida; Repelente;

---

## ABSTRACT

*Aedes aegypti* is the main transmitter of yellow fever, dengue, Chikungunya and Zika. Among the strategies to combat the mosquito vector is the use of chemical insecticides. However, there is evidence of resistant insects, in addition to the potential for environmental and human toxicity. In this context, this study aimed to perform a chemical study and evaluate the larvicidal and repellent activities of the aqueous extract of the bark of *Uncaria tomentosa* (EAUt). In the larvicidal bioassay, EAUt (10, 50, 100, 250 and 500 µg/mL) (n = 5) was evaluated for 72 h. For repellent evaluation, a hydroalcoholic solution of EAUt (10% v/v) was used against adult females of *A. aegypti* with repellency evaluation every 30 min totaling 4 h of exposure (n=3). Phytochemical analyzes (ESI-MS) indicated the presence of 12 compounds. EAUt showed larvicidal activity (250 and 500 µg/mL) after 48 h, with LC<sub>50</sub> of 157.20 and LC<sub>90</sub> of 164.70 µg/mL. In addition, EAUt showed a strong repellent effect from time zero until the end of the experiment (240 min), reducing stinging attempts by 87.69%. This work contributes to the chemical study of natural products and to the prospection of new larvicidal and repellent agents.

**Keywords:** Medicinal plants; Bioinsecticide; Repellent;

---

## INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti*, foi descrito originalmente no Egito por Linnaeus em 1792. O mosquito, pertence a família Culicidae e representa uma das espécies mais importantes quanto a transmissão de patógenos, adquirindo competência vetorial para quatro arbovírus, dengue (DENV), Zika (ZIKV), Chikungunya (CHIKV) e febre amarela (YFV), associados a doenças infecciosas emergentes e reemergentes (ZARA *et al.*, 2016; POWELL, 2018).

A competência vetorial é definida como a capacidade de um mosquito adquirir o patógeno, manter e posteriormente contribuir com sua transmissão para outro hospedeiro vertebrado. A infecção ocorre durante um episódio subsequente de hematofagia (GARCIA-LUNA *et al.*, 2018; RÜCKERT; EBEL, 2018), e estudos demonstram, que uma vez infectada, e isso pode ocorrer numa única inseminação, a fêmea do *A. aegypti* transmitirá o vírus por toda a vida, havendo a possibilidade de parte de suas descendentes já nascerem portadoras (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017; SALVI *et al.*, 2021).

O controle populacional dos insetos vetores, em particular do *A. aegypti*, é um grande desafio na saúde pública. Isto pode ser explicado em parte, devido às pluralidades climáticas, geográficas e ecológicas do nosso país, ideal para que a espécie se tornasse cada vez mais cosmopolita. No Brasil, os programas de combate ao mosquito, baseiam suas ações em educação ambiental, eliminação dos focos de procriação e proteção

individual contra picadas (BRASIL, 2009). As estratégias de controle se concentram em eliminar todas as formas imaturas (ovo, larva e pupa) e adulta do mosquito, utilizando como recursos uma variedade de inseticidas sintéticos altamente tóxicos, como os organoclorados e organofosforados (BENELLI; JEFFRIES; WALKER, 2016).

Apesar da larga utilização, historicamente os inseticidas estão relacionados a toxicidade ambiental, potencial acumulativo e desenvolvimento de populações de mosquitos resistentes. Além disso, apresentam reduzida seletividade impactando negativamente nos organismos não visados, como animais e humanos, com seus produtos de degradação, que podem ser mais tóxicos do que o próprio produto original (LIU, 2015).

Em razão desses fatores, a busca por produtos naturais para o controle de *A. aegypti* tem se intensificado. Plantas e os seus metabólitos secundários têm se mostrado uma fonte promissora para desenvolvimento de bioinseticidas com alta eficácia gerando mínimas alterações no ecossistema. Isto porque, a coevolução de milhões de anos entre plantas e outros seres vivos permitiu o desenvolvimento de compostos bioativos nos vegetais capazes de agir como mecanismo de defesa contra predadores naturais, bem como, inúmeros tipos de insetos. (BROUSSALIS *et al.*, 1999; SEO; PARK; PARK, 2012).

A *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) DC., é uma liana que faz parte da família botânica Rubiaceae. A espécie é nativa de regiões tropicais das Américas, sendo abundante nas regiões Amazônicas do Peru e países vizinhos. No Brasil é muito conhecida como unha-de-gato, nome esse relativo aos pequenos espinhos curvados encontrados no caule e na junção das folhas (HEITZMAN *et al.*, 2005).

Na medicina tradicional, a *U. tomentosa* é utilizada para tratar inúmeras doenças como asma, abscessos, febre, infecções do trato urinário, infecções virais e feridas. Também é relatado ser eficaz como rejuvenescedor do sistema imunológico, antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório e antiparasitário (OMS, 1999; SANTOS *et al.*, 2016). Sua composição química é bastante diversificada com descrição para uma maior concentração de alcaloides oxindólicos (PEÑALOZA *et al.*, 2015).

Contudo, apesar da ampla utilização popular da planta e do potencial dos seus fitoconstituintes, até o momento carece de estudos quanto às atividades inseticida e repelente. Dessa forma, esta pesquisa avançou no estudo químico do extrato aquoso das cascas da planta e investigou os efeitos larvicida e repelente frente ao mosquito *A. aegypti*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### MATERIAL VEGETAL E PRODUÇÃO DOS EXTRATOS DE *Uncaria tomentosa*

A planta foi coletada na Embrapa Amazonia, Manaus (AM) e depositada no Herbário da Universidade do Vale do Itajaí (Univali, HBR 59477). O material vegetal (cascas) foi desidratado em temperatura ambiente ( $\pm 20$  °C), pulverizado em moinho de facas (CiemLab®, CE430) e estocado ao abrigo da luz e umidade no laboratório de Farmacognosia da Unochapecó. O método extrativo utilizado, foi decocção utilizando material vegetal desidratado de *U. tomentosa* (10 g) e água destilada (100 mL), a 100 °C em aquecimento por 15 min. Após adquirir a temperatura ambiente, a solução extrativa foi filtrada e concentrada em rotavapor sob pressão reduzida (40 °C). Posteriormente, a solução foi liofilizada, pesada e identificada como extrato aquoso de *U. tomentosa* (EAUt). O extrato foi estocado em freezer a - 20 °C e utilizado nas análises químicas e biológicas (BRASIL, 2021).

### ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO DE *Uncaria tomentosa*

Uma amostra de EAUt (10 mg) foi submetida à análise de espectrometria de massa (ESI-IT-MS<sup>n</sup>) por meio de fluxo direto realizada no analisador Braker SolariX FT-ICR-MS equipado com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI), no modo positivo e negativo. A vazão de gás de secagem foi de 3,0 L/min, temperatura do gás de secagem de 200 °C, voltagem do spray - 0,5 kV, voltagem do capilar -4,5 kV, lente ECD -10 V, amostra de vazão 5 µL/h e vazão de gás do nebulizador de 0,4 bar. Fragmentações (MS/MS) das amostras foram realizadas usando o método de colisão induzida (CID) contra argônio para ativação iônica.

O primeiro evento foi um espectro de massa de varredura completa para obter dados sobre íons na faixa  $m/z$  154–2000 D. O segundo evento de varredura foi um experimento de MS/MS realizado usando uma varredura dependente de dados em moléculas [MH]<sup>+</sup> dos compostos de interesse a uma taxa de fluxo de gás de colisão de 30%.

## OBTENÇÃO DAS LARVAS DE *Aedes aegypti* E CONDIÇÕES PARA REALIZAÇÃO DOS BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO

A criação das larvas seguiu a metodologia de Silva *et al.* (1998). Desse modo, as larvas foram criadas em recipientes de vidro de 30 cm de altura x 7 cm de comprimento, contendo 1 litro de água e tratados com 0,2 g/L de Ração para peixes (Ração Poytara Spirulina Black Line Pellets M® 1,5 mm 45 g). Os testes foram realizados no laboratório de Entomologia Ecológica (LABENT-Eco) da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (Unochapecó). O espaço conta com todos os aparatos de biossegurança para criação e manipulação de mosquitos, como telas de proteção no ambiente, cortinas de vento em todas as portas, gaiolas próprias para a criação de mosquitos. Todos os procedimentos foram conduzidos sob condições controladas de temperatura, umidade e fotoperíodo. A sala de criação foi mantida a  $27 \pm 2$  °C, umidade relativa 70 – 80% e fotoperíodo de 12:12 h. Esses dados foram mensurados durante todo o processo de criação dos mosquitos até o fim do experimento, por um termohigrômetro digital de temperatura e umidade modelo BT-3/Elitech (faixa de temperatura de -50 °C a 70 °C, faixa de umidade de 20% a 99% UR). Para os experimentos foi usado água destilada.

### BIOENSAIO LARVICIDA DOS EXTRATOS VEGETAIS FRENTE AO *Aedes aegypti*

Os bioensaios foram realizados conforme as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005) – *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*. Para a realização dos testes de toxicidade sobre larvas de *A. aegypti*, foram utilizadas larvas do terceiro instar. Os extratos vegetais (EAU<sub>t</sub>), foram testados em diferentes concentrações (10, 50, 100, 250 e 500 µg/mL), diluídos em DMSO (1,0 %) e água livre de cloro (40 mL). A avaliação larvicida foi realizada em microcosmos constituídos de recipientes de 200 mL no qual foram submetidas as larvas de *A. aegypti* (10 cada recipiente). Cada concentração teste, foi realizada em quintuplicata (n =5). Foram utilizados dois controles positivo: Espinosade e o Bti. O Espinosade (Espinosina A + Espinosina D) é um derivado da fermentação biológica da bactéria *Saccharopolyspora spinosa*. A sua utilização foi baseada conforme Nota técnica (nº 061/2021–GEZOO/DIVE/SUV/SES/SC) (1,35 g/200 L de água). O Bti é o esporo do *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e foi testado na concentração de 40 mg/1 L de água.

O controle negativo utilizado conteve apenas a água (veículo: VEI). Em todos os controles foi adicionado o DMSO (1,0%) e a água utilizada será livre de cloro. Todos os testes foram realizados com alimentação para as larvas e avaliados por 72 h e monitorados a cada 12 h. A morte das larvas foi constada quando não apresentaram mais nenhum movimento a estímulos mecânicos.

## ENSAIO DE REPELÊNCIA DO EAU<sub>t</sub> FRENTE AOS MOSQUITOS ADULTOS DE *Aedes aegypti*

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Unochapecó (nº 5.364.434). Os bioensaios de repelência foram realizados conforme WHO (2009) e Alievi *et al.* (2021). No teste, foram utilizadas quatro gaiolas (BugDorm-1-300 mm x 300 x 300), uma para cada voluntário, contendo 30 fêmeas adultas de *A. aegypti* cada, com idade de cinco a sete dias, sem acesso à alimentação sanguínea 12 h antes dos testes. A gaiola possui aberturas cobertas por tela mosquiteira, por onde o antebraço do voluntário podia ser estendido até uma distância de 30 cm. Os bioensaios foram realizados no período diurno, respeitando a preferência para as atividades de hematofagia das fêmeas, a sala foi aclimatada com temperatura de 28 °C ±5 e umidade relativa de 60%.

Os antebraços dos voluntários foram lavados com Extran MA01 Alcalino Merck 5% (25 mL por braço), depois enxaguados com água e seco. A seguir 25 mL de álcool isopropílico (70%) foram aplicados em cada antebraço e secado naturalmente. Após a limpeza, foi delimitada uma área de 20×5 cm no antebraço com fita elástica/ bandagem impermeável, região destinada à aplicação de 1 mL do EAU<sub>t</sub> (10%), incluindo os controles negativo e positivo, sendo o restante da área do braço protegida com plástico para evitar o contato com os mosquitos e as mãos com luvas de procedimento. Antes do início dos testes, o braço controle negativo foi introduzido na gaiola até a confirmação de pelo menos 10 pousos ou picadas, que usualmente ocorrem em 15 segundos. Foi preparado um spray hidroalcoólico contendo 10% de EAU<sub>t</sub>. Para o controle negativo (CV) foi utilizado apenas álcool 70%, o controle positivo (CP) foi realizado com uma fórmula comercial contendo DEET (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO) (OFF®). Os mosquitos foram expostos ao teste, durante três minutos, totalizando 4 h de exposição sem reaplicação do spray, com verificação da ação repelente a cada 30 min. Todos os testes foram realizados em triplicata (n=3). A tentativa de picada foi o parâmetro utilizado para verificar a ação repelente.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tratados utilizando o GraphPad Prism versão 8.0.1 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA) e representados pelas médias  $\pm$  erro padrão da média. Diferenças estatisticamente significativas foram determinadas com base na análise de variância (ANOVA de duas vias) seguidas de avaliação *post hoc* pelo teste Tukey. Os resultados  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos. A  $CL_{50}$  e  $CL_{90}$  foram calculadas a partir da regressão linear de dosagem log-probit para todos os tempos de avaliação.

## RESULTADOS

### ANÁLISES FITOQUÍMICAS

Análises por espectrometria de massas (ESI-IT-MS<sup>n</sup>) do EAUt

A análise de EAUt em espectrometria de massas no modo negativo e positivo, apontou a presença 12 compostos (Tabela 1). Dentre eles, o alcaloide mitrafilina considerado o marcador para o extrato vegetal da espécie. Os compostos foram denotados com base em seus padrões de fragmentação MS2 e MS3 e comparação com dados da literatura.

**Tabela 1** - Análise química do extrato aquoso da casca de *Uncaria tomentosa* por IT- MS<sup>n</sup>.

Composto	Ionizacao	<i>m/z</i> [MH] <sup>-</sup>	MS2	MS3	Referência
Coniferaldeído	ESI	177	162, 149, 134	-	(GOUFO, SINGH E CORTEZ 2020)
Ácido quínico	APCI e ESI	191	111, 173, 85, 127	-	(VIDAL-GUTIÉRREZ <i>et al.</i> , 2020)
Catequina	ESI	289	245, 205, 179, 165, 125	-	(GOUFO, SINGH E CORTEZ 2020)
Cafeoil glicosídeo	APCI e ESI	377 <sup>b</sup>	341	179, 161, 143, 149, 131	(GOUFO, SINGH E CORTEZ 2020)
Mitrafilina	APCI	367	239, 235, 208, 176, 148, 127	-	(LESIK <i>et al.</i> , 2014)

Procianidina B1	ESI	577	425, 407, 289, 451, 287, 245	-	(GOUFO, SINGH E CORTEZ 2020)
Diptoindonesina A	ESI	615	585, 453, 411, 359, 347,	-	(GOUFO, SINGH E CORTEZ 2020)
3-O-β-D-quinovopiranosil pirocincólico ácido 28-O-β-D-glucopiranosil éster	APCI	749	587	441	(VIDAL-GUTIÉRREZ <i>et al.</i> , 2020)
3β-O-β-D-quinovopiranosil - ácido quinóico (28 → 1) β-D-glucopiranosil éster	APCI e ESI	793	<b>587</b> , 749	441	(PAVEI <i>et al.</i> , 2012; HASSANEAN, DESOKY E EL-HAMOULY 1993)
Procianidina C1	ESI	865	739, 713, 695, 577, 575, 425, 407, 289	-	(GOUFO, SINGH E CORTEZ 2020)
3-O-β-D-quinovopiranosil ácido pirocincólico 28-O-β-D-glucopiranosil - (1→6)-β-D-glucopiranosil éster	APCI	911	<b>749</b> , 587	587	(VIDAL-GUTIÉRREZ <i>et al.</i> , 2020)
3-O-β-D-quinovopiranosil ácido quinóico 28-O-β-D-glucopiranosil - (1→6)-β-D-glucopiranosil éster	APCI e ESI	955	749, <b>587</b> , 441	441	(PAVEI <i>et al.</i> , 2012; HASSANEAN, DESOKY E EL-HAMOULY 1993)

Espectro realizado em modo negativo; **Negrito**, sequência de fragmentação.

<sup>b</sup>[ M+Cl ]<sup>-</sup>

Fonte: a autora, 2023.

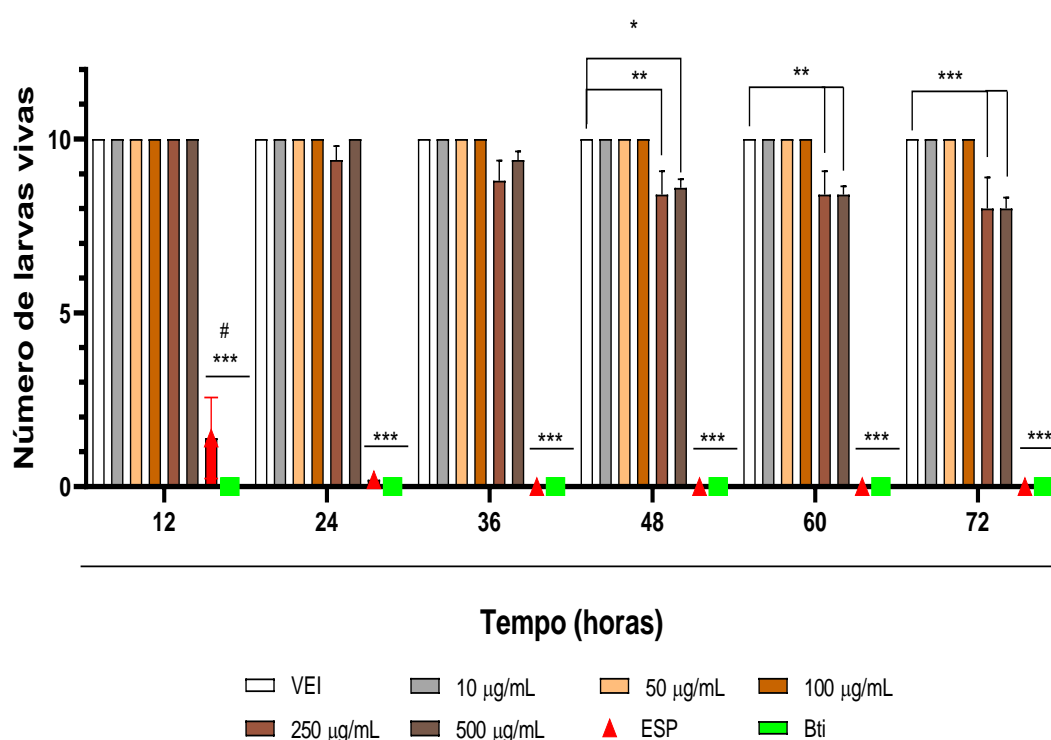
#### ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO AQUOSO DE *Uncaria tomentosa* (EAUt)

O bioensaio larvicida com o extrato de aquoso das cascas de *Uncaria tomentosa* (EAUt) foi realizado com as concentrações de 10, 50, 100, 250 e 500 µg/mL. De acordo com a figura 1, as concentrações 10-500 µg/mL se mostraram inativas entre 12 e 36 h de avaliação. O EAUt apresentou mortalidade na concentração de 250 e 500 µg/mL a partir de 48 h de exposição ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ , respectivamente), em comparação ao grupo VEI. Decorridas 60 e 72 h do teste, o extrato nas concentrações de 250 e 500 µg/mL



incrementa o efeito larvicida em comparação com o grupo VEI ( $p < 0,01$  e  $p < 0,001$ , respectivamente). O EAUt apresentou efeito larvicida com concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) de 157,20 µg/mL, e CL<sub>90</sub> de 164,70 µg/mL.

**Figura 1** - Efeito larvicida do extrato aquoso de *Uncaria tomentosa* (10, 50, 100, 250 e 500 µg/mL) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. ANOVA two way, \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,5$ , em comparação ao grupo Veículo (VEI, água), # $p < 0,001$  na comparação entre *Bacillus thuringiensis* (BTi) e espinosade (ESP).



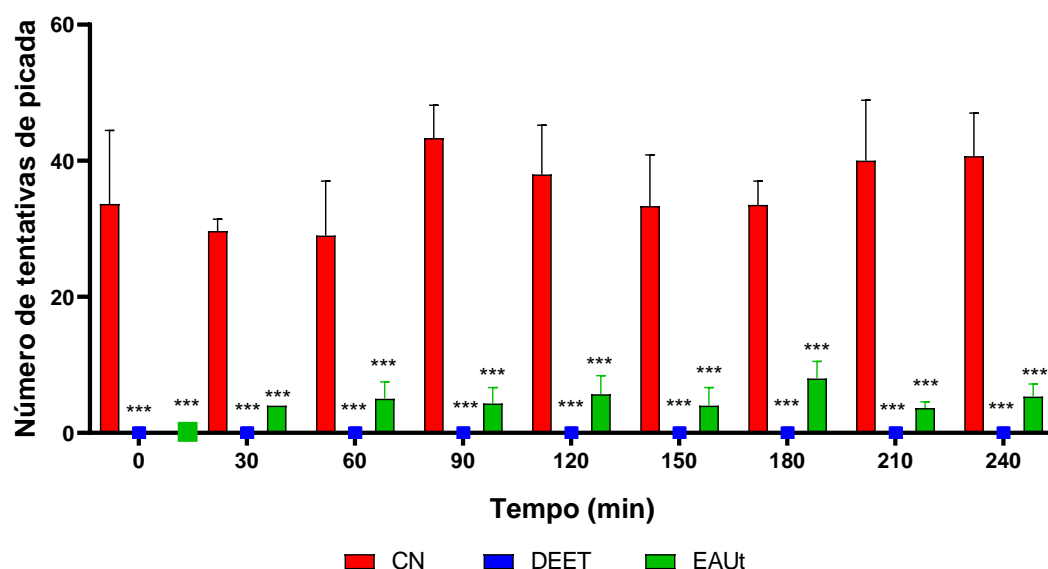
Fonte: a autora, 2023.

#### ATIVIDADE REPELENTE DO EXTRATO AQUOSO DE *Uncaria tomentosa* (EAUT)

A figura 2 apresenta a atividade repelente do EAUt frente ao mosquito *A. aegypti*. No grupo veículo, se observa um elevado número de tentativas de picadas, o que não ocorreu no grupo controle positivo (CP), desde o início de sua aplicação (tempo 0). No grupo de mosquitos expostos ao EAUt, é possível observar um efeito repelente intenso desde o tempo 0 com 100% de redução nas tentativas de picada, resultados semelhantes ao grupo controle positivo (CP) ( $p < 0,001$  em comparação ao grupo VEI). Em 120 min, metade do tempo de exposição, houve apenas 13,08 % de tentativas de pouso, ou seja, o extrato foi capaz de repelir 86,92% ( $p < 0,001$ ) dos mosquitos. Ao final do experimento

(240 min), a eficácia repelente se mantém, reduzindo em 87,69% as tentativas de picada ( $p < 0,001$ ), em comparação ao veículo.

**Figura 2** - Efeito repelente do extrato aquoso de *Uncaria tomentosa* (10%) e dietiltoluamida (DEET, controle positivo), frente ao mosquito *Aedes aegypti*. ANOVA *one way* \*\*\*  $p < 0,001$ , em comparação ao grupo controle negativo (CN, álcool 70%).



Fonte: a autora, 2023.

## DISCUSSÃO

A origem do conhecimento do homem sobre as virtudes das plantas se correlaciona, com sua própria história. Por meio da observação e experimentação fatores que constituem o empirismo, a espécie humana encontrou meios de interação, sobrevivência, e tratamento de doenças. De fato, o conhecimento etnofarmacológico adquirido nas diferentes populações, se revelou uma estratégia exitosa na observação de bioatividade para extratos de plantas, estreitando ainda mais a relação entre etnobotânica e a bioprospecção (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

Neste cenário, o Brasil apresenta um enorme potencial, pois, é o país com a maior biodiversidade vegetal do mundo. Atualmente são reconhecidas 49.280 espécies, incluindo nativas cultivadas e naturalizadas (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2020). Além disso, o povo brasileiro conta com uma vasta miscigenação cultural que compreende várias etnias, principalmente os indígenas, africanos e europeus,

que juntos contemplam diferentes saberes acerca da utilização de plantas medicinais (DUTRA *et al.*, 2016; SGANZERLA *et al.*, 2022).

Dentre as inúmeras possibilidades de pesquisas biológicas com fitoconstituintes encontrados nas várias partes dos vegetais, está o potencial inseticida. É consenso que os extratos de plantas em função da elevada diversidade química, apresentam promissores efeitos bioinseticidas e a investigação destes compostos, pode servir de modelo para o desenvolvimento de formulações eficazes e menos prejudiciais ao meio ambiente (SPLETOZER *et al.*, 2021).

Nesse contexto, esse trabalho, visou avançar no estudo químico e de atividade biológica para *Uncaria tomentosa*, uma espécie medicinal nativa das florestas da América Central e do Sul (HEITZMAN *et al.*, 2005). Nas concentrações testadas, o extrato aquoso da planta (EAUt) apresentou efeito larvicida e repelente frente ao *Aedes aegypti*, em condições laboratoriais. Ainda, o EAUt demonstrou *in vivo*, em longo período de exposição, forte efeito repelente. Em conjunto estes efeitos larvicida e repelente, possivelmente estão associados aos constituintes químicos majoritários presentes nesta planta bioativa, que foram caracterizados por meio de estudos espectroscópicos.

A *U. tomentosa* é popularmente conhecida por unha-de-gato, ou garra-de-gavião, é tradicionalmente utilizada pelos peruanos e povos nativos da Amazônia. Neste estudo, à compostição química do EAUt por meio de análises espectroscópicas revelou a presença de 12 moléculas, com destaque para os polifenóis e alcaloides. Segundo a literatura, a presença de alcaloides como constiuinte merece ser evidenciada, pois, são muitos os estudos destacando os efeitos promissores destes compostos no controle de pragas. Em geral, os alcaloides modificam os processos biológicos e interferem nas funções celulares e fisiológicas dos mosquitos, alterando as reações redox, a atividade hormonal, afetando os sinais neurais ou influenciando negativamente a reprodução (CHOWAŃSKI *et al.*, 2016).

Um exemplo do mecanismo inseticida, é a inibição exercida por alcaloides sobre a enzima acetilcolinesterase, que hidrolisa o neurotransmissor sináptico colinérgico acetilcolina (ACh) no sistema nervoso central, promovendo a morte dos insetos. Estes efeitos sobre o sistema nervoso larval foram observados após o tratamento com extratos de espécies de *Piper*, gênero conhecido por apresentar grandes quantidades de alcaloides. Tremor, convulsão, excitação, seguido de paralisia e morte foram verificados após a exposição das larvas aos extratos de *P. longum*, *P. ribesoides* e *P. sarmentosum*

(CHAITONG *et al.*, 2006). Corroborando estas informações, nessa pesquisa o EAUt apresentou efeito larvicida com CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> entre 150 e 170 µg/mL. Os efeitos biológicos exercidos, provavelmente envolvem a ação dos alcaloides sobre o SNC das larvas de *A. aegypti*.

Ainda, relativo às investigações larvicida é importante destacar a maior eficácia do *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTi) em comparação ao espinosade, nas primeiras 12 horas de avaliação. Este fenômeno talvez possa ser justificado, em função dos diferentes tempos de absorção e mecanismos farmacológicos. O BTi é uma bactéria entomopatogênica, cujo esporo apresentam cristais, que produzem prótoxinas. Os peptídeos tóxicos resultantes agem sobre o epitélio intestinal das formas imaturas do vetor, promovendo a diminuição do peristaltismo e, conseqüentemente, a interrupção da alimentação e a morte da larva (GILL; COWLES; PIETRANTONIO, 1992). BTi é um dos larvicidas recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para uso em água potável com objetivo de controlar larvas do *A. aegypti* (CHAVASSE; YAP, 1996). Já o espinosade, é um derivado de metabólitos gerados a partir do processo de fermentação aérea da bactéria filamentosa Gram-positiva *Saccharopolyspora spinosa*. As espinosinas atuam no sistema nervoso central, especificamente nos receptores nicotínicos de acetilcolina, induzindo a uma rápida excitação e posteriormente paralisia e morte (BIONDI *et al.*, 2012; GUOJUN *et al.*, 2016).

Como forma individual de proteção, os produtos repelentes são largamente utilizados e eficazes, impedindo o contato direto do mosquito com o ser humano (ISLAM *et al.*, 2017), e provavelmente, o representante mais largamente utilizado seja o DEET (N, N-dietil-3-metilbenzamida) (KOREN; MATSUI; BAILEY, 2003). O Mecanismo pelo qual o DEET atua, ainda não está totalmente esclarecido, no entanto, a principal hipótese é que ele atue nos receptores odorantes, localizados nas antenas do mosquito, causando uma confusão em localizar o ser humano. A sua eficácia está diretamente ligada à sua concentração e duração repelente na pele (BRIASSOULIS; NARLIOGLOU; HATZIS, 2001). Há estudos que demonstram resistências de algumas espécies de insetos frente ao DEET quando submetidos a longos períodos de exposição. No que diz respeito ao *A. aegypti*, ocorre uma redução da reposta de repelência pouco depois da primeira aplicação, com durabilidade de aproximadamente 3 h (STANCZYK *et al.*, 2013).

A busca por novos produtos com base natural, como repelentes alternativos na proteção frente a vetores de arbovíroses, tem crescido em países industrializados inclusive

no Brasil, devido a inúmeras limitações das formulações sintéticas. As plantas liberam compostos capazes de manter mosquitos afastados da pele humana por meio de ação repelente e dissuasiva, onde as moléculas liberadas se ligam a proteínas de percepção de odores dos insetos, afastando-os (TÉLLEZ *et al.*, 2016).

Nessa perspectiva, EAUt (10%), foi testado quanto a atividade repelente. Os resultados demonstraram um intenso efeito na repelência em comparação ao controle negativo ( $p < 0,001$ ), observado desde o tempo zero até as 4 h de avaliação.

Os insetos detectam odores específicos por meio de receptores odorantes (ORx), que formam complexos com os correceptores correspondentes (Oreo). Conseqüentemente, os compostos que interagem com ORx ou Oreo podem atuar como repelentes, interrompendo o comportamento de detecção de odor dos insetos protegendo assim os alvos potenciais das picadas de insetos. Este mecanismo pode explicar, em parte, a repelência observada dos para EAUt. É consenso que um repelente natural, menos tóxico, baseado na interrupção da detecção de odores poderia representar uma nova estratégia para o desenvolvimento de produtos ou compostos com novos modos de ação contra pragas de artrópodes e vetores de doenças (LEE, 2018).

## CONCLUSÃO

Nossa análise demonstra que o extrato aquoso das cascas de *Uncaria tomentosa* (EAUt) apresenta vários constituintes bioativos, dentre eles, polifenóis e alcaloides com atividades farmacológicas singulares. No entanto, embora tenhamos estabelecido que o EAUt revela atividade larvicida, o extrato se destaca devido ao elevado efeito repelente de longa duração frente ao *A. aegypti*.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina – Fapesc e Universidade Comunitária da Região de Chapecó - Unochapecó.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.678-689, 2006.

- ALIEVI, K. *et al.* *Ateleia glazioveana* and *Ocimum basilicum*: plants with potential larvicidal and repellent against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 17, p. e228101724733, 2021.
- BENELLI, G.; JEFFRIES, C. L.; WALKER, T. Biological Control of Mosquito Vectors: Past, Present, and Future. **Insects**, v. 7, n. 4, p. 52, 2016.
- BIONDI, A. V. *et al.* The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. **Pest Manag. Sci.** v. 68, p. 1523–36, 2012.
- BRASIL. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, Ed. 2, p. 223, 2021.
- BRASIL. Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica**, 2009.
- BRIASSOULIS, G.; NARLIOGLOU, M.; HATZIS, T. Toxic encephalopathy associated with use of DEET insect repellents: a case analysis of its toxicity in children. **Hum Exp Toxicol.**, v. 20, n. 1, p. 8-14, 2021.
- BROUSSALIS, A. M. *et al.* Argentine plants as potential source of insecticidal compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 219-223, 1999.
- CHAITONG, U. *et al.* Larvicidal effect of pepper plants on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) **J. Vector Ecol.**, v. 31, p. 138–144, 2006.
- CHAVASSE, D. C.; YAP, H. H. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. Geneve: WHO; 1997.
- CHOWAŃSKI, S. *et al.* A Review of Bioinsecticidal Activity of Solanaceae Alkaloids. **Toxins (Basel)**, v. 8, n. 3, p. 60, 2016.
- DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 30, p. 5-10, 2017.
- DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacol Res.**, v. 29, n. 4, p. 112, 2016.
- GARCIA-LUNA, S. M. *et al.* Variation in competence for ZIKV transmission by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Mexico. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.12, n. 7, 2018.
- GILL, S. S.; COWLES, E. A.; PIETRANTONIO, P. V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis endotoxins*. **Annual Review of Entomology**, v. 37, p. 615-636, 1992.
- GOUFO, P.; SINGH, RK; CORTEZ, I. Uma lista de referência de compostos fenólicos (incluindo estilbenos) em raízes, madeiras, canas, caules e folhas da videira (*Vitis vinifera* L.). **Antioxidantes Basel**, v. 9, n. 398, pág. 1-37, 2020.

- GUOJUN, Y. *et al.* A new medium for improving spinosad production by *Saccharopolyspora spinosa*. **Jundishapur J. Microbiol.**, v. 9, p. 16765–e, 2016.
- HASSANEAN, H.; DESOKY, E.; EL-HAMOULY, M. Quinovic acid glycosides from *Zygophyllum album*. **Phytochemistry**, v. 33, n. 3, p. 663–666, 1993.
- HEITZMAN, M. E. *et al.* Hammond, GB Etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Uncaria* (Rubiaceae). **Fitoquímica**, v. 66, p. 5-29, 2005.
- ISLAM, J. K. *et al.* Chattopadhyay, Repelentes de mosquitos: Uma visão sobre as perspectivas cronológicas e novas descobertas. **Acta Trop.**, v. 167, p. 216-230, 2017.
- JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. Flora do Brasil 2020 em construção. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 25 maio 2023.
- KOREN, G.; MATSUI, D.; BAILEY, B. DEET-based insect repellents: safety implications for children and pregnant and lactating women. **CMAJ**, v. 169, n. 3, p. 209-12, 2003.
- LEE, C. C.; HOUGHTON, P. Cytotoxicity of plants from Malaysia and Thailand used additionally to treat cancer. **J. Ethnopharmacol**, v. 100, p. 237–243, 2005.
- LESIAK, A. D. *et al.* Rapid detection by direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) of psychoactive plant drugs of abuse: The case of *Mitragyna speciosa* aka “Kratom”. **Forensic Science International**, v. 242, p. 210–218, 2014.
- LIU, N. Insecticide resistance in mosquitoes: Impact, mechanisms and research directions. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 60, p. 537–559, 2015.
- Organização Mundial da Saúde-OMS. Monografias da OMS sobre Plantas Medicinais Seleccionadas; Organização Mundial da Saúde: Genebra, Suíça, 1999, Volume 2.
- PAVEI, C. *et al.* Validation of a LC method for polyphenols assay in cat’s claw (*Uncaria tomentosa*). **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 33, n. 17, p. 1551–1561, 2010.
- PEÑALOZA, E. M. C. *et al.* Variabilidade da composição química na população selvagem de *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato). **Química Nova**, v. 38, p. 378-386, 2015.
- POWELL, J. R. Mosquito-Borne Human Viral Diseases: Why *Aedes aegypti*? **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 98, n. 6, p. 1563-1565, 2018.
- ROSA, J. P. P. Resistência de *Aedes aegypti* ao inseticida Temefós. **Revista da Universidade do Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 1, p. 607-610, 2016.
- RÜCKERT, C.; EBEL, G. D. How do virus-mosquito interactions lead to viral emergence. **Trends Parasitol**, v. 34, n. 4, p. 310–321, 2018.

SALVI, F. I. *et al.* Fatores ambientais e climáticos associados à ocorrência de *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. 11, 2021.

SANTOS, K. F. *et al.* O extrato de *Uncaria tomentosa* altera o catabolismo de nucleotídeos de adenina e a expressão de receptores ecto 50 -nucleotidase/CD73 e P2X7 e A1 na linhagem celular MDA-MB-231. **J. Etnofarmacol**, v. 194, p. 108-116, 2016.

SEO, S. M.; PARK, H. M.; PARK, I. K. Larvicidal activity of ajowan (*Trachyspermum ammi*) and Peru balsam (*Myroxylon pereira*) oils and blends of their constituents against mosquito, *Aedes aegypti*, acute toxicity on water flea, *Daphnia magna*, and aqueous residue. **J. Agric. Food Chem.**, v.60, p. 5909–5914, 2012.

SILVA, H. H. G.; SILVA, L. H.; LIRA, K. S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, v. 27, 1998.

SGANZERLA, C. M. *et al.* Revisão integrativa aplicada a levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais no Brasil. **Acta ambiental catarinense**, v. 19, n. 1, 2022.

SPLETOZER, A. G. *et al.* Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 2, p. 974–997, 2021.

STANCZYK, N. M. *et al.* *Aedes aegypti* mosquitoes exhibit decreased repellency by DEET following previous exposure. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e54438, 2013.

TÉLLEZ, A. V. C. *et al.* *Annona muricata*, a comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. **Arabian Journal os Chemistry**, v. 11, n. 5, 2016.

VIDAL-GUTIÉRREZ, M., *et al.* Composição fenólica e atividade antioxidante de *Bursera microphylla* A. Gray. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 152, n. 112412, pág. 1-7, 2020.

World Health Organization – WHO. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization, 2005.

World Health Organization – WHO. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control, New edition. A joint publication of the World Health Organization (WHO) and the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), 2009.

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