

**Óleo essencial das cascas descartadas do fruto de *Hymenaea courbaril* L. como larvicida frente *Aedes aegypti***

**Essential oil from the discarded peels of the fruit of *Hymenaea courbaril* L. as larvicidal opposite *Aedes aegypti***

**Aceite esencial de las cáscaras desechadas del fruto de *Hymenaea courbaril* L. como larvicida frente a *Aedes aegypti***

Recebido: 13/09/2020 | Revisado: 13/09/2020 | Aceito: 18/09/2020 | Publicado: 20/09/2020

**Gustavo Oliveira Everton**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [gustavooliveiraeverton@gmail.com](mailto:gustavooliveiraeverton@gmail.com)

**Nilton Silva Costa Mafra**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5353-0596>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [nilton.mafra@hotmail.com](mailto:nilton.mafra@hotmail.com)

**Everton Holanda Sales**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-9103>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [everhs16@gmail.com](mailto:everhs16@gmail.com)

**Paulo Victor Serra Rosa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1782-5896>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [paullovictorserra@gmail.com](mailto:paullovictorserra@gmail.com)

**Wilma Karlla dos Santos Farias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4081-0107>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [wilmakarlla.farias@gmail.com](mailto:wilmakarlla.farias@gmail.com)

**Feliciano Santos Pinheiro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7677-4537>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [feliciano.pinheiro@huufma.br](mailto:feliciano.pinheiro@huufma.br)

**Maria Gizelda Gomes Lages**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7847-3081>

Hospital Universitário Federal do Piauí, Brasil

E-mail: [gizelda.lages@gmail.com](mailto:gizelda.lages@gmail.com)

**Monyka Brito Lima Dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6866-9435>

Serviço Social da Indústria, Brasil

E-mail: [monyka.brito@outlook.com.br](mailto:monyka.brito@outlook.com.br)

**Jean Carlos Rodrigues da Cunha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0741-3583>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: [je.carl@outlook.com.br](mailto:je.carl@outlook.com.br)

**Ari Pereira de Araújo Neto**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6903-4127>

Faculdade UNINASSAU, Brasil

E-mail: [aripereiraneto@gmail.com](mailto:aripereiraneto@gmail.com)

**Andressa Almeida Santana Dias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1671-8338>

Faculdade UNINASSAU, Brasil

E-mail: [andressasantana@gmail.com](mailto:andressasantana@gmail.com)

**Ricardo Victor Seguins Duarte**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1239-2104>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [ricardovictor.br@gmail.com](mailto:ricardovictor.br@gmail.com)

**Victor Elias Mouchrek Filho**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-7292>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: [victor.mouchrek@ufma.br](mailto:victor.mouchrek@ufma.br)

**Resumo**

Este estudo objetivou avaliar a atividade larvicida do óleo essencial (OE) extraído das cascas do fruto comumente descartadas de *Hymenaea coubaril* L. Para extração do OE foi utilizada a técnica de hidrodestilação em um sistema extrator de Clevenger modificado. Os constituintes químicos foram obtidos por Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas

(CG/EM). Para atividade larvicida submeteu-se larvas de *Aedes aegypti* a soluções do OE em concentrações de 10-100 mg L<sup>-1</sup>, onde avaliou-se a mortalidade das larvas e determinou-se a CL<sub>50</sub>. O β-ocimeno foi quantificado como majoritário no OE. Observou-se ação do OE como larvicida onde foi determinada a CL<sub>50</sub> de 16,6 mg L<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos permitiram concluir que o OE estudado apresentou atividade larvicida eficiente contra as larvas de *Aedes aegypti*, sendo importante e incentivado seu uso e aplicação.

**Palavras-chave:** *Hymenaea*; Larvicida; *Aedes*.

### Abstract

This study aimed to chemically characterize and evaluate the larvicidal activity of essential oil (EO) extracted from the peels of the commonly discarded fruit of *Hymenaea coubaril* L. For EO extraction, the hydrodistillation technique was used in a modified Clevenger extractor system. The chemical constituents were obtained by Gas Chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). Larvae of *Aedes aegypti* were submitted to essential oil solutions at concentrations of 10-100 mg L<sup>-1</sup>, where larvae mortality was evaluated and LC<sub>50</sub> was determined. β-ocimeno was quantified as the majority in the EO. It was observed the action of EO as larvicidal where the LC<sub>50</sub> of 16.6 mg L<sup>-1</sup>. The results obtained allowed us to conclude that the EO studied presented efficient larvicidal activity against the larvae of *Aedes aegypti*, being important and encouraged its use and application.

**Keywords:** *Hymenaea*; Larvicidal; *Aedes*.

### Resumen

La técnica de hidrodestáltica se utilizó para la extracción de oe en un sistema de extractor Clevenger modificado. Los componentes químicos se obtuvieron mediante cromatografía de gases acopladas a espectrometría de masas (CG/EM). La técnica de hidrodestáltica se utilizó para la extracción de oe en un sistema de extractor Clevenger modificado. Los componentes químicos se obtuvieron mediante cromatografía de gases acopladas a espectrometría de masas (GC/MS). Para la actividad larvicida, las larvas de *Aedes aegypti* se sometieron a soluciones de OE a concentraciones de 10-100 mg de L<sup>-1</sup>, donde se evaluó la mortalidad de las larvas y se determinó LC<sub>50</sub>. Se cuantificó como la mayoría en la EO. La acción de la AE se observó como larvicida donde se determinó la LC<sub>50</sub> de 16,6 mg L<sup>-1</sup>. Los resultados obtenidos nos permitieron concluir que el AE estudiado presentaba una actividad larvicida eficiente contra las larvas de *Aedes aegypti*, siendo importante y fomentaba su uso y aplicación.

**Palabras clave:** *Hymenaea*; Larvicida; *Aedes*.

## 1. Introdução

O Brasil é o país com a maior diversidade genética do mundo, com aproximadamente 55 mil espécies vegetais catalogadas de um total estimado entre 350 e 550 mil espécies em todo o mundo. As plantas medicinais têm atraído a atenção de pesquisadores do mundo inteiro, por suas propriedades medicinais e organolépticas. Estas possuem substâncias biologicamente ativas, podendo ser usadas para fins terapêuticos ou para fornecer precursores para a síntese química farmacêutica (ANVISA, 2014).

Essas substâncias são atribuídas aos óleos essenciais (OE's), que são misturas complexas de compostos naturais extremamente voláteis, com carácter hidrofóbico, caracterizadas por odores fortes e por possuírem ações terapêuticas. Os seus aromas característicos são provenientes da grande variedade desses compostos químicos (Costa, 2008; Cunha et al., 2005). Os OE's exercem efeito antimicrobiano afetando a estrutura da parede celular do microrganismo desnaturando e coagulando proteínas. Podem também alterar a permeabilidade da membrana plasmática causando a interrupção de processos vitais, como transporte de elétrons, fosforilação e outras reações, resultando em perda do controle quimiosmótico, levando à morte celular (Lorenzetti et al., 2011). A utilização de OE's, isolados ou em combinação com outros métodos, poderá ter um importante papel no controle de fitopatógenos, contribuindo para a redução no uso de agrotóxicos e, conseqüentemente, um menor impacto ao ambiente (Pereira et al., 2014).

Entre as plantas com potenciais medicinais no Brasil e com estudos limitados encontra-se o jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) pertencente à família Fabaceae e subfamília Caesalpinoideae. O termo jatobá vem do tupi e significa: "fruto de casca dura". É encontrado em todo o continente americano, em margens de rios e áreas de mata (Farias et al., 2006; Silva Jr et al., 2002; Sousa et al., 2012). Conhecida popularmente pelos nomes de jatobá, jataí, jataí-amarelo, jataí-peba, imbiúva, dentre outros, é uma árvore que alcança de 15-20 m de altura, possuindo folhas compostas e fruto do tipo legume indeiscente. Cada fruto possui de duas a quatro sementes (Lorenzi, 2002).

A espécie, *H. courbaril* L. possui no Brasil, uma ampla distribuição, ocorrendo desde a floresta amazônica até a floresta estacional semidecidual no sudeste do país, atualmente são aceitos duas seções e 14 espécies, distribuídas do México à América do Sul e uma na costa leste da África; 13 ocorrem no Brasil uma delas é *H. courbaril* (Costa et al., 2011). Tem importância florestal e ambiental pelo potencial que possui como planta fixadora e armazenadora de carbono (Melo & Pólo, 2007). Os frutos contêm uma polpa que origina uma

farinha muito nutritiva, consumida pelo homem e pelos animais silvestres(Lorenzi&Matos, 2002), além de produzir sementes com abundância e regularidade sendo espécie com possibilidade de uso comercial(Veloso et al., 1991). Além disso, segundo Agarez et al. (1994), apresenta indicação como medicinal, produzindo OE, taninos, materiais resinosos e pécnicos, amido e açúcares, sendo as cascas e folhas utilizadas no tratamento de diarreias, cólicas intestinais, cistite, tosses, bronquite e asma, infecções de bexiga e verminoses(Oliveira, 2006).

Estudos apontam que atividade inseticida, bactericida e fungicida dos OE's de algumas espécies de plantas tem mostrado bons resultados em pesquisas(Lemos et al., 1990) e isto levou este estudo a dar uma aplicação as cascas do fruto de *H. courbaril* que ainda não possuíam estudos relatados com respeito a utilização de um produto natural do fruto sendo utilizado para atividades larvicidas.

Entre as principais problemáticas, observam-se recorrentes epidemias de dengue em todo o globo, na qual países de clima tropical, com temperatura e umidade favoráveis, têm apresentado elevados níveis de infestação por *Aedes aegypti*. Ressalta-se que as principais causas dessas epidemias têm sido a grande capacidade de adaptação do vetor, que favorece a re-emergência da doença, após intensas ações de controle(Tauil, 2002).

Na tentativa de manter a incidência da enfermidade sob controle, são destinadas, sucessivamente, quantias significativas de recursos para programas de combate ao vetor, porém surtos de epidemias são constantes. Esse fato decorre de fatores relacionados à biologia e ao comportamento do vetor, somados a problemas típicos dos centros urbanos(Gadelha&Toda, 1985; Marzochi, 1994).

De acordo com o Ministério da Saúde no período de 30 de dezembro a 24 de agosto, foram registrados 1.439.471 casos de dengue em todo o país. A média é de pouco mais de 6 mil casos por dia. O número de registros representa um aumento de 599,5%, na comparação com 2018. Minas Gerais é, até o momento, o estado com o maior número de ocorrências, com um total de 471.165. Um ano antes, os municípios mineiros registravam 23.290 casos. São Paulo (437.047) aparece em segundo lugar, sendo, ainda, a unidade federativa em que a incidência da doença mais cresceu (3.712%), no intervalo de análise. Em 2018, foram reportados 11.465 casos (Bond, 2019).

Também são destaque negativo no balanço Goiás (108.079 casos), Espírito Santo (59.318) e Bahia (58.956). Quando o critério é a variação por região do país, o quadro mais crítico se encontra no Sul (3.224,9%), que contrasta com o do Centro-Oeste (131,8%). Além disso, nota-se que apenas dois estados apresentaram queda na prevalência da dengue:

Amazonas, que diminuiu o total de 1.962 para 1.384 (-29,5%), e Amapá, onde houve redução de 608 para 141 (-76, 8%). Atualmente, a taxa de incidência da dengue no país é 690,4 casos a cada 100 mil habitantes (Bond, 2019).

O *Aedes aegypti* está entre os mosquitos que possuem uma rápida fase imatura. O ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti* compreende quatro fases: ovo, larva, pupa e adultos (Brasil, 2019). Segundo Nelson (1986) o período de desenvolvimento de ovo a adulto pode durar de cinco a sete dias, sendo influenciado principalmente pela temperatura. Particularmente a fêmea do *Aedes aegypti* deposita os ovos nas paredes de pequenos artefatos que acumulam água (Natal, 2002), o que possibilita o fácil encontro de locais adequados para a criação na convivência próxima ao homem. Esses ovos ficam aderidos na parede dos recipientes e podem resistir a dessecação por até um ano e meio. Uma vez que entrem em contato com a água inicia-se a fase aquática do desenvolvimento (Prezoto, 2016).

O *Aedes aegypti*, vetor de quatro sorotipos do flavivírus, Dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela, precisa de água parada para se proliferar. O período do ano com maior transmissão são os meses mais chuvosos de cada região (Brasil, 2019). O método utilizado para combater o *Aedes aegypti* no Brasil, vem sendo o uso de inseticidas sintéticos, o que gerou mosquitos resistentes (Lima et al., 2003). Desta forma, este estudo objetivou caracterizar quimicamente, quantificar o teor de fenólicos totais, avaliar a toxicidade e a atividade larvicida do OE extraído das cascas do fruto de *H. courbaril* L.

## **2. Metodologia**

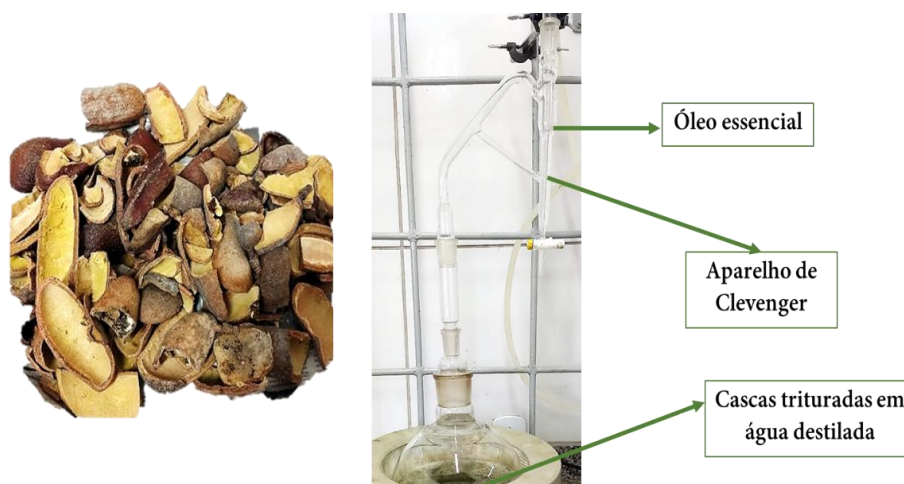
### **2.1. Material Botânico**

A coleta do material vegetal utilizado nesta pesquisa foi realizada em outubro de 2019, em um único lote. Esse material foi coletado na região de Palmeiras - MA. As cascas do fruto foram identificadas pelo Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão, sob o registro de nº1079. Após a coleta, a espécie vegetal foi transportada para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV-UFMA), onde foi submetido à estufa de secagem de ar convectiva a 45 °C por 24 horas, e posteriormente, triturada em moinho de facas.

## 2.2. Obtenção do OE a partir das cascas coletadas

As cascas dos frutos de *H. courbaril* (jatobá) foram coletadas e transportadas para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secas em temperatura ambiente, trituradas e armazenadas para extração do OE. Para extração dos OE's, utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor (Figura 1). Foram utilizadas 120g das cascas *H. courbaril*, adicionando-se água destilada (1:10).

**Figura 1.** Esquema experimental de obtenção do OE.



Fonte: Autor (2020)

A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o OE extraído. Cada OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C obtendo-se rendimento médio de 0,46%. Posteriormente submetido as análises.

## 2.3. Análises dos constituintes químicos

Os constituintes dos OE's foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) no Núcleo de Combustíveis, Catálise e Ambiental (NCCA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000  $\mu\text{L}$  de diclorometano (pureza 99,9%). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3  $\mu\text{L}$ ; Coluna : Capilar HP-5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano ) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; Injetor: 280  $^{\circ}\text{C}$ , modo Split (1:10); Forno : 40  $^{\circ}\text{C}$  (5,0 min.) até 240  $^{\circ}\text{C}$  numa taxa de 4  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , de 240  $^{\circ}\text{C}$  até 300  $^{\circ}\text{C}$  (7,5 min) numa taxa de 8  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  );  $t_{\text{R}}$  = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg  $\text{scan}^{-1}$ ); Faixa de massas: 40 – 500 daltons (uma); Linha transferência: 280  $^{\circ}\text{C}$ .; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

#### **2.4. Fenólicos totais**

A determinação dos compostos fenólicos totais do OE foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002). Utilizou-se 5 mg do OE diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 3 mL de água destilada, 500  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50  $^{\circ}\text{C}$  por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm. A curva padrão foi expressa em  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ácido tânico.

#### **2.5. Atividade Antioxidante**

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sulfônico)], de acordo com a metodologia sugerida por Re et al. (1999). O radical  $\text{ABTS}\cdot^{+}$  foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução de 3840  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de ABTS com 88  $\mu\text{L}$  da solução de persulfato de potássio de 37.840  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , a mistura foi deixada em um ambiente escuro por 16 horas. Após formação radical, a mistura foi diluída em etanol até a absorção de  $0,7\pm 0,01$  a 734 nm.

A partir das concentrações dos OE's (5 a 150  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. Em um ambiente escuro, uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada concentração do OE foi transferida em tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical



ABTS e homogeneizada em um agitador de tubos e após 6 minutos a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 734 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da reação radical ABTS de acordo com a Equação 1 (Babili et al., 2011), onde  $ABS_{ABTS}$  representa a absorção da solução radical ABTS e  $ABS_{AM}$  representa a absorção de a amostra.

$$\%InibiçãoABTS = \frac{ABS_{ABTS} - ABS_{AM}}{ABS_{ABTS}} * 100 \quad \text{Eq. 01}$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes  $CE_{50}$  e  $CE_{90}$ , definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais abts. O OE é considerado ativo quando apresenta  $CE_{50} < 500 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Campos et al., 2003).

## 2.6. Toxicidade

Este teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Em um recipiente retangular, com uma divisória contendo orifícios de aproximadamente 0,02 cm de espessura espaçados por 0,5 cm e distribuídos uniformemente, foram adicionadas soluções salinas artificiais (60 g  $\text{L}^{-1}$  de água destilada) (60 g de sal marinho/1L de água destilada). O recipiente foi colocado dentro de uma incubadora iluminada por uma lâmpada fluorescente, com aeração.

De um lado deste recipiente, foram adicionados cerca de 64 mg de cistos *Artemia salina*, tendo em vista que eles não cruzaram a divisória. A parte do sistema contendo cistos de *Artemia salina* foi coberta com papel alumínio, de modo que os organismos, ao nascer, foram atraídos pela luz do outro lado do sistema, forçando-os a atravessar a partição. Este procedimento visa homogeneizar as condições físicas dos organismos de teste. A incubação foi realizada por um período de 48h. Durante todo o teste a temperatura foi monitorada.

Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque de cada OE na concentração de  $10.000 \text{ mg L}^{-1}$  e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Aliquotas de 5, 50 e 500  $\mu\text{L}$  desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio.

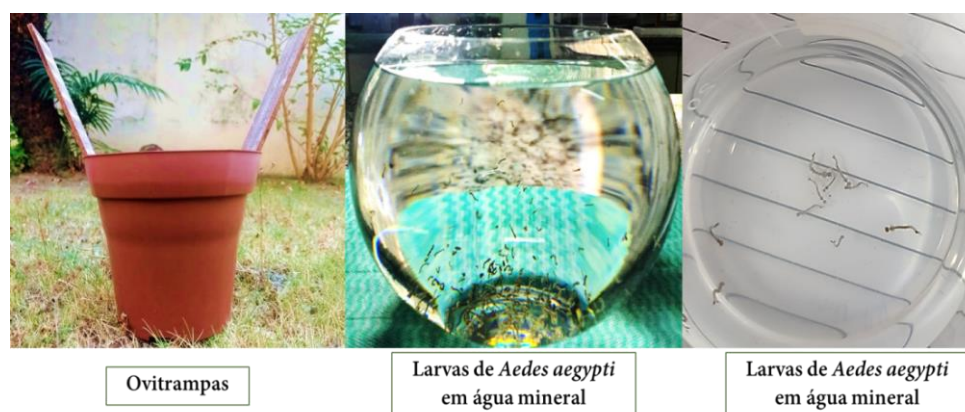
Para o controle do branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo  $K_2Cr_2O_7$  e para o controle negativo 5 mL de uma solução  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de Tween 80. Após 24 horas de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade do OE, sendo considerado altamente tóxico quando  $CL_{50} \leq 80 \text{ mg L}^{-1}$ , moderadamente tóxico para  $80 \text{ mg L}^{-1} \leq CL_{50} \leq 250 \text{ mg L}^{-1}$  e levemente tóxico ou atóxico quando  $CL_{50} \geq 250 \text{ mg L}^{-1}$ .

## 2.7. Atividade Larvicida

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas (Figura 2).

**Figura 2.** Obtenção das larvas de *Aedes aegypti*.



Fonte: Autor (2020)

Estas consistem de baldes marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV-UFMA) da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral como apresentado na Figura 2. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini(1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva (1995) até atingirem o terceiro estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

Os ensaios para atividade larvívica foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (W. J. d. Silva, 2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L<sup>-1</sup> do OE diluída em solução de dimetilsulfóxido 2% (DMSO). Desta solução, foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 100 mg L<sup>-1</sup>. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL/larva. Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 10%, e como controle positivo, uma solução de temefós (O,O,O',O'- tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno bis (fosforotioato) a 100 ppm, equivalente a concentração utilizada pela fundação nacional de saúde (Funasa) para o controle larvívica do vetor, além do Novaluron ( $\pm$ -1-[3-cloro-4-(1-1-3-trifluoro-2-trifluorometoxyethoxy) phenyl]3-(2,6-difluorobenzoyl) urea a 0,02 mg/L, dose adotada pelo ministério da Saúde, que indica pelo OMS no intervalo de 0,01 a 0,05mg/L.

Após 24h foram realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo que foram consideradas mortas, as larvas que não reagiram ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência do OE foi aplicado o teste estatístico de Reed & Muench (Lj & Muench, 1938) com cálculo do intervalo de confiança por Pizzi (1950).

### **3. Resultados e Discussão**

#### **3.1. Constituintes químicos**

A Tabela 1 apresenta os 25 constituintes químicos identificados no OE de *H. courbaril*.

**Tabela 1.** Constituintes químicos identificados no OE de *H. courbaril*.

Picos	RT (min)	Compostos	Classe	%Teor
1	6,697	(E)-2-hexenal	Monoterpeno	0,90
2	6,760	(Z)-hex-3-en-1-ol	Monoterpeno	0,44
<b>3</b>	<b>8,823</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	Monoterpeno	<b>12,33</b>
4	9,196	canfeno	Monoterpeno	4,31
<b>5</b>	<b>9,843</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	Monoterpeno	<b>11,79</b>
<b>6</b>	<b>10,118</b>	<b><math>\beta</math>-myrceno</b>	Monoterpeno	<b>11,38</b>
7	10,427	(E) 3-hexen-1-ol	Monoterpeno	0,08
8	10,816	o-cimeno	Monoterpeno	3,36
<b>9</b>	<b>10,925</b>	<b>d-limoneno</b>	Monoterpeno	<b>13,51</b>
10	10,976	eucaliptol	Monoterpeno	0,20
<b>11</b>	<b>11,085</b>	<b><math>\beta</math>-ocimeno</b>	Monoterpeno	<b>23,33</b>
<b>12</b>	<b>11,261</b>	<b><math>\beta</math>-cis-ocimeno</b>	Monoterpeno	<b>10,59</b>
13	11,466	$\gamma$ -terpineno	Monoterpeno	0,20
14	11,745	$\alpha$ -pineno epóxido	Monoterpeno	0,36
15	11,958	$\delta$ -careno	Monoterpeno	0,56
16	12,122	$\alpha$ -pineno oxido	Monoterpeno	0,26
17	12,207	linalol	Monoterpeno	0,25
18	12,576	2-fencanol	Monoterpeno	0,14
19	12,706	1-noneno-3-ino	Monoterpeno	0,20
20	12,875	oxirano	Monoterpeno	0,17
21	13,201	canfenilanol	Monoterpeno	0,15
22	13,596	p-ment-1-en-4-ol	Monoterpeno	0,16
23	13,826	$\alpha$ -terpineol	Monoterpeno	1,56
24	14,173	acetato de fenila	Monoterpeno	0,48
25	15,179	borneol	Monoterpeno	0,63

Fonte: Autor (2020)

Sales(2015) analisaram a composição química do OE de *H. courbaril* a partir das cascas secas e trituradas dos frutos maduros e encontraram 28 constituintes químicos, sendo os majoritários: Germacreno-D (17,61%), (Z)- $\beta$ -cariofileno (17,56%), Óxido de cariofileno (14,65%) e  $\alpha$ -copaeno (8,46%).

Mercês(2015) avaliaram a composição química do OE dos frutos de *H. courbaril*, encontrando os seguintes componentes químicos majoritários:  $\beta$ -cariofileno (43,7%) e o óxido de cariofileno (11,9%). As propriedades biológicas do OE de *H. courbaril* podem estar associadas à alta concentração de monoterpenos hidrocarbonados, especialmente o  $\beta$ -cariofileno.

Mercês et al. (2018), verificaram as análises cromatográficas realizadas em CG/EM do OE das folhas de Jatobá, foi possível detectar 36 compostos, 26 foram identificados, representando 76,03% dos constituintes do OE. A análise revelou o óxido de cariofileno e  $\beta$ -cariofileno como compostos majoritários do OE desta espécie 20,63% e 16,78%, respectivamente.

Segundo Pereira et al. (2007), a composição do OE de uma espécie desta planta está relacionada a aspectos ambientais, tais como: o ciclo vegetativo da planta; o processo de obtenção do OE; o ambiente no qual a espécie se desenvolve, o tipo de cultivo, a temperatura, umidade relativa, a quantidade de água e os nutrientes no terreno, entre outros. Essa dependência da composição do OE das condições ambientais pode ser verificada ao se comparar a composição e o rendimento de óleos essenciais extraídos em diferentes locais e partes de planta.

### 3.2. Toxicidade

Na Tabela 2 é apresentada a  $CL_{50}$  referente a ação do OE *H. courbaril* L. frente a *Artemia salina* L. e sua posterior classificação segundo o critério de Dollabela (1997).

**Tabela 2.** Toxicidade do OE.

Concentração mg L <sup>-1</sup>	% Mortalidade	CL <sub>50</sub>	Classificação
1000	60		
100	30	354,8 ± 2,02 mg L <sup>-1</sup>	Atóxico (potencial de aplicação incentivado)
10	10		

Fonte: Autor (2020)

O OE analisado apresentou valor de  $CL_{50} \geq 250$  mg L<sup>-1</sup>, indicando assim, ser atóxico de acordo com a metodologia de referência utilizada para o teste (Dolabela, 1997). Não tendo na literatura toxicidade frente *Artemia salina* L. do OE de *H. courbaril* L. para fins comparativos.

Em geral, os compostos bioativos são tóxicos às larvas de *A. salina*. Assim, a letalidade a este microcrustáceo pode ser utilizada como um teste preliminar rápido e simples durante o isolamento de produtos naturais (Choudhary&Thomsen, 2001). A toxicidade de

uma planta é tida como a capacidade do produto estudado causar algum desequilíbrio, um dano grave ou mesmo levar a morte(Alves et al., 2015). Ensaio com produtos naturais têm revelado atividades biológicas relevantes. Um ensaio que pode demonstra tais atividades é o bioensaio utilizando *Artemia salina*. Existem inúmeras vantagens em se utilizar o mini crustáceo em ensaios científicos, as principais delas incluem o baixo custo, rapidez, fácil manutenção e a utilização de pouca amostra(Seyfried, 2017).

Em geral, os compostos bioativos são tóxicos às larvas de *A. salina*. Assim, a letalidade a este microcrustáceo pode ser utilizada como um teste preliminar rápido e simples durante o isolamento de produtos naturais(Choudhary & Thomsen, 2001).

### 3.3. Fenólicos totais e atividade antioxidante

A quantidade de fenólicos totais encontrada no OE em estudo foi de 490,353 mg EAT g<sup>-1</sup>. Observa-se na Tabela 3 que o OE de *H. courbaril* foi capaz de inibir 50% dos radicais livres numa concentração de 10,12 µg mL<sup>-1</sup> e pelo critério apresentado no procedimento metodológico, tal concentração classifica o OE como potencialmente de forte inibição.

**Tabela 3.** Capacidade antioxidante do OE.

ABTS CE <sub>50</sub> /IC <sub>50</sub>	ABTS CE <sub>90</sub> /IC <sub>90</sub>	%Inibição máxima
10,12 µg mL <sup>-1</sup>	20,70 µg mL <sup>-1</sup>	99,10%

Fonte: Autor (2020)

A quantidade de fenólicos totais encontrada no OE em estudo foi de 490,353 mg EAT g<sup>-1</sup>. O valor encontrado por Veggi et al. (2014) foi de 335,0 mg EAT g<sup>-1</sup> mostrando que o resultado encontrado no estudo está de acordo com a literatura. Os compostos fenólicos estão relacionados com a quantidade de antioxidantes das plantas, por isso a quantificação dos mesmos é importante(Silva et al., 2010).

Estes compostos englobam moléculas simples e também moléculas com alta polimerização, presentes em vegetais na forma livre ou ligados a açúcares ou proteínas. Já foram encontrados mais de 8000 tipos diferentes em plantas e estão classificados em pouco ou altamente distribuídos na natureza. Dentre os de pouca distribuição estão os fenóis simples, o pirocatecol, a hidroquinona, o resorcinol, taninos, lignina e também aldeídos derivados de ácidos benzóicos que estão presente em alguns óleos essenciais. No grupo dos altamente

distribuídos estão os flavonóides e derivados e os ácidos fenólicos e cumarinas (Silva et al., 2010; Soares, 2002).

Estes compostos agem como antioxidantes, pois além de fornecerem elétrons ou hidrogênio, também ocorre a formação de radicais intermediários estáveis durante a reação com os radicais livres. São caracterizados como moléculas que possuem anel benzênico ligado a um ou mais grupos hidroxila (Barreiros et al., 2006; Jardini, 2010; Silva et al., 2010).

Vecanto et al. (2016) ao analisarem o potencial antioxidante dos extratos aquosos das cascas de *H. courbaril* observou atividade com  $IC_{50} = 33,97 \pm 0,55 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Veras et al. (2020) analisaram o OE da *Hymenaea cangaceira* e observaram seus resultados para atividade antioxidante com  $IC_{50}$  variando de  $127,51 \pm 0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$  a  $467,29 \pm 0,12 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Farias et al. (2013) avaliaram o extrato das sementes de *H. courbaril* encontrando a  $IC_{50} 247,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Agentes antioxidantes reduzem o estresse oxidativo um dos principais mecanismos envolvidos na patogênese e progressão de doenças crônicas como câncer, doenças cardiovasculares e inflamatórias (Krishnaiah et al., 2011). Nesse sentido, as indicações de uso popular das cascas de *H. courbaril* para tratar processos inflamatórios, úlceras, artrite e reumatismo (Fernandes et al., 2015; Jayaprakasam et al., 2007) parecem estar ligadas ao seu potencial antioxidante e a sua constituição química.

### **3.4. Atividade Larvicida**

A atividade larvicida do OE da *H. courbaril* L. com os dados obtidos referentes ao número de larvas vivas e de larvas mortas foram encontrados através de uma média das três repetições para cada uma das seis concentrações testadas.

A concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  do OE da *H. courbaril* L. apresentou uma baixa atividade larvicida, matando 5 larvas e correspondendo a 50% de mortalidade. A concentração de  $30 \text{ mg L}^{-1}$  apresentou uma mortalidade de 80%. A partir da concentração de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  do OE a atividade larvicida começou a crescer exponencialmente, até chegar na concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , onde ocasionou a morte de 100% das larvas. A  $CL_{50}$  para o OE de *H. courbaril* L. foi calculada através da interseção das curvas de indivíduos acumulados vivos e indivíduos acumulados mortos da Tabela 6, tendo como resultado a  $CL_{50}$  de  $16,60 \text{ mg L}^{-1}$  com um intervalo de confiança de  $3,20 \text{ mg L}^{-1}$  apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Concentração Letal 50% e 90% para ação do OE frente ao *Aedes aegypti*.

Concentração mg L <sup>-1</sup>	%Mortalidade	CL <sub>50</sub>	CL <sub>90</sub>	Classificação
100	100			
70	90			
50	80	16,60 ±	69,18 ±	Eficiente
30	70	3,20 mg L <sup>-1</sup>	3,20 mg L <sup>-1</sup>	(potencial de aplicação incentivado)
20	70			
10	50			

Fonte: Autor (2020)

A CL<sub>50</sub> obtida qualifica o OE como um agente larvicida em potencial Cheng et al. (2003), que considera bons agentes larvicidas as substâncias com valor de CL<sub>50</sub> inferior a 100 mg L<sup>-1</sup>. De acordo com a literatura, Aguiar et al. (2010), o valor da CL<sub>50</sub> foi de 14,8 ± 0,4 mg L<sup>-1</sup>, podendo ser considerado semelhantes ao do estudo. Estudos apontam que os componentes terpênicos, álcoois e aldeídos dos OE's são responsáveis pela atividade inseticida ou larvicida contra o *Aedes aegypti* (Leite et al., 2009; Lima et al., 2009; Lucia et al., 2007).

Diversas substâncias extraídas da casca, do caule, das folhas e dos frutos de diversos vegetais têm demonstrado propriedades larvicidas e de repelência no controle de diversos culicídeos, em especial para o *Aedes aegypti* (Silva Jr et al., 2002; Kaushik&Saini, 2008; Bagavan & Rahuman; Sivakumar et al., 2011; El-Sheikh et al., 2012).

De acordo com Aguiar et al. (2010) a composição química do OE das cascas dos frutos de *H. courbaril* L. é constituída por sesquiterpenos que representam 86,1% do OE. Na amostra os autores identificaram  $\alpha$ - copaeno (11,1%), espatulenol (10,1%),  $\beta$  - selineno (8,2%),  $\gamma$ muurolene (7,9%) e óxido de cariofileno (6,9%) como os conculuintes majoritários da amostra. A estes são atribuídas as propriedades larvicidas para o OE em estudo. A ação observada também pode ser justificada pela maior concentração de sesquiterpenos oxigenados (28,6%), principalmente espatulenol, presente no OE a partir das cascas do fruto (Aguiar et al., 2010).



#### 4. Considerações Finais

O OE de *H. courbaril* L. apresentou atividade larvicida eficiente contra as larvas de *Aedes aegypti*. onde o critério utilizado considera bons agentes larvicidas as substâncias com valor de  $CL_{50}$  inferior a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . Evidenciando, assim a sua potencialidade e sendo uma alternativa no controle das larvas de *Aedes aegypti*. A toxicidade frente *Artemia salina* L. do OE apresentou uma  $CL_{50}$  de  $354,8 \text{ mg L}^{-1}$  de acordo com o descrito na literatura, sendo este classificado como atóxico pelo critério utilizado. É preciso que se conheça não somente as propriedades biológicas dos produtos naturais, mas também os seus respectivos potenciais tóxicos para se possa aplicá-los de modo seguro.

#### Referências

- Agarez, F. V., Rizzini, C., & Pereira, C. (1994). Taxonomia, morfologia e reprodução dos angiospermae: chaves para determinação das famílias: Rio de Janeiro: Âmbito Cultural.
- Aguiar, J. C. D., Santiago, G. M., Lavor, P. L., Veras, H. N., Ferreira, Y. S., Lima, M. A., De Jesus, H. C. (2010). Chemical constituents and larvicidal activity of *Hymenaea courbaril* fruit peel. *Natural Product Communications*, 5(12), 1934578X1000501231.
- Alves, W. F., Souza, M. C. d., Almeida, A. N. S., Oliveira, S. S. d., & Ribeiro, I. L. R. (2015). Características físico-químicas de óleos essenciais de plantas da região do Vale do Juruá. *Enciclopédia Biosfera*, 11(22), 534-546.
- Babili, F. E., Bouajila, J., Souchard, J. P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., Valentin, A. (2011). Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of food science*, 76(3), C512-C518.
- Bagavan, A., & Rahuman, A. A. (2011). Evaluation of larvicidal activity of medicinal plant extracts against three mosquito vectors. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(1), 29-34.
- Barreiros, A. L., David, J. M., & David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química nova*, 29(1), 113-123.

Bond, L. (2019). Casos de dengue aumentam 600% no Brasil em um ano. Retrieved from <http://desacato.info/casos-de-dengue-aumentam-600-no-brasil-em-um-ano/>

Brasil, M. S. (2019). Combate ao Aedes Aegypti: prevenção e controle da Dengue, Chikungunya e Zika.. Retrieved from <http://saude.gov.br/saude-de-az/aedes-aegypti>

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.

Cheng, S.-S., Chang, H.-T., Chang, S.-T., Tsai, K.-H., & Chen, W.-J. (2003). Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Bioresource Technology*, 89(1), 99-102.

Choudhary, M. I., & Thomsen, W. J. (2001). *Bioassay techniques for drug development*: CRC Press.

Costa, A. G. (2008). Desenvolvimento vegetal, rendimento e composição do óleo essencial de patchouli após adubação nitrogenada.

Costa, J. d. A., Gonzalez, J. C., Camargos, J. A. A., & Gomes, I. A. S. (2011). Fotodegradação de duas espécies de madeiras tropicais: jatobá (*Hymenaea courbaril*) e tauari (*Couratari oblongifolia*) submetidas à radiação ultravioleta. *Cerne*, 17(1), 133-139.

Cunha, A., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Cunha, A. (2005). Fármacos aromáticos (plantas aromáticas e óleos essenciais). *Farmacognosia e fitoquímica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian*, 339-401.

das Mercês, P. F. F., da Silva-Bessa, C. M. A., Malafaia, C. B., de Câmara, C. A. G., Da Silva, M. M. C., Navarro, D. M. d. A. F., Oliva, M. L. V. (2018). Caracterização fitoquímica e avaliação do potencial acaricida e inseticida do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* L. var. *courbaril* sobre o ácaro-rajado e o gorgulho do milho. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 3(4), 417-428.

de Farias, D. C., Mata, M. E. R. C., Duarte, M. E. M., & Lima, A. K. V. d. O. (2006). Qualidade Fisiológica De Sementes De Jatobá Submetidas A Diferentes Temperaturas Criogênicas.

de Veras, B. O., de Oliveira, M. B. M., da Silva Oliveira, F. G., dos Santos, Y. Q., de Oliveira, J. R. S., de Menezes Lima, V. L., dos Santos Aguiar, J. (2020). Chemical composition and evaluation of the antinociceptive, antioxidant and antimicrobial effects of essential oil from *Hymenaea cangaceira* (Pinto, Mansano & Azevedo) native to Brazil: A natural medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 247, 112265.

Dolabela, M. (1997). Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. *Master's Degree dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.*

El-Sheikh, T. M., Bosly, H. A., & Shalaby, N. (2012). Insecticidal and repellent activities of methanolic extract of *Tribulus terrestris* L.(Zygophyllaceae) against the malarial vector *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 5(2), 13-22.

Farias, D. F., Souza, T. M., Viana, M. P., Soares, B. M., Cunha, A. P., Vasconcelos, I. M., Carvalho, A. F. U. (2013). Antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase activities of plant seed extracts from Brazilian semiarid region. *BioMed Research International*, 2013.

Fernandes, H. P., Sinhorin, A. P., Sinhorin, V. D. G., Junior, G. M. V., Silva, V. C., & de Carvalho, M. G. (2015). New glycosylated biscoumarins from *Hymenaea coubaril* L. seeds. *Phytochemistry Letters*, 13, 413-416.

Forattini, O. (1962). *Entomologia medica vol. I Faculdade de Higiene e Saude Publica. Sao Paulo, Brazil. pp.*

Gadelha, D., & Toda, A. (1985). Biologia e comportamento de *Aedes aegypti*. *Revista Brasileira de Malariologia e doenças tropicais*, 37, 29-36.

Jardini, F. A. (2010). *Atividade dos compostos fenólicos antioxidantes da romã (Púnica granatum, L.)--avaliação in vivo e em culturas de células*. Universidade de São Paulo.

Jayaprakasam, B., Alexander-Lindo, R. L., DeWitt, D. L., & Nair, M. G. (2007). Terpenoids from Stinking toe (*Hymenae courbaril*) fruits with cyclooxygenase and lipid peroxidation inhibitory activities. *Food chemistry*, 105(2), 485-490.

Kaushik, R., & Saini, P. (2008). Larvicidal activity of leaf extract of *Millingtonia hortensis* (Family: Bignoniaceae) against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Journal of vector borne diseases*, 45(1), 66.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3), 217-233.

Leite, A. M., Lima, E. d. O., Souza, E. L. d., Diniz, M. d. F., Leite, S. P., Xavier, A. L., & Medeiros, I. A. d. (2009). Preliminary study of the molluscicidal and larvicidal properties of some essential oils and phytochemicals from medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(4), 842-846.

Lemos, T., Matos, F. d. A., Alencar, J., Craveiro, A., Clark, A., & McChesney, J. (1990). Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytotherapy Research*, 4(2), 82-84.

Lima, J. B. P., Da-Cunha, M. P., Júnior, R. C. D. S., Galardo, A. K. R., Soares, S. D. S., Braga, I. A., Valle, D. (2003). 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*, 68(3), 329-333.

Lima, R. K., Cardoso, M. G., Moraes, J. C., Melo, B. A., Rodrigues, V. G., & Guimarães, P. L. (2009). Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). *Acta amazônica*, 39(2), 377-382.

Lj, R., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American J. Hyg*, 27, 493-497.

Lorenzetti, E., Monteiro, F., Souza, P., Souza, R., Scalice, H., Diogo Jr, R., & Pires, M. (2011). Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 13(SPE), 619-627.

Lorenzi, H. (2002). Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil, vol. 1/Harri Lorenzi. *Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum*.

Lorenzi, H., & Matos, F. J. (2002). *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*.

Lucia, A., Audino, P. G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., & Masuh, H. (2007). Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 299-303.

Marzochi, K. B. F. (1994). Dengue in Brazil-situation, transmission and control: a proposal for ecological control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89(2), 235-245.

Melo, N., & Pólo, M. (2007). *Sobrevivência e Germinação de sementes de Hymenaea courbaril L*. Paper presented at the Congresso de ecologia do Brasil.

Mercês, P. F. F. d. (2015). *Variação da composição química e da atividade antifitopatogênica dos óleos essenciais das folhas e frutos de Hymenaea courbaril L. var. courbaril (Fabaceae) coletadas em área de extrema importância biológica para a conservação*. Universidade Federal de Pernambuco.

Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D. j., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.

Natal, D. (2002). Bioecologia do *Aedes aegypti*. *Biológico*, 64(2), 205-207.

Nelson, M. J. (1986). *Aedes aegypti*: biología y ecología.

Oliveira, P. R. A. d. (2006). Plantas Mediciniais: aprendendo tecnicamente: do plantio ao uso adequado as 100 plantas medicinalmente mais importante. *Gráfica Elisa*, 163.

Pereira, Á. I. S., Pereira, A. d. G. S., Lopes Sobrinho, O. P., Cantanhede, E. d. K. P., & Siqueira, L. F. S. (2014). Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. *Educación química*, 25(4), 446-449.

Pereira, C. K., Rodrigues, F., Mota, M., Sousa, E., Leite, G., Barros, A., Costa, J. (2007). Composição química, atividade antimicrobiana e toxicidade do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* (jatobá). *30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. QUÍMICA, SBD Águas de Lindoia-SP*.

Pizzi, M. (1950). Sampling variation of the fifty per cent end-point, determined by the ReedMuench (Behrens) method. *Human biology*, 22(3), 151-190.

Prezoto, F. (2016). *Aedes aegypti*: aspectos científicos e diálogo com universitários. *CES Revista*, 30(1), 267-271.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Sales, G. W. P., Batista, A. H. d. M., Rocha, L. Q., & Nogueira, N. A. P. (2015). Efeito antimicrobiano e modulador do óleo essencial extraído da casca de frutos da *Hymenaea courbaril* L. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 35(4).

Seyfried, M. (2017). Triagem da atividade antitumoral de extratos vegetais utilizando ensaios de toxicidade in vivo sobre *Artemia salina* e in vitro sobre células da linhagem HeLa.

Silva, H. H. G. d., Silva, I. G. d., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de *aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(diptera, culicidae).

Silva Jr, J. B. d., Siqueira Jr, J. B., Coelho, G. E., Vilarinhos, P. T., & Pimenta Jr, F. G. (2002). Dengue in Brazil: current situation and prevention and control activities.

Silva, M. L. C., Costa, R. S., dos Santos Santana, A., & Koblitz, M. G. B. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 669-681.

Silva, W. J. d. (2006). Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.

Sivakumar, R., Jebanesan, A., Govindarajan, M., & Rajasekar, P. (2011). Larvicidal and repellent activity of tetradecanoic acid against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(9), 706-710.

Soares, S. E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de nutrição*, 15(1), 71-81.

Sousa, E., Silva, L., Sousa, F., Ferraz, R., & Façanha, L. (2012). Caracterização físico-química da polpa farinácea e semente do jatobá. *Revista Verde, Campina Grande*, 7(2), 117-121.

Tauil, P. L. (2002). Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(3), 867-871.

Veggi, P. C., Prado, J. M., Bataglioni, G. A., Eberlin, M. N., & Meireles, M. A. A. (2014). Obtaining phenolic compounds from jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) bark by supercritical fluid extraction. *the Journal of supercritical fluids*, 89, 68-77.

Veloso, H. P., Rangel-Filho, A. L. R., & Lima, J. C. A. (1991). *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*: Ibge.

Vencato, S. B., Lemes, M. L. B., de Sousa Campelo, D., Corrêa, D. S., & Ferraz, A. d. B. F. (2016). avaliação do perfil fitoquímico e potencial antioxidante do extrato aquoso de *HYMENAEA COURBARIL*. *Revista de Iniciação Científica da ULBRA*(14).

Waterhouse, A. L. (2002). Wine phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 21-36.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Gustavo Oliveira Everton – 40%

Nilton Silva Costa Mafra -7,5%

Everton Holanda Sales –7,5%

Paulo Victor Serra Rosa -7,5%

Wilma Karlla dos Santos Farias – 3,75%

Feliciano Santos Pinheiro - 3,75%

Maria Gizelda Gomes Lages - 3,75%

Monyka Brito Lima Dos Santos - 3,75%

Jean Carlos Rodrigues da Cunha -3,75%

Ari Pereira de Araújo Neto -3,75%

Andressa Almeida Santana Dias -3,75%

Ricardo Victor Seguins Duarte - 3,75%

Victor Elias Mouchrek Filho – 7,5%