

ATIVIDADE LARVICIDA CONTRA *Aedes aegypti* E TOXICIDADE PRELIMINAR CONTRA *Artemia salina* L. DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Monteverdia evonymoides* (REISSEK) BIRAL

Recebido em: 14/08/2023

Aceito em: 13/09/2023

DOI: 10.25110/arqsaude.v27i9.2023-005

Cíntia Aparecida dos Anjos¹
Elisiane de Bona Sartor²
Karine Amorim Fladzinski³
Fernando Cesar Martins Betim⁴
Camila Freitas de Oliveira⁵
Luciane Dalarmi⁶
Deise Prehs Montrucchio⁷
Obdulio Gomes Miguel⁸
Josiane de Fátima Gaspari Dias⁹
Marilis Dallarmi Miguel¹⁰

RESUMO: *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) é o principal vetor das arbovirose dengue, zika, chikungunya e febre amarela. A busca por inseticidas naturais para combater o mosquito ganha destaque nos países de clima tropical. Considerando a atividade larvicida presente no gênero *Monteverdia* o objetivo do estudo foi avaliar o potencial larvicida dos extratos e frações da espécie *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral. O material vegetal (folhas e galhos) foi seco a temperatura ambiente, foi moído e submetido a extração em Soxhlet modificado. A toxicidade foi avaliada por meio do bioensaio com *Artemia salina* L. As larvas de *Aedes aegypti* foram expostas nas concentrações 10, 100, 500 e 1000 µg.mL⁻¹. Após 24H foi realizada a leitura da

¹ Graduanda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: cintia08anjos@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5716-8646>

² Graduanda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: elisartor@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4303-916X>

³ Graduanda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: karinefladzinski@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4346-8079>

⁴ Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: fernandobetim@hotmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1668-8626>

⁵ Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: camilafreoli@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8549-5182>

⁶ Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: lucianedalarmi@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8217-2487>

⁷ Doutora em Farmacologia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: deisepm@yahoo.com.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1440-7007>

⁸ Doutor em Química. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: obdulio@ufpr.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2231-9130>

⁹ Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: josianefgdias@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8548-8505>

¹⁰ Doutora em Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: marilisdmiguel@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1126-9211>

mortalidade (CL_{50}) e submetido método estatístico Probit. As amostras não apresentaram toxicidade frente a *Artemia salina* L. ($>1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e apresentaram potencial larvicida no controle de larvas de terceiro estágio, com $CL_{50} >200 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Os extratos de *M. Evonymoides* são seguros e apresentaram potencial larvicida contra larvas do mosquito. **PALAVRAS-CHAVE:** *Monteverdia Evonymoides*; Potencial Larvicida; *Aedes Aegypti*; Dengue; *Artemia Salina* L.

LARVICIDAL ACTIVITY AGAINST *Aedes Aegypti* AND PRELIMINARY TOXICITY AGAINST *ARTEMIA SALINA* L. OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF *MONTEVERDIA EVONYMOIDES* (REISSEK) BIRAL.

ABSTRACT: *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) is the main vector of arboviruses dengue, zika, chikungunya and yellow fever. The search for natural insecticides to combat the mosquito is highlighted in countries with a tropical climate. Considering the larvicidal activity present in the genus *Monteverdia*, the objective of the study was to evaluate the larvicidal potential of extracts and fractions of the species *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral. The plant material (leaves and branches) was dried at room temperature, ground and subjected to extraction in modified Soxhlet. Toxicity was evaluated by bioassay with *Artemia salina* L. *Aedes aegypti* larvae were exposed to concentrations of 10, 100, 500 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. After 24 hours, the mortality reading (CL_{50}) was performed and the Probit statistical method was submitted. The samples did not show toxicity against *Artemia salina* L. ($>1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) and showed potential larval life in the control of third-stage larvae, with $CL_{50} >200 \mu\text{g.mL}^{-1}$. *M. Evonymoides* extracts are safe and showed larvicidal potential against mosquito larvae.

KEYWORDS: *Monteverdia Evonymoides*; Larvicidal Potential; *Aedes Aegypti*; Dengue; *Artemia Salina* L.

ACTIVIDAD LARVICIDA CONTRA *Aedes Aegypti* Y TOXICIDAD PRELIMINAR CONTRA *ARTEMIA SALINA* L. DE EXTRACTOS Y FRACCIONES DE *MONTEVERDIA EVONYMOIDES* (REISSEK) BIRAL.

RESUMEN: *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) es el principal vector de los arbovirus dengue, zika, chikungunya y fiebre amarilla. Se destaca la búsqueda de insecticidas naturales para combatir el mosquito en países con clima tropical. Considerando la actividad larvicida presente en el género *Monteverdia*, el objetivo del estudio fue evaluar el potencial larvicida de extractos y fracciones de la especie *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral. El material vegetal (hojas y ramas) fue secado a temperatura ambiente, molido y sometido a extracción en Soxhlet modificado. La toxicidad se evaluó mediante el bioensayo con *Artemia salina* L. Se expusieron larvas de *Aedes aegypti* a concentraciones de 10, 100, 500 y 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A las 24 horas se realizó la lectura de mortalidad (CL_{50}) y se sometió al método estadístico Probit. Las muestras no presentaron toxicidad contra *Artemia salina* L. ($>1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) y mostraron potencial de vida larvaria en el control de larvas de tercer estadio, con $CL_{50} >200 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Los extractos de *M. Evonymoides* son seguros y mostraron potencial larvicida contra las larvas de mosquitos.

PALABRAS CLAVE: *Monteverdia Evonymoides*; Potencial Larvicida; *Aedes Aegypti*; Dengue; *Artemia Salina* L.

1. INTRODUÇÃO

Dentre as doenças ocasionadas pelo mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) destacam-se dengue, zika, chikungunya e febre amarela. Responsável pela transmissão de diferentes vírus causadores de doenças, também pode ocasionar distúrbios decorrentes de infecções virais, incluindo microcefalia e síndrome de Guillain-Barré (CARNEIRO et al., 2021). Estima-se, que no mundo, um milhão de pessoas são afetadas por doenças transmitidas pelo mosquito todos os anos, e no clima tropical, a incidência é mais pronunciada (CARNEIRO et al., 2021; GARCEZ et al., 2009). No Brasil, devido as condições climáticas (calor e chuvas) é comum acontecer aumento de casos em determinadas épocas do ano e o controle do mosquito se faz necessário (GARCEZ et al., 2009).

O uso frequente de inseticidas sintéticos está relacionado substancialmente a fitotoxicidade, o envenenamento humano e o surgimento de insetos resistentes (BETIM et al., 2020; CARVALHO et al., 2009). As plantas sintetizam através do seu metabolismo produtos que apresentam atividade larvicida, propriedades que podem apresentar aplicabilidade no desenvolvimento de bioinseticidas, controle dos vetores e consequentemente controle das arboviroses (BETIM et al., 2019; FUJIWARA et al., 2017). Além disso, os danos ocasionados ao meio ambiente e ao ser humano pelo uso excessivo de compostos sintéticos justifica a busca de alternativas no controle do vetor (FALKOWSKI et al., 2019). Neste contexto, insumos de origem vegetal com ação larvicida podem apresentar toxicidade, portanto utilizou-se ensaio *in vitro* que utiliza microcrustáceo indicador de controle de qualidade ambiental para águas marinhas *Artemia salina* indicado para controle de qualidade ambiental (MEYER et al., 1982).

A biodiversidade brasileira apresenta imenso potencial e contribui na busca por novas moléculas a partir de plantas (ZARA et al., 2016). Popularmente conhecida como coração de bugre, a espécie *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral, apresenta como sinonímia: *Maytenus evonymoides* var. *minarum* Briq, *Maytenus pseudocasearia* Reiss e *Maytenus evonymoides* Reissek. A planta pode alcançar 18 metros de altura, produz massa foliar significativa e ainda, há a possibilidade de ser cultivada em larga escala (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023).

No Brasil, está presente nos domínios fitogeográficos do Cerrado e Mata Atlântica, com ocorrências confirmadas nas regiões Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São

Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023). Relatos na literatura descrevem a ocorrência de diversas atividades biológicas atribuídas aos metabolitos secundários, a exemplo de flavonoides, triterpenos e taninos em outras espécies do gênero *Monteverdia*, bem como na família Celastraceae, entre elas, efeito larvicida contra *Aedes aegypti* (MARTINS et al., 2021).

Considerando o potencial larvicida presente no gênero, o objetivo do estudo foi avaliar de forma inédita o potencial larvicida dos extratos e frações da espécie *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral.

2. MATERIAL E MÉTODO

A coleta de folhas e caule da espécie foi realizada na cidade de Curitiba, Paraná, Brasil (25°26'55"S, 49°14'22"W). A identificação foi realizada pelo engenheiro Florestal Inti Souza. Uma exsicata foi produzida e depositada no Herbário Escola de Florestas Curitiba-EFC sob o número EFC 19467. O estudo foi cadastrado no SISGEN (órgão responsável pelo registro e autorização de utilização do patrimônio genético) sob o número A13E001.

O material vegetal (folhas e caule) foi seco em temperatura ambiente a sombra, em seguida foi triturado em moinho de facas e martelo, e submetido a extração em Soxhlet modificado (CARVALHO et al., 2009). O extrato bruto etanólico foi preparado com etanol 80° GL (1:10; p/v) sob refluxo contínuo por período de 6h consecutivas a 80°C. As frações foram preparadas com emprego de solventes em ordem crescente de polaridade (hexano, clorofórmio, acetato de etila) em aparelho Soxhlet modificado empregando-se a técnica de partição líquido-líquido (CARVALHO et al., 2009). Os extratos obtidos a partir da extração total foram denominados Extrato Bruto Folhas e Caule (EBF)/(EBC), Fração Hexano Folhas e Caule (FHF)/(FHC), Fração Clorofórmio Folhas e Caule (FCF)/(FCC), Fração Acetato de Etila Folhas e Caule (FAEF)/(FAEC), Fração Remanescente Folhas e Caule (FRF)/(FRC) e o rendimento está apresentado na Tabela 1.

Para avaliação da atividade larvicida dos extratos brutos e frações de *Monteverdia evonymoides* a metodologia de World Health Organization (WHO) (1981a) (GARCEZ et al., 2009) com modificações (BETIM et al., 2021; DALARMI et al., 2015) foi empregada. Os ovos de *Aedes aegypti* da linhagem Rockefeller (utilizada como padrão de susceptibilidade a inseticidas para a espécie *Aedes aegypti*) foram fornecidos pela

Fundação Osvaldo Cruz – RJ. Para a eclosão dos ovos, foram adicionados 500 mL de água mineral em Becker de plástico e levados à estufa BOD (marca Novatecnica modelo NT 704) em temperatura de $(25\pm 2^\circ)$ C e umidade relativa de (80 ± 5) %, alimentados com ração de peixe (Aldon basic, MEP 200 complex). Larvas no 3º estágio de desenvolvimento foram utilizadas para os ensaios, por apresentarem tecidos mais desenvolvidos. Foram testadas as soluções de concentração de 10, 100, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ do extrato bruto e frações de folhas e caule, as amostras foram solubilizadas com 0,5% de dimetilsulfóxido (DMSO) em água mineral. O ensaio foi realizado em triplicata, utilizando 10 larvas por recipiente, totalizando 30 larvas para cada amostra e controle. Como controle negativo foi utilizado a solução DMSO 0,5% em água mineral. A atividade larvicida foi avaliada após 24 horas por meio da contagem do número de larvas mortas em cada amostra.

Com a finalidade de realizar uma triagem preliminar quanto à segurança ambiental, os extratos e frações de *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral foram submetidos a avaliação de letalidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, utilizando a metodologia descrita por Meyer (1982) com modificações. Inicialmente, 35 mg de ovos de *A. salina* Leach foram incubados em solução salina (pH 8-9, 25°C) sob luz artificial por 24h para eclosão dos cistos. Os extratos e frações foram diluídos em água do mar artificial. A partir do preparo da solução mãe na concentração de 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}$ em solução salina com 1% de Dimetilsulfóxido (DMSO) foram realizadas as diluições nas concentrações de 750, 500, 250, 100, 50 e 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}$. O mesmo processo foi realizado com o controle positivo do experimento (sulfato de quinidina). Para controle negativo, foi empregada solução salina com 1% de DMSO. Em seguida foram adicionados 5mL das diferentes concentrações em vidros contendo 10 náuplios em triplicata para cada concentração. Os frascos foram mantidos abertos em temperatura ambiente. Após 24h os náuplios sobreviventes foram contadas para determinar a concentração letal para matar 50% dos náuplios (CL_{50}) (MEYER et al., 1982).

Os dados de ambos os testes foram analisados pelo método SPSS-Probit para estimar a concentração letal (CL_{50}) com 95% de confiabilidade. O teste do qui-quadrado foi utilizado para o ensaio. Foram consideradas amostras ativas aquelas que apresentaram CL_{50} menor que 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa IBM SPSS Statistics versão 20,0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação a metodologia adotada na obtenção do extrato hidroalcológico (Tabela 1) a fração com maior rendimento foi a fração remanescente de folhas (FRF) com 17,256%, seguida da fração remanescente de caule (FRC) com 4,034%, e a de menor rendimento foi a fração hexano de caule (FHC) com 0,062%, seguida da fração clorofórmio caule (FCC) com 0,273%. No preparo do extrato e frações o método de extração utilizado foi Soxhlet modificado. Este método assegura a termoestabilidade do sistema, permitindo dessa forma, a extração completa dos constituintes, garantindo a composição química dos mesmos, além de ser limpo, rápido, reproduzível (CARVALHO et al., 2009).

Tabela 1 - RENDIMENTO* DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DOS EXTRATOS BRUTOS ETANÓLICO DAS FOLHAS E CAULE DE *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral

Fração	Caule		Folhas	
	(g)	(%)	(g)	(%)
Extrato Bruto	3,074	0,149	3,632	0,207
Fração Hexano Etanólico	1,273	0,062	16,448	0,948
Fração Clorofórmio Etanólico	5,569	0,273	72,674	4,188
Fração Acetato Etila Etanólico	7,322	0,359	12,315	0,709
Fração Remanescente Etanólico	82,216	4,034	299,472	17,256

NOTA: *Rendimento calculado em relação ao total de planta seca (g).

Fonte: A autora (2021).

Foi possível identificar que extratos e frações de *Monteverdia evonymoides* induzem a mortalidade de larva de *Aedes aegypti* (Tabela 2). Com exceção da FRF e FHF todas as amostras testadas apresentaram $CL_{50} > 200 \mu\text{g.mL}^{-1}$, revelando potencial no controle de larvas de terceiro estágio. Destaque para a FAEF que apresentou $CL_{50}=132,91 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A FHF apresentou $CL_{50}=235,81 \mu\text{g.mL}^{-1}$, indicando significativo potencial larvicida. Em relação ao perfil de mortalidade observado na Tabela 2, é possível verificar acentuada mortalidade na concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Todas as frações de caule apresentaram mortalidade acima de $90\% \pm 0,5$. Em relação as amostras das folhas, a FAEF apresentou a taxa de mortalidade de $95\% \pm 0,5$ e o EBF, FCF e FHF apresentaram ($87,5\% \pm 0,95$), ($85\% \pm 0,5$) e ($82\% \pm 0,5$) respectivamente.

Tabela 2- INDUÇÃO DE MORTALIDADE EM LARVAS DE *Aedes aegypti* POR EXTRATOS E FRAÇÕES DE *Monteverdia evonymoides*

Amostras	Concentração (µg. mL ⁻¹)	Mortalidade (%) ± SD	LC ₅₀ (µg.mL ⁻¹) (LCL - UCL)	LC ₉₀ (µg.mL ⁻¹) (LCL - UCL)	x ²	(df)
EBF	10	7,5 ± 0,5			7,1	4
	100	35 ± 0,57	183,54	>1000		
	500	70 ± 0,81	(132,51-257,02)			
	1000	87,5 ± 0,95				
FHF	10	0,25 ± 0,5			5,86	4
	100	32,5 ± 0,5	235,81	>1000		
	500	65 ± 0,57	(175,22-324,09)			
	1000	82,5 ± 0,5				
FCF	10	10 ± 0			2,9	4
	100	42,5 ± 0,5	194,021	>1000		
	500	67,5 ± 0,5	(135,9-286,42)			
	1000	85 ± 0,57				
FAEF	10	5 ± 0,57			7,54	4
	100	47,5 ± 0,5	132,91	960,53		
	500	75 ± 0,57	(98,19-177,1)	(624,6-1811,10)		
	1000	95 ± 0,57				
FRF	10	0 ± 0			4,97	4
	100	5 ± 0,57	>1000	>1000		
	500	32,5 ± 0,5				
	1000	42,5 ± 0,5				
EBC	10	7,5 ± 0,5			7,22	4
	100	35 ± 0,57	169,22	>1000		
	500	72,5 ± 0,5	(124,18-231,34)			
	1000	92,5 ± 0,5				
FHC	10	7,5 ± 0,5			7,22	4
	100	35 ± 0,57	169,22	>1000		
	500	72,5 ± 0,5	(124,18-231,34)			
	1000	92,5 ± 0,5				
FCC	10	7,5 ± 0,5			5,07	4
	100	42,5 ± 0,5	143,7	>1000		
	500	70 ± 0,0	(102,72-199,14)			
	1000	90 ± 0,8				
FAEC	10	5 ± 0,57			7,5	4
	100	47,5 ± 0,5	161,4	960,53		
	500	70 ± 0,57	(120,69-216,97)	(624,6-1811,09)		
	1000	95 ± 0,57				
FRC	10	5 ± 0,57			7,5	4
	100	47,5 ± 0,5	161,4	960,53		
	500	75 ± 0,57	(120,69-216,97)	(624,6-1811,09)		
	1000	95 ± 0,57				

LEGENDA: Extrato Bruto Folhas (EBF), Fração Hexano Folhas (FHF), Fração Clorofórmio Folhas (FCF), Fração Acetato de Etila Folhas (FAEF), Fração Remanescente Folhas (FRF), Extrato Bruto Caule (EBC), Fração Hexano Caule (FHC), Fração Clorofórmio Caule (FCC), Fração Acetato de Etila Caule (FAEC), Fração Remanescente Caule (FRC). NOTA: Resultados expressos em média aritmética e ± Desvio padrão. Controle positivo matou 100% das larvas de *A. aegypti*; (LC₅₀) concentração letal capaz de matar 50% das larvas expostas; (LC₉₀) concentração letal capaz de matar 90% das larvas expostas; (SD) desvio padrão (UCL) limite superior de confiança de 95%; (LCL) limite de confiança 95% inferior; x²= qui-quadrado, df= graus de liberdade; (n.d) não definido; (n.s) não significativo (p<0,05).

Fonte: A autora (2021).

De acordo com os resultados obtidos no bioensaio frente a *Artemia salina* L. (Tabela 3), nenhuma das concentrações testadas de extratos e frações de *Monteverdia*

evonymoides causaram toxicidade ao microcrustáceo, indicando que são seguras para o meio ambiente.

TABELA 3 - MORTALIDADE DE *Artemia salina* E CL50 UTILIZANDO EXTRATO E FRAÇÕES DAS FOLHAS E CAULE DE *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral

Amostras	Concentração/Mortalidade ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)												CL50 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	IC de 95% ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	10		50		100		250		500		750				1000	
	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C	F	C		
EB	0	0	0	1	1	1	1	0	3	2	1	0	1	3	> 1000	-
FH	0	0	0	0	0	0	1	0	2	3	10	4	15	4	> 1000	-
FC	0	0	1	1	1	1	2	0	13	1	12	2	12	1	> 1000	-
FAE	0	0	0	1	1	1	1	0	1	7	4	7	10	7	> 1000	-
FR	0	0	0	1	0	1	2	1	0	1	0	1	1	1	> 1000	-
Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	> 1000	-
Sulfato de Quinidina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	511,04	298,5 -1214,5
Dodecil Lauril	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,64	0,007- 3,28

NOTA: Folhas (F), Caule (C), Extrato Bruto (EB), Fração Hexano (FH), Fração Clorofórmio (FC), Fração Acetato de Etila (FAE), Fração Remanescente (FR). IC= Intervalo de Confiança. CL50= concentração letal

Fonte: A autora (2021).

A família Celastraceae, com aproximadamente 88 gêneros e mais de 1300 espécies contribui exponencialmente com classes metabólicas que apresentam potencial larvicida. Espécies pertencentes ao gênero *Monteverdia* tem sido descrita com potencial larvicida (TOURÈ et al., 2017). Touré et al. (2017) em seus estudos, observou a taxa de mortalidade de (95±0,2)% para as larvas de *Aedes aegypti* da estirpe Paea (susceptível a todos os inseticidas) e (83±0,2)% da estirpe de campo Cayenne (resistente a piretróides e organofosforados) respectivamente do extrato acetato de etila do caule de *Monteverdia oblongata*, após exposição de 24 horas na dose de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (TOURÈ et al., 2017).

Martins et al. (2021) em seus estudos com a espécie *Maytenus guianensis*, observou CL50 113 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o extrato bruto etanólico e ainda causou ejeção do intestino das larvas de *Aedes aegypti*. O composto isolado tingenona B (triterpeno) da espécie apresentou CL50 de 148 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (MARTINS et al., 2021), sugerindo que ativos com ação sinérgica podem estar presentes no extrato bruto, além do triterpeno isolado (tingenona B). As substâncias foram capazes de causar alterações morfológicas e a morte das larvas do mosquito (MARTINS et al., 2021). Já, Meneguetti et al. (2016), observaram que o extrato bruto de *Maytenus guianensis* inibiu em 90-100% o crescimento de promastigostas de *Leishmania amazonensis*, indicando que a espécie tem potencial antiparasitário (MENEGUETTI et al., 2016).

O uso de inseticidas sintéticos (piretroides e organofosforados) previnem ou minimizam a proliferação do vetor (LIMA et al., 2006) e estão listados nas estratégias adotadas por parte da gestão pública, para o controle do mosquito. Em contrapartida, o uso frequente dessas classes de inseticidas pode favorecer o surgimento de insetos resistentes, o que aumenta ainda mais o desafio do controle do inseto e consequentemente, controle de diversas doenças que são transmitidas pelo *Aedes aegypti* e ainda propiciar o surgimento de novas doenças, por apresentarem certa toxicidade ao ser humano, além de prejudicar o meio ambiente (BETIM et al., 2021; BRAGA, 2007). Apesar dos avanços nas pesquisas direcionados a aplicação inseticida, os inseticidas sintéticos são amplamente utilizados no controle de mosquito *Aedes aegypti* (BRAGA, 2007). Dentre os larvicidas autorizados está o Temefós, um organofosforado que possui autorização junto a Anvisa para ser utilizado em água potável nas doses recomendadas (BASTOS et al., 2016). Porém o seu uso está recomendado para tratamento de focos, mas não deve ser utilizado em aquários contendo peixes, justamente por sua toxicidade ao meio ambiente. O cálculo da concentração para ser utilizado na água é realizado por meio da ingesta diária aceitável por mg/kg. Com base nesses valores, é realizado o cálculo da concentração na água, considerando um adulto de 60kg e ingestão de 2 litros de água, além das variações para outras faixas etárias (BASTOS et al., 2016).

Além dos inconvenientes apontados com o uso de inseticidas sintéticos, a alteração climática, relacionada ao aumento da temperatura e quantidade de chuvas, é um fator importante para o aumento do número de casos de dengue (KIMURA; FONTES, 2022). Um levantamento realizado entre os anos de 2016 e 2021 apontaram que os casos da doença, no estado do Paraná, vêm aumentando gradativamente. O ano epidemiológico 2019/2020 apresentou a maior incidência de casos¹⁸. Outro achado relevante do estudo foi a falta de disponibilidade de inseticidas sintéticos pelo Ministério da Saúde, fato que pode estar relacionado ao aumento de casos nesse período (KIMURA; FONTES, 2022).

4. CONCLUSÃO

A fração remanescente de folhas (FRF) demonstrou maior rendimento (17,256%), seguida da fração remanescente de caule (FRC) (4,034%). O que é favorável uma vez que a obtenção das folhas é ecologicamente sustentável.

Nas condições pré-estabelecidas, quanto à segurança, pode-se observar que extratos e frações de *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral, não apresentaram toxicidade frente a *Artemia salina* L.

As frações mais promissoras no teste larvicida foram FAEF e FCC que apresentaram $CL_{50} < 200 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Todas as frações de caule apresentaram mortalidade acima de $90\% \pm 0,5$. Em relação as amostras das folhas, a FAEF apresentou a taxa de mortalidade de 95% e o EBF, FCF e FHF apresentaram 87,5%, 85% e 82% respectivamente. Demonstrando dessa forma, ser proposição natural segura e promissora para substituição de pesticidas sintéticos em programas de controle do mosquito *A. aegypti*.

A espécie *Monteverdia evonymoides* pode representar um insumo de origem natural acessível ao controle do vetor e conseqüentemente contribuir com a diminuição de casos das doenças transmitidas pelo mosquito em estudo, além de não prejudicar o meio ambiente.

LIMITAÇÕES

É necessário realizar mais estudos para o isolamento e caracterização dos metabólitos presentes na espécie, a fim de delimitar os principais compostos químicos responsáveis pela ação larvicida, bem como sua toxicidade e dessa maneira contribuir com o controle do vetor.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao engenheiro florestal Inti Souza pela ajuda pelo auxílio com a coleta e identificação do material vegetal, e a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), pela doação dos ovos de *Aedes aegypti*.

SUPORTE FINANCEIRO

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

CAA: Coleta do material, obtenção dos extratos e frações, realizou os experimentos de laboratório e redação do artigo. EBS: Análise dos dados e redação do artigo. KAF: Análise dos dados e redação do artigo. FCMB: Realizou o experimento em laboratório e redação do artigo. CFO: Análise estatística e redação do artigo. LD: Análise dos dados e redação do artigo. DPM: Análise dos dados e redação do artigo. OGM: Análise dos dados e redação do artigo. JFGD: Orientação, análise dos dados e redação do artigo. MDM: Orientação a concepção e desenvolvimento do estudo, revisão do artigo. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

REFERÊNCIAS

- Bastos CM, D'Avila OP, Umpierre RN, Gonçalves MR, Faccini LS, Harzheim E. O uso de larvicidas em água potável é seguro? **Rev Bras Med Família e Comunidade**. 2016;11(38):1-5.
- Betim FCM, de Oliveira CF, de Souza AM, Szabo EM, Zanin SMW, Miguel OG, et al. *Ocotea nutans* (Nees) mez (lauraceae): Chemical composition, antioxidant capacity and biological properties of essential oil. **Brazilian J Pharm Sci**. 2019;55:1-10.
- Betim FCM, de Oliveira CF, Montrucchio DP, Miguel OG, Miguel MD, Maurer JBB, et al. Preliminary evaluation of the larvicidal activity of extracts and fractions from *ocotea nutans* (Nees) mez against *Aedes aegypti*. **Rev Soc Bras Med Trop**. 2021;54(August 2020):2-5.
- Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil* *Aedes aegypti*: **History of Control in Brazil**. **Epidemiol e Serviços Saúde**. 2007;16(2):113-8.
- Carneiro VC de S, de Lucena LB, Figueiró R, Victório CP. Larvicidal activity of plants from myrtaceae against *Aedes aegypti* l. And *simulium pertinax kollar* (diptera). **Rev Soc Bras Med Trop**. 2021;54(May 2020):1-8.
- Carvalho JL de S, Cunico MM, Dias J de FG, Miguel MD, Miguel OG. Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., Brassicaceae por sistema Soxhlet modificado. **Quim Nova**. 2009;32(4):1031-5.
- Dalarmi, L, Silva, CB, Ocampos, FMM, Burci, LM, Nascimento, KF, Jesus C, Dias, JFG, Miguel, MD, Miguel, OG, Zanin, SMW. Larvicidal activity of *Dalbergia brasiliensis* (Fabaceae - Papilionoideae) on *Aedes aegypti*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, n. 35, p. 881-885, 2015.
- Falkowski M, Jahn-Oyac A, Odonne G, Flora C, Estevez Y, Touré S, et al. Towards the optimization of botanical insecticides research: *Aedes aegypti* larvicidal natural products in French Guiana. **Acta Trop** [Internet]. 2020;201 (August 2019):105179. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105179>.
- Flora do Brasil. **Monteverdia in Flora do Brasil 2023**, em construção [Internet]. Jardim Botânico do Rio de Janeiro; 2023 [update 2023 Aug *Monteverdia evonymoides* (Reissek) Biral; cited 2023 Aug 05]. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB605053>>. Acesso em: 21 ago. 2023.
- Fujiwara GM, Annes V, de Oliveira CF, Lara RA, Gabriel MM, Betim FCM, et al. Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicol Environ Saf** [Internet]. 2017;139(January):238-44.
- Garcez WS, Garcez FR, da Silva LMGE, Hamerski L. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. **Bioresour Technol** [Internet]. 2009;100(24):6647-50.
- Kimura, MYO, Fontes, KB. Incidência de casos confirmados de Dengue no estado do Paraná Brasil nos anos de 2016 a 2021. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama. v. 26, n. 3, p. 832-844, set./dez. 2022.

Lima EP, Oliveira-Filho AM, Lima JWO, Ramos AN, Cavalcanti LPG, Pontes RJS. Resistência do *Aedes aegypti* ao Temefós em Municípios do Estado do Ceará. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2006;39(3):259-63.

Martins MM, Dias ACA, Facundo VA, Lima RA, Meneguetti DU de O, Silva A de A e. Larvicidal activity of maytenus guianensis (Celastraceae) against aedes aegypti (diptera: Culicidae). **Rev Soc Bras Med Trop.** 2021;54(March):2-5.

Meneguetti DU de O, Lima RA, Hurtado FB, Passarini GM, Macedo SRA, de Barros NB, et al. Screening of the in vitro antileishmanial activities of compounds and secondary metabolites isolated from maytenus guianensis klotzsch ex reissek (Celastraceae) chichuá Amazon. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2016;49(5):579-85.

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Med.** 1982;45(1):31-4.

Touré S, Nirma C, Falkowski M, Dusfour I, Boulogne I, Jahn-Oyac A, et al. *Aedes aegypti* Larvicidal Sesquiterpene Alkaloids from *Maytenus oblongata*. **J Nat Prod.** 2017;80(2):384-90.

Zara AL de SA, Santos SM Dos, Fernandes-Oliveira ES, Carvalho RG, Coelho GE. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol e Serv saude Rev do Sist Unico Saude do Bras.** 2016;25(2):391-404.