

EFEITO LARVICIDA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Piper umbellatum* SOBRE O MOSQUITO *Aedes aegypti*

LARVICIDE EFFECT OF *Piper umbellatum* ETHANOLIC EXTRACT ABOUT THE MOSQUITO *Aedes aegypti*

Carolina Ferreira Pauliquevis¹, Ademir Kleber Morbeck de Oliveira^{1*}, Pâmella Gonçalves da Silva¹, Deizeluci de Fátima Pereira Zanella², Antônia Railda Roel³, Karla Regiane Porto³, Rosemary Matias¹

1. Universidade Anhanguera-Uniderp/Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional

2. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/Unidade Universitário de Aquidauana

3. Universidade Católica Dom Bosco/ Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária

* Autor correspondente: e-mail akmorbeckoliveira@gmail.com

RESUMO

O principal transmissor da dengue, chikungunya, zika e febre amarela é o mosquito *Aedes aegypti*, um vetor de difícil controle, que afeta significativamente diversas regiões do Brasil. O controle químico, como uma forma de controle do mosquito, é amplamente utilizado; porém, o uso contínuo de produtos químicos provocou o surgimento de populações resistentes. Esta situação levou a busca por novos compostos, menos poluentes ao meio e eficazes em seu controle. Dentro dessa perspectiva, objetivou-se avaliar o potencial inseticida do extrato etanólico de *Piper umbellatum* sobre larvas de *Aedes aegypti*. Para os bioensaios utilizou-se larvas de terceiro estágio tardio ou quarto estágio inicial de *A. aegypti*, expostas a 4 diferentes concentrações dos extratos de folhas de *P. umbellatum* e dois controles (negativo e positivo), utilizando 4 repetições por tratamento, com 25 larvas por repetição. Os resultados indicaram 100% de mortalidade na fase larval, em todas as concentrações testadas, fator provavelmente relacionado a presença de metabólitos secundários, tais como os alcaloides, terpenoides e polifenóis, que possuem ação inseticida. A ação destes metabólitos, isoladamente ou em sinergia, levou a morte das larvas, indicando o potencial de uso da espécie como inseticida.

Palavras-chave: Produtos Naturais. Controle de Vetores. Inseticidas Botânicos. Dengue.

ABSTRACT

The main transmitter of dengue, chikungunya, zika and yellow fever is the *Aedes aegypti* mosquito, a vector that is difficult to control, which significantly affects several regions of Brazil. Chemical control, as a form of mosquito control, is widely used; however, the continued use of these products has led to the emergence of resistant populations. This situation led to the search for new compounds, less polluting to the environment and effective in their control. Within this perspective, the objective was to evaluate the insecticidal potential of the ethanol extract of *Piper umbellatum* on *Aedes aegypti* larvae. For the bioassays, larvae of late third stage or initial fourth stage of *A. aegypti* were used, exposed to 4 different concentrations of *P. umbellatum* leaf extracts and two controls (negative and positive), using 4 replicates per treatment, with 25 larvae by repetition. The results indicated 100% mortality in the larval phase, in all concentrations tested, a factor probably related to the presence of secondary metabolic agents, such as alkaloids, terpenoids and polyphenols, which have insecticidal action. The action of these metabolites, alone or in synergy, led to the death of the larvae, indicating the potential use of the species as an insecticide.

Key words: Natural Products. Vector Control. Botanical Insecticides. Dengue.

1. INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por vetores são uma das principais responsáveis por milhares de mortes no Brasil e no mundo [1]. Os programas de controle para esse tipo de problema são escassos e/ou pouco eficientes, devido a aspectos como características biológicas do vetor e fatores ambientais, como o clima ou a dinâmica de expansão das cidades, o que facilita o contato entre o vetor e o homem [2].

Responsável pela transmissão dos vírus causadores da dengue, febre amarela, zika vírus e febre chikungunya, o vetor *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) tornou-se um problema de saúde pública, causando milhares de mortes em todo o planeta. De acordo com dados de [3], as estimativas apontam que aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas podem contrair a dengue e que 50 milhões de novos casos ocorram anualmente.

No Brasil, para tentar evitar a propagação do vetor, os programas de controle do *A. aegypti* tem como norma a utilização de inseticidas químicos sintéticos, liberados através de fumacê, para eliminar os adultos, ou com a adição dos produtos em reservatórios de água, eliminando-se as larvas dos mosquitos. Porém esse tipo de abordagem também causa impactos negativos, levando a criação de resistência do vetor, bem como afetando espécies não-alvo, além de contaminar o ambiente e as pessoas. Frente a essas considerações, pesquisas vêm sendo desenvolvidas, visando a criação de novos métodos de controle, mais eficazes e seguros, ambientalmente. Desta maneira, a pesquisa por alternativas de controle, com substâncias menos tóxicas ao ambiente, como extratos vegetais e óleos essenciais que possuam propriedades larvicidas, cresce significativamente [4] e [5].

Estudos apontam que extratos brutos e óleos essenciais extraídos de diversas espécies da flora possuem efeito larvicida contra o mosquito *A. aegypti*. Algumas famílias botânicas se destacam neste cenário, tais como: Annonaceae, Apiaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Caesalpinoideae, Cupressaceae, Erythroxylaceae, Fabaceae, Lauraceae, Meliaceae, Monimiaceae, Moraceae, Phrymaceae, Piperaceae, Rutaceae, Simaroubaceae, Sterculiaceae, Targionaceae, Taxodiaceae e Zingiberaceae [6].

Por este motivo, estudos avaliando o potencial inseticida de plantas destas famílias vem sendo desenvolvidos. Neste contexto, pode-se destacar a utilização de espécies de Piperaceae, como o relatado por [7], ao avaliar o efeito de *Piper tuberculatum* Jacq. no controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, [8], testando *Piper hispidum* H. B. K. sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) e [9] e [10], em estudos sobre a atividade inseticida de

Pothomorphe umbellata (L.) Miq. em *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) e *Sitophilus zeamais* Mots. 1855, respectivamente, com os autores demonstrando o potencial desta família.

A espécie *Piper umbellatum*, anteriormente conhecida como *Pothomorphe umbellata*, é popularmente conhecida como “pariparoba” e “caapeba” e possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrada no Centro-Oeste, Norte, Nordeste, Sul e Sudeste, em biomas como a Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica [11]. Além do efeito inseticida, também é conhecida por possuir ação medicinal, com propriedades anti-inflamatória [12] e antioxidante [13], por exemplo, com sua ação sendo correlacionada a diversidade de metabólitos secundários encontrados em suas folhas e caules.

[14], avaliando as folhas e raízes, identificaram um glicosídeo terpenoide, cinco flavonas (vitexina 2''-O-β-D-glucopiranosídeo, apigenina-8-C-βD-glucopiranosídeo, orientina 8-C-β-D-glucopiranosídeo, 5-hidroxi-7,3',4'- trimetoxi-flavona e velutina), duas lignanas (sesamina e diidrocubebina) e 4-nerolidilcatecol. Já [15], com inflorescências e caule, constaram a presença de alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, flavonoides e triterpenos.

De acordo com [10], a atividade inseticida da espécie está diretamente ligada a presença de terpenoides. [16] relata que estes compostos agem por meio da interação com o tegumento do inseto e/ou enzimas digestivas e neurológicas. Monoterpenos, como α-pineno, β-pineno e limoneno já foram identificados em *P. umbellatum* por [17] e [18].

Levando-se em consideração sua ação contra insetos, levantou-se a hipótese de que seus extratos também sejam eficazes no controle de larvas de *Aedes aegypti*. Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *Piper umbellatum* sobre as larvas, correlacionando os resultados obtidos com a composição química das folhas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Área de coleta e preparo do extrato

As folhas de *Piper umbellatum* foram coletadas de matrizes cultivadas na Horta de Plantas Medicinais e Aromáticas, localizada no Campus Agrárias, Universidade Anhanguera-Uniderp, Campo Grande, Mato Grosso do Sul (coordenadas geográficas 20°26'34" latitude e 54°38'47" longitude), com uma amostra depositada no Herbário da instituição (7843).

Após triagem, eliminando-se as folhas danificadas, o material foi acondicionado em sacos de papel e levado ao Laboratório de Pesquisa em Pesquisas em Sistemas Ambientais e Biodiversidade – LabPSAB, sendo colocados em estufas de luz à 45 °C, até atingir peso seco constante. Posteriormente, foram triturados em moinho elétrico e tamisadas em malha n° 60. O pó, 600 g, foi submetido à extração com etanol (99,5%), em banho de ultrassom por 60 minutos (UNIQUE®, 1450), seguido por maceração estática por 24 horas, à temperatura ambiente. Este procedimento foi repetido até esgotamento total da droga.

No Laboratório de Fitoquímica, o solvente foi evaporado sob vácuo em evaporador rotativo (Tecnal®, MA120) e o resíduo foi seco em dessecadores a pressão reduzida por dois dias, obtendo-se o extrato bruto. Seu rendimento foi calculado pela expressão: Rendimento (%) = (massa do extrato/massa do material vegetal) x 100.

Análise fitoquímica

O extrato etanólico foi analisado no Laboratório de Fitoquímica, via úmida, por meio de uma série de reações: compostos fenólicos (reações de precipitação: cloreto férrico a 2%; acetato de chumbo a 10% e acetato de cobre a 4%), taninos (reações de precipitação: sais de ferro e precipitação de proteínas), flavonoides (reação de cianidina e ácido sulfúrico), antocianinas, antocianidinas e flavonoides (presença de coloração em pH 2-3, 7, 8-9 e 11), flavonas, flavonóis, flavonoides e xantonas (pH 11), chalconas e auronas (pH 2-3 e pH 11), cumarinas (observação sob luz ultravioleta), antraquinonas (reação ácido/base), triterpenos e esteroides (reação de Liebermann-Burchard), heterosídeos cardiotônicos (reação de Keller-Killiani e teste de Pesez), saponinas (presença de espuma e reação de Liebermann-Burchard) e, açúcares redutores (reação de Benedict) [19] [20] [21].

Para confirmação das saponinas, utilizou-se de 1 g de pó, extraído com 20 mL de água destilada e deionizada, a temperatura ambiente (26,5 ± 1 °C), em banho de ultrassom por 30 minutos, seguido de agitação energética dos tubos de ensaios e verificação de formação de espuma persistente por mais de 15 minutos. A análise também foi desenvolvida com 1 g de pó com 20 mL de água e após fervura, por 2 minutos, seguido o mesmo procedimento da extração a temperatura ambiente [22] e o teste do Índice de Espuma (Índice Afrosimétrico). A estimativa da quantidade de saponina seguiu os procedimentos da Farmacopeia Brasileira [23].

A análise dos resultados foi realizada a partir da observação da intensidade e cor e/ou precipitação, indicativo da elevada concentração de uma das classes de metabólitos secundários

no extrato, com leitura baseada em [24]. As intensidades foram denominadas de negativa, fraca ($\pm = 10\%$), moderada ($+ = 25\%$), média ($++ = 50\%$), alta ($+++ = 75\%$) e, forte ($++++ = 100\%$).

Doseamento de fenóis totais, flavonoides, taninos condensados e alcaloides

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo Método Folin-Ciocalteu's, utilizando-se 100 mg da amostra em espectrofotômetro na região de 750 nm, em cubetas de quartzo, e como padrão o ácido gálico (10 a $300 \mu\text{g mL}^{-1}$), para a construção da curva padrão ($y = 0,0077 x - 0,0228$; $R^2 = 0,9985$). O delineamento experimental foi de três repetições para cada concentração e o cálculo das médias, acompanhado do desvio padrão [25].

Para quantificação dos flavonoides, foi utilizado o método adaptado por [26] e como padrão, quercetina ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$), para construir a curva de calibração nas concentrações de $0,04$; $0,2$; $0,4$; 2 ; 4 ; 8 ; 12 ; 16 ; e, $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($y = 0,0637 x - 0,0067$ $R^2 = 0,9991$). As análises foram realizadas por espectrofotometria no comprimento de onda de 420 nm , em cubetas de quartzo, com delineamento experimental de três repetições para cada concentração e o cálculo das médias, acompanhado do desvio padrão.

A determinação de taninos condensados foi realizada através da mistura de 1 mg do extrato em uma solução de hidrometanólica ($\text{MeOH:H}_2\text{O}: 80:20 \text{ v:v}$), adicionando-se 5 mL de vanilina ácida (8% de HCl aquoso concentrado e 4% de vanilina em metanol). A curva padrão foi construída com diferentes concentrações de catequina. As amostras e solução padrão, separadamente, foram incubadas em banho-maria por 20 minutos e após o término do processo, ao atingir a temperatura ambiente, feita a leitura. Os resultados foram expressos em mg de catequina equivalente (CAE) por 100 g de planta seca [27].

A quantificação dos alcaloides totais, adaptada de [28], foi desenvolvida utilizando 40 mL do extrato na concentração de $1000 \mu\text{g/mL}$, acidificando o pH entre $2,0$ e $2,5$ com HCl 1 mol/L e 4 mL de reagente Dragendorff, sendo centrifugado a $2.400 \text{ rpm}/30$ minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi tratado com uma solução contendo 1 mL de álcool etílico; 2 mL de sulfito de sódio (1%) e novamente centrifugado. O sobrenadante foi descartado e novamente o resíduo tratado com ácido nítrico concentrado (2 mL). A solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com água destilada. Desta solução, uma alíquota (1 mL) foi utilizada e adicionado 5 mL de tiourea a 3% (p/v), sendo a solução homogeneizada e a leitura feita em espectrofotômetro em 435 nm . A solução de ácido nítrico e

tiourea foi usada como branco e como padrão, a berberina. A linearidade foi obtida entre 40 e 200 µg/mL e o teor de alcaloides foi expresso em mg por 100 g de peso seco do extrato.

Obtenção e criação de *A. aegypti*

Os ovos para a criação dos mosquitos foram coletados utilizando armadilhas (ovitrampas) em áreas do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Após o processo de identificação, os ovos foram colocados para a eclosão das larvas, obtenção dos adultos e postura de novos ovos em condições controladas, utilizando papel filtro [29]. Os insetos foram mantidos em sala climatizada, com temperatura controlada de 26 ± 2 °C, umidade relativa de $52 \pm 2\%$ e fotofase de 14 horas, no laboratório de Entomologia da Universidade Católica Dom Bosco.

Para obtenção das larvas utilizadas nos experimentos, os papéis filtro contendo ovos foram colocados em recipientes plásticos com água. Após a eclosão, as larvas eram inseridas em becker de vidro com água destilada, coberto com tule, sendo alimentadas até a fase de pupa com ração. Após a eclosão, os adultos machos eram transferidos para a gaiola de criação, contendo em seu interior um chumaço de algodão embebido em solução de mel a 10%. As fêmeas, alimentadas três vezes por semana, com sangue de pombo. A oviposição das fêmeas foi realizada através de becker com água destilada e papel filtro no interior da gaiola, com o papel de postura trocado diariamente [30].

Bioensaios

O extrato bruto foi testado em concentrações de 0,0625, 0,0312, 0,0156 e 0,0078 mg/mL⁻¹, diluído em água desclorada. Foram utilizadas quadruplicatas, com 25 larvas de terceiro estágio tardio ou quarto estágio inicial para cada 25 ml de solução, em recipiente de vidro de 200 ml. Uma testemunha foi preparada apenas com água desclorada (Controle negativo – branco) e outra, com rotenona (Controle positivo). A avaliação do experimento foi diária, verificando-se o comportamento alimentar, presença de exúvias, mudança de estágio larval, mobilidade alterada, debilidade motora e mortalidade. Não foram adicionadas larvas sadias, apenas retiradas as mortas.

Os dados de duração larval foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, foi realizada a comparação de médias, pelo teste de Tukey, a 5% de

probabilidade. As análises estatísticas foram processadas com o auxílio do software estatístico Assistat 7.7 beta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicaram que todas as concentrações avaliadas provocaram 100% de mortalidade larval (Tabela 1), indicando o potencial inseticida de *Piper umbellatum* para o controle de *Aedes aegypti*. De acordo com [31], o extrato alcoólico de folhas de espécies do gênero *Piper* são eficazes no controle de *Aedes atropalpus* (Coquillett, 1902), provocando 92% de mortalidade nas larvas, como observado para *Piper umbellatum*, confirmando o potencial de uso de *Piper* no controle destes vetores.

Tabela 1 - Avaliação das dosagens sub letais do extrato etanólico de *Piper umbellatum*, sobre o ciclo biológico do *Aedes aegypti* em 24 h

Tratamentos (mg/mL ⁻¹)	Duração larval (h)	Mortalidade larval (%)	Mortalidade pupal (%)	Mortalidade total (%)	Adultos formados (%)
Controle negativo	146,15 ^a	0	4	4	96
Controle positivo	-	100	-	-	-
0,0625	-	100	-	-	-
0,0312	-	100	-	-	-
0,0156	-	100	-	-	-
0,0078	219,76 ^b	100	-	-	-
CV (%)	19,39				

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não se diferenciam estatisticamente entre si (teste de Tukey, 5% de probabilidade).

Na concentração de 0,0078 mg/mL⁻¹, a menor diluição, ocorreu o prolongamento da fase larval dos insetos, não ocorrendo formação de pupas, com provável efeito negativo do extrato na síntese de quitina e nos reguladores de crescimento. Apesar de uma maior duração larval, ao final, todas as larvas morreram (Tabela 1). De acordo com [32], compostos orgânicos originados de plantas com atividade inseticida podem atuar como inibidores da síntese de

quitina, afetando negativamente o desenvolvimento dos insetos.

[33], avaliando os efeitos de 4 espécies de *Piper* (*P. amalago* var. *medium* (Jacq.) Yunck, *P. glabratum* Kunth., *P. mikanianum* (Kunth.) Steudel e *P. mollicomum* Kunth.) sobre as larvas de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) indicaram que os extratos também causaram significativa mortalidade larval, além do alongamento da fase larval. Entretanto, os autores não identificaram os principais metabólitos secundários nas espécies pesquisadas. [8] também relataram que o extrato acetônico das folhas de *Piper hispidum* sobre *Hypothenemus hampei* em aplicação tópica, superfície contaminada e efeito de repelência, propiciou até 100% de mortalidade em superfície contaminada e 65% de mortalidade na aplicação tópica. Apenas os índices de repelência foram inferiores ao valor mínimo preconizado na literatura.

O potencial inseticida de *Piper umbellatum* já foi reportado para o óleo essencial das folhas, no controle de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) (Coleoptera: Curculionidae), com CL_{50} $0,95 \mu\text{L g}^{-1}$ e CL_{99} de $6,73 \mu\text{L g}^{-1}$ para o efeito fumigante. Para exposição em superfície de contato, os valores obtidos foram CL_{50} $0,34 \mu\text{L cm}^{-2}$ e CL_{99} de $4,91 \mu\text{L cm}^{-2}$, com repelência na primeira hora [10], com os autores relacionando o efeito insetistático com a presença dos terpenoides nas folhas.

A presença de diferentes tipos de óleos em espécies de *Piper* já foi relatada por [34], que identificaram como constituintes majoritários em frutos e talos de *P. tuberculatum*, o óxido de cariofileno (32,1% e 26,6%, respectivamente) e o (*E*)-cariofileno (17,7% e 12,3%, respectivamente), além de isolados no extrato etanólicos dos frutos, os esteróides β -sitosterol e estigmasterol, as amidas piplartina e dihidropiplartina e um derivado do ácido cinâmico, o ácido 3,4,5-trimetoxi-dihidrocinâmico. Já nas raízes de *P. hispidum*, os constituintes majoritários do óleo foram o dilapiol (57,5%), elemicina (24,5%) e apiol (10,2%).

Estes resultados indicam que as plantas da família Piperaceae, devido sua diversidade de constituintes, possuem potencial inseticida para diferentes grupos de insetos, independente do método de extração e grupos químicos presentes, como os terpenoides ou os polifenóis e alcaloides, detectados e quantificados neste estudo.

Comparando os resultados de mortalidade das larvas de *A. aegypti* neste estudo, com os obtidos através da utilização de outras espécies do gênero *Piper*, é possível constatar que, por exemplo, o extrato metanólico das folhas de *P. nigrum* L. demonstrou atividade larvicida sobre *A. aegypti*, após 3 horas de exposição, com LC_{50} de $34,97 \text{ mg/mL}^{-1}$ e após 24 h de exposição, LC_{50} de $32,23 \text{ mg/mL}^{-1}$, sendo que o efeito sobre a mortalidade larval foi dependente da dose

[35].

Desta maneira, é possível inferir que os constituintes presentes no extrato de *Piper nigrum* e *Piper umbellatum* podem ter atuado, isoladamente ou sinergeticamente, contra o desenvolvimento das larvas de *A. aegypti*. Entretanto, as concentrações dos extratos de *P. nigrum* foram superiores as utilizadas para *P. umbellatum*.

Os resultados obtidos para *Piper umbellatum* podem ser relacionados a presença de metabólicos secundários, que possuem alta e forte intensidade de taninos (++±), flavonoides (++±) e compostos fenólicos (+++). Com intensidade média (++), esteroides, triterpenos e alcaloides. As classes com menor polaridade, saponinas e glicosídeos, apresentaram intensidade moderada (+) (Figura 1). A presença de alcaloides, esteroides e compostos fenólicos já foram relatadas para outras espécies do gênero, como no trabalho de [34], ao avaliar o extrato etanólico de frutos de *P. tuberculatum*.

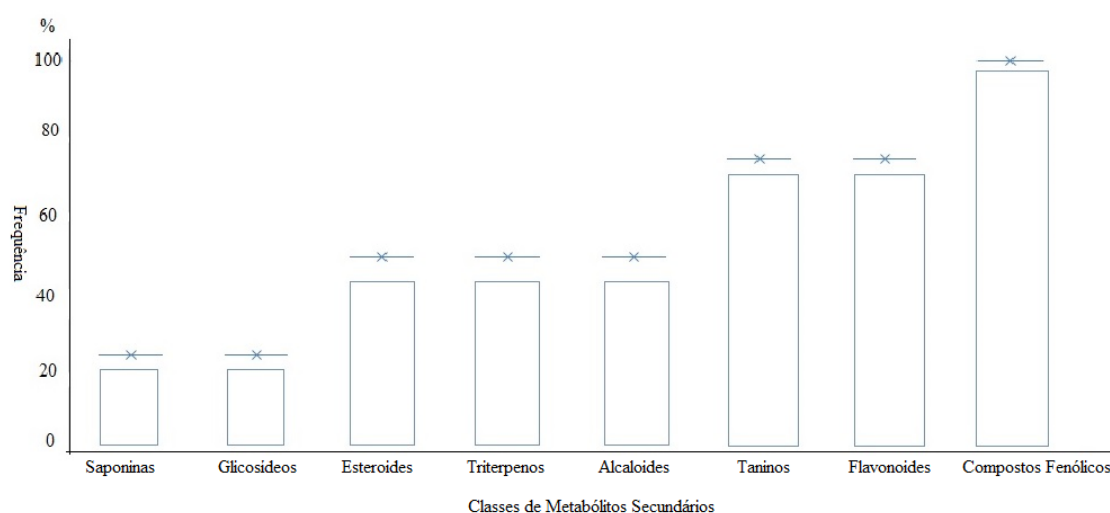


Figura 1 - Classes de metabólitos secundários encontrados no extrato etanólico de folhas de *Piper umbellatum*.

Por outro lado, a presença de glicosídeos, considerados metabólitos tóxicos, embora em intensidade moderada, é um indicativo das estratégias da espécie para sua defesa, em relação a herbivoria. Sua presença, em conjunto com outros compostos de defesa, tais como os compostos fenólicos (flavonoides e taninos), terpenoides (saponinas e triterpenos) e alcaloides, classes associadas à defesa contra os herbívoros, indicam o potencial de uso da espécie no controle de insetos. Embora os taninos não sejam considerados tóxicos, a intensidade no qual foram encontrados também é uma defesa, pois afetam a digestão, além de outros efeitos [36].

Em relação a produção de metabólitos secundários, estudos realizados em outras regiões indicaram certa similaridade, em relação a composição das folhas. Por exemplo, [37], em estudos com folhas de *P. umbellatum* coletadas na Nigéria, descrevem que a espécie possui os mesmos fitoconstituintes detectados neste estudo, o que demonstra que a região e o cultivo podem não afetar a diversidade das classes, embora as intensidades encontradas sejam diferentes. Os autores encontraram valores pouco expressivos de taninos e alcaloides, sendo os esteroides os constituintes majoritários, seguido das saponinas, fenóis e flavonoides, resultados estes opostos aos obtidos neste estudo.

[38], também avaliando exemplares de *P. umbellatum* coletados em diferentes regiões da Nigéria, detectaram que nos caules predominam alcaloides, fenóis e flavonoides, enquanto nas folhas, as antraquinonas, sendo que apenas a presença das antraquinonas diferiu dos resultados obtidos nas plantas investigadas neste estudo.

Em relação aos valores obtidos com o doseamento de compostos fenólicos, flavonoides, alcaloides e taninos (Tabela 2), os resultados comprovaram que as folhas são ricas em compostos fenólicos, conhecidos por sua ação inseticida, como os flavonoides. [39], avaliando as concentrações de polifenóis livres em três espécies de *Piper*, *P. guineense* Schum and Thonn., *P. nigrum* e *P. umbellatum*, encontraram valores entre 9,8 e 15,9 mg/g, concentrações inferiores aos encontrados neste estudo, indicando o potencial de uso da espécie.

Tabela 2 - Resultados da quantificação de fenóis totais, flavonoides, taninos e alcaloides do extrato etanólico das folhas de *Piper umbellatum*

Fenóis Totais (mg g⁻¹)	Flavonoides (mg g⁻¹)	Taninos (mg g⁻¹)	Alcaloides (mg g⁻¹)
590,6 ± 1,5	475,0 ± 3,3	91,5 ± 1,7	78,5 ± 1,9

*Média ± Desvio Padrão (p < 0,01).

Em relação aos flavonoides, [40] encontraram nas folhas de *Piper umbellatum*, coletadas em Aripuanã, Mato Grosso, 165 mg g⁻¹, além da presença significativa de rutina e quercetina e outros dois flavonoides. Novamente os resultados obtidos por este estudo indicaram valores significativamente maiores para a planta em estudo.

Os flavonoides são compostos conhecidos por sua ação sobre a classe Insecta, com a capacidade de modular o comportamento de alimentação (deterência) e a oviposição, além de afetar o número e o peso dos adultos emergentes. Ainda é descrito que diversos flavonoides

atuam como anti-estrogênio, alterando o processo de muda (ecdísoma) e causando a morte dos indivíduos, além de poderem inibir a isozima do citocromo P450 e as esterases [41] [42] [43] [44] [45]. De acordo com [46], também atuam como inibidores de enzimas e precursores de substâncias tóxicas.

[14] escrevem que o constituinte majoritário das folhas e raízes de *Piper umbellatum* é o fenilpropanóide 4-nerolidilcatecol, um polifenol (composto fenólico). Os fenilpropanóides são amplamente distribuídos no reino vegetal e correspondem a uma das maiores classes de fenóis produzidos pelas plantas através do ácido chiquímico. Muitos dos compostos fenólicos derivados de plantas, como os ácidos fenólicos, flavonoides e cumarinas, são os produtos secundários desta rota sintética do metabolismo dos fenilpropanóides [47], podendo ser diretamente relacionado a defesa contra os insetos e patógenos.

Os alcaloides também são uma classe comumente encontrados nas espécies do gênero *Piper*, utilizados contra herbivoria. Para *P. umbellata* foram isolados das partes aéreas a N-benzoilmescalina, grupo das feniletilaminas metoxiladas [48], além dos alcaloides heterocíclicos aromáticos, os isoquinolínicos [49] e entre as diversas atividades atribuídas a este grupo são citadas a ação inseticida [50]. Além disto, ocorrem nas espécies de *Piper* a presença de piperamidas, conhecidas como amidas do tipo piperina ou alcanidas, que apresentam propriedades inseticidas [51], conhecidas por agirem como neurotoxinas no inseto [52].

CONCLUSÃO

O extrato das folhas de *Piper umbellatum*, independente da concentração, mostrou-se eficaz no controle das larvas do mosquito *Aedes aegypti*, com 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas. Sua ação é relacionada a presença de diversos metabólitos secundários com ação inseticida, tais como os compostos fenólicos, terpenóides e alcaloides, conhecidos por sua ação contra herbivoria. Desta maneira, a espécie é uma opção na elaboração de formulações a serem aplicadas no controle de larvas de *Aedes aegypti*.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), pelo apoio financeiro; à Universidade Anhanguera-Uniderp pelo

financiamento do Grupo de Pesquisa Interdisciplinar (GIP) e Produtos Naturais (PN); e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao CNPq, pelas bolsas de pós-graduação e produtividade em pesquisa, concedidas.

REFERÊNCIAS

- [1] TAUIL, P.L. Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 3, p. 275-277, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000300010>.
- [2] LACEY, L.A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 23, n. 2, p. 133-163, 2007. [http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[133:BTSIAB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[133:BTSIAB]2.0.CO;2)
- [3] BHATT, S.; GETHING, P.W.; BRADY, O.J.; MESSINA, J.P.; FARLOW, A.W.; MOYES, C.L.; DRAKE, J.M.; BROWNSTEIN, J.S.; HOEN, A.H.; SANKOH, O.; MYERS, M.F.; GEORGE, D.B.; JAENISCH, T.; WINT, G.R.W.; SIMMONS, C.P.; SCOTT, T.W.; FARRAR, J.J.; HAY, S.I. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, London, v. 496, p. 504-507, 2013. <https://doi.org/10.1038/nature12060>
- [4] NEVES, I.A.; REZENDE, S.R.F.; KIRK, J.M.; PONTES, E.G.; CARVALHO, M. Composition and larvicidal activity of essential oil of *Eugenia candolleana* DC. (Myrtaceae) against *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 9, n. 6, p. 2305-2315, 2017. <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170138>
- [5] FREITAS, M.Z.; ALBINO, A.M.; SOUZA, P.G.; PIRES, L.S.S.; CUNHA, A.E.F.L.; CAVALCANTE, F.S.A.; LIMA, R.A. Avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico dos frutos de *Solanum crinitum* LAM. (Solanaceae) para o controle de imaturos de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Biota Amazônia**, Macapá, v. 9, n. 3, p. 20-23, 2019. <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v9n3p20-23>
- [6] GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F.R.; SILVA, L.M.G.E.; SARMENTO, U.C. Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 5, n. 3, p. 363- 393, 2013. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20130034>
- [7] NAVICKIENE, H.M.; MIRANDA, J.E.; BORTOLI, S.A.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M. Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum*: potent compounds with potential for the control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*.

Pest Management Science, Chichester, v. 63, n. 4, p. 399-403, 2007.
<http://dx.doi.org/10.1002/ps.1340>

[8] SANTOS, M.R.A.; SILVA, A.G.; LIMA, R.A.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; POLLI, A.R.; FACUNDO, V.A. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 319-324, 2010.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042010000200012>

[9] PAULIQUEVIS, C.F.; CONTE, C.O.; FAVERO, S. Atividade inseticida do óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. sobre *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Dois vizinhos, v. 8, n. 3, p. 39-45, 2013.

[10] PAULIQUEVIS, C.F.; FAVERO, S. Atividade inseticida de óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* sobre *Sitophilus zeamais*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 12, p. 1192-1196, 2015.
<https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n12p1192-1196>

[11] FLORA DO BRASIL 2020 em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em 10 agosto 2018.

[12] PERAZZO, F.F.; SOUZA, G.H.B.; LOPES, W.; CARDOSO, L.G.V.; CARVALHO, J.C.T.; NANAYAKKARA, N.P.D.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and analgesic properties of water-ethanolic extract from *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) aerial parts. **Journal of Ethnopharmacology**, Elsevier, v. 99, n. 2, p. 215-20, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.023>

[13] MATTANA, R.S.; FRANCO, V.F.; YAMAKI, H.O.; MAIA e ALMEIDA, C.I.; MING, L.C. Propagação vegetativa de plantas de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] em diferentes substratos e número de nós das estacas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 11, n. 3, p. 325-329, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722009000300015>

[14] BALDOQUI, D.C.; BOLZANI, V.D.S.; FURLAN, M.; KATO, M.J.; MARQUES, M.O. Flavonas, lignanas e terpeno de *Piper umbellata* (Piperaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 1107-1109, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500005>

[15] KLOSS, L.C.; ALBINO, A.M.; SOUZA, R.G.; LIMA, R.A. Identificação de classes de metabólitos secundários do extrato etanólico *Piper umbellatum* L. (Piperaceae). **South**

American Journal of Basic Education, Technical and Technological, Rio Branco, v. 3, n. 2, p. 118-128, 2016.

[16] ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Danvers, v. 51, n. 1, p. 45-66, 2006. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151146>

[17] MATTANA, R.S.; VIEIRA, M.A.R.; MARCHESE, J.A.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M. Shade level effects on yield and chemical composition of the leaf essential oil of *Pothomorphe umbellata* (L.) Miquel. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 4, p. 414-418, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162010000400006>

[18] MESQUITA, J.M.O.; CAVALEIRO, C.; CUNHA, A.P.; LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100003>

[19] HARBORNE, J.B. **Phytochemical methods**. 3. ed. London: Chapman & Hall Publication, 1998.

[20] MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Ceará: Edições UFC, 2009.

[21] SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

[22] ATHAYDE, M.L.; CARDOSO, A.T.; TAKEDA, C.; GOSMANN, G.G.; SCHENKEL, E.P. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 285-303.

[23] BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa. 2019.

[24] FONTOURA, F.M.; MATIAS, R.; LUDWIG, J.; OLIVEIRA, A.K.M.; BONO, J.A.M.; MARTINS, P.F.R.B.; CORSINO, J.; GUEDES, N.M.R. Seasonal effects and antifungal activity from the bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 5, n. 3, p. 283-292, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201500011>

- [25] SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>
- [26] PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 683-689, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400015>
- [27] BROADHURST, R.B.; JONES, W.T. Análise de taninos condensados usando vanilina acidificada. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 29, n. 9, p. 788-794, 1978.
- [28] OLIVEIRA, M.A.C.; ALBUQUERQUE, M.M.; XAVIER, H.S.; STRATTMANN, R.R.; GRANGEIRO JÚNIOR, S.; QUEIROZ, A.T. Development and validation of a method for the quantification of total alkaloids as berberine in an herbal medicine containing *Berberis vulgaris* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n. 3, p. 357-364, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000300013>
- [29] CONSOLI, R.A.G.B.; OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994.
- [30] SILVA, H.H.G.; SILVA, I.G.; LIRA, K.S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 27, n. 1, p. 53-63, 1998. <https://doi.org/10.5216/rpt.v27i1.17196>
- [31] BERNARD, C.B.; KRISHANMURTY, H.G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÈNE, B.J.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; ROMÁN, L.S.; ARNASON, J.T. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 21, n. 6, p. 801-814, 1995.
- [32] AGUIAR-MENEZES, E.L.M. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica (EMBRAPA Agrobiologia, Documentos 205), 2005.
- [33] BRITO, E.F.; BALDIN, E.L.L.; SILVA, R.C.M.; RIBEIRO, L.P.; VENDRAMIM, J.D. Bioactivity of *Piper* extracts on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato. **Pesquisa**

Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 50, n. 3, p. 196-202, 2015.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000300002>

[34] FACUNDO, V.A.; POLLLI, A.R.; RODRIGUES, R.V.; MILITÃO, J.S.L.T.; STABELLI, R.G.; CARDOSO, C.T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 733-742, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672008000400018>

[35] LIJA-ESCALINE, J.; SENTHIL-NATHAN, S.; THANIGAIVEL, A.; PRADEEPA, V.; VASANTHA-SRINIVASAN, P.; PONSANKAR, S.E.; SELIN-RANI, S.; ABDEL-MEGEED, A. Physiological and biochemical effects of botanical extract from *Piper nigrum* Linn (Piperaceae) against the dengue vector *Aedes aegypti* Liston (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, PubMed, v.114, n.11, p.4239-4249, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-015-4662-1>

[36] AOYAMA, E.M.; LABINAS A.M. Características estruturais das plantas contra a herbivoria por insetos. **Enciclopédia da Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 4, p. 365-386, 2012.

[37] NWAUZOMA, A.B.; DAWARI, S.L. Study on the phytochemical properties and proximate analysis of *Piper umbellatum* (Linn) from Nigeria. **American Journal of Research Communication**, v. 1, n. 7, p. 64-177, 2013.

[38] ISIKHUEMEN, E.M.; OGBOMWAN, B.O.; EFENU DU, I.U. Evaluation of phytochemical and mineral constituents of *Piper guineense* Schum. & Thonn. and *Piper umbellatum* Linn: Implications for ethnomedicine. **European Journal of Medicinal Plants**, West Bengal, v.31, n.1, p.84-97, 2020. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2020/v31i130209>

[39] AGBOR, G.A.; VINSON, J.A.; OBEN, J.E.; NGOGANG, J.Y. *In vitro* antioxidante activity of three *Piper* species. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, Taylor & Francis Group, v. 7, n. 2, p. 49-64, 2007. https://doi.org/10.1080/J157v07n02_04

[40] SILVA JR., I.F.; OLIVEIRA, R.G.; SOARES, I.M.; ALVIM, T.C.; ASCÊNCIO, S.D.; MARTINS, D.T.O. Evaluation of acute toxicity, antibacterial activity, and mode of action of the hydroethanolic extract of *Piper umbellatum* L. **Journal of Ethnopharmacology**, PubMed, v. 151, n. 1, p. 137-143, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.011>

[41] HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. **The flavonoids: advances in research**. New York: Chapman and Hall, 1982.

- [42] MITCHELL, M.J.; KEOGH, D.P.; CROOKS, J.R.; SMITH, S.L. Effects of flavonoids and other allelochemicals on insect cytochrome P-450 dependent steroid hydroxylase activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 23, p. 65-71, 1993. [http://dx.doi.org/10.1016/0965-1748\(93\)90083-5](http://dx.doi.org/10.1016/0965-1748(93)90083-5)
- [43] SOSA, M.E.; TONN, C.E.; GUERREIRO, E.; GIORDANO, O.S. Bioactividad de flavonoides sobre larvas de *Tenebrio monitor*. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, v. 59, p. 179-184, 2000.
- [44] SIMMONDS, M. Flavonoids–insect interactions: recent advances in our knowledge. *Photochemistry*, v. 64, p. 21-30, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00293-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00293-0)
- [45] WANG, Z.; ZHAO, Z.; CHENG, X.; LIU, S.; WEI, Q.; SCOTT, I.M. Conifer flavonoid compounds inhibit detoxification enzymes and synergize insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, ScienceDirect, v. 127, p. 1-7, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.09.003>
- [46] ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A.; ZUCOLLOTO, S.M. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 209-233.
- [47] KORKINA, L.G. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. *Cellular and Molecular Biology*, PubMed, v. 53, n. 1, p. 15-25, 2007. <http://dx.doi.org/10.1170/T772>
- [48] ISOBE, T.; OHSAKI, K.; NAGAKA, K. Antibacterial constituents against *Helicobacter pylori* of Brazilian medicinal plant, Pariparoba. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, v. 122, n. 4, p. 291-294, 2002. <http://dx.doi.org/10.1248/yakushi.122.291>
- [49] TABOPDA, T.K.; NGOUPAYO, J.; LIU, J.; MITAINE-OFFER, A.C.; TANOLI, S.A.K.; KHAN, S.N.; ALI, M.S.; NGADJUI, B.T.; TSANO, E.; DUBOIS, M.A.L.; LUU, B. Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. *Phytochemistry*, PubMed, v. 69, p. 1726-1731, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.018>
- [50] UENO, S.; PYOYUN, P.; TOSA, Y.; MAOKA, T.; KOJIMA, T.; YAMASHITA, M.; INOUE, M.; UENO, T. Mosquito larvicidal and antifungal isoquinoline alkaloids from

Papaveraceae. **Japanese Journal of Environmental Entomology and Zoology**, J-STAGE, v. 30, n. 2, p. 51-61, 2019.

[51] MALECK, M.; FERREIRA, B.; MALLET, J.; GUIMARÃES, A.; KATO, M. Cytotoxicity of piperamides towards *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, BioOne, v. 51, n. 2, p. 458-463, 2014. <http://dx.doi.org/10.1603/ME13069>

[52] SCOTT, I.M.; JENSEN, H.R.; PHILOGÈNE, B.J.R.; ARNASON, J.T. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Reviews**, Springer, v. 7, n. 65, p. 65-75, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9058-5>