

Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae) como novo bioinseticida: análise fitoquímica preliminar e atividade larvídica contra *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae)

Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae) as a new biopesticide: preliminary phytochemical analysis and larvicidal activity against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Fernando Pereira Beserra¹, Raimundo Wagner Souza Aguiar², Elisângela Elena Nunes Carvalho³, Jaqueline Cibene Moreira Borges⁴, Bruno Nunes do Vale⁵

RESUMO

Introdução: A dengue é uma doença viral transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* L. Nenhuma vacina ainda foi validada, portanto, há a necessidade de desenvolver novos produtos com novos modos de ação e que causem menor impacto ambiental. **Objetivo:** Avaliar a toxicidade de *Jatropha curcas* frente à larvas de *A. aegypti* e determinar o perfil fitoquímico preliminar. **Material e Método:** Os extratos de folhas e caule de *J. curcas* foram obtidos por maceração durante sete dias, em 500mL de etanol 70% e rotaevaporação. Os extratos obtidos foram submetidos à triagem fitoquímica e atividade larvídica. Para a realização do bioensaio, os extratos na concentração de 100 µg/ml foram suspensos em copos descartáveis contendo 100 ml de água destilada e 15 larvas de 3º estágio de *A. aegypti* cada copo. Os dados foram analisados através do programa de

estatística SISVAR 4.8, com nível de significância de $p < 0,05$.

Resultados: A triagem fitoquímica detectou a presença de proteínas e aminoácidos, depsídeos e depsídonas, taninos e fenóis, alcalóides, esteróides e triterpenos, saponinas e polissacarídeos no extrato das folhas e caule de *J. curcas*. A análise da eficácia de ambos os extratos (folha e caule) de *J. curcas* sobre o *A. aegypti*, demonstrou efeito inseticida significativo sobre as larvas de 3º estágio desse mosquito e diferiram estatisticamente com o grupo controle, em ambos os períodos de avaliação (** $p < 0,01$). **Conclusão:** Os resultados obtidos neste estudo contribuíram com informações fitoquímicas dessa espécie, como também no potencial desta planta no controle de larvas do *A. aegypti*.

Descritores: *Jatropha curcas*. Análise biológica. *Aedes*.

ABSTRACT

Introduction: Dengue is a viral disease transmitted by the mosquito *Aedes aegypti* L. No vaccine has yet been validated, so there is a need to develop new products with new modes of action and cause less environmental impact. **Objective:** To evaluate the toxicity of *Jatropha curcas* against the larvae of *A. aegypti* and determine the preliminary phytochemical profile. **Methods:** The extracts of leaves and stem of *J. curcas* were macerated for seven days in 500 mL of 70% ethanol and using a rotary evaporator. The extracts were subjected to phytochemical screening and larvicidal activity. For the bioassay, the extracts in the concentration of 100µg/ml were suspended in disposable cups containing 100ml of distilled water and 15 larvae in 3rd stage of *A. aegypti* each cup. Data were analyzed using the statistical program SISVAR 4.8, with a significance level of $p < 0.05$.

Results: Phytochemical screening detected the presence of proteins and amino acids, and Depsides depsídonas, phenols and tannins, alkaloids, steroids and triterpenoids, saponins and polysaccharides in the extract from leaves and stems of *J. curcas*. The efficacy analysis of both extracts (leaf and stem) of *J. curcas* on *A. aegypti* showed significant insecticidal effect on the 3rd stage larvae of this mosquito and differed statistically with the control group at both assessment periods (** $p < 0.01$). **Conclusion:** The results of this study contributed phytochemical information of this kind, but also the potential of this plant in controlling larvae of *A. aegypti*.

Descriptors: *Jatropha curcas*. Biological Analysis. *Aedes*.

¹Farmacêutico. Mestre em Ciências Biológicas (Farmacologia) pela Universidade Estadual Paulista (UNESP). Doutorando em Farmacologia e Biotecnologia pela UNESP. Botucatu-SP, Brasil. E-mail: fbeserra@ibb.unesp.br

² Engenheiro Agrônomo. Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular) pela Universidade de Brasília (UNB). Professor Adjunto III da Universidade Federal do Tocantins (UFT). Gurupi-TO, Brasil. E-mail: rwsa@uft.edu.br

³ Farmacêutica. Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Professor Adjunto II da UFLA. Lavras-MG, Brasil. E-mail: elisangelacarvalho@dca.ufla.br

⁴ Farmacêutica. Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Pará (UFPA). Professor Assistente do Centro Universitário de Gurupi - UnirG. Gurupi-TO, Brasil. E-mail: jaquecmb@yahoo.com.br

⁵ Farmacêutico. Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo. Professor Assistente do Centro Universitário de Gurupi - UnirG. Gurupi-TO, Brasil. E-mail: brunofarmaburiti@hotmail.com

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Fernando Pereira Beserra, Rua Benedito Mathias Blumer, nº 35, Jardim Paraíso, Botucatu-SP. CEP: 18610-310 E-mail: fbeserra@ibb.unesp.br

INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) é atualmente o mosquito que apresenta maior dispersão em áreas urbanas do planeta. Ele é um dos agentes (juntamente com *Aedes albopictus*) transmissores da dengue, doença considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos principais problemas de saúde pública no mundo, com grande incidência nas regiões tropicais do globo.¹

Historicamente, o vírus da dengue está relacionado às origens do conhecimento sobre este tipo de organismo, tendo sido descrito em 1907, cinco anos após a descrição do primeiro vírus conhecido, o da febre amarela. O complexo dengue é formado por quatro diferentes sorotipos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4), gerando uma sucessão de manifestações clínicas, que incluem a dengue clássica e a febre hemorrágica da dengue.²

Estima-se que 50-100 milhões de pessoas são infectadas anualmente em mais de 100 países de todos os continentes, com exceção da Europa e da Antártida. Destes casos, cerca de 550 mil necessitam de hospitalização e pelo menos vinte mil são fatais.³⁻⁴ Na região das Américas foram registrados, no início de 2012, mais de 120.000 casos de dengue pelo Programa Regional da dengue da OPAS/OMS, com 1.855 casos graves e 40 óbitos, tendo sido verificada a manifestação dos quatro sorotipos do vírus.⁵

Os casos de dengue no Brasil são alastrantes e a maior incidência dessa doença ocorre nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil. O Estado do Tocantins, em particular, apresenta a maior prevalência da doença quando comparado a outros estados do norte brasileiro, como Amapá e Roraima, apresentando no ano de 2009 taxas mais elevadas da doença, 1.415 casos por 100.000 habitantes.⁶ Tendo em vista o padrão sazonal de ocorrência da doença no Brasil, foi realizado um levantamento de registros de casos de dengue entre os anos de 2006 e 2007 na cidade de Gurupi-TO, com o objetivo de comprovar o perfil da incidência da doença na cidade, e foi observado a existência de registros em todos os meses dos anos, porém com maior frequência no intervalo de tempo compreendido entre os meses de dezembro até maio do ano seguinte, período este bastante chuvoso.⁷ Nesse contexto, a dengue tornou-se um problema contemporâneo e urgente para o sistema sanitário.

Apesar de alguns avanços recentes nas pesquisas para a busca de vacinas para a prevenção da dengue, ainda não foi comprovada a eficácia das mesmas.⁸ Dessa forma, a medida de controle disponível para se evitar as infecções

causadas pelo vírus da dengue é o combate ao seu principal vetor urbano, o mosquito *A. aegypti*, sendo a eliminação das larvas o método de controle ideal, uma vez que os mosquitos habitam locais abrigados e de difícil acesso. As estratégias utilizadas para controle das larvas e dos mosquitos *A. aegypti* são baseadas no uso de várias técnicas disponíveis, como o emprego do bioinseticida *Bacillus thuringiensis* H-14 (Bti), peixes larvófagos das espécies *Gambusia affinis* e *Poecilia* spp. e dos inseticidas químicos das classes dos piretroides, carbamatos e organofosforados, além da melhoria do saneamento.⁹

No entanto, o uso continuado de inseticidas sintéticos tem causado problemas de controle da população do mosquito, levando ao surgimento de espécies resistentes a uma grande variedade de inseticidas. Esta estratégia também tem provocado outros efeitos indesejáveis, tais como poluição ambiental e toxicidade para seres humanos e outros organismos não-alvo.¹⁰ Assim, torna-se necessária a busca de novas alternativas ambientalmente seguras, potencialmente adequadas e mais eficazes para uso em programas de combate à larva do *A. aegypti*. Uma das tendências atuais neste sentido é a prospecção de produtos naturais de origem vegetal com propriedades larvicidas.

Os derivados de planta, extratos e óleos, são amplamente conhecidos pela sua diversidade química e pela sua variada aplicação na indústria. As plantas possuem uma rica fonte de bioativos químicos que podem ajudar no controle de pragas. O conhecimento popular sobre o uso e a eficácia das plantas contribui de forma relevante para a divulgação de suas propriedades, despertando o interesse de pesquisadores de diferentes áreas do conhecimento.¹¹

O gênero *Jatropha* compreende mais de 7.000 espécies, sendo identificados uma série de compostos úteis pelas suas propriedades químicas e farmacológicas. Espécies do gênero *Jatropha* são conhecidas por serem muito tóxicas e irritantes e a atividade purgativa do óleo de suas sementes lembra a atividade semelhante mostrada por ésteres diterpenos presentes no óleo de sementes de muitas outras espécies de Euphorbiaceae. Ésteres diterpenos irritantes foram extraídos, isolados e caracterizados do óleo das sementes de quatro espécies de *Jatropha* – *J. podagrica*, *J. multifida*, *J. curcas* e *J. gossypifolia*.¹²

Jatropha curcas L. é o nome científico de uma planta pertencente à família Euphorbiaceae, do gênero *Jatropha* e denominada popularmente como pinhão-manso, pinhão-branco, pinhão-de-purga e pinhão-paraguaio.¹³ Apesar das

sementes serem consideradas extremamente tóxicas, são descritos na literatura o uso de todas as partes do vegetal, incluindo sementes, folhas e casca frescas ou como decocção, são usados através de várias preparações na medicina tradicional e para fins veterinários. Na África, as sementes são usadas como vermífugo e purgativo, as folhas como hemostáticos.¹⁴ Segundo Isawumi¹⁵ a decocção das folhas é usada contra tosse e como anti-séptico após o nascimento e externamente contra reumatismo e inflamações. Cientificamente, esta espécie apresenta comprovado efeito hipoglicêmico, atividade anti-inflamatória, cicatrizante, efeito anticoagulante e atividade larvívica contra *Culex quinquefasciatus*.¹⁶⁻²⁰ Todas essas propriedades terapêuticas fazem desta espécie uma alternativa potencialmente promissora como bioinseticida seguro contra os vetores da dengue, que causem um mínimo impacto ambiental e com novos modos de ação.

Diante disso, esta pesquisa teve como objetivo principal avaliar a toxicidade do extrato hidroalcoólico da folhas e caule de *J. curcas* frente a larvas de *A. aegypti*, além de determinar o perfil fitoquímico preliminar.

MATERIAL E MÉTODO

A coleta do material botânico foi realizada em Janeiro de 2011 no Bairro Nova Fronteira na cidade de Gurupi, Tocantins (S 11°46.096 W 049°04.143). Duplicatas de exsicatas foram preparadas e identificadas pelo Professor titular da disciplina de Botânica, Rodney Vianna, onde se encontram depositadas no Herbário da Universidade Federal do Tocantins (Campus de Porto Nacional), sob o código 10.299.

As amostras (folhas e cascas) foram lavadas em água corrente, secas em estufa com circulação de ar a 38 °C por 72 horas e depois trituradas em moinho tipo Harley. Depois de trituradas, cada amostra foi macerada em etanol 70% à temperatura ambiente por sete dias em frascos de vidro âmbar, sendo realizada diariamente a agitação. Ao final de sete dias, o sobrenadante foi filtrado em um funil de vidro com papel de filtro utilizando o papel do tipo coador de café, descartável. Este filtrado foi conduzido para um béquer coberto de papel alumínio, para evitar a evaporação do álcool e uma possível interferência da luz, permanecendo em repouso por 72 horas. Em seguida o material foi filtrado e evaporado em rotaevaporador a 40°C sob pressão reduzida. Os extratos secos foram transferidos para um frasco de vidro âmbar menor e armazenados em dessecador, até sua utilização nos testes. Calculou-se o rendimento

(%) do extrato concentrado e após secagem, através da relação entre as massas (g) do extrato concentrado (m) e após sua secagem (m).

Os extratos foram submetidos à triagem fitoquímica preliminar para detecção das principais classes de metabólitos secundários através de reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias. A metodologia utilizada foi realizada conforme as recomendações de Mattos²¹, Simões et al.²² e Miranda et al.²³.

Foram analisadas a presença dos seguintes metabólitos secundários: alcalóides, açúcares redutores, proteínas e aminoácidos, saponinas, taninos e fenóis, depsídeos e depsídonas, esteróides e triterpenos, azulenos, cumarinas, polissacarídeos, antraquinonas, purinas, flavonas, flavonóis, xantonas e flavanonóis.

A criação do *A. aegypti* originou-se de ovos cedidos pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – IPTSP, da Universidade Federal de Goiás – UFG. As larvas para os bioensaios foram obtidas da criação no laboratório de Entomologia da UFT, Campus de Gurupi, onde foram criadas de acordo com a metodologia de Silva et al.²⁴ e adaptadas pelo próprio laboratório com água da rede pública de abastecimento, em câmara biológica climatizada a 28±1 °C, fotoperíodo de 12 horas luz e 12 horas de escuro a 70% de umidade relativa e alimentadas com ração de gato autoclavada, até atingirem o 3º estágio de desenvolvimento.

Os extratos hidroalcoólicos obtidos a partir das folhas e caule foram testados com uma concentração de 100 µg/ml, dissolvidos em uma solução de dimetilsulfóxido (DMSO) à 0,01%. Para a realização do bioensaio, os extratos foram colocados em duplicatas, em copos descartáveis de 200 ml contendo 100 ml de água destilada e 15 larvas de 3º estágio de *A. aegypti*. Como controle foram utilizados os veículos DMSO (0,01%) e água destilada. As larvas tratadas e o controle foram mantidos sob as mesmas condições. Após 24 e 48 horas, foram realizadas as leituras dos resultados. Foram considerados extratos tóxicos os que controlassem 50% da população das larvas das espécies dos mosquitos, após 24 horas de contato sendo consideradas mortas as larvas totalmente inertes, associado com o escurecimento do corpo e/ou da cápsula cefálica.

Os dados do período da atividade larvívica foram sujeitos a análise de variância (ANOVA) através do programa estatístico SISVAR 4.8, com nível de significância de p<0,05.

RESULTADOS

Os extratos hidroalcoólicos obtidos das folhas e caule de *J. curcas*, apresentaram-se como um resíduo verde escuro e viscoso, com odor característico da planta e caráter ácido pH 6,0 nas folhas e 5,5 no caule, conforme mostra a tabela 1.

Tabela 1: Rendimento dos extratos hidroalcoólicos das folhas e caule de *J. curcas* concentrados após secagem

Fração obtida	Peso da fração seca	Rendimento obtido
Fração etanólica das folhas	4,99 g	3,32 %
Fração etanólica do caule	4,36 g	2,90 %

Das 15 classes de metabólitos secundários avaliados na prospecção fitoquímica, foi detectada a presença de proteínas e aminoácidos, depsídeos e depsídonas, taninos e fenóis, alcalóides, esteróides e triterpenos, saponinas e polissacarídeos em ambas as amostras. Contudo, foi observado a presença de açúcares redutores somente no extrato obtido das folhas. A presença destas substâncias indicou a diversidade de compostos químicos funcionais da planta *J. curcas*.

Os resultados foram considerados positivos pela formação de precipitado, surgimento de colorações, formação de espumas e manchas coloridas, sendo classificados em fraco positivo (+) e forte positivo (++) , pela intensificação destes, e negativo (-) pela ausência dos mesmos, como mostra a tabela 2.

Tabela 2: Triagem fitoquímica preliminar dos extratos hidroalcoólicos das folhas e caule de *J. curcas*

Classe de Metabólito secundário	Teste / Reagente	Folhas	Caule
Açúcares redutores	Reativo de Fehling	++	-
Proteínas e Aminoácidos	Solução de Nihidrina	++	++
Saponinas	Saponina espumídica	++	++
Taninos e Fenóis	Cloreto Férrico	++	++
Depsídeos e Depsidonas	Cloreto Férrico	++	+
Esteróides e Triterpenos	Anidrido acético	++	++
Azulenos	Dimetilaminobenzaldeído e Éter de Petróleo	-	-
Derivados de cumarinas	Hidróxido de Sódio	-	-
Polissacarídeos	Reativo de Lugol	++	++
Antraquinonas	Tolueno e Hidróxido de Amônia	-	-
Alcalóides	Reativo de Bouchardt	++	++
	Reativo de Dragendorff	++	++
	Reativo de Mayer	-	-
Purinas	Ácido Clorídrico, Peróxido de Hidrogênio e Hidróxido de Amônia	-	-
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	Água destilada	-	-
Flavanonóis	Água destilada	-	-

A utilização do veículo Dimetilsulfóxido (DMSO) a concentração de 0,01% demonstrou que a utilização deste sobre o volume total de 100 ml de água usados nos bioensaios, não influenciou na mortalidade das larvas.

A análise da eficácia de ambos os extratos (folha e caule) de *J. curcas*, demonstrou efeito inseticida significativo sobre as larvas de 3º estágio de *A. aegypti* e diferiram estatisticamente do grupo controle, em ambos os períodos de avaliação (** $p < 0,01$), conforme a tabela 3.

Tabela 3: Valores médios e desvio padrão da porcentagem (%) de mortalidade das larvas de *A. aegypti* tratadas com de extrato das folhas e caule de *J. curcas*

Extrato	24 horas	48 horas
Folha 100 µg/ml	28,33 ± 1,23Ba**	53,33± 2,90Bb**
Caule 100 µg/ml	21,66± 5,14Ba**	45,00± 2,21Bb**
Controle DMSO 0,01%	0,00± 0,00Aa	0,00± 0,00Aa

Legenda: Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão da média e a significância estatística foi determinada pelo teste de F e Tukey; ** $p < 0,01$. Médias de mesma letra maiúscula para coluna e minúscula para linha não se diferem estatisticamente.

Para efeito da mortalidade das larvas de *A. aegypti*, interação entre os extratos do caule e folha de *J. curcas* e período de exposição (24 e 48 horas), não apresentaram diferenças

significativas entre si pelo teste de Tukey, mostrando que os extratos testados nas mesmas concentrações apresentaram a mesma eficácia em ambos os períodos de avaliação.

DISCUSSÃO

Os testes para alcalóides mostraram-se forte positivos nos extratos das duas amostras, quando utilizados os reativos de Bouchardt e Dragendorff, caracterizados pelo aparecimento das cores laranja-avermelhado e vermelho tijolo, respectivamente. O reagente de Mayer se mostrou ineficiente diante de tais amostras, já que todas se comportaram de maneira indiferente a este teste.

Os alcalóides formam uma classe de metabólitos secundários bastante diversificada, caracterizados por apresentar uma ampla gama de atividades biológicas como: anticolinérgica, emética, antimalárica, anti-hipertensivo, hipnoanalgésica, amebicida, estimulante do SNC, antiviral, miorelaxante, anestésica, antitumoral, antitussígeno, colinérgica, dentre outras.²⁵ Plantas que possuem estas substâncias são consideradas potencialmente tóxicas.²⁶

No teste para confirmação de saponinas espumíficas foram considerados como fortemente positivos nas folhas e caule de *J. curcas*, pela concentração de uma camada de espuma durante um período superior a vinte minutos, após a solução ser agitada. Essas substâncias têm sido associadas às atividades hemolítica, antiviral, antiinflamatória e redução na falha congestiva cardíaca por inibição do efluxo celular de Na^+ .²² Taiz e Zeiger²⁷ citam sua atividade como antifúngica e antibacteriana, pois muitas saponinas são capazes de romper a membrana celular dos microorganismos,

podendo ajudar na absorção de substâncias ou destruí-las, indicando uma característica tóxica.²⁸

Pelah et al.²⁹ apontam as principais atividades apresentadas por plantas que possuem saponinas como: anti-inflamatória, larvívica, moluscívica, hipocolesterolemiantes, expectorante e ventrípica, sendo atividade antifúngica umas de suas principais características biológicas. Em um estudo recente realizado por Ayanbimpe e colaboradores em 2009³⁰, foi possível confirmar a atividade antifúngica do extrato das folhas de *J. curcas* contra fungos isolados, como *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp.

Para o teste de taninos e fenóis, utilizou-se a solução de cloreto férrico (FeCl_3) 1%, onde observou-se a formação de precipitado de coloração esverdeada, o qual indicou a presença de taninos condensados em ambas as amostras analisadas, não havendo aparecimento de coloração inicial entre o azul e o vermelho, caracterizando ausência de fenóis. O uso popular medicinal constante de *J. curcas* como potencial anti-inflamatório e cicatrizante de feridas, têm estimulado a crescente pesquisa nessa determinada área. Nesse intuito os autores Shetty et al.¹⁸ e Mujumdar e Misar¹⁷ comprovaram suas atividades anti-inflamatória e cicatrizante e atribuíram estas possivelmente a presença desses taninos em diversas partes desse vegetal.

Em ensaios posteriores, o extrato bruto das cascas também apresentou uma ótima aceleração no processo de cicatrização em feridas de ratos albinos. Nesse estudo foi observado o aumento de resistência da pele à ruptura e conseqüentemente a diminuição da ferida. Os testes histopatológicos também detectaram uma aceleração no processo de cura com maior concentração de colágeno na forma de feixes.¹⁸ De acordo com a literatura especializada, os taninos ajudam no processo de cicatrização de feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora sobre a pele ou mucosa danificada, ocorrendo, abaixo desta, o processo natural de cura.³¹

Em ambos os extratos, foram observados a presença de depsídeos e depsídonas pela coloração verde azulada, após a adição da solução de FeCl₃. Segundo os autores Yamamoto et al.³² e Okuyama et al.³³ esses grupos de metabólitos têm sido reconhecidos por apresentarem atividades antioxidantes, antivirais, antitumorais, analgésicas e antipiréticas.

Em relação ao teste para identificação de açúcares redutores foi usado os reativos de Fehling A e B, confirmando resultado de intensidade forte positivo pela formação de precipitado de coloração vermelho tijolo somente no extrato obtido das folhas. Este fato pode ser explicado, pela utilização da planta na alimentação de animais.³⁴

Os esteróides e triterpenos fazem parte do grupo de metabólitos secundários dos terpenos e constituem a classe de substância mais frequente em espécies pertencente à família Euphorbiaceae. No presente estudo foi constatada a presença dessas substâncias através da forte coloração azul evanescente, utilizado os reagentes específicos para esta classe.

Martinez-Herrera et al.³⁵ realizaram estudo fitoquímico com quatro amostras de *J. curcas* em diferentes regiões do México (Coatzacoalcos, Castillo de Teayo, Pueblillo e Yautepec), e conseguiram isolar o éster forbol na concentração de 3,85mg/g extraídos com metanol através da investigação por HPLC na região de Coatzacoalcos, México.

Os Ésteres de Folbol, ou ésteres diterpenos são pertencentes à classe dos terpenos e considerados as substâncias mais tóxicas presentes em *J. curcas*, e por serem lipossolúveis, grande parte destas substâncias são extraídas juntamente com o óleo. Seu elevado grau de toxicidade já foi verificado em estudos com ratos, comprovando tais substâncias responsáveis pela indução de resposta inflamatória e inclusive formação de tumores.³⁶

Em estudos anteriores realizados com as folhas dessa planta, conduzindo o isolamento e identificação de substâncias, foi possível detectar uma nova biflavona-di-C- glicosídeo 6,6"- di-C-beta-D-glicopirailosídeo-metileno-(8,8") biapigenina juntamente com outros seis compostos conhecidos: apigenina-7-O-beta-D-neohesperidosídeo, apigenina-7-O-beta-D-galactosídeo, orientina, vitexina, vicenin II e apigenina.³⁷ Estes resultados divergem do presente estudo pela ausência de compostos flavonóidicos encontrados no mesmo.

Ao analisar os resultados do perfil fitoquímico preliminar das folhas investigadas neste estudo, verificou-se que alguns destes compostos químicos estão compatíveis com os descritos na literatura, divergindo apenas na ausência de derivados cumarínicos nesta pesquisa e encontrados em um estudo realizado por Ebuehi e Okorie³⁸, assim como, flavonóides ausentes nesta pesquisa e encontrados nos estudos aprofundados de Abda-Alla et al.³⁷.

Com base nessa pequena variação entre resultados da espécie estudada com as respectivas pesquisas, Matos²¹ explica que muitas espécies vegetais existentes, ocorrem em regiões diferentes e conseqüentemente podem também apresentar diferenças em sua composição química. O autor ressalta ainda que este fator pode estar relacionado com os aspectos ambientais como: solo, clima, coleta do material, temperatura e reagentes químicos, dentre outros.

Os autores Silva et al.³⁹ recomendam que para a obtenção de resultados satisfatórios é importante ter cuidados especiais e minuciosos em todas as etapas do estudo fitoquímico, como na coleta botânica, que deve dar prioridades a plantas saudáveis e boas condições de acondicionamento do material coletado, na preparação dos extratos, onde geralmente há formações de artefatos indesejáveis, na escolha do solvente certo para a extração como para a diluição da placa para a cromatografia, e na qualidade dos reagentes utilizados nas análises, bem como o manuseio correto dos mesmos, a falha em qualquer etapa da pesquisa poderá levar a resultados diferentes aos desejados.

Em relação aos resultados fitoquímicos encontrados no caule de *J. curcas*, é possível analisar a presença de diversas classes de metabólitos secundários, não sendo encontrados na literatura estudos com essa parte da planta. Esse fato pode ser explicado possivelmente pela ausência de relatos populares relacionados ao uso medicinal, uma vez que os estudos fitoquímicos e farmacológicos só ganham importância quando realizados de acordo com o uso popular.

Alguns trabalhos têm demonstrado que espécies pertencentes à Família Euphorbiaceae possuem propriedade larvicida. Essas plantas apresentam bioativos, principalmente da classe dos terpenos, sendo estes compostos considerados os grandes promissores na obtenção de substâncias com propriedades inseticidas dessas espécies.

Viegas Junior⁴⁰ ressalta que os modos de ação mais ativos da espécie *J. curcas* podem estar diretamente relacionados aos terpenóides, visto que tais substâncias possuem muitas vezes a finalidade de protegê-las contra a herbivoria, sendo a inibição da acetilcolinesterase um dos mecanismos mais encontrados.

Estudos realizados por Rahuman e colaboradores em 2008²⁰, revelaram a atividade inseticida de cinco plantas da família Euphorbiaceae, usando extratos de acetato de etila, butanol e de éter de petróleo sobre larvas de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, sendo avaliada a maior taxa de mortalidade no extrato acetato de etila de *Euphorbia tirucalli* L. e *J. curcas* L.

Foi evidenciado, recentemente, efeito larvicida do extrato aquoso das folhas de *J. curcas* sobre *Rhipicephalus microplus*, um importante parasita na bovinocultura mundial. Segundo os autores, os resultados de mortalidade larvar observados foram: T1:0%; seguida de T2:14%; T3:41%; T4:52%; T5:61%; T6:61,5% e T7:80%. O tratamento com o extrato aquoso de pinhão manso sobre larvas do *R. (Boophilus) microplus*, resultou em 80% de mortalidade apenas quando administrado na concentração de 64%.⁴¹

Devido ao grande uso de inseticidas, o desenvolvimento de resistência é um processo que ocorre com muita frequência, pois os espécimes resistentes são selecionados ao longo do tempo e conseqüentemente geram populações maiores, necessitando de mudança periódica dos inseticidas utilizados ou a substituição por métodos físicos e biológicos pelo maior tempo possível.⁴²

Em relação às alterações observadas pelos extratos de *J. curcas* nas larvas de *A. aegypti*, analisou-se as mesmas segundo sua movimentação. As larvas pertencentes ao grupo controle apresentaram grande locomoção, observado através de contrações do corpo e reações a qualquer toque com o auxílio da pipeta de plástico. Porém, as larvas submetidas ao extrato das folhas de *J. curcas* começaram a apresentar diminuição de seus movimentos após uma hora de exposição e ficaram totalmente letárgicas após 24 horas de contato.

O mesmo fato também ocorreu no trabalho realizado por Medeiros⁴³, utilizando extratos de *Aspidosperma pyrifolium*, *Mimosa verrucosa*, *M.*

hostilis, onde observaram a perda da mobilidade com o início de duas horas de tratamento e estado letárgico em 24 horas de exposição. Nesse sentido, ressalta-se que a diferença no tempo de letalidade pode ocorrer pelos variados mecanismos de ação dos vegetais nas larvas e também pela forma em que esses extratos penetram por ingestão ou por contato.

As diferenças de toxicidade dos extratos de *J. curcas* sobre o *A. aegypti*, possivelmente estão relacionados com a variação dos teores de princípios ativos, pois se observa uma taxa de mortalidade de larvas maior no extrato das folhas, quando comparado com o extrato do caule, tanto em 24 horas, como em 48 horas de exposição.

Conforme analisado, no presente trabalho não foi possível realizar o teste larvicida com concentrações diferentes de modo a obter a CL₅₀ e de nenhum composto químico puro, porém uma vez identificados, estes testes poderão ser realizados numa etapa posterior a essa pesquisa. Assim, esses resultados indicam a possibilidade de uso integrado dessa parte da planta para combater esses mosquitos, diminuindo os impactos ambientais e contribuindo com a saúde da população e do meio ambiente.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo indicam o potencial inseticida contra larvas de *A. aegypti* causado pelos extratos de *J. curcas*. Esses resultados evidenciam que os efeitos desses extratos são atribuídos possivelmente pela presença elevada de compostos terpênicos e saponinas, os quais em grande quantidade podem apresentar características tóxicas e até mesmo letais aos seres vivos.

Novas investigações serão necessárias com a espécie *J. curcas*, pois o nível de atividade larvicida apresentado pelos extratos vegetais nesse estudo, indica que em concentrações maiores pode haver uma maior eficácia na mortalidade das larvas de *A. aegypti*. Fica evidente também a necessidade do fracionamento desses extratos em diferentes polaridades, bem como, a determinação da composição química, visando o isolamento e a purificação, para proporcionar um maior grau de exatidão desses compostos encontrados na espécie.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. International travel and health. Disease distribution maps: Dengue. WHO; 2010.
2. Pugachev KV, Guirakhoo F, Trent DW, Monath TP. Traditional and novel approaches to flavivirus vaccines. *Int j parasitol.* 2003; 33(5-6): 567-82.
3. World Health Organization (WHO) website 2009. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en>>. Acesso em: 21/03/14.
4. Pan American Health Organization website 2011. Disponível em: <http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&task=view&id=264&Itemid=363&&lang=en>. Acesso em: 21/03/14.
5. Programa Regional da dengue da OPAS/OMS, PWR/COR. Website 2012. Disponível em: Garcez WS et al. 390 *Rev. Virtual Quim.* 5(3): 363-93. <<https://new.paho.org/bra/index.php>>. Acesso em: 21/03/14.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Programa nacional de controle da dengue. 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?ldtx=236> Acesso em: 21/03/14.
7. Sá L, Oliveira ET, Santos JP, Santos, GJV. Utilização de ferramentas de análise espacial no estudo de incidência de casos de dengue no município de Gurupi-TO. *Revista Cereus (on line).* 2009; 1(1): 1-8.
8. Coller BAG, Clements, DE. Dengue vaccines: progress and challenges. *Curr opin immunol.* 2011; 23(3): 391-8.
9. Organización Panamericana de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control, Washington, DC: OPS, 1995.
10. Macoris MLG, Angrighetti MTM, Glasser CM, Garbeloti VC, Cirino VCB. Alteração da resposta de suscetibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 1999; 33: 521-2.
11. Maciel MAM, Pinto ACVF, Veiga-Junior NF, Grynberg A, Echevarria. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Qim Nova.* 2002; 25(3): 429-43.
12. Márquez-Vizcaíno RL, Rosa-Torres C, Fair-González R, Bohórquez-Mercado J. Fitoquímica preliminar y evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* Linneo. (Euforbiaceae). *Revista de la asociacion colombiana de ciencias biológica.* 2005; 27(1): 109-11.
13. Hirota BCK, Trevisan RR, Dias JFG, Miguel MD. Fitoquímica e Atividades biológicas do gênero *Jatropha*: Mini-revisão. *Visão Acadêmica.* 2010; 11(2): 1-10.
14. Gubitzi GM, Mittelbach M, Trabi M. Exploitation of tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresour technol.* 1999; 67(1): 73-82.
15. Isawumi MA. Nigerian chewing sticks. *The Nigerian Field.* 1978; 43(3): 111-21.
16. Rau O, Wurglics M, Dingermann T, Abdel-Tawab M, Schubertszilavec M. Screening of herbal extracts for activation of the human peroxisome proliferator-activated receptor. *Pharmazie.* 2006; 61(11): 952-56.
17. Mujumdar AM, Misar AV. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *J ethnopharmacol.* 2004; 90(1): 11-15.
18. Shetty S, Udupa SL, Udupa AL, Vollala VR. Wound healing activities of Bark Extract of *Jatropha curcas* Linn. in albino rats. *Saudi med j.* 2006; 27(10): 1473-6.
19. Osoniyi O, Onajobi F. Coagulant and anticoagulant activities in *Jatropha curcas* latex. *J ethnopharmacol.* 2003; 89(1): 101-5.
20. Rahuman AA, Gopalakrishnan G, Venkatesan P, Geetha K. Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol res.* 2008; 102(5): 867-73.
21. Matos FJA. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2ª Ed. Fortaleza: Edições UFC; 1997. 141p.
22. Simões, CMO et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC; 2004. 1102p.
23. Miranda GS. et al. Atividade antibacteriana in vitro de quatro espécies vegetais em diferentes gradações alcoólicas. *Rev bras plantas med.* 2013; 15(1): 104-11.
24. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. *Rev patol trop.* 1998; 27(1): 53-63.
25. Barbosa-Filho JM, Piuvezam MR, Moura MD, Silva MS, Lima KVB, Cunha EVL, Fachine IM, Takemura OS. Antiinflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2006; 16(1): 109-34.
26. Rodrigues KAF, Dias CN, Florêncio JC, Vilanova CM, Gonçalves JRS, Coutinho-Moraes DF. Prospecção Fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. *Cad pesqui.* 2010; 17(2): 1-8.
27. Taiz L, Zeiger E. Surface protection and secondary metabolites defense compounds. In: Taiz, L. & E. Zeiger (eds.). *Plant Physiology.* Califórnia: Cummins company; 1991. p. 318-45.

28. Schenkel EP, Gosmann G, Athaydem L. Saponinas. In: Simões, CMO et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. 3ª Ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007.
29. Pelah D, Abramovich Z, Wiesman MK. The use of commercial saponin from Quillaga saponaria bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. J ethnopharmacol. 2002; 81: 407-9.
30. Ayanbimpe GM, Ojo TK, Afolabi E, Opara F, Orsaah S, Ojerinde OS. Evaluation of extracts of *Jatropha curcas* and *Moringa oleifera* in culture media for selective inhibition of saprophytic fungal contaminants. J clin lab anal. 2009; 23(3): 161-4.
31. Santos SC, Mello JCP. Taninos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.
32. Yamamoto Y, Miura Y, Kinoshita Y, Higuchi M, Yamada Y, Murakami A, Ohigashi H, Koshimizu K. Screening of tissue culture and thalli of lichens and some of their active constituents for inhibition of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation. Chem pharm bull. 1995; 43(8): 1388-90.
33. Okuyama E, Umeyama K, Yamazaki M, Kinoshita Y, Yamamoto Y. Usnic acid and diffractin acid as analgesic and antipyretic components of *Usnea diffracta*. Planta med. 1995; 61(2): 113-15.
34. El Badwi, SM, Adam SE, Hapke HJ. Comparative toxicity of *Ricinus communis* and *Jatropha curcas* in Brown Hisex chicks. Dtsch tierarztl wochenschr. 1995; 102(2): 75-7.
35. Martinez-Herrera J, Siddhuraju P, Francis G. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. Food Cheminty. 2006; 96: 80-9.
36. Gonçalves SB, Mendonça S, Laviola BG. Substâncias tóxicas, alergênicas e antinutricionais presentes no Pinhão Manso e seus derivados e procedimentos adequados ao manuseio. Circular Técnica EMBRAPA Agroenergia. 2009; 1-5.
37. Abda-Alla HI, Moharram FA, Gaara AH, El-Safty MM. Phytoconstituents of *Jatropha curcas* L leaves and their immunomodulatory activity on humoral and cell mediated immune response in chicks. Zeitschrift fuer Naturforschung Section C. J biosci. 2009; 64(7-8): 495-501.
38. Ebuehi OA, Okorie NA. Phytochemical screening and quantification of flavonoids from leaf extract of *Jatropha curcas* Linn. Nig Q J Hosp Med. 2009; 19(4): 200-5.
39. Silva NLA, Miranda, FAA, Conceição GM. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. Scientia Plena. 2010; 6(2): 1-17.
40. Viegas Júnior C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Qim nova. 2003; 26(3): 390-400.
41. Silva J, Souza LM, Silva IC, Soares VE, Belo MAA, Torrente ACG, Faria VP, Mazzone F, Chagas ACS. Potencial larvicida do extrato aquoso de *Jatropha curcas* (Pinhão manso), sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev saúde. 2010; 4 (Esp1).
42. Donalisio MR, Glasser CM. Vigilância entomológica e controle do vetor da dengue. Rev bras epidemiol. 2002; 5: 259-72.
43. Medeiros VF. Potencial larvicida de extratos de plantas regionais no controle de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). [dissertação de mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Rio Grande do Norte; 2007.