



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO COORDENAÇÃO DO CURSO DE
LICENCIATURA EM QUÍMICA



TAINÁ MELQUÍADES ARROSPIDE

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ACARICIDA DE EXTRATOS DE *SPILANTHES
ACMELLA* (JAMBÚ) FRENTE AO *TETRANYCHUS URTICAE* E ISOLAMENTO DO
ESPILANTOL**

Recife

2019

TAINÁ MELQUÍADES ARROSPIDE

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ACARICIDA DE EXTRATOS DE *SPILANTHES
ACMELLA* (JAMBÚ) FRENTE AO *TETRANYCHUS URTICAE* E ISOLAMENTO DO
ESPILANTOL**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito necessário à obtenção de título de licenciada em Química, pelo curso de Licenciatura Plena em Química da UFRPE.

**Orientador: Prof. Dr. André Augusto
Pimentel Liesen Nascimento**

Recife

2019

TAINÁ MELQUÍADES ARROSPIDE

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A778a Arrospide, Tainá Melquiades.
Avaliação da atividade acaricida de extratos de *Spilanthes
Acmella* (Jambú) frente ao *teatranychus Urticae* e isolamento
do Espilantol / Tainá Melquiades Arrospide. - Recife, 2019.
55 f.: il.
Orientador(a): André Augusto Pimentel Liesen Nascimento.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Recife,
BR-PE, 2019.
Inclui referências e anexo(s).

1. *Spilanthes acmella* 2. Espilantol 3. Ácaro-rajado I. Nascimento,
André Augusto Pimentel Liesen, orient. II. Título

CDD 540

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ACARICIDA DE EXTRATOS DE *SPILANTHES
ACMELLA* (JAMBÚ) FRENTE AO *TETRANYCHUS URTICAE* E ISOLAMENTO DO
ESPILANTOL**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito necessário à obtenção do grau de licenciada em Química pela banca examinadora representada pelos membros:

Aprovada em: 25/06/2019

Orientador

Prof. Dr. André Augusto Pimentel Liesen Nascimento (UFRPE)

Examinador (UFRPE)

Prof. Dr. Claudio Augusto Gomes da Camara (UFRPE)

Examinador (UFRPE)

Prof. Dr. Túlio Ricardo Couto de Lima Souza (UFRPE)

AGRADECIMENTOS

À Deus, em toda sua plenitude, por me ensinar e orientar minha trajetória.

Aos meus avós, Virgínia e Manoel e ao meu tio Abdênego por todo suporte me concedido.

Aos meus pais, por indescritível incentivo a seguir em frente com meus objetivos.

Aos professores e amigos que estiveram ao meu lado em numerosos momentos na academia.

Aos membros do grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBIO) e Laboratório de Ecoquímica e Síntese (LEQS) da UFRPE.

Ao meu orientador, Prof. Dr. André A. P. Liesen Nascimento, pela valiosa orientação durante a iniciação científica.

RESUMO

Neste trabalho, foi realizado o isolamento do espilantol, composto bioativo presente em diferentes plantas, entre elas a *Spilanthes acmella* (L.), popularmente conhecida como “Jambú”, através dos extratos obtidos pós-extração da matéria bruta das partes aéreas e raízes de *S. acmella*, sendo detectado à partir de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM/CG-MS), radiação ultravioleta (UV-Vis), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC), infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) em comparação com dados da literatura.

Foi avaliada através de bioensaios em laboratório, a toxicidade do extrato hexânico bruto das flores e folhas de *S. acmella* frente às fêmeas de *Tetranychus urticae* Koch, “ácaro rajado”, obtendo-se CL₅₀ de 1.63 mg/mL. Os mesmos extratos utilizados, foram submetidos ao teste de repelência, que visou verificar a preferência por área de discos foliares de *Canavalia ensiformis*, “feijão de porco”, tendo por base a metodologia descrita.

Foi verificada posteriormente, a presença do espilantol nas partes aéreas e raízes de novas amostras de *S. acmella* coletadas igualmente no estado do Pará, a fim de se obter quantidades significativas do produto natural à partir de novos isolamentos por cromatografia líquida em coluna.

Palavras-chave: *Spilanthes acmella*, espilantol, ácaro-rajado

ABSTRACT

In this work, the isolation of spilanthol, a bioactive compound present in several plants, among them a *Spilanthus acmella* (L.), popularly known as "Jambú", was carried out by extraction of post-extraction of the key matter of aerial parts and roots (GC-MS / CG-EM), ultraviolet (UV-Vis) radiation, high performance liquid chromatography (HPLC/CLAE), infrared (IR) chromatography and nuclear magnetic resonance (NMR) compared to the literature.

A toxicity of the hexagonal extract of the flowers and leaves of *S. acmella* was evaluated through laboratory bioassays against the females of *Tetranychus urticae* Koch, "brindle mite", obtaining LC50 of 1.63 mg / mL. The same extracts were submitted to the repellency test, which verified the preference for foliar veneers of *Canavalia ensiformis*, "pork bean", based on the described methodology.

It was later verified, along with the presence of new molecules and roots of new *S. acmella* samples also collected in the state of Pará, in order to obtain the same properties of the natural product from new isolations by liquid column chromatography.

Keywords: *Spilanthus acmella*, spilanthol, spider mite

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do Espilantol (N-isobutil-2-E, 6-Z, 8-E-decatrienamida).....	11
Figura 2. <i>Spilanthes acmella</i> (L.) (Fonte: Blog “Growing Hermione’s Garden, 2011)	11
Figura 3. Inluorescências de <i>Spilanthes acmella</i> (L.) comercializadas no mercado, Belém – PA (Fonte: Blog “A planta da vez”, 2016).....	12
Figura 4. Estruturas químicas das principais alquilamidas constituintes de <i>S. acmella</i>	16
Figura 5. Gráfico do uso de agroquímicos pela quantidade de terras cultivadas (Fonte: Gazeta do Povo, 2017).....	19
Figura 6. Visão macroscópica do <i>T. urticae</i> (Fonte: IRAC-BR).....	21
Figura 7. Ciclo de vida do ácaro-rajado (Fonte: PROMIP, 2010).....	22
Figura 8. Amostras 1 e 2 de <i>S. acmella</i> coletadas no estado do Pará.....	24
Figura 9. Pesagem das amostras secas.....	24
Figura 10. Estufa de circulação.....	24
Figura 11. Material seco e triturado de flores e folhas de <i>S. acmella</i> em solução etanólica.....	25
Figura 12. Fluxograma da partição líquido-líquido das diferentes partes de <i>S. acmella</i>	27
Figura 13. Partição líquido-líquido das diferentes partes de <i>S. acmella</i> em solventes de diferentes polaridades.....	27
Figura 14. Bioensaio de repelência.....	28
Figura 15. Perfil do extrato etanólico das raízes de <i>S. acmella</i>	31
Figura 16. Perfil do extrato etanólico das folhas de <i>S. acmella</i>	31

Figura 17. Perfil do extrato etanólico das flores de <i>S. acmella</i>	32
Figura 18. Perfil do extrato etanólico dos caules de <i>S. acmella</i>	32
Figura 19. Cromatograma do extrato etanólico dos caules de <i>S.acmella</i>	33
Figura 20. Cromatograma do extrato etanólico das flores de <i>S. acmella</i>	33
Figura 21. Cromatograma do extrato etanólico das folhas de <i>S. acmella</i>	34
Figura22. Cromatograma do extrato etanólico dos caules de <i>S. acmella</i>	34
Figura 23. Cromatograma do extrato etanólico das flores de <i>S. acmella</i>	34
Figura24. Cromatograma do extrato etanólico das raízes de <i>S. acmella</i>	35
Figura 25. Cromatograma do extrato hexânico das raízes de <i>S. acmella</i>	35
Figura 26. Detecção por Ultravioleta (UV-Vis).....	36
Figura 27. Placa CDD do composto elucidada por UV	37
Figura 28. Perfil do cromatograma da fração 11 pós-coluna do extrato hexânico das raízes de <i>S. acmella</i>	38
Figura 29. Espectro de massas do espilantol.....	38
Figura 30. Espectro de RMN ¹ H do espilantol.....	39
Figura 31. Espectro de IV do espilantol.....	40
Figura 32. Rota semissintética.....	45
Figura 33. Quadro resumo de usos de <i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. Jansen (Fonte: Projeto: “Extrativismo não-madeireiro e desenvolvimento sustentável na Amazônia (ITTO PD 31/99 Ver. 3 (I).” Banco de dados “Non Wood”)).....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CL₅₀ – Concentração Letal Média

CG-EM – Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa

CG-MS – Do inglês “Gas Chromatography Mass Spectrometry”

HPLC – Do inglês “High Performance Liquid Chromatography”

IV – Infravermelho

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS	13
1.1.1 Objetivo geral.....	13
1.1.2 Objetivos específicos.....	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 <i>Spilanthes acmella</i> (L).....	14
2.2 Atividade acaricida.....	18
3. METODOLOGIA	22
3.1 Coleta do material vegetal.....	23
3.2 Quantificação das amostras de <i>S. acmella</i> coletadas.....	23
3.3 Secagem do material vegetal.....	24
3.4 Obtenção dos extratos etanólicos das partes aéreas e raízes de <i>S. acmella</i>	25
3.5 Equipamentos de análises.....	25
3.6 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC).....	26
3.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM).....	26
3.8 Detecção por UV-Vis.....	26
3.9 Partição dos extratos etanólicos das diferentes partes de <i>S. acmella</i> secas em solventes de diferentes polaridades.....	26
3.10 Avaliação biológica dos extratos obtidos.....	27
3.11 Isolamento do espilantol.....	28
3.12 Caracterização por Ressonância magnética nuclear (RMN).....	28
3.13 Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Isolamento e caracterização do espilantol.....	30
4.2 Avaliação do potencial acaricida dos extratos hexânicos das diferentes partes de <i>S. acmella</i>	41
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
6. PERSPECTIVAS	45
7. REFERÊNCIAS	46
7. ANEXOS	50

1. INTRODUÇÃO

O espilantol (Figura 1) é um composto que se destaca por suas atividades biológicas, tais como analgésica, antinociceptiva, antioxidante e larvicida especialmente frente às larvas do *Aedes aegypti*, além de acaricida, sendo relatado na literatura sua avaliação biológica frente ao *Rhipicephalus microplus*, espécie de ácaro classificada como hematófaga, distribuída em todo território nacional (CASTRO, K. N. C. , 2014). Presente em diferentes plantas, entre elas a *Spilanthes acmella* (L.) (Figura 2) ou “Jambú”, que pertence à família *Asteraceae*, é uma erva muito abundante na região Norte do Brasil (BARBOSA, A. F. et al., 2016). As inflorescências do Jambú do Pará são, em sua maioria, simples alongadas, apresentando ocasionalmente, inflorescências geminadas alongadas e geminadas globóides (MARTINS, C.P.S et. al., 2012).

É bastante utilizada na culinária no estado do Pará, sendo consumida em pratos típicos como o tacacá e pato-no-tucupi ou utilizada *in natura* na forma de chás na medicina popular como antibiótico, anestésico, entre outros (COSTA, S. et al., 2013).

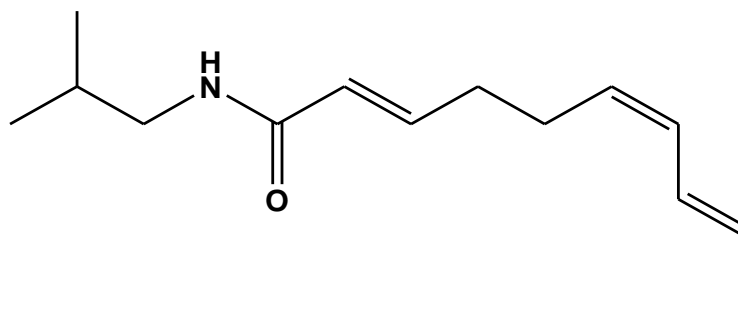


Figura 1. Estrutura do Espilantol (*N*-isobutil-2-*E*, 6-*Z*, 8-*E*-decatrienamida)



Figura 2. *Spilanthes acmella* (L.)

(Fonte: Blog “Growing Hermione’s Garden, 2011)

A *S. acmella* pode ser comercializada inteira, em ramos frescos ou caules e folhas desidratadas, agregando-se valor quando comercializada na forma de cápsulas, tinturas, xaropes, pratos típicos e saladas (REVILLA, et al, 2001). Quando comercializada inteira, têm-se maior durabilidade do produto até 24 horas após a colheita.

Nas proximidades das festas juninas, os maços grandes de ramos que podem conter flores, alcançam altas cotações no mercado devido a sua utilização em pratos típicos da época. Sendo o preço variável conforme a época do ano (CARDOSO M.O.; GARCIA, L.C., 1997).



Figura 3. Influrescências de *Spilanthes acmella* (L.)

comercializadas no mercado, Belém – PA

(Fonte: Blog “A planta da vez”, 2016)

Diversas alquilamidas estão presentes na espécie, sendo a mais abundante a *N*-isobutil-2-*E*, 6-*Z*, 8-*E*-decatrienamida ou espilantol, de fórmula molecular $C_{14}H_{23}NO$, descrita como

um óleo viscoso, de coloração amarelo claro, que produz um efeito anestésico e de formigamento sobre a língua, sendo a partir daí sua utilização nas afecções da boca e garganta e como tratamento para dores de dentes (BOONEN, 2010). Há relatos descritos pela literatura sobre a atividade inseticida do produto natural frente à *Plutella xylostella* L., (KADIR et al., 1989; SPELMAN et al., 2011; SHARMA et al., 2012) que é uma das pragas mais destrutivas que atacam vegetais crucíferos, como o brócolis. Sendo também ativo contra as larvas do *Aedes aegypti*, que podem disseminar os vírus causadores da dengue, chikungunya e febre amarela (RAMSEWAK et al., 1999).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Obter os extratos das diferentes partes de *S. acmella* com posterior avaliação de suas propriedades acaricidas frente ao *Tetranychus urticae* e isolar o espilantol natural.

1.1.2 Específicos

- Obter e padronizar os extratos das diferentes partes de *S. acmella* com solventes de diferentes polaridades;
- Isolar através de técnicas cromatográficas o espilantol das diferentes partes de *S. acmella*;
- Caracterizar o espilantol isolado através de técnicas espectroscópicas;
- Avaliar o potencial acaricida dos extratos obtidos das diferentes partes de *S. acmella* frente ao *Tetranychus urticae*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Spilanthes acmella* (L.)

Spilanthes acmella (L.) (*Acmella oleracea*), foi identificada inicialmente em 1807 como um gênero distinto, mas estreitamente relacionado a cinco espécies de diferentes variedades e formas. Ao longo dos anos, foi anatomicamente e fisiologicamente classificada por vários estudos botânicos.

Augustine Henry em 1896, documentou pela primeira vez a espécie, dando-lhe o nome de *Acmella paniculata* (Wall, exD.C.) R.K. Jansen. Atualmente, o gênero *Acmella* foi alocado a aproximadamente 30 espécies e a *Spilanthes* a 6 espécies distribuídas pelo mundo (BRINGEL JR., 2007). Estando distribuída geograficamente em regiões tropicais próximas à linha do Equador, África, Ásia e América do Sul (LEWIS et al, 1988).

S. acmella é conhecida popularmente como Jambú, agrião-do-pará, e agrião-do-brasil, sendo bastante utilizada pela população da região norte do Brasil na culinária. (NOMURA et al., 2013). No estado do Pará, é consumida em pratos típicos como o tacacá e pato-no-tucupi ou *in natura* na forma de chás na medicina popular, como antibiótico, anestésico, entre outros (COSTA, S. et al., 2013).

A Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 14, de 2012 da ANVISA, no que se refere a aditivos sintéticos e naturais em produtos comercializados no Brasil, utiliza parâmetros de controle da Associação de Extratos e Flavorizantes (FEMA – Flavor and Extract Manufactures Association), fundada em 1909 nos EUA, que desde então, analisa a segurança de alimentos e bebidas em todo mundo com objetivo de promover o uso seguro desses através dos interesses comerciais de seus membros (FEMA, 2000).

A FEMA, bem como a Autoridade Europeia para a Segurança e Alimentos (EFSA – European Food Safety Authority) classificou o Jambú como próprio para consumo com base em seus parâmetros e/ou normas de segurança (EFSA Journal, 2015).

Sendo a espécie consumida na culinária ou de forma medicinal pela população da região norte do Brasil a bastante tempo, aliada ao fato de ter sido classificada como segura pela FEMA e EFSA, valida-se o aproveitamento da obtenção dos extratos vegetais da planta e isolamento do produto majoritário, o espilantol, para fins medicinais.

Diversos compostos estão presentes nas partes aéreas do Jambú, entre eles estão os terpenos, β - cariofileno, limoneno e timol, substâncias fenólicas, como o ácido vanílico e o ácido trans-ferulico, além de fitoesteróis, polissacarídeos, e outras alquilamidas (RAMSEWAK et al., 1999). As propriedades biológicas de *A. oleraceae* dependem

principalmente de *N*-alquilamidas, especialmente do espilantol (BOONENET al., 2010). As *N*-alquilamidas derivadas de ácidos graxos são uma família de mais de 300 metabólitos secundários encontrados em espécies vegetais distintas e relativamente bem caracterizados nas famílias de plantas: *Aristolochiaceae*, *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Convolvulaceae*, *Euphorbiaceae*, *Menispermaceae*, *Piperaceae*, *Poaceae*, *Rutaceae* e *Solanaceae*. Entre as várias plantas que contêm altos níveis (> 0,5%) de ácidos graxos, estão: *Asteraceae Echinacea*, *Chrysanthemum*, *Anacyclus pyrethrum* (L.) e *Spilanthes oleracea* (L.) ou *Spilanthes acmella* (L.), *Piperaceae* e *Rutaceae* (Gertsch, J., 2008).

As alquilamidas que constituem a *S. acmella* são (2*E*,5*Z*)-*N*-isobutil-undeca-2,5- dieno-8,10-diinamida (**2**), (2*Z*)-*N*-isobutil-2-noneno-6,8- diinamida (**3**) , *N*-fenetil-2,3-epoxi-6,8-nonadiinamida (**4**) , (2*E*,4*Z*)-*N*-isobutil-2,4- undecadieno-8,10-diinamida (**5**) , (2*E*)-*N*-isobutil-2-undeceno-8,10-diinamida (**6**), (2*E*)-*N*-(2-metilbutil)-2- undeceno-8,10-diinamida (**7**) , (2*E*,7*Z*)-*N*-isobutil-2,7-tridecadieno-10,12-diinamida (**8**) , (2*E*,7*Z*)-*N*-isobutil-2,7-decadienamida (**9**) , (2*E*,6*Z*,8*E*)-*N*-(2-metilbutil)-2,6,8- decatrienamida (**10**) e (2*E*,4*E*,8*Z*,10*Z*)-*N*-isobutil-dodeca-2,4,8,10-tetraenamida (**11**) (BAE et al., 2010; BOONEN et al., 2010). Sendo o espilantol (*N*-isobutil-2-*E*, 6-*Z*, 8-*E*-decatrienamida) (**1**) o composto mais abundante, que se destaca por suas atividades biológicas, sendo as principais: analgésica, antinociceptiva, antioxidante, larvicida e inseticida especialmente frente às larvas do *Aedes aegypti*, além de acaricida, sendo relatada na literatura em ensaio *in vitro* frente às fêmeas de *R. microplus*. Podendo ser encontrado também em outras espécies de plantas, tais como a *A. ciliados*, *A. oppositifolia*, *A. radicans*, *A. brachyglossa*, *A. oleracea*, *A. paniculata*, *A. uliginosa*, *Welelia parviceps* e *Heliopsis longipes* (PHRUTIVORAPONGKUL, A., et al., 2008).

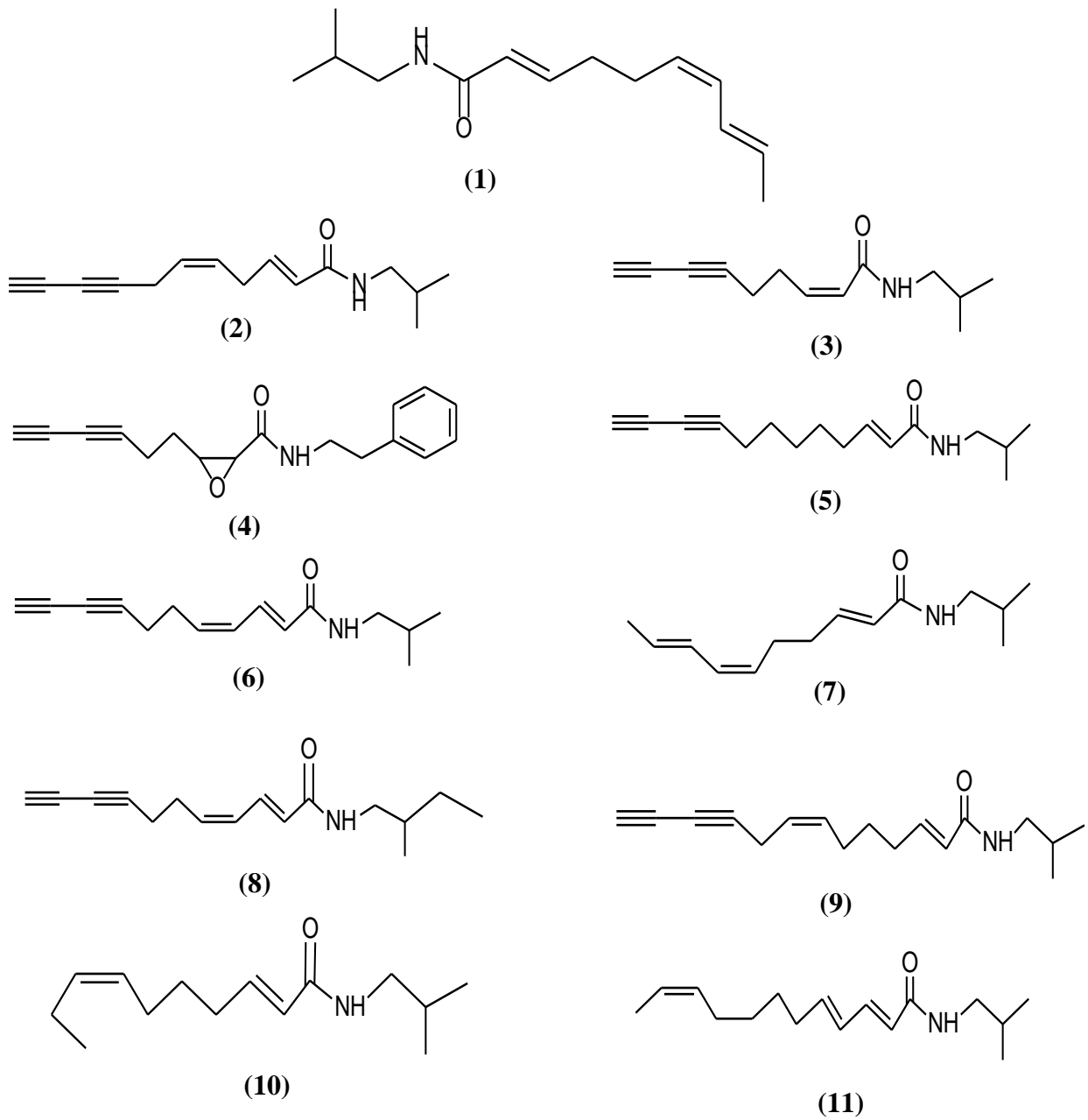


Figura 4. Estruturas químicas das principais alquilamidas constituintes de *S. acmella*

A composição físico-química de folhas frescas de *A. oleracea* apresenta cálcio, fósforo, ferro, água, proteínas, lipídios, carboidratos, fibra, cinza, vitamina B1, B2, niacina, vitamina C e outros elementos químicos (REVILLA, 532, 2002).

Suas propriedades físico-químicas, características de *N*-alquilamidas, foram descritas por Jacobson em 1957, conforme mostra a tabela abaixo:

Coloração	Amarela clara
Ponto de fusão	23° C
Ponto de ebulição	165 ° C
Índice de refração	1,5135
Absorção máxima (UV)	228,5 nm

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do espilantol

Diversos autores descrevem métodos utilizados para a obtenção do produto natural a partir da *S. acmella*, tais como: extração em funil convencional, cromatografia líquida em coluna, ultrassom, CO₂ supercrítico, preparativas em colunas (XAD-16 e Sephadex LH-20) e cromatografia por partição centrífuga. Como o espilantol é anfifílico, pode ser extraído de plantas utilizando solventes que variam em polaridade de hexano a metanol (RAMSEWAK et al., 1999). As partes da planta onde há maior relatos da quantidade dos princípios ativos presentes são as flores e raízes.

2.2 Atividade acaricida

A popularização dos agrotóxicos se deu em plena segunda guerra mundial, havendo relatos na literatura acerca do controle de pragas na agricultura e no combate a vetores de doenças, como o DDT (diclorodifeniltricloroetano), $C_{14}H_9Cl_5$. Diante disso, houve grande crescimento na produtividade da indústria de agroquímicos, presente atualmente. Somado ao desenvolvimento sustentável, o crescimento no uso de insumos químicos tornou-se conhecido como “revolução verde” (BULL & HATHAWAY, 1986).

Porém, além de erradicarem as pragas, também podem eliminar seus inimigos naturais, ou seja, seus predadores e competidores. Acrescenta-se o fato do aumento de resistência por parte das pragas, havendo tolerância na administração de doses letais em quase totalidade de seus progenitores (PASCHOAL, 1979). O Brasil está em 7º lugar na proporção do uso de agrotóxicos por terras cultivadas, segundo dados de 2013.

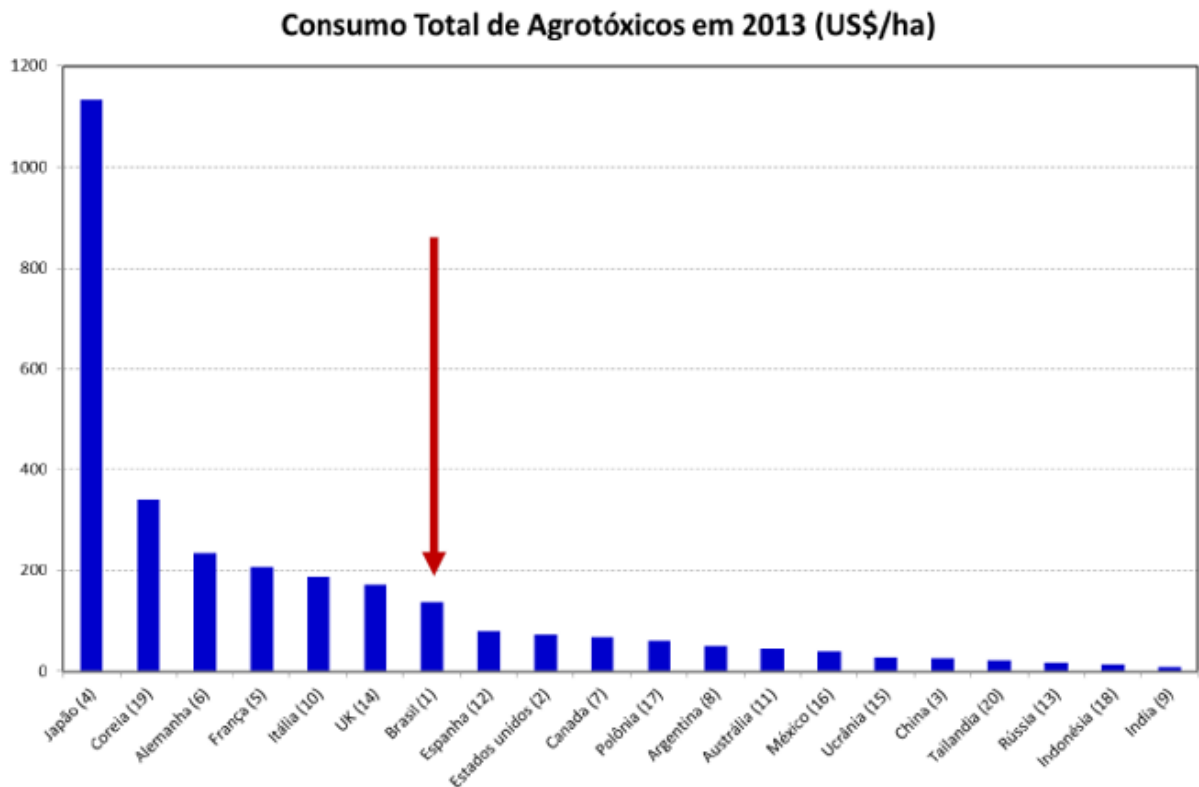


Figura 5. Gráfico do uso de agroquímicos pela quantidade de terras cultivadas (Fonte: Gazeta do Povo, 2017)

O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), é uma das principais pragas do algodoeiro que afeta em muitos aspectos o crescimento dessa e outras plantas (WILSON, 1993). Durante o processo de alimentação o ácaro introduz os estiletes nos tecidos das plantas, onde injeta toxinas e reguladores de crescimento sugando o conteúdo celular extravasado (FLECHTMANN, 1985), reduzindo, assim, a produtividade e a qualidade do material colhido.

No Brasil, esta praga já foi registrada em diversos Estados de Norte a Sul. Em Pernambuco, seu primeiro registro de ocorrência foi em 1985, após o início dos cultivos irrigados no município de Petrolina (MORAES, 2001). Os ácaros podem afetar drasticamente o crescimento da planta, reduzindo significativamente a eficiência da fotossíntese, resultando na redução do rendimento da cultura, qualidade da fibra e conteúdo de óleo das sementes (WILSON et al., 1991; WILSON, 1993).

A utilização de defensivos químicos tradicionais, praticamente a única tática eficaz de controle do ácaro rajado, deve ser efetuada de maneira a preservar os inimigos naturais e o meio ambiente e também evitar o desenvolvimento de populações resistentes. Tem sido observado rápido desenvolvimento de resistência de ácaros fitófagos aos inseticidas, principalmente, em função do elevado potencial reprodutivo e do curto ciclo de vida dos ácaros, além do uso frequente do mesmo acaricida (pressão de seleção) em determinada área (STUMPF et al., 2001). A busca por novas espécies vegetais com propriedades inseticidas tem aumentado nos últimos anos devido ao uso indiscriminado de produtos sintéticos como pesticidas para proteção de cultivos. Entre os compostos naturais bioativos, vários óleos essenciais vegetais (CALMASUR et al., 2006; ELGENGAIHI et al., 1996; Pontes et al., 2007a, b), extratos vegetais (Shi et al., 2006) e metabólitos secundários microbianos (VILLANUEVA e WALGENBACH, 2006) foram avaliados como acaricidas semissintéticos. O Jambú que tem como composto majoritário o espilantol ((2*E*,6*Z*,8*E*)-*N*-(2-metilpropil)deca-2,6,8-trienamida ou (2*E*,6*Z*,8*E*)-*N*-isobutil-2,6,8-decatrienamida), (TORRES; CHAVÉZ, 2001), é relatado na literatura por suas diversas atividades biológicas, sendo das suas principais, a atividade acaricida devido à presença dessa alquilamida.

Como mencionado, o ácaro rajado possui ciclo de vida curto e um elevado potencial reprodutivo, o que pode favorecer o desenvolvimento de resistência aos acaricidas utilizados (STUMPF; NAUEN, 2001). Possui um estágio larval com duração de 1 dia à temperatura de 23° C, variando até 9 dias para machos e 11 dias para fêmeas à temperatura de 13° C. A protoninfa é maior e mais oval do que a larva; apresenta quatro pares de patas. De início é de

coloração verde-clara e, à medida que se alimenta, vai escurecendo. As duas manchas oculares são maiores e mais pronunciadas do que na larva. Passando por uma fase imóvel, sofre a segunda ecdise, resultando na deutoninfa. O tempo mínimo para o desenvolvimento do primeiro estágio ninfal é de 1 dia, para ambos os sexos, à temperatura de 24° C ou pouco acima; à temperatura de 10° C o estágio de protoninfa tem duração de 7 dias para os machos e 13 dias para as fêmeas. (FLECHTMANN, 1972, p. 25)

Segundo Flechtmann (1972), as fêmeas do *T. urticae* são maiores, mais volumosas e arredondadas, além de exibirem as manchas oclares mais pronunciadas que as dos machos, que apresentam a região do opistossoma afilada para a região.



Figura 6. Visão macroscópica do *T. urticae* (Fonte: IRAC-BR)

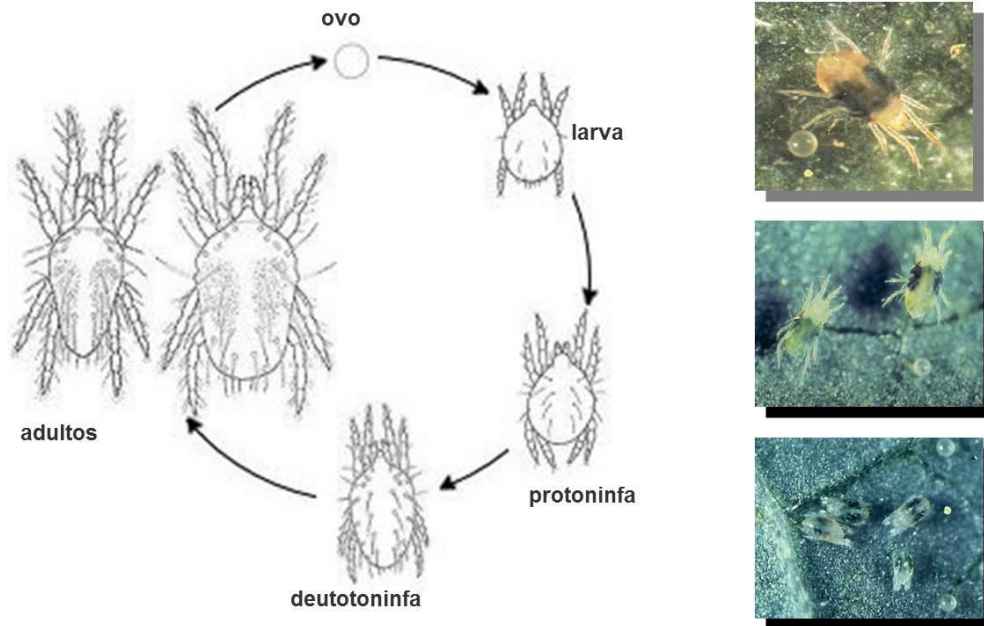


Figura 7. Ciclo de vida do ácaro-rajado (Fonte: PROMIP, 2010)

Assim, como as condições apresentadas favorecem a resistência do o *T. urticae* aos acaricidas utilizados comercialmente, várias abordagens diferentes para o manejo integrado de pragas e no controle em especial dessa espécie de ácaro utilizando produtos naturais à base de plantas foram propostos recentemente.

Como relatado na literatura, o espilantol possui elevado potencial de repelência e toxicidade acaricida frente ao *Rhipicephalus microplus*, uma espécie de ácaro hematófago, que segundo dados da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) é classificado como principal limitante da expansão da criação de bovinos em todo país. Portanto, emerge assim o interesse de avaliação da eficiência dos extratos padronizados de *S. acmella*, que possui como composto majoritário o espilantol, frente ao *T. urticae*, espécie cosmopolita e polífaga, no controle de sua população na cultura do algodoeiro e outras diversas plantas.

3. METODOLOGIA

Os procedimentos experimentais utilizados no desenvolvimento da pesquisa seguiram as etapas metodológicas de: 1. Coleta do material vegetal;

2. Quantificação das amostras coletadas;

3. Secagem do material vegetal;

4. Obtenção dos extratos etanólicos das diferentes partes de *S. acmella*;

5. Análise por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC), UV-Vis e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM/CG-MS) dos extratos etanólicos obtidos;

6. Partição dos extratos em solventes de diferentes polaridades;

7. Análise por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM/CG-MS) dos extratos obtidos;

8. Avaliação biológica dos extratos hexânicos obtidos por partição das diferentes partes de *S. acmella*;

9. Isolamento do espilantol;

10. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear (RMN);

11. Análise por Espectroscopia na região do infravermelho (IV).

3.1 Coleta do material vegetal

Em meados de agosto e setembro, duas amostras de *S. acmella* foram coletadas na cidade de Ananindeua (01° 21' 56" S 48° 22' 20" W), no estado do Pará, região norte do Brasil.



Figura 8. Amostras 1 e 2 de *S. acmella* coletadas no estado do Pará

3.2 Quantificação das amostras de *S. acmella* coletadas

Foi verificada a quantidade de material vegetal seco em gramas após secagem, utilizando uma balança comum de pesagem, para cada parte previamente separada das duas amostras de *S. acmella* coletadas.



Figura 9. Pesagem das amostras secas

3.3 Secagem do material vegetal

O material vegetal foi separado em partes aéreas (folhas, flores, caules) e raízes, em seguida, seco em estufa de circulação de ar à uma temperatura de 50° C por 48 h até a obtenção de massa constante, por se tratar de uma etapa bastante significativa no processo de obtenção dos seus constituintes (RODRIGUES et al., 2006).



Figura 10. Estufa de circulação

3.4 Obtenção dos extratos etanólicos das partes aéreas e raízes de *S. acmella*

Após a secagem, o material foi triturado e suspenso em 500 mL de álcool etílico P.A. para a obtenção dos seus extratos etanólicos brutos de cada parte da planta. Sendo o solvente evaporado sob pressão reduzida em rotaevaporador.



Figura 11. Material seco e triturado de flores e folhas de *S. acmella* em solução etanólica

3.5 Equipamentos de análises

Estufa de circulação modelo 320-E - FANEM

Rotaevaporador/ Evaporador rotativo à vácuo modelo 801 - FISATOM

HPLC modelo Prominence - SHIMADZU

CG-EM modelo Hewlett-Packard 5890 equipado com um detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida DB-5 não polar (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m)

IV modelo IRTracer - 100 (NC) - SHIMADZU

RMN modelo Varian unitty plus 300 MHz

3.6 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC)

Os extratos brutos etanólicos, foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, através dos seguintes parâmetros:

1. Coluna: Shim-Pack CLC-ODS (M) C-18, 5 μm ;
2. Temperatura: 30 °C;
3. Solvente: Solução aquosa a 0,1% de ácido fórmico e MeOH;
4. Comprimento de onda: 254 nm;
5. Volume de injeção: 10 μL

3.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM)

Posteriormente, os extratos etanólicos brutos de todas as partes da amostra vegetal seca foram submetidos à análise por CG-EM com temperatura do forno programada de 100 a 280° C a uma taxa de 3 ° C min^{-1} e temperatura do injetor e do detector de 260 ° C., a fim de se identificar a presença do espilantol em cada uma das frações analisadas.

Para isso, foi utilizado um método de ionização em um tempo de análise de 28 minutos.

3.8 Detecção por UV-Vis

Em seguida, foi utilizado o método de detecção por radiação ultravioleta que se deu pelo detector presente no equipamento de HPLC.

3.9 Partição dos extratos etanólicos das diferentes partes de *S. acmella* secas em solventes de diferentes polaridades

Foram realizadas partições em funil de separação convencional, utilizando solventes de diferentes polaridades: (n-hexano, acetato de etila e diclorometano P.A.), a fim de se comparar a presença do espilantol em cada fração obtida utilizando os mesmos métodos descritos para a análise dos extratos brutos etanólicos.

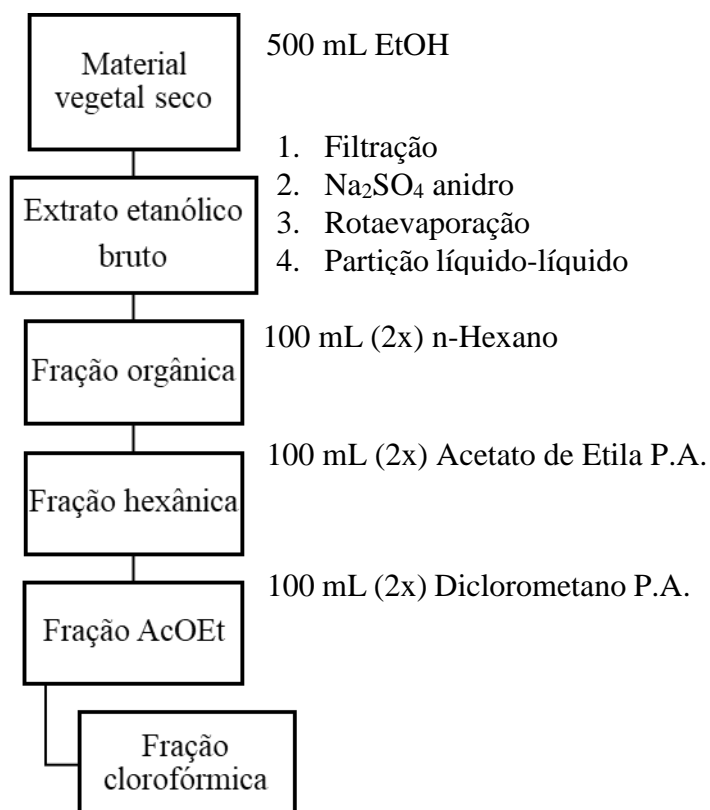


Figura 12. Fluxograma da partição líquido-líquido das diferentes partes de *S. acmella*

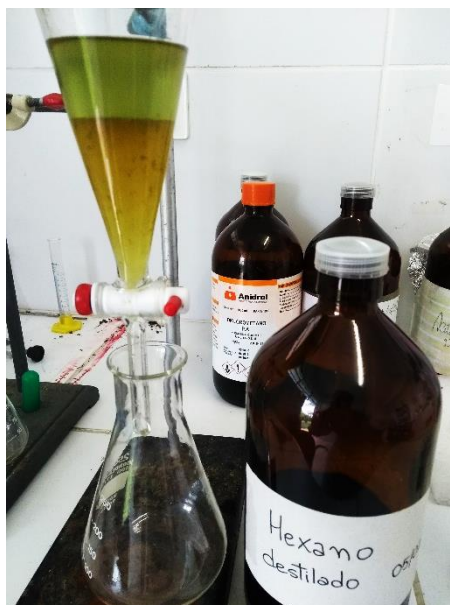


Figura 13. Partição líquido-líquido das diferentes partes de *S. acmella* em solventes de diferentes polaridades

3.10 Avaliação biológica dos extratos obtidos

A avaliação biológica dos extratos hexânicos das flores e folhas foi realizada frente às fêmeas de *Tetranychus urticae*, ou “ácaro rajado”. Os ácaros foram criados em plantas de *Canavalia ensiformes* (L.) ou feijão-de-porco, cultivadas no Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e os bioensaios foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE, sendo feitos dois testes de acordo com a metodologia descrita por PONTES, W. J. T, et al (2007), com modificações, o primeiro de toxicidade frente às fêmeas do ácaro-rajado e o segundo de repelência.

1. Teste de toxicidade dos extratos hexânicos de flores e folhas *S. acmella* frente as fêmeas de *T. urticae*

Fêmeas adultas foram dispostas em três discos foliares, com trinta ácaros cada um, expostas a soluções dos extratos hexânicos em concentrações variando de 0 a 7,6 mg/mL, sendo realizado o experimento em triplicata. Os dados de porcentagem de mortalidade foram submetidos à análise estatística de variância, com valores médios comparados pelo teste de Tukey [$P \leq 0,05$]. Sendo também analisados com o modelo Probit utilizando o programa POLO-PC na determinação dos valores de CL₅₀.

2. Teste de repelência dos extratos hexânicos de flores e folhas *S. acmella* frente as fêmeas de *T. urticae*

- Um disco de folha foi imerso em solução 1% dos extratos diluídos em diclorometano P.A. (tratamento). O outro disco foi imerso apenas com diclorometano P.A. (branco);
- Trinta ácaros fêmeas adultas foram transferidas para uma lamínula;
- Tempo de avaliação do experimento:
1h, 12h, 24h e 48h, com cinco repetições.

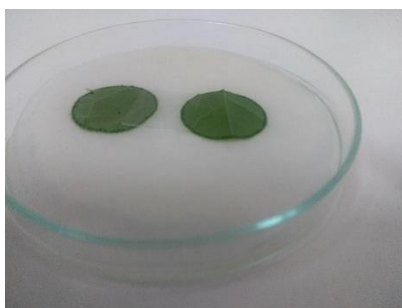


Figura 14. Bioensaio de repelência

3.11 Isolamento do Espilantol

Em seguida, foram feitas purificações à partir dos extratos hexânicos e clorofórmicos obtidos das folhas, flores e raízes das amostras de *S. acmella*, através de coluna cromatográfica de sílica gel, sendo suas frações acompanhadas por placas CCD sob radiação ultravioleta.

Ainda, foi utilizada CCD preparativa com intuito de se obter o produto natural isolado com teor de pureza plausível a ser utilizado como material de partida em modificações estruturais semissintéticas.

3.12 Caracterização por Ressonância magnética nuclear (RMN)

A caracterização do material isolado foi realizada em parceria com o Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE, sendo analisada através do espectro de hidrogênio do composto, com base em dados da literatura. Foi utilizado CDCl_3 (clorofórmio deuterado) como solvente e TMS (tetrametilsilano) como padrão interno.

3.13 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

O espectro na região do infravermelho foi obtido através da análise por espectrômetro de IV do Laboratório Multiusuário do Departamento de Química da UFRPE, utilizando-se pastilha de KBr.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e caracterização do espilantol

As amostras de *S. acmella* coletadas na cidade de Ananindeua (01° 21' 56" S 48° 22' 20" W), no estado do Pará, região norte do Brasil, foram previamente separadas em partes aéreas (folhas, flores, caules) e raízes, sendo posteriormente quantificadas, obtendo-se as seguintes massas em gramas:

Amostra 1	Amostra 2
Folhas: 70 g	Folhas: 65 g
Flores: 13 g	Flores: Aprox. 1 g
Caules: 60 g	Caules: 75 g
Raízes: 48 g	Raízes: 20 g

Tabela 2. Quantidades em gramas das amostras de *S. acmella*

Após a quantificação e separação, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar à 50° C, até a obtenção de sua massa constante, por se tratar de uma etapa bastante significativa no que se refere ao rendimento final do composto isolado, conforme mostra a metodologia de Rodrigues et al., 2006.

.Em seguida, foi triturado e suspenso em 500 mL de álcool etílico P.A. para a obtenção dos seus extratos etanólicos brutos das diferentes partes de *S. acmella* (folhas, flores, caules e raízes). Sendo o excesso de solvente evaporado sob pressão reduzida fazendo uso de um rotaevaporador.

A análise dos perfis dos extratos etanólicos previamente obtidos, foi realizada inicialmente por HPLC, nos parâmetros descritos na metodologia, a fim de se comparar os dados presentes nos cromatogramas de cada parte das duas amostras de *S. acmella*, observando um pico característico que evidencia a presença do espilantol em um tempo de retenção próximo a 17 minutos em cada cromatograma, sendo condizente com os dados de identificação do composto presentes na literatura (DELLAMORA, E. D. C. L. et al., 2013).

Sendo o primeiro cromatograma analisado foi referente ao extrato etanólico das raízes de *S. acmella*, seguido de folhas, flores e caules, onde foi verificada similaridade com relação ao pico majoritário referente ao espilantol no tempo de retenção mencionado. Porém, mais evidenciado para a fração correspondente às raízes de *S. acmella*.

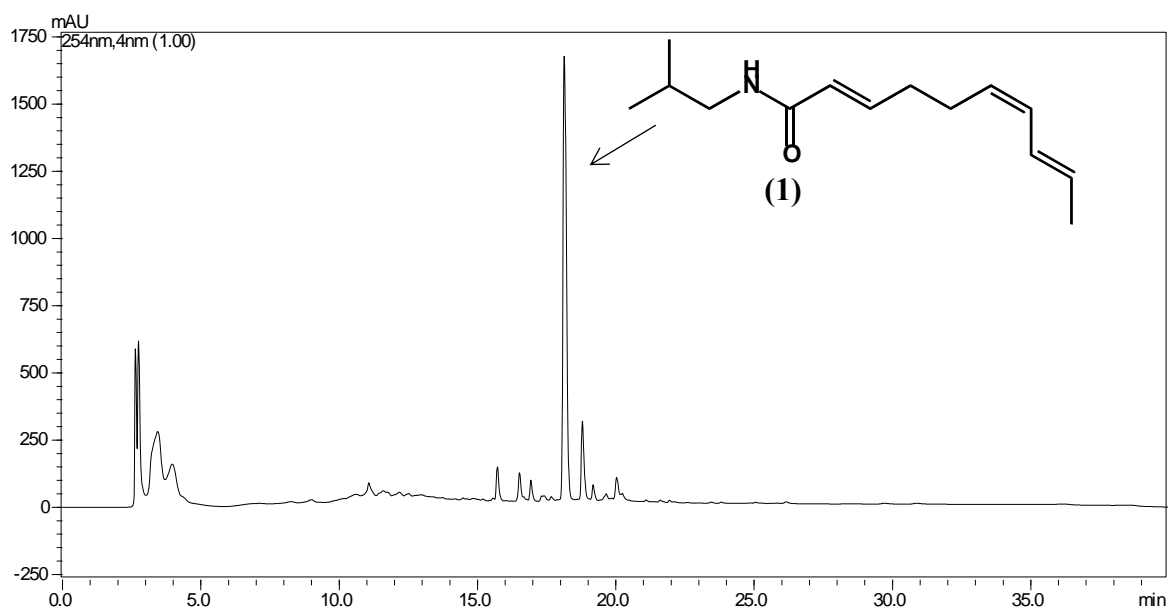


Figura 15. Perfil do extrato etanólico das raízes de *S. acmella*

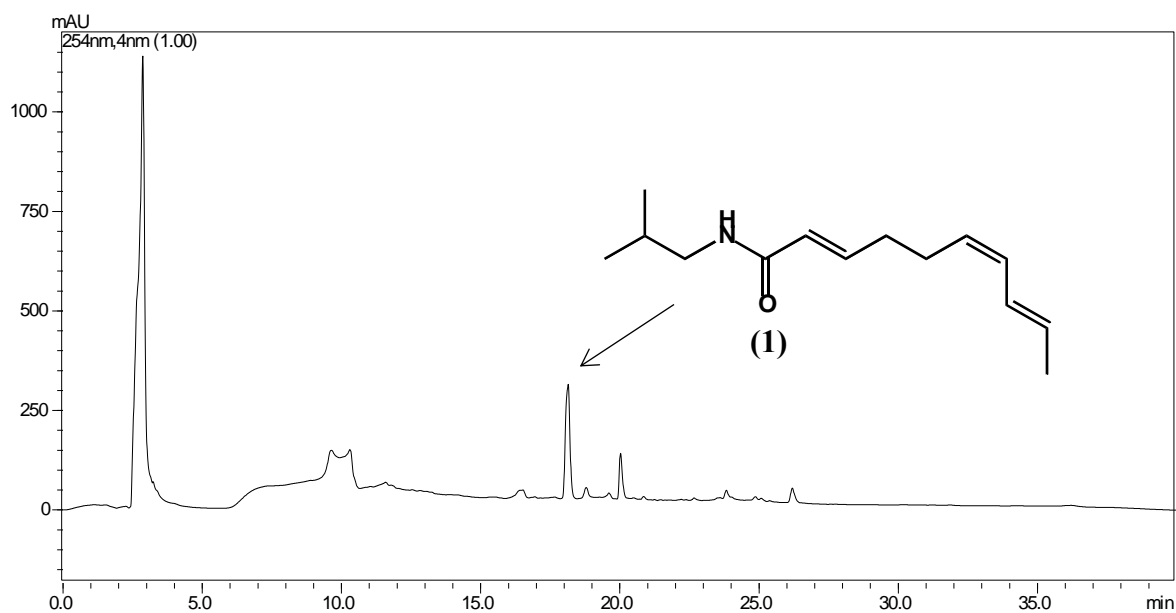


Figura 16. Perfil do extrato etanólico das folhas de *S. acmella*

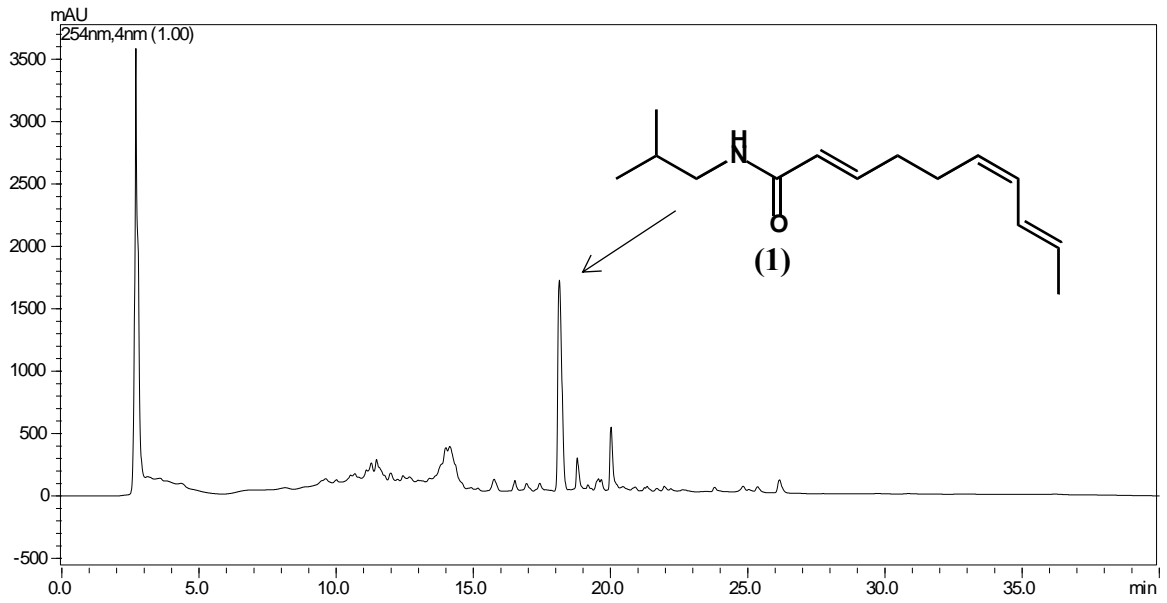


Figura 17. Perfil do extrato etanólico das flores de *S. acmella*

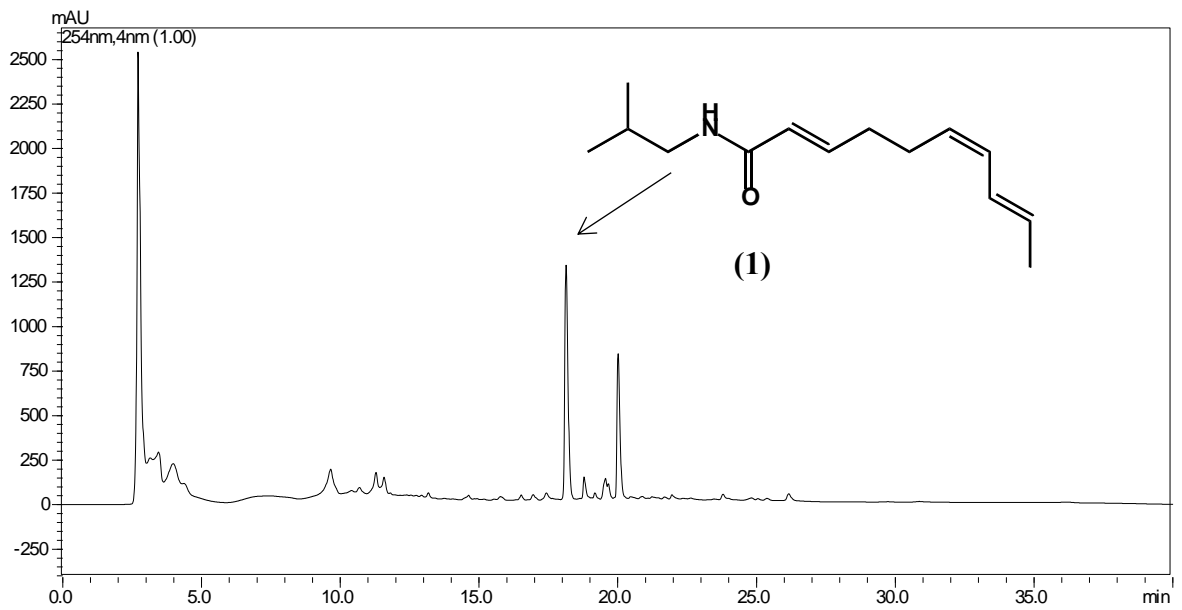


Figura 18. Perfil do extrato etanólico dos caules de *S. acmella*

Posteriormente, foi realizada a análise dos extratos brutos etanólicos de *S. acmella* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) para as mesmas partes vegetais das amostras **1** e **2**, onde foi possível identificar a presença do espilantol, em um tempo de retenção de aproximadamente 12.1 minutos semelhante aos dados descritos em comparação com a literatura (GRACE, M. H. et al., 2011)., conforme mostra os cromatogramas abaixo:

- AMOSTRA 1

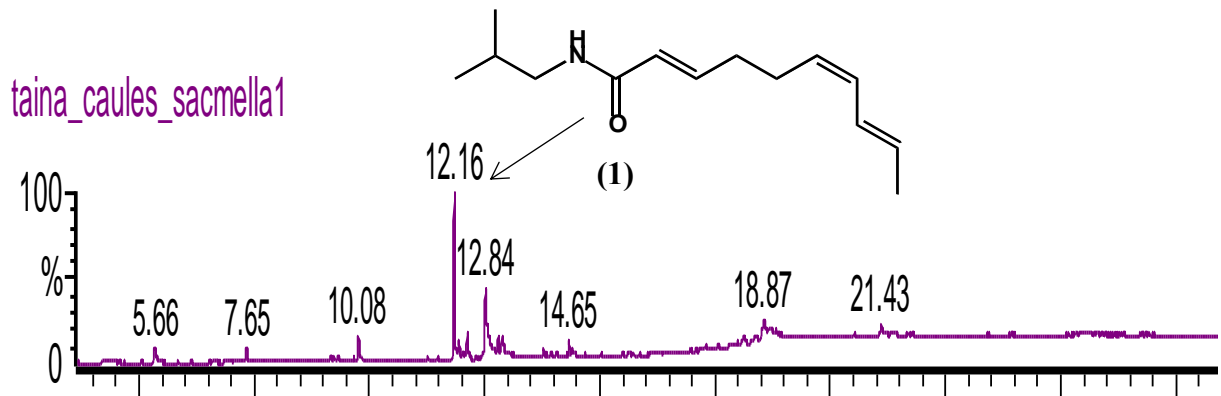


Figura 19. Cromatograma do extrato etanólico dos caules de *S. acmella*

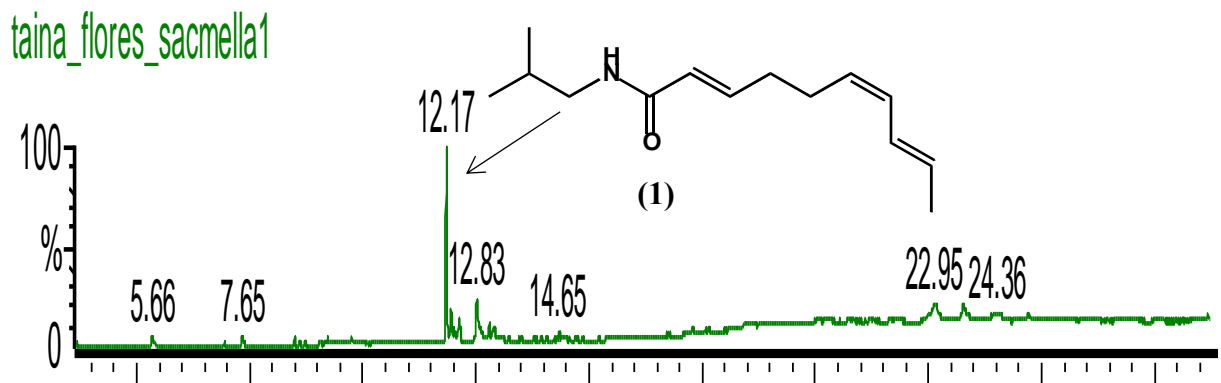


Figura 20. Cromatograma do extrato etanólico das flores de *S. acmella*

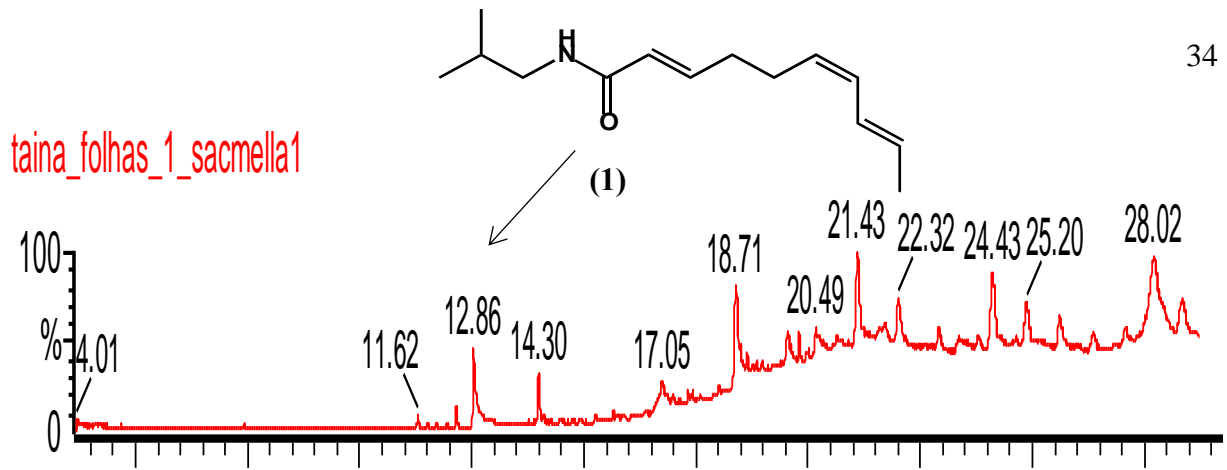


Figura 21. Cromatograma do extrato etanólico das folhas de *S. acmella*

• AMOSTRA 2

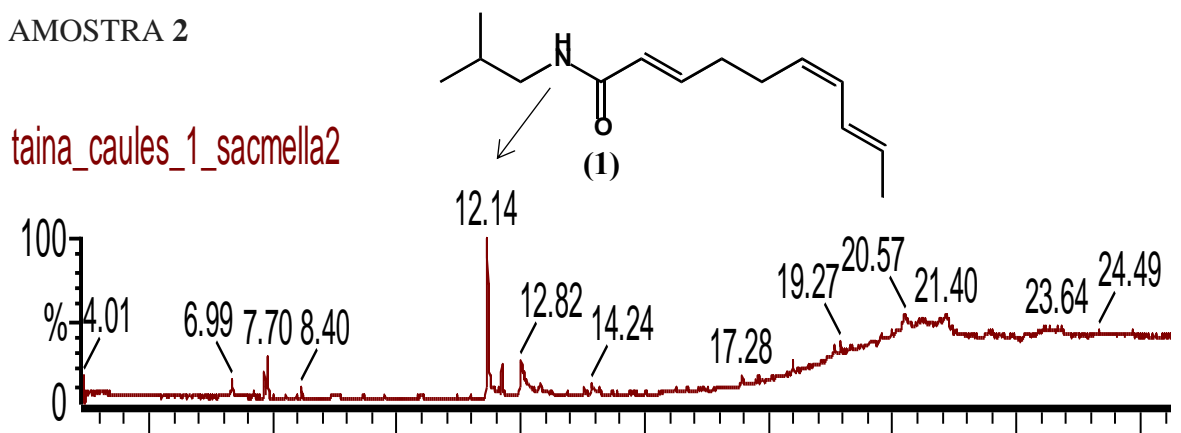


Figura 22. Cromatograma do extrato etanólico dos caules de *S. acmella*

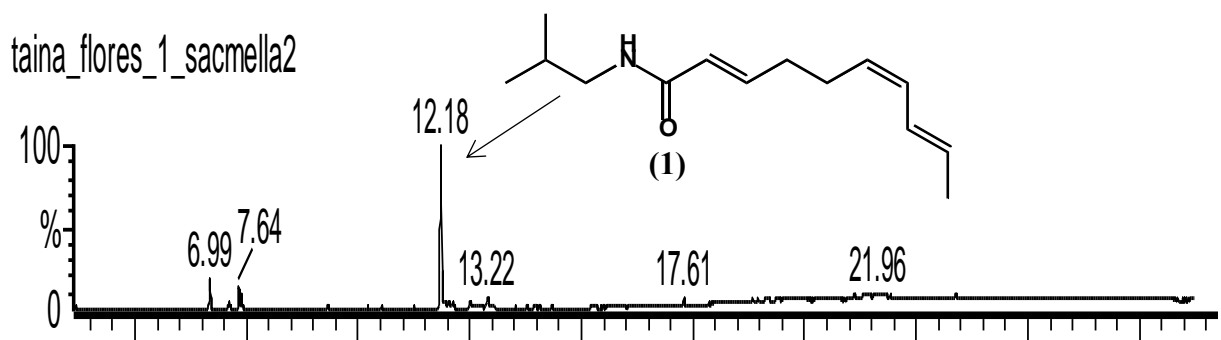


Figura 23. Cromatograma do extrato etanólico das flores de *S. acmella*

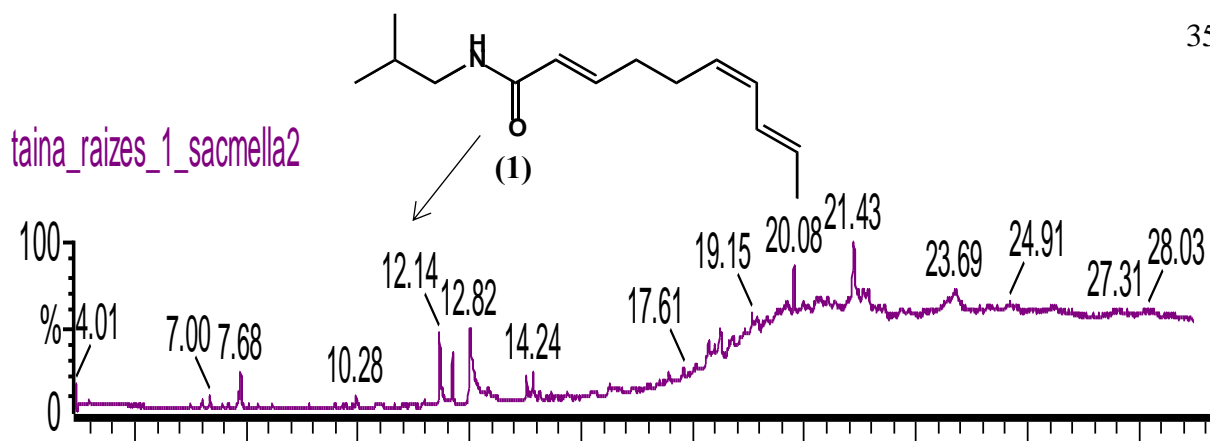


Figura 24. Cromatograma do extrato etanólico das raízes de *S. acmella*

Com base nos cromatogramas apresentados acima, pôde-se constatar que o pico de maior intensidade do espilantol dentre as análises realizadas, foi o correspondente às raízes de *S. acmella*, o que motivou a dar início a novos isolamentos do espilantol partindo-se dessa parte da planta.

Em seguida, foram obtidos extratos em partição com solventes de diferentes polaridades mencionados na metodologia utilizada, à partir das raízes e analisado o extrato hexânico dessa parte da planta, onde o cromatograma indicou a presença do composto em um pico de aproximadamente 12.2 minutos. O que motivou o isolamento do espilantol à partir dessa parte da planta, além do perfil analisado por HPLC se mostrar mais promissor ao isolamento do produto natural.

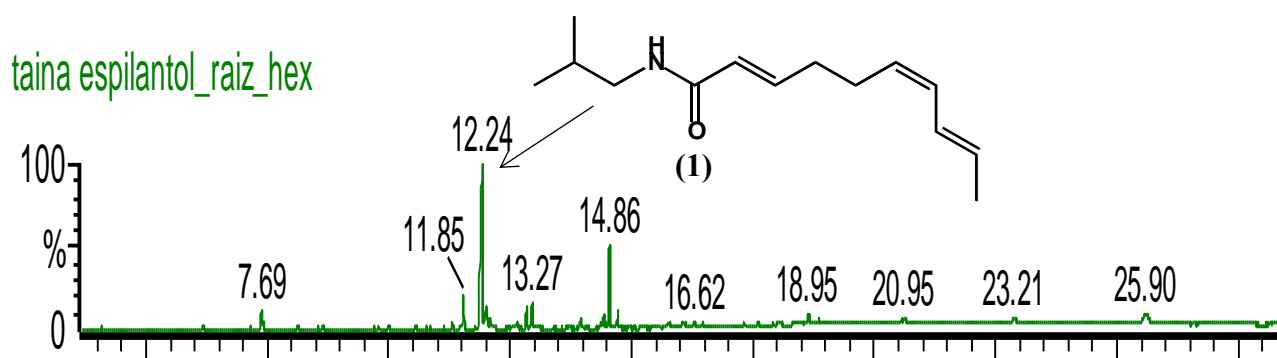


Figura 25. Cromatograma do extrato hexânico das raízes de *S. acmella*

Dando prosseguimento a identificação do produto natural, foi realizada a detecção por espectro de radiação ultravioleta (UV-Vis) utilizando o detector para HPLC, sendo possível verificar a absorvância do composto dada em um comprimento máximo de onda referente a aproximadamente 230 nm, estando coerente com dados descritos previamente na literatura (NAGASHIMA, M. et al., 1992).

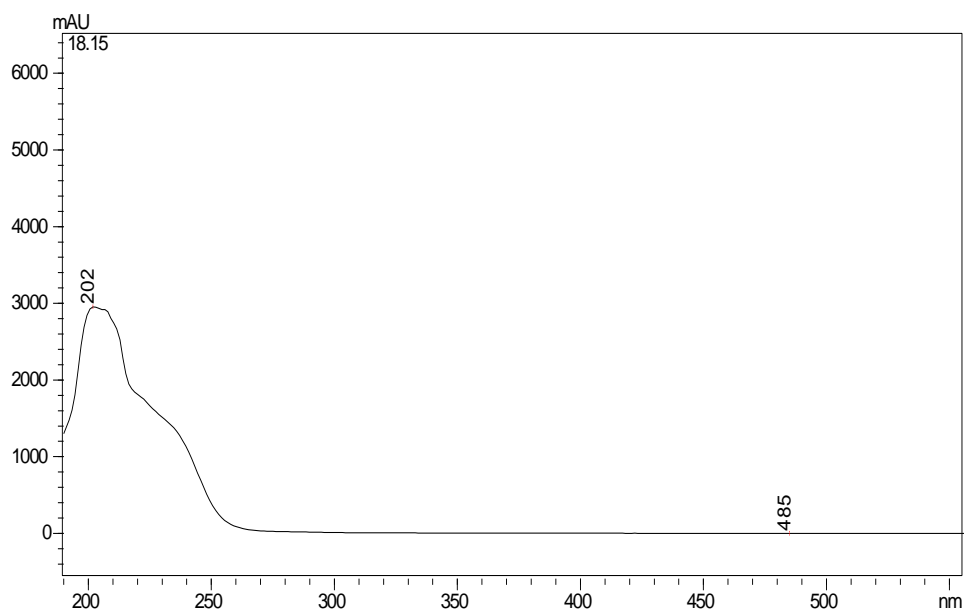


Figura 26. Detecção por Ultravioleta (UV-Vis)

Em seguida, foi feito o isolamento do espilantol à partir dos extratos hexânicos e clorofórmicos obtidos das flores e raízes das amostras **1** e **2** de *S. acmella*, utilizando coluna cromatográfica de sílica gel em um sistema eluente de 8:2 (Hexano/Acetato de etila), para 25 a 30 frações recolhidas em cada purificação realizada acompanhadas por placas CCD (Rf = 0,10), elucidando-se a presença do composto em todas as purificações realizadas, em luz ultravioleta (UV).

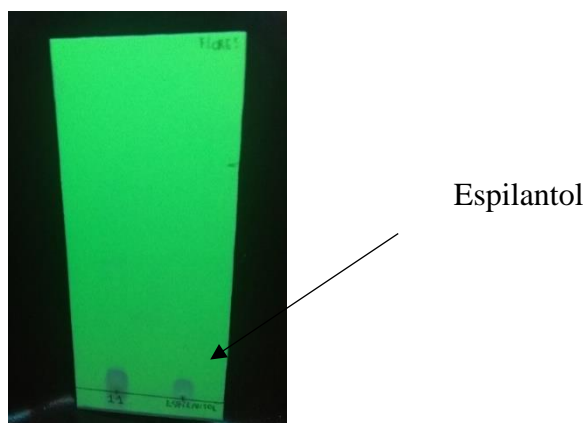


Figura 27. Placa CDD do composto elucidada por UV

Realizou-se o isolamento em coluna cromatográfica de sílica gel partindo-se de aproximadamente 1,0 g do extrato hexânico obtido das raízes da amostra **1** do material vegetal, sendo isolado aproximadamente 0,015g do composto, onde a fração 11 apresentou pico majoritário em 17 minutos, evidenciando a presença do espilantol, sendo observado o mesmo perfil para o isolamento realizado por placa CCD preparativa em um mesmo sistema eluente de 8:2 (Hexano/Acetato de etila) à partir do extrato hexânico e clorofórmico das flores de *S. acmella*, porém, não foi obtido quantidades significativas do composto isolado.

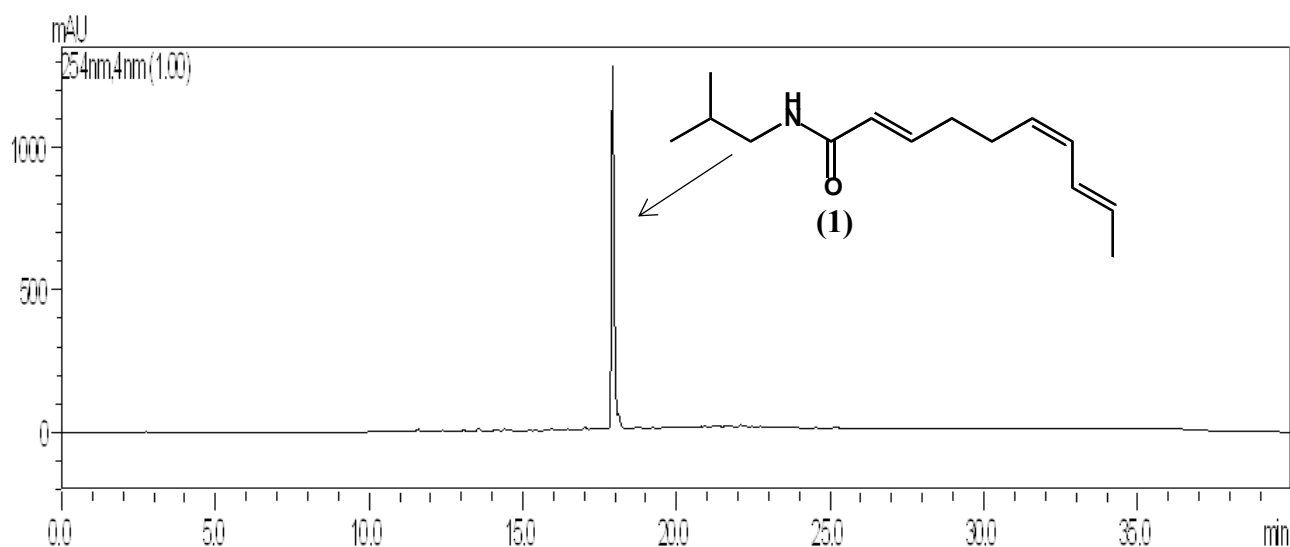


Figura 28. Perfil do cromatograma da fração 11 pós-coluna do extrato hexânico das raízes de *S. acmella*

O espectro de massas obtido por CG-EM, revelou a presença do pico do íon molecular do espilantol em todas as frações dos extratos etanólicos e obtidos através de partição com diferentes solventes analisados, bem como para o produto natural obtido pós-isolamento em coluna cromatográfica, observando-se o pico do íon molecular com $m/z = 221$, o pico do íon base de $m/z = 81$ e as subsequentes fragmentações previstas da molécula referentes aos picos de m/z 141 e 126. Estando esses dados obtidos coerentes com a literatura (GRACE, M. H. et al., 2011).

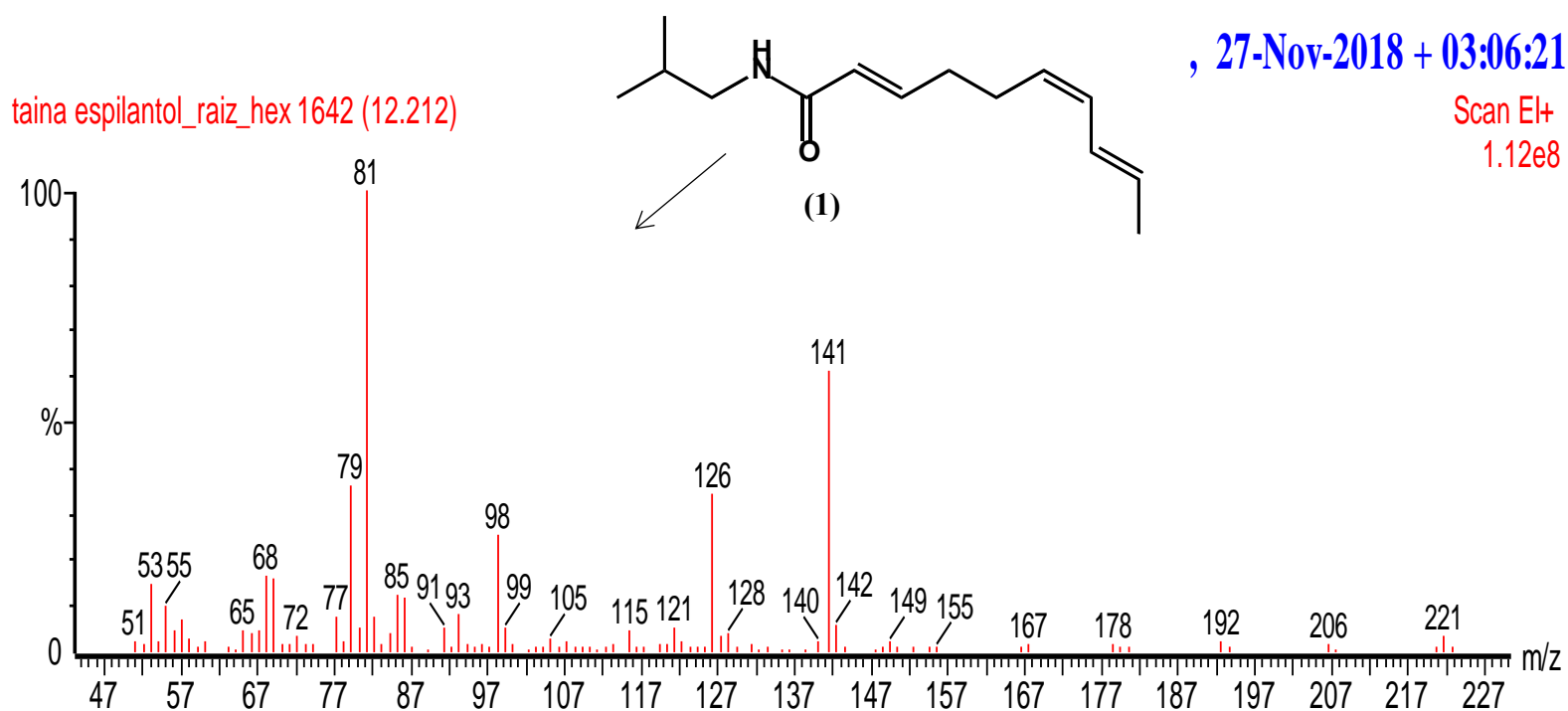


Figura 29. Espectro de massas do espilantol

Verificou-se por análise Ressonância magnética nuclear de H^1 a presença dos hidrogênios vinílicos do composto isolado, na região entre 5,0 ppm e 6,0 ppm, estando os referidos valores de deslocamento condizentes com dados da literatura, validando assim, a caracterização desses hidrogênios referentes ao composto isolado (BARBOSA, et al., 2016), porém, devido ao insuficiente tempo de aquisição, não foi possível a visualização dos demais picos.

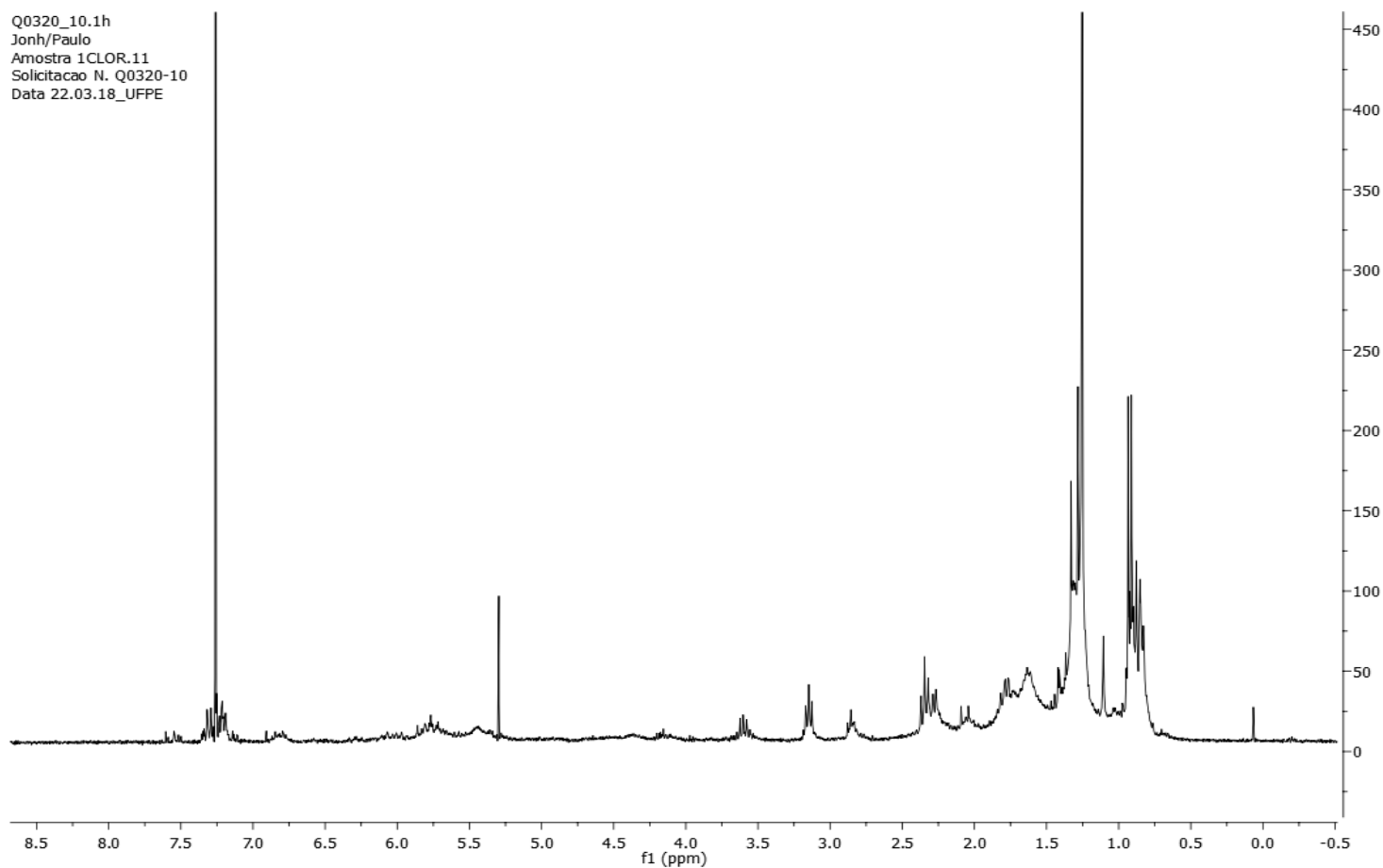


Figura 30. Espectro de RMN 1H do epilantol

O material isolado foi ainda submetido à análise por espectroscopia na região do infravermelho (IV) à título de identificação de grupos funcionais orgânicos característicos do espilantol. Onde, na região de $3402,43\text{ cm}^{-1}$ pôde-se observar a banda característica da ligação N-H da amida, sinais referentes aos estiramentos dos carbonos sp^2 em $2852,72\text{ cm}^{-1}$ e $2924,09\text{ cm}^{-1}$ e em $1712,79\text{ cm}^{-1}$ e $1732,08\text{ cm}^{-1}$, estiramentos característicos de carbonila de amida secundária, sendo possível a identificação dos principais grupos funcionais presentes no composto.

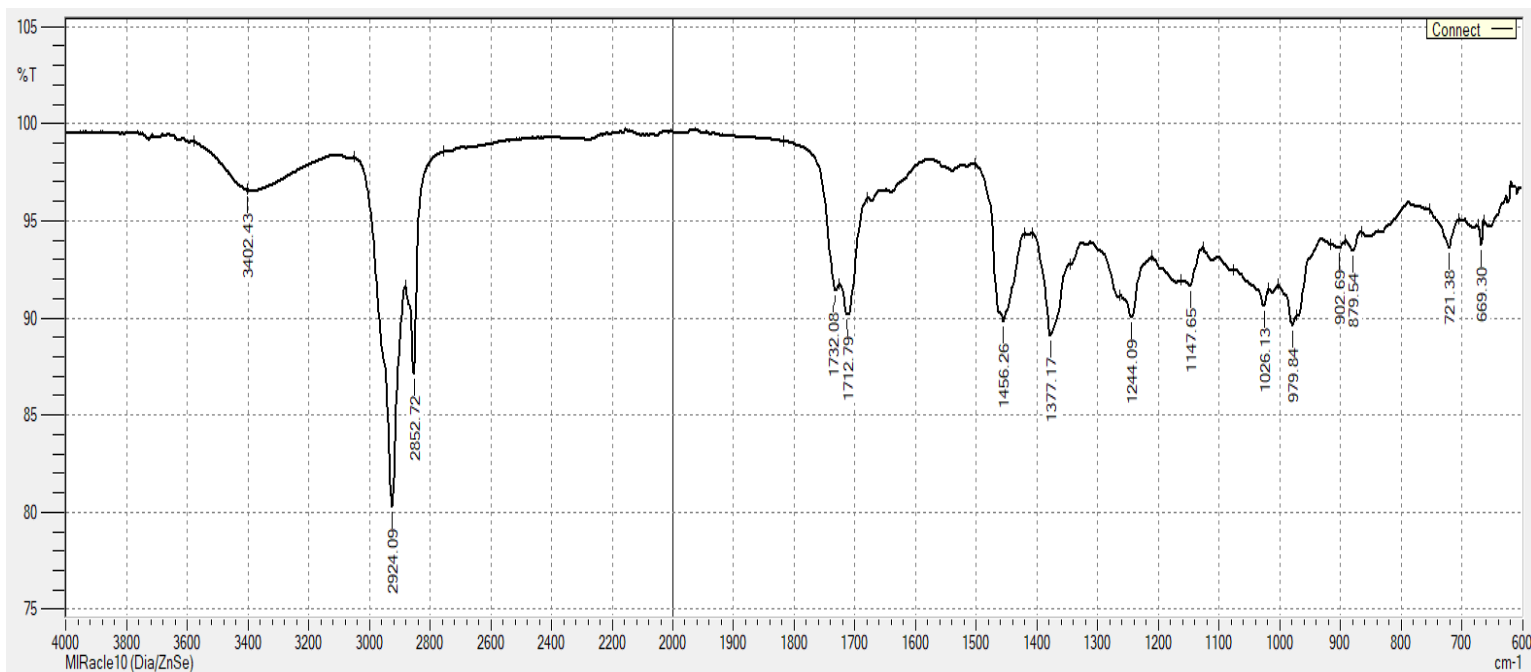


Figura 31. Espectro de IV do espilantol

4.2 Avaliação do potencial acaricida dos extratos hexânicos das diferentes partes de *S. acmella*

Foram realizados testes de toxicidade e repelência frente às fêmeas do *T. urticae*, partindo-se dos extratos hexânicos das flores e folhas obtidos. A toxicidade ou seletividade aos ácaros pode variar, sobretudo em função do solvente utilizado na extração, parte da planta processada e concentração aplicada (MANSOUR & ASCHER 1983, MANSOUR et al. 1987, CASTIGLIONI et al. 2002, MOURÃO et al. 2004).

A avaliação para o teste de toxicidade à partir do extrato bruto hexânico das flores de *S. acmella*, apresentou porcentagens de mortalidade crescentes em relação ao aumento das diferentes concentrações e uma menor taxa de oviposição. Sendo utilizadas concentrações variando entre 0 a 7,6 mg/mL em testes feitos em triplicata.

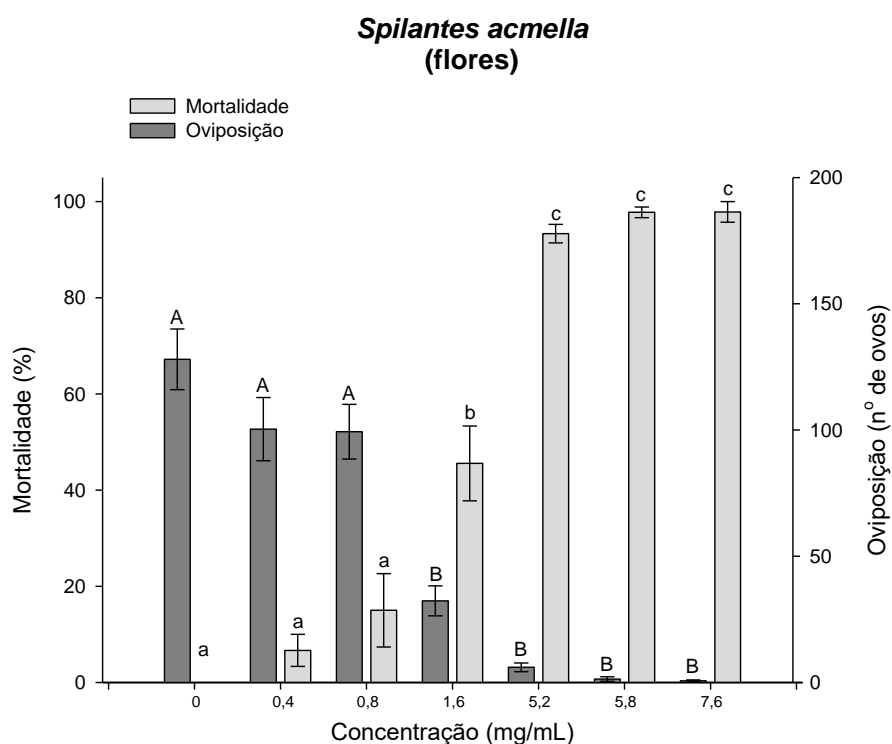


Gráfico 1. Gráfico do percentual de mortalidade x oviposição de fêmeas de *T. urticae* expostas à diferentes concentrações do extrato hexânico das flores de *S. acmella*

A tabela abaixo, mostra o N = número de ácaros/dose, GL= graus de liberdade, χ^2 = qui-quadrado. Obtendo-se uma CL_{50} de 1.63 mg/mL, ou seja, uma concentração letal média satisfatória em comparação com o Azamax, inseticida comercial de bastante utilização no Manejo Integrado de Pragas, porém, o extrato bruto hexânico das folhas de *S. acmella* testado, não apresentou susceptibilidade.

Extrato	N	GL	Slope	CL₅₀ (IC 95%)	χ^2
<i>S. acmella</i>	540	4	3,12 (2,92 – 3,32)	1,63 (1,29–2,05)	7,77
Azamax	630	5	2,46 (2,26 – 2,66)	0,3 (0,27– 0,38)	8,30

Tabela 3. Toxicidade por contato residual (CL_{50} em mg/mL) do extrato hexânico das flores de *Spilanthes acmella* sobre as fêmeas de *T. urticae*.

Foi avaliado o potencial de repelência dos mesmos extratos hexânicos de *S. acmella* testados no bioensaio de toxicidade. O extrato hexânico das flores de *S. acmella*, se mostrou repelente após 1h de avaliação ($t = 27,85$ e $p < 0,0027$). Para o bioensaio contendo a solução do extrato das folhas, não houve diferença estatística significativa. Podendo-se inferir que a ação repelente no período de 1h para o extrato das flores de *S. acmella* deve-se principalmente à presença do espilantol, que é o composto majoritário.

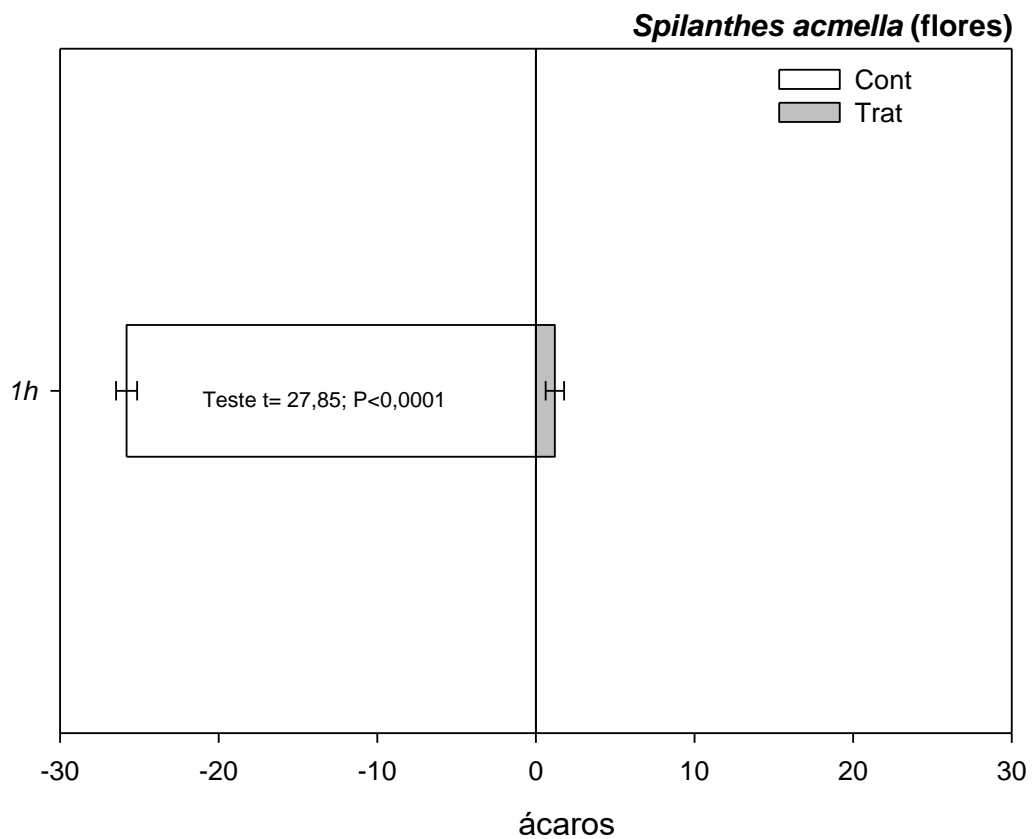


Gráfico 2. Avaliação de repelência frente as fêmeas de *T. urticae* expostas à diferentes concentrações do extrato hexânico das flores de *S. acmella* no período de 1 hora

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível isolar o composto de interesse, (*N*-isobutil-2-*E*, 6-*Z*, 8-*E*-decatrienamida), espilantol, através de cromatografia líquida em coluna de sílica gel, à partir dos extratos hexânicos e clorofórmicos das diferentes partes de *S. acmella*, sendo verificada sua presença através da análise de diferentes técnicas espectroscópicas, estando os resultados apresentados de acordo com dados baseados na literatura para identificação e caracterização do produto natural.

Os extratos hexânicos das flores obtiveram resposta satisfatória com relação à avaliação de toxicidade e repelência acaricida em testes realizados com fêmeas de *Tetranychus urticae*, tendo como perspectiva novos experimentos para o composto isolado.

6. PERSPECTIVAS

Propõe-se modificações estruturais do espilantol, após obtenção de maior quantidade em gramas pós-isolamento desse, com objetivo de potencializar a ação acaricida presente no composto, em seguida, caracterizar os novos análogos através de Ressonância Magnética nuclear (RMN) de carbono e hidrogênio, a fim de se realizar testes biológicos das moléculas obtidas.

Serão sintetizados ao todo cinco novos derivados semissintéticos (**2-11**) a partir do espilantol (**1**), de acordo com a seguinte rota semissintética:

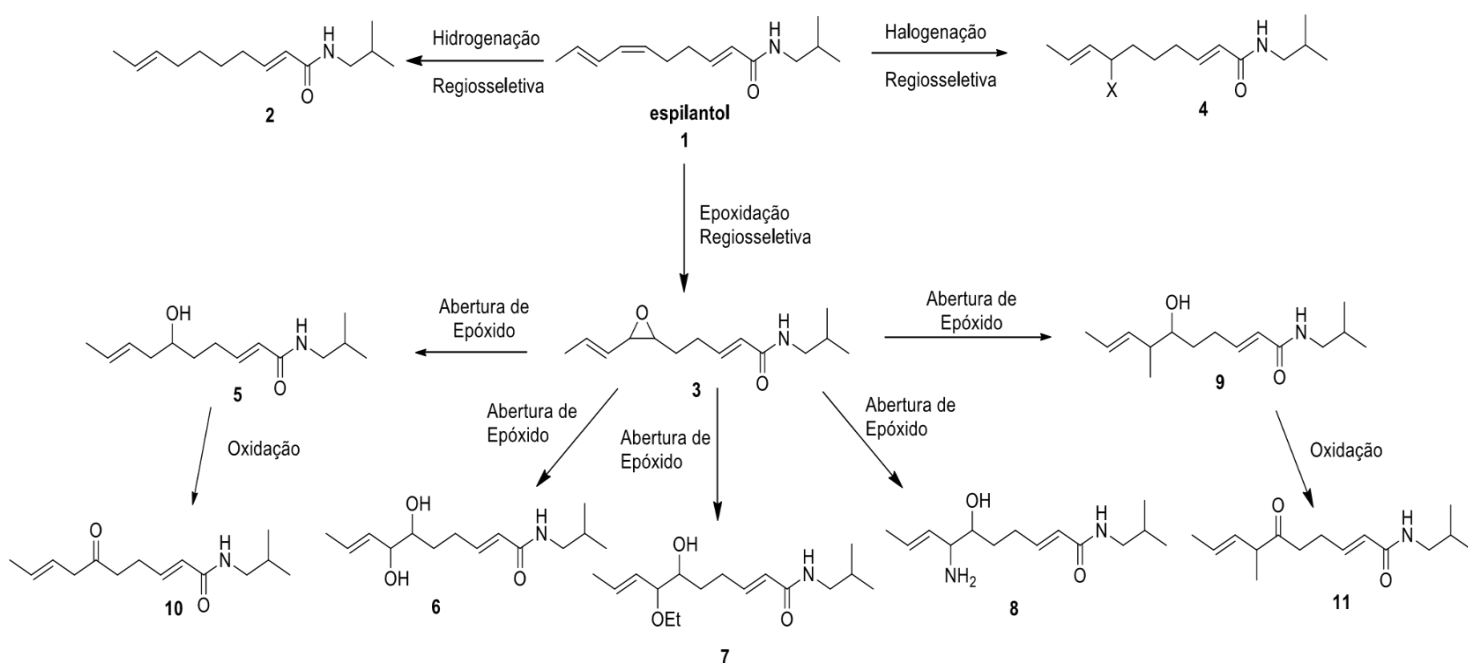


Figura 32. Rota semissintética

7. REFERÊNCIAS

- BARBOSA, A.F.; CARVALHO, M. G.; SABAA-SRUR, A. U.O.; SMITH, R. E. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 26, 128-133, 2016;
- BLACK, StC. D.; KUMAR, N.; SADDIGA, A.; RAZA, R. A. **Tetrahedron**, 25, 736-743, 2014;
- BUIRA, I., et al. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 41, 985–990, 2006;
- CARDOSO, M.O.; GARCIA, L.C. Jambu. In: Cardoso, M.O. (Coord.). Hortaliças não convencionais da Amazônia. Manaus, **EMBRAPA-CPAA**, 133-140, 1997;
- CASTRO, K. N. C., et al. Acaricide activity *in vitro* of *Acmella oleracea* against *Rhipicephalus microplus*. **Parasitology Research**, 13, no. 10, 3697-3701, 2014;
- CHENG, Y. B.; LIU, R. H.; HO, M. C.; WU, T. Y.; CHEN, C. Y.; LO, I. W.; HOU, M. F.; YUAN, S. S.; WU, Y. C.; CHANG, F. R. Alkylamides of *Acmella oleracea*, **Molecules**, 20, 6970-6977, 2015;
- CHIAVEGATO, L.G.; MISCHAN, M.M. Efeito do ácaro *Tetranychus urticae* (Koch, 1836), 1963 (Acari: Tetranychidae) na produção no morangueiro (*Fragaria* spp.), **Científica**, 9, no. 2, 257-266, 1981;
- COSTA, S.; ARUMUNGAM, D.; GARIEPY, Y.; ROCHA, S. C. D. S.; RAGHAVAN, V. **Chemical Engineering Transactions**, 32, 1783, 2013;
- DELLAMORA, E. D. C. L., et al. **Phytochem. Lett.**, 6, 67–72, 2013;
- DIXIT, V. K.; SARAF, D. K., “*Spilanthes acmella* Murr.: study on its extract spilanthol as larvicidal compound,” **Asian Journal Experimental Science**, 16, no. 1-2, 9–19, 2002;
- DUBEY, S.; Maity, S.; SAHA, S.; SARAF, S. A.; SINGH, M. **Advances in Pharmacological Sciences**, 423750, 2013;
- EFSA - European Food Safety Authority. Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation 303, Revision 1 (FGE.303Rev1): Spilanthol from chemical group 30. **EFSA Journal**, 13(1):3995, 2015;
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Seleção genômica para resistência ao carrapato bovino - *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* - nas raças Hereford e Braford. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/30912/selecao-genomica-para-resistencia-ao-carrapato-bovino----irhipicephalus-boophilus-microplusi---nas-racas-hereford-e-braford>. Acesso em: 16/07/2019;
- ESTRELLA, E. **Plantas medicinais amazônicas: realidade y perspectivas**. Ed. Tratado de Cooperação Amazonica , 301, no. 28, 1995;

- FEMA - Flavors and Extracts Manufacturers of the United States. **Safety Assessment of Jambu Oleoresin**, 2000;
- FLECHTMANN, C. H. W. Ácaros de importância agrícola. 6. ed. São Paulo: Nobel, 189, 1985;
- GERTSCH J. Immunomodulatory Lipids Plants: Plant Fatty Acid Amides and the Human Endocannabinoid System. **Planta Med**, 74, 638–650, 2008;
- GRACE, M. H., et al. **Journal of Chromatography Biology Analytical Technologies Biomedical Life Sciences**, 879, 1886–1892, 2011;
- GUISSONI, A. C.P., et al. Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 15, no. 13, 2013;
- H. HOSSAIN, A. F. M., et al. Evaluation of antinociceptive and antioxidant potential from the leaves of *Spilanthes paniculata* growing in Bangladesh, **International Journal of Pharmacy and Phytopharmacology Research**, 1, no. 4, 178–186, 2012;
- INSTITUTO OSWALDO CRUZ (IOC/FIOCRUZ). Conheça o comportamento oportunista do mosquito *Aedes aegypti* e entenda a razão que leva este pequeno inseto a ser taxado dessa forma. **Dengue, vírus e vetor**. Disponível em: <http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/oportunista.html>. Acesso em: 10/06/2019;
- JACOBSON, M. The structure of spilanthol. **Chemistry and Industry**. 2, 50-55, 1957;
- JANSSEN, M.; HAMM, U. Product labelling in the market for organic food: Consumer preferences and willingness-to-pay for different organic certification logos. **Food Quality and Preference**, 25, no. 1, 9–22, 2012;
- KADIR, HA, et al. Toxicidade e efeitos eletrofisiológicos de *Spilanthes acmella* Murr. extratos em *Periplaneta americana* L. **Journal of Pest Science**, 25, 329-335, 1989;
- GARSON, R. LORRIN; WINNIKE, M. E. Relationships between insect repellency and chemical and physical parameters- a review. **Journal Medical Entomology**, 5, no. 3, 339-352;
- MORAES, G. J. O ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch) está se tornando um grave problema em diversas culturas. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, 28, 10-12, 2001;
- NAGASHIMA, M.; NAKATANI, N., LC-MS analysis and structure determination of pungent alkamides from *S. acmella* L. flowers. **Lebensmittel Wissenschaft und -Technologie**, 25, (5), 417, 1992;
- NERIO, L.S., et al. E. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). **Journal of Stored Products Research**, 45:212–214, 2009;

- O. Wongsawatkul, et al. Prachayasittikul, "Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes acmella* Murr.," **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 9, no. 12, 2724–2744, 2008;
- PHRUTIVORAPONGKUL, A., et. al. An anesthetic alkalamide and fixed oil from *Acmella oleracea*. **Journal of Health Research**, 22, no. 2, 97-99, 2008;
- POLO - PC: A User's Guide to Probit Logit Analysis*, **LeOra Software**, California, 1987;
- PONTES, W. J. T.; Oliveira, J. C. S.; DA CAMARA, C. A. G.; LOPES, A. C. H. R.; GODIM-JÚNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; **Journal of Essential Oil Research**, 19, 379, 2007;
- RAMSEWAK, RS, et al. *N*-isobutilamidas bioativas dos botões florais de *Spilanthes acmella*. **Fitoquímica**. 51, 729-732, 1999.;
- REVERCHON E, DE MARCO I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of Supercrit Fluids**. 2006; 38(2):146-166;
- REVILLA, J. **Apontamentos para a cosmética amazônica**. Ed. Sebrae-AM/INPA, Manaus, 532, 2002;
- RODRIGUES, RAF., et al. Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua* L. **Química Nova.**, 29(2): 368-72, 2006;
- SAS user's guide: Statistics, version 9.0, 7th ed., **SAS Institute: Cary**, 2002;
- SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides: uma visão geral. Alimentos e Nutrição, **Araraquara**, 18, no. 3, 339-349, 2007;
- SARAF, D. K.; DIXIT, V. K. *Spilanthes acmella* Murr.: study on its extract spilanthol as larvicidal compound. **Asian Journal of Experimental Sciences**, 16, no. 1, 2, 9-19, 2002;
- SHARMA, A., et al. Toxicidade inseticida de spilanthol de *Spilanthes acmella* Murr. Contra *Plutella xylostella* L. Am. **Journal of Plant Sciences**, 3, 1568-1572, 2012;
- SILVA, CLEIDEANA ; MORAES, MARCILIO ; CAMARA, CLAUDIO ; RIBEIRO, NICOLLE ; MELO, JOÃO ; LIMA, VERA ; NAVARRO, DANIELA. Chemical Composition and acaricidal activities of indigofera suffruticosa essential oil against two-spotted spider mite. **Química nova**, 42, 313-318, 2019;
- SILVEIRA, N.; SANDJO, L. P.; BIAVATTI, M. W. **Trends in Food Science & Technology**, 74, 107, 2018;
- STUMPF, N.; NAUEN, R. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, 94, 1577-1583, 2001;
- TORRES, J. M.; CHÁVEZ, A. G. Alcamidas em plantas: distribución e importancia. **Avance**

y **Perspectiva**, 20, 377-387, 2001;

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. An introduction to insecticides. (4th edition). In: WARE, G. W. (Ed.). **The pesticide book**. Willoughby: Meister, 2004. Acesso em: 4 abr. 2012;

WILSON, L. J. Spider mites (Acari: Tetranychidae) affect yield and fiber quality of cotton.

Journal of Economic Entomology, 86, 566–585, 1993;

WHITTLE, B. A., The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic & non-narcotic analgesics, **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, 22, 246–249, 1964.

7. ANEXOS

Parte da Planta	Forma	Categoria de Uso	Uso
-	-	Isca	Anestésico de peixes.
-	-	Medicinal	Excitante, vermífida; para inflamações oculares, dores de dente, febre, higiene bucal, afecções do aparelho digestivo e bronquite. Base de elixir odontológico.
Caulo	Cozido	Alimento humano	Acompanha diversos pratos.
Caulo	Extrato	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório, anti-infeccioso. Para problemas do estômago, fígado, constipação intestinal e cálculo da bexiga.
Caulo	Infusão	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório, anti-infeccioso; para o fígado. Ação antiescorbútica, combate anemia, dispepsia, afecções da boca e da garganta.
Caulo	Resina	Medicinal	Propriedades odontológicas e de ação contra cálculos da bexiga, doenças da boca, da garganta.
Caulo	Suco	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório e anti-infeccioso, para o fígado.
Caulo	Tintura	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório, anti-infeccioso e para o fígado.
Caulo	Oleo	Medicinal	Elaboração de creme dental.
Caulo	Oleo	Outros	Goma de mascar.
Flor	Integral	Alimento humano	Os capítulos picados são misturados com outras plantas para dar um sabor especial.
Flor	Extrato	Medicinal	Para problemas do estômago, tosse, constipação intestinal e cálculo da bexiga.
Flor	<i>In natura</i>	Medicinal	Ação excitante, tônica, emenagoga, febrífuga, cicatrizante, anti-espasmódica e afrodisíaca. Contra problemas hepáticos e das vias respiratórias (tosse). É anestésica.
Flor	Infusão	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório, anti-infeccioso; sialagogo; estimulante estomático; anti-escorbútica; usada para problemas de fígado, para combater anemia, dispepsia, infecções da boca e garganta. Para problemas do estômago.

			tosse, constipação intestinal e cálculo da bexiga.
Flor	Suco	Medicinal	Analgésico, antiinflamatório, antiinfecioso e para o fígado.
Flor	Tintura	Medicinal	Analgésico, antiinflamatório, antiinfecioso e para o fígado. Ação excitante, tônica, emenagoga, febrífuga, cicatrizante, anti-espasmódica e afrodisíaca. Contra problemas hepáticos e das vias respiratórias (tosse). Alcoolatura para dores de dente.
Flor	Xarope	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório, anti-infeccioso; para o fígado, problemas do estômago, tosse, gripe, constipação intestinal e cálculo da bexiga.
Folha	Cozido	Alimento humano	Em vários pratos, com carne e em sopas.
Folha	<i>In natura</i>	Alimento humano	Em saladas.
Folha	Extrato	Medicinal	Analgésico, anti-inflamatório, anti-infeccioso; para o fígado. Para problemas do estômago, tosse, constipação intestinal e cálculo da bexiga.
Folha	<i>In natura</i>	Medicinal	Ação excitante, tônica, emenagoga, febrífuga, cicatrizante, anti-espasmódica e afrodisíaca. Contra problemas hepáticos e das vias respiratórias (tosse).
Folha	Infusão	Medicinal	Com ação anti-escorbútica, excitante, tônica, emenagoga, sialagoga, febrífuga, cicatrizante, analgésica, anti-espasmódica, anti-infecciosa, anti-inflamatória, afrodisíaca; para combater anemia, dispepsia, infecções da boca e garganta; indicado contra problemas hepáticos, das vias respiratórias, estômago, para tosse, febre, gripe. Tem propriedade anestésica.
Folha	Óleo	Medicinal	Elaboração de creme dental.
Folha	Resina	Medicinal	Propriedades odontálgicas e de ação contra cálculos da bexiga, doenças da boca, da garganta.
Folha	Suco	Medicinal	Analgésico, antiinflamatório e anti-infeccioso; para o fígado.
Folha	Tintura	Medicinal	Analgésico, antiinflamatório, antiinfecioso e para o fígado. Ação excitante, tônica, emenagoga, febrífuga, cicatrizante, anti-espasmódica e afrodisíaca. Contra problemas hepáticos e das vias respiratórias (tosse).
Folha	Xarope	Medicinal	Ação excitante, tônica, emenagoga, febrífuga, cicatrizante, anti-espasmódica e afrodisíaca. Para problemas hepáticos e das vias respiratórias (tosse), gripe, tuberculose, anemia, dispepsia.
Folha	Óleo	Outros	Goma de mascar.
Fruto	Infusão	Medicinal	Antiescorbútica, combate anemia, dispepsia, infecções da boca e da garganta.
Inteira	Infusão	Medicinal	Anti-inflamatório, anti-infeccioso; para o fígado.
Inteira	Tintura	Medicinal	Afeções da boca e garganta; anti-escorbútica.
Raiz	Xarope	Medicinal	Gripe e antitussígeno.

Figura 33: Quadro resumo de usos de *Acmella Oleracea* (L.) R. K. Jansen (Fonte: Projeto: “Extrativismo não-madeireiro e desenvolvimento sustentável na Amazônia (ITTO PD 31/99 Ver. 3 (I).” Banco de dados “Non Wood”)

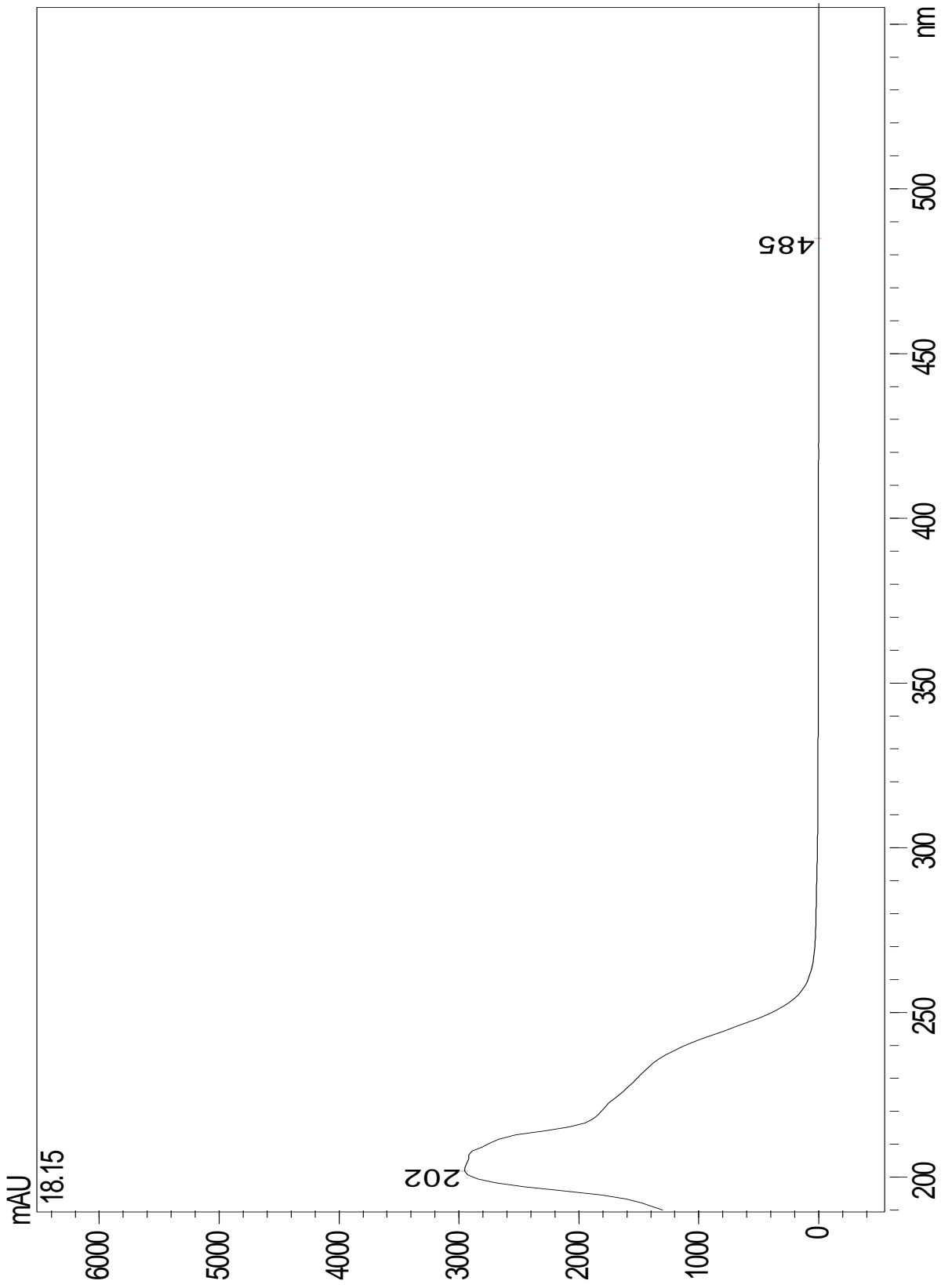


Figura 26. Detecção por Ultravioleta (UV-Vis)

, 27-Nov-2018 + 03:06:21

Scan E1+
1.12e8

taina espilantol_raiz_hex 1642 (12.212)

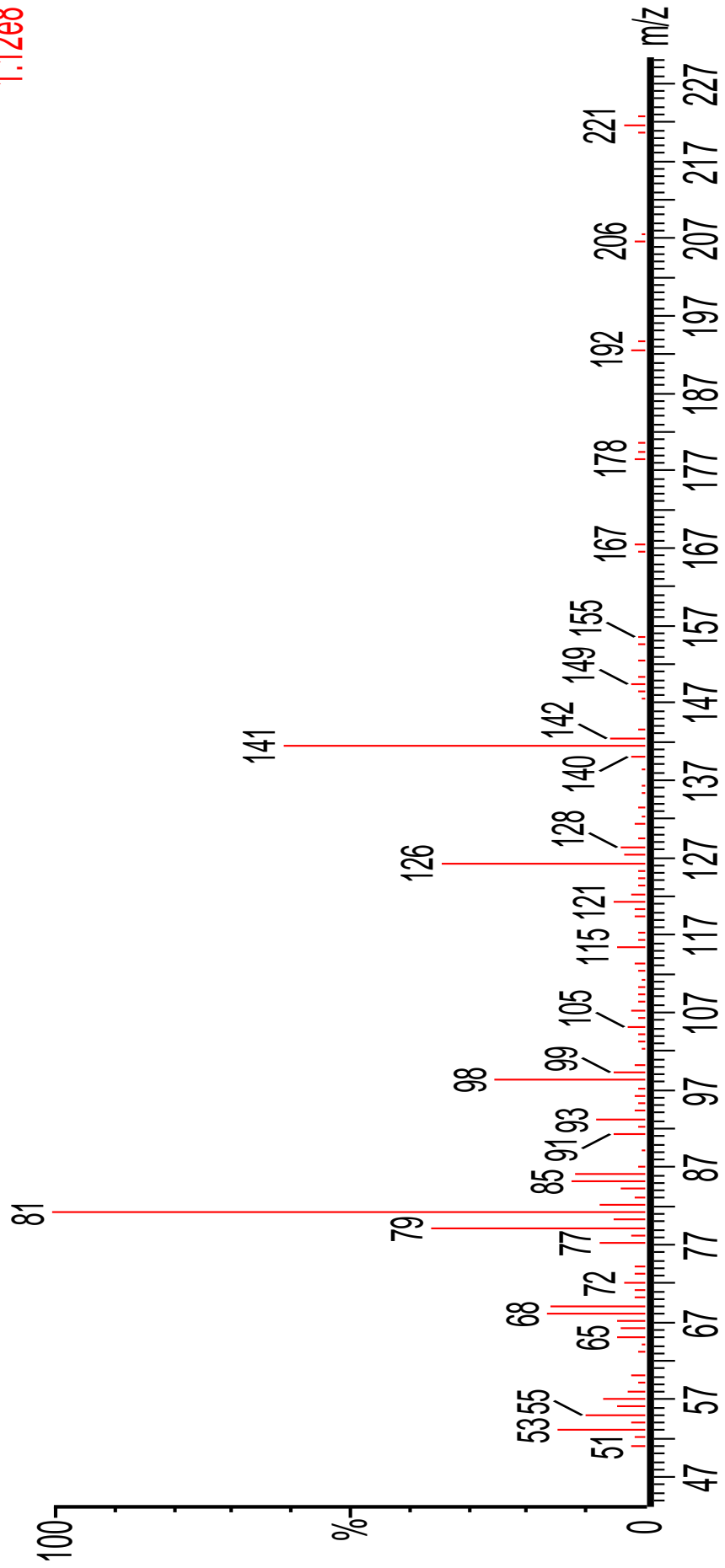
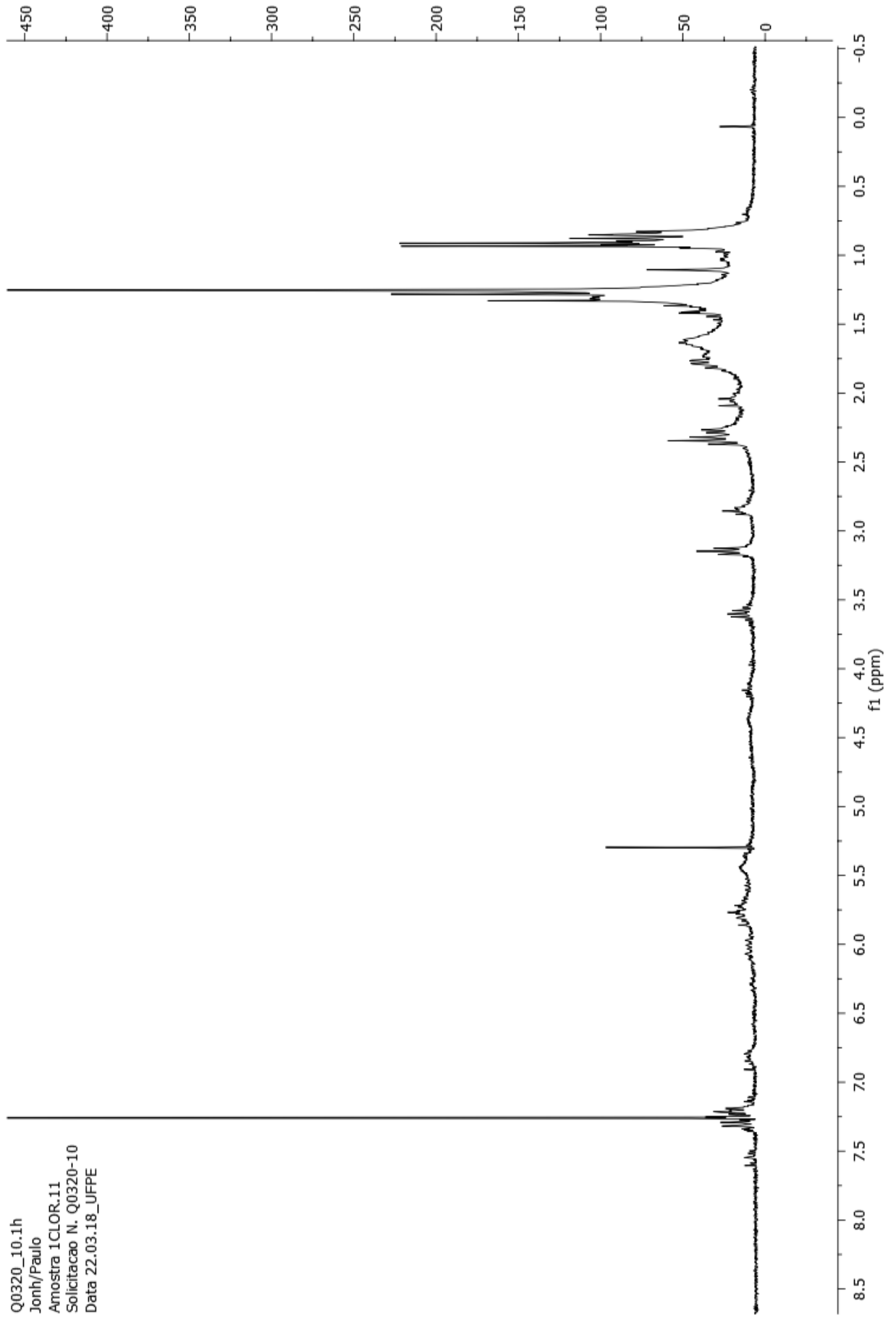


Figura 29. Espectro de massas do espilantol

Figura 30. Espectro de RMN ^1H do epilantol

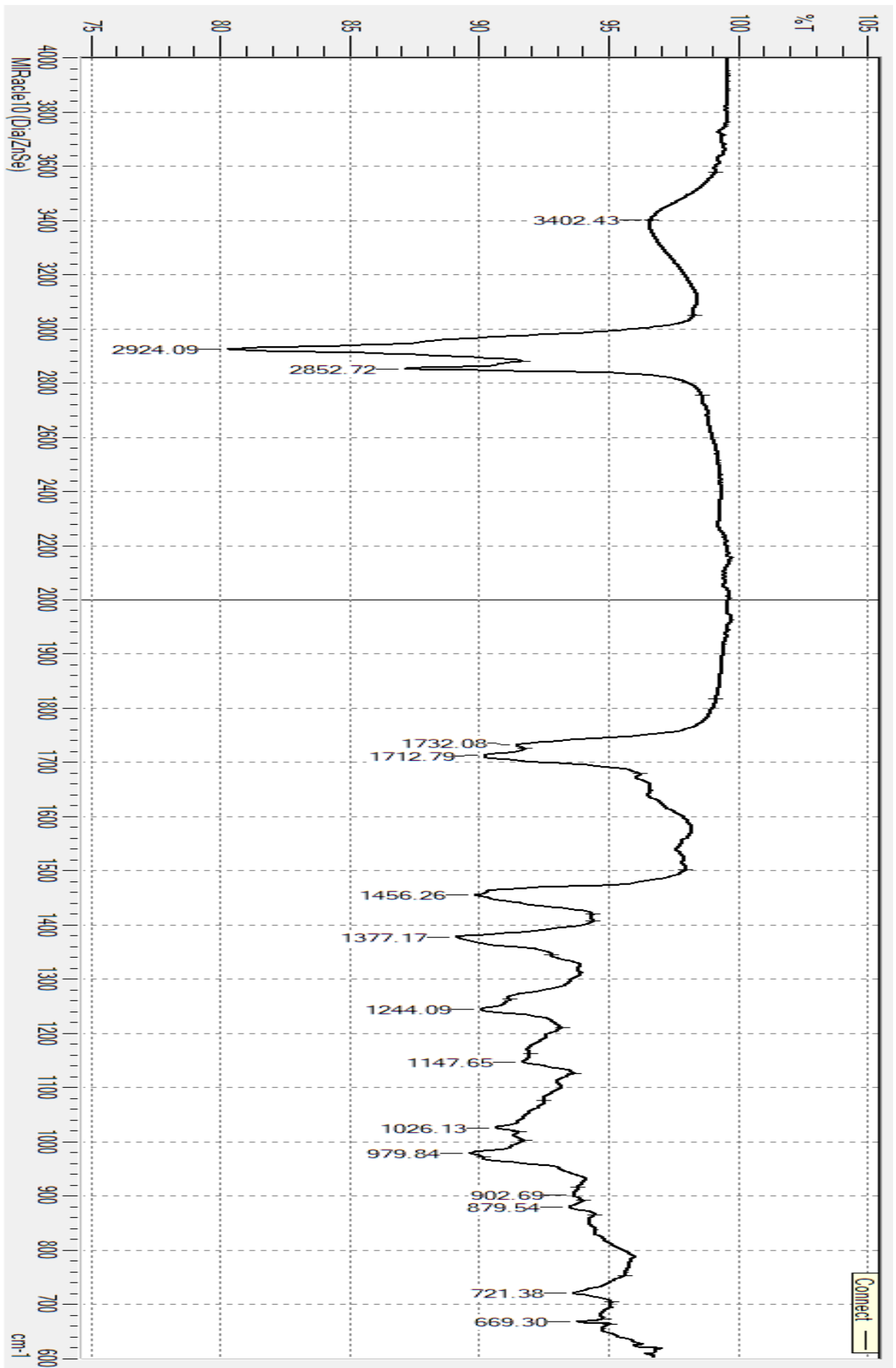


Figura 31. Espectro de IV do espilantol