

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BOTANICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL
MESTRADO EM BIOLOGIA VEGETAL

JOÃO BOSCO DA SILVA JÚNIOR

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E POTENCIAL
INSETICIDA DE *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (CLEOMACEAE)**

RECIFE

2018

JOÃO BOSCO DA SILVA JÚNIOR

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E POTENCIAL
INSETICIDA DE *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (CLEOMACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) da Universidade Federal de Pernambuco, área de concentração Botânica Aplicada e Etnobotânica, como parte dos requisitos necessários a obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira.

RECIFE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva Júnior, João Bosco da
Prospecção fotoquímica, toxicidade e potencial inseticida de *Tarenaya spinosa*
(Jacq.) Raf. (Cleomaceae) / João Bosco da Silva Júnior. – 2018.

102 f. : il.

Orientador: Antônio Fernando Morais de Oliveira.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Recife,
2018.

Inclui referências e anexos.

1. Inseticidas I. Oliveira, Antônio Fernando Morais de (orientador) II.
Título.

632.951

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 210

JOÃO BOSCO DA SILVA JÚNIOR

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E POTENCIAL
INSETICIDA DE *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (CLEOMACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Área de Concentração Botânica Aplicada e Etnobotânica, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal.

APROVADA EM: 27 DE FEVEREIRO DE 2018

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira
Orientador – Departamento de Botânica - UFPE

Profa. Dra. Laise de Holanda Cavalcanti Andrade
Departamento de Botânica - UFPE

Profa. Dra. Suzene Izídio da Silva
Departamento de Biologia – UFRPE

DEDICATÓRIA

A Deus.

Na vida, as pessoas lutam por um ideal, um legado. Um legado não se constrói sozinho, mas é como uma casa: tijolo por tijolo. O legado não começa na concepção; mas sim há milhões e milhões de anos; e Deus planeja o ser humano e o prepara para vir ao mundo, para que o homem possa deixar sua marca, seu legado.

Tudo o que acontece na vida de um ser humano não é mera obra do acaso: não cai uma folha sequer sem que Deus permita. Nada acontece na vida do homem por acaso: o destino do homem pode ser preparado por Ele, desde que o homem possa cumprir os planos de Deus na sua vida.

Porém, nós humanos podemos fazer boas ou más escolhas e essas escolhas trarão consequências para a nossa vida. Mas se andarmos no plano perfeito traçado por Deus, cumprindo sua vontade e obedecendo a suas ordens e mandamentos, não por mera obrigação, mas por temor, ou seja, por amor a Ele; seremos sempre vitoriosos e bem-sucedidos.

É Deus que dá a vida, a força para nós levantarmos todos os dias para luta diária, nos dá as armas para lutar, o alimento, a água e o que é necessário para obtê-los. É Deus que nos livra de acidentes, das mortes, do mal, da corrupção humana, das catástrofes e fornece ao homem toda a sorte de bênçãos.

No entanto, quando estamos no caminho errado e transgredindo contra os seus mandamentos, Ele permite toda a sorte de malefícios que o homem pode imaginar. Mas quando o homem volta atrás e se arrepende das coisas erradas, ele dá a sua misericórdia e o perdão, que nos faz ser abençoados novamente.

Não há palavras que possam expressar toda a gratidão e louvor a Deus. Não tem como. Tudo o que Ele nos faz e o seu amor é incomparável. Por isso e muito mais eu dedico esse trabalho ao verdadeiro Deus, Adonai, Salvador, Remidor, Justo Juiz, Médico dos médicos, Rei dos Reis e Senhor dos Senhores, a Ele a Glória, a Honra, o Domínio, a Majestade, e todo o Louvor e Adoração para todo o sempre e assim seja em nome de *“Yeshua Há Maschia,* Jesus Cristo!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, porque sem ele não estaria e nem chegaria aqui. Ele tem dado-nos vitória e principalmente a vida e a condição de viver. E como diz o cantor Kleber Lucas “*Deus me deu a vida para valer a pena*”.

A meus pais, pela educação, apoio, exortação, repreensão, consolo e orações, que foram cruciais para chegar aqui. Eu os amo muito e esse amor me fortaleceu como pessoa e cidadão.

A meus tios Afonso, João, Conceição, Clotilde, Demirval, Graça, Penha, Leda, Fátima, Gau e Gracineide; a meus primos: Karlos, Adriana, Andrea, Eveline, Elisama, Penha, Sandra, Constância e Higor, pelas orações, apoio dado e porque sempre que precisei eles estiveram do meu lado.

Ao Prof. Dr. Antônio Fernando Moraes de Oliveira, meu orientador e pai científico, que me acolheu e foi enviado por Deus para me ajudar e ser meu amparo na UFPE.

Aos professores e professoras doutores da UFPE: Thiago Napoleão, Daniela Navarro, Ivone Souza e Márcia Vanusa, pelas parcerias dadas e cooperação técnica que não só foi útil para este estudo, mas também para os próximos estudos; a Profa. Dra. Laíse de Holanda, pela amizade e conselhos dados; e a Profa. Dra. Suzene Izídio, da UFRPE, pelas orações e amizade que foram necessários ao trajeto.

Aos professores do corpo docente do PPGBV, e aos Professores da graduação em Ciências biológicas da UNICAP, a Profa. Dra. Maria do Carmo Caldas, minha primeira orientadora no PIBIC, que me ajudou na formação como pesquisador; ao Prof. Dr. Luiz Costa da UNICAP, pela amizade. Tudo o que eu aprendi com eles está sendo essencial nesta caminhada como profissional.

Aos amigos, colegas de trabalho do Laboratório de Ecologia Aplicada e Fitoquímica, dos departamentos de Energia Nuclear e de Farmacologia da UFPE, amigos de infância, de graduação e mestrado, pela amizade construída, orações e apoio. Aos meus amigos e irmãos de Aliança e a Luciano Souza, Ten. Cel. Fábio Dayan (Exército Brasileiro) e família, ao CB Abner Deivid (Marinha do Brasil) e família, a Cleto Beltrão e família, Gomes e Família, Severino, Darlan e Maracy, Fernando e família, Edson e família, aos amigos e irmãos de Nova Morada por tudo o que passamos juntos, suas orações e a amizade construída, sobre o qual não vou esquecer nunca.

A estes o meu agradecimento, pelo qual não tenho palavras para expressar e nem como pagar o bem que fizeram e fazem comigo. Que Deus abençoe a todos!!!!

*[“ E disse Isaías: -Tomem uma pasta de figos,
E a ponham como emplastro sobre a chaga;
E sarará. ”]*

Isaías 38: 21. Bíblia Sagrada. Almeida, revista e corrigida.
SBB, 2013.

RESUMO

O Brasil é um país que vem se destacando em recordes de produtividade, principalmente em grãos. No entanto, essa produtividade vem sendo ameaçada pelas pragas, que estão adquirindo meios de resistência a inseticidas disponíveis no mercado. Neste sentido, a bioprospecção entra como aliada revelando novos compostos bioativos isolados de plantas. O objeto deste estudo foi avaliar a bioatividade dos extratos hexânicos e metanólicos de *Tarenaya spinosa*, planta nativa da América do Sul pertencente à família Cleomaceae, frente ao gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*). A toxicidade dos extratos frente a *Artemia salina* também foi avaliada. Os resultados mostraram que os extratos hexânicos não apresentaram bioatividade. O extrato metanólico de folhas foi o mais ativo aos insetos (mortalidade entre 8 a 62% e $CL_{50} = 1,33$ mg/g), seguido pelo extrato de caules (entre 10 a 70% e $CL_{50} = 1,96$ mg/g) e de flores (entre 5 a 20% e $CL_{50} = 2,93$ mg/g). O extrato de flores foi mais tóxico aos nauplios de *A. salina* (entre 93 e 96%), seguido do extrato de caules (entre 26 e 41%) e de folhas (entre 26 e 36%). A CL_{50} para os extratos metanólicos foram menores que 100 µg/ml. O perfil fitoquímico revelou a presença de flavonoides glicosilados, agliconas e fenilpropanóides nos extratos metanólicos; ácidos graxos e terpenos foram visualizados nos extratos hexânicos. Análises em HPLC dos extratos metanólicos demonstraram a presença de luteolina e campferol, além de outros flavonoides que podem ter alguma relação com as bioatividades presenciadas.

Palavras-Chave: Atividade Inseticida. *Artemia salina*. Bioprospecção. *Tarenaya spinosa*.

ABSTRACT

Brazil is a country with excellent records of productivity, mainly in crops. However, this productivity has been threatened by pests, which has acquired resistance to insecticides available on market. In this sense, the bioprospection open with ally, revealing news bioactivities compounds isolated of plants. The aim of study was available the bioactivity of hexanic and methanolic extracts of *Tarenaya spinosa*, native plant of Sothern America and belonging the family Cleomaceae against the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). The toxicity of the extracts against *Artemia salina* was also evaluated. The results showed that hexane extracts did not present bioactivity. The leaf extract was the most active against insects (mortality between 8 at 62% and $CL_{50} = 1.33$ mg/g), followed to stem extract (between entre10 at 70% and $CL_{50} = 1.96$ mg/g), and flower extract (between 5 at 20% and $CL_{50} = 2.93$ mg/g). The flower methanolic extract was most toxic at brine shrimp nauplii (between 93-96%), followed of stem extract (between 26-41%) and leaf extract (between 26-36). The LC_{50} for methanolic extracts were lower than 100 μ g/ml. The phytochemical profile revealed the presence of glycosylated flavonoids, aglycones and phenylpropanoids from methanolic extracts; fatty acids and terpenes were visualized in the hexane extracts. HPLC analysis of the methanolic extracts showed the presence of luteolin and kaempferol, in addition to other flavonoids that may have some relation with the bioactivities observed.

Keywords: Insecticidal activity. *Artemia salina*. Bioprospection. *Tarenaya spinosa*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO ÓLEO DE ARGAN.....	15
FIGURA 2 - FLAVONA	17
FIGURA 3 - EXEMPLOS DE QUINONAS	18
FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA DE ANTOCIANINAS.....	20
FIGURA 5 - CUMARINA (1,2 BENZIPIRONA).....	21
FIGURA 6 - ISOPRENO	24
FIGURA 7 - EXEMPLOS DE MONOTERPENOS.....	25
FIGURA 8 - SESQUITERPENOS COLORATANOS	26
FIGURA 9 - TRITERPENOS DAMARANOS ISOLADOS DE <i>CLEOME AFRICANA</i>	31
FIGURA 10 - ESTRUTURA DO 1-DEACETILBRAQUICARPON-22(23) –ENO.....	31
FIGURA 11 - ESTRUTURA DA CLEOCARPONA	32
FIGURA 12 - BUCARIOL E TECLADIOL	33
FIGURA 13 - <i>TARENAYA SPINOSA</i> (JACQ.) RAF	41
FIGURA 14 - CINCO DITERPENOS CEMBRANOS (1 A 5) E UM FLAVONOIDE (6), ISOLADOS DE <i>TARENAYA SPINOSA</i>	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 BIOPROSPECÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM PLANTAS.....	12
2.2 BIOPROSPECÇÃO DE INSETICIDAS DE ORIGEM VEGETAL.....	13
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	16
2.3.1 Flavonóides	16
2.3.1.1 Flavonas	17
2.3.1.2 Isoflavonóides.....	17
2.3.1.3 Quinonas	18
2.3.1.4 Antocianinas.....	18
2.3.1.5 Cumarinas	20
2.4 TERPENOS.....	21
2.4.1 Monoterpenos	24
2.4.2 Sesquiterpenos	25
2.4.3 Diterpenos	26
2.4.3.1 Cembranos	28
2.4.4 Triterpenos	29
2.5 FAMÍLIA CLEOMACEAE.....	29
2.5.1 Gênero <i>Cleome</i>	30
2.5.2 Gênero <i>Tarenaya</i>	39
2.5.2.1 <i>Tarenaya hassleriana</i>	39
2.5.2.2 <i>Tarenaya spinosa</i> (Jacq.)Raf.....	40
2.6 ATIVIDADE INSETICIDA	42
2.6.1. <i>Sitophilus zeamais</i> e atividade inseticida	48
2.6.2 Plantas da família Cleomaceae com atividade inseticida.....	49
3 POTENCIAL INSETICIDA, TOXICIDADE PRELIMINAR E PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE <i>TARENAYA SPINOSA</i> (JACQ.) RAF. (CLEOMACEAE)	51
4 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS	
ANEXO A- NORMAS PARA A REVISTA <i>JOURNAL OF STORED PRODUCTS RESEACH</i>	101

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país rico em biodiversidade. Há em nossos biomas inúmeras espécies com um grande potencial alimentício, terapêutico e tecnológico. Além disso, o conhecimento empírico, passado de geração em geração, contribui diretamente para a riqueza do etnoconhecimento no país.

Embora haja um grande esforço por parte das academias e institutos de pesquisa de estudar a aplicação de recursos vegetais, tais recursos ainda são pouco explorados, principalmente porque há um etnoconhecimento a ser atrelado ao científico. Para ter uma ideia, a OMS estima que 70 a 80% da população usam suas medicinais tradicionais; mesmo assim, o conhecimento sobre os efeitos da maioria dessas plantas permanece desconhecido (Araújo et al., 2014).

As substâncias produzidas pelo metabolismo secundário vegetal são utilizadas para tratamento dos mais diversos tipos de enfermidades. Além dos seus efeitos medicinais, esses metabólitos apresentam efeitos interessantes sobre os mais diversos tipos de pragas causadas por insetos e outros patógenos. Atualmente algumas pragas têm se mostrado resistentes aos inseticidas comerciais, trazendo grandes prejuízos econômicos. O uso dos metabólitos no controle de pragas tem como vantagem o fato de serem biodegradáveis, poluírem pouco o ambiente, são pouco tóxicos aos trabalhadores que os manipulam e podem anular a resistência que alguns patógenos apresentam aos inseticidas comerciais. Os terpenos, fenóis e alcaloides são os principais representantes desses compostos; e conseqüentemente, os mais estudados.

Esta dissertação apresentará um panorama geral dos compostos secundários isolados de plantas, seus efeitos benéficos e potenciais toxicidades. Serão discutidos os benefícios da bioprospecção de metabólitos secundários, a importância de algumas classes e subclasses destes compostos, mostrando não só a importância farmacológica, mas também o interesse econômico e suas potencialidades de aplicações em vários setores da indústria. Um enfoque especial será dado aos compostos secundários que podem ser encontrados na família Cleomaceae, sua importância médica e industrial, além também de mostrar um pouco a importância destes compostos como defesa ou atrativo para polinizadores. Também será mostrada uma breve discussão taxonômica da família Cleomaceae. Será dada ênfase aos gêneros *Cleome* e *Tarenaya*. Dentro desses gêneros, trataremos sobre os compostos secundários já elucidados e as bioatividades relatadas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 BIOPROSPECÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM PLANTAS

Populações humanas de todo o planeta usam, há milhares de anos, plantas para fins medicinais. O mercado global de medicamentos derivados de plantas foi estimado em cifras de aproximadamente 31 bilhões de dólares na última década. Compostos secundários, como terpenos e esteroides, representam uma maior significância no mercado, como um comércio que gera valores estimados de 12,4 bilhões de dólares por ano no mundo (Muffler et al, 2011).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os sistemas de medicina tradicional (como a medicina tradicional chinesa, por exemplo), utilizam como base as plantas. Cerca de 80% da população mundial depende do uso de plantas para o tratamento de doenças (Gurib-Fakim, 2005). Por outro lado, o crescente uso de plantas para diferentes propósitos tem levado ao extrativismo desenfreado, que pode levar muitas espécies vegetais, ainda não estudadas, a extinção, bem como acelerar o desmatamento de biomas importantes.

Segundo Gurib-Fakim (2005), nos países desenvolvidos, 20% dos medicamentos são derivados vegetais e no mundo, 119 compostos químicos conhecidos foram isolados de extratos vegetais de pelo menos 90 espécies de plantas, destes compostos, 74% foram obtidos em estudos de isolamento e caracterização química, e o restante, isolado a partir de estudos de bioatividade.

Os metabólitos secundários em plantas se originam de compostos primários a partir de vias metabólicas acopladas à fotossíntese e à respiração (Floss, 2008). As funções destes compostos nas plantas variam, desde a proteção contra parasitas e herbívoros até ao auxílio na floração e na polinização. São metabólitos secundários, os alcalóides e outros nitrogenados, os glicosinolatos, os compostos fenólicos e os terpenóides (Gurib-Fakim, 2006). Os compostos fenólicos atraem polinizadores e dá a coloração de flores, frutos e de algumas sementes. Medicinalmente, os fenólicos apresentam ação antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, antimicrobiana e antiviral (Gurib-Fakim, 2006). Os terpenóides, como os monoterpenos e sesquiterpenos, presentes em óleos voláteis, protegem as plantas contra herbívoros. Como exemplo, os derivados da citronela que possuem atividade repelente e larvicida (Gurib-Fakim, 2006). Os alcaloides são conhecidos notadamente pelo seu alto potencial antitumoral, como a vincristina e vimblastina (Gurib-Fakim, 2006).

Fisiologicamente, a produção dos metabólitos secundários pelas plantas depende de fatores abióticos como luz, água, solo, temperatura e de fatores endógenos como a genética da

planta (Floss, 2008). Os compostos fenólicos, por exemplo, ocorrem em praticamente todos os vegetais, mas cada espécie pode produzir determinado tipo específico. Os terpenóides também são de ampla ocorrência, mas alguns destes ocorrem com maior frequência em certos taxa (por exemplo: lactonas sesquiterpênicas na família Asteraceae [Gurib-Fakim, 2006]).

As pesquisas de bioprospecção geralmente são de média e longa duração. Atrelada ao isolamento, caracterização, elucidação dos compostos, ensaios pré-clínicos e clínicos em humanos estão envolvidos neste processo. Testes *in vitro*, *in vivo*, toxicidade aguda, subaguda e crônica e carcinogenicidade (que geralmente utilizam cobaias e requer aprovação junto aos conselhos de ética em pesquisa) são algumas das etapas da bioprospecção.

A bioprospecção também ajuda a promover programas de conservação da biodiversidade, pois tentam prevenir a extinção de espécies raras, muitas não estudadas anteriormente. Além disso, depois da identificação de tais metabólitos com atividades biológicas, são desenvolvidas em laboratórios sínteses de compostos bioativos, evitando a extinção da flora e acaba por promover o desenvolvimento da biotecnologia, com o desenvolvimento de protocolos de bioensaios e de identificação e separação de bioativos incluindo cultura *in vitro* (Gurib-Fakim, 2006; Albarello et al., 2013).

A bioprospecção também promove a inclusão social, porque os conhecimentos empíricos são valorizados, e as populações com suas culturas e tradições são destacadas pela ciência. A partir de um estudo etnobotânico e etnofarmacológico muitas espécies vegetais, ainda desconhecidas para a ciência, forneceram várias moléculas utilizadas pela medicinal moderna (Albuquerque, 2005; Gurib-Fakim, 2006).

2.2 BIOPROSPECÇÃO DE INSETICIDAS DE ORIGEM VEGETAL

De acordo com a literatura, um produto natural para ser considerado inseticida, deve matar os insetos, mas a toxicidade de um produto natural não necessariamente a qualifica como possuidora de atividade inseticida. É desejável que os inseticidas sejam biodegradáveis, sem efeitos cumulativos sobre alimentos e produtos armazenados, de fácil obtenção e manipulação (Viegas Jr, 2003). Geralmente a maioria dos produtos naturais de origem vegetal atende estes pré-requisitos.

A piretrina, por exemplo, foi descoberto em 1800, a partir do piretro (flores secas de *Chrysanthemum* e *Tanacetum*); e alguns anos depois foram explorados em escala industrial. Atualmente são sintetizados compostos derivados das piretrinas. No entanto, a piretrina natural ainda é usada em países em desenvolvimento, principalmente na África e Ásia.

Atualmente, os inseticidas disponíveis para o público em geral são piretróides, por apresentar baixa toxicidade a mamíferos (Viegas Jr, 2003).

Estudos com extratos e óleos essenciais do neem (*Azadiracta indica* L.) mostraram que alguns insetos têm apresentado sensibilidade, como: inibição de seu crescimento, morte de larvas durante a ecdise, alongamento da fase larval, viabilidade dos ovos, deformações de pupas e adultos, reduções na longevidade, fecundidade e fertilidade dos adultos; e até a morte dos insetos. A azadiractina, um diterpeno, é o principal princípio ativo da espécie, com potencial até de inibir o apetite de insetos, matando-o, mas não é o único, pois mais de 100 compostos com mesma bioatividade foram isolados (Viegas Jr, 2003). O neem atualmente tem sido usado como planta ornamental e seus frutos usados na alimentação.

A árvore de argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels [Sapotaceae]) é encontrada no Marrocos. De suas amêndoas é extraído um óleo usado pela população local no tratamento de doenças e na fabricação de cosméticos (conhecido mundialmente como óleo de argan). Esta árvore forma verdadeiras florestas; que mesmo sendo considerada pela UNESCO um patrimônio natural (as florestas de argan) e como patrimônio cultural imaterial da humanidade (óleo de argan), encontra-se ameaçada de extinção devido ao corte das árvores para a fabricação de carvão e o uso como lenha por populações locais e nômades beduínos. O óleo de argan é rico em compostos fenólicos de suma importância, como o ácido vanílico, férulico siringal e tirosol; em esteróis, como o escotanol e espinasterol, e tocoferóis. O fruto é rico em flavonoides, ácidos fenólicos e derivados glicolisados; a polpa é rica em aminofenóis, alguns deles descritos pela primeira vez pela literatura, como: a arganimida A (ácido-4,40-dihidroxi-3,30-imino-di-benzóico) e argaminólicos A-C (Khallouki et al., 2017) (Figura 1). Segundo Harhar et al. (2010), a presença de cânfora e 1,8-cineol no óleo essencial desta espécie indica que a mesma pode ser usada como repelente de insetos.

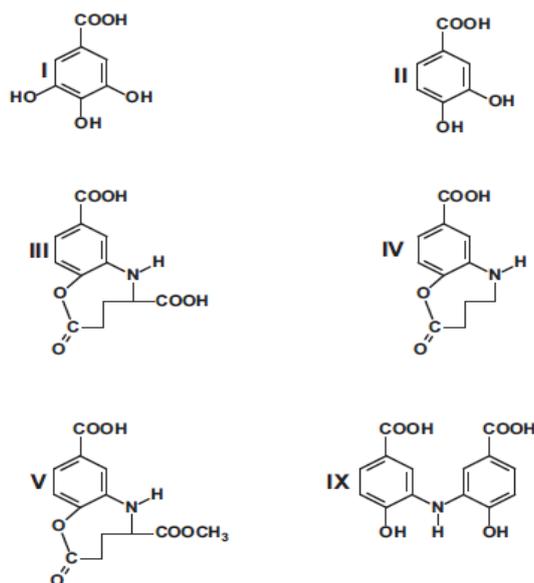


Figura 1. Compostos fenólicos presentes no óleo de Argan. I- Ácido gálico; II. 3,4- Ácido dihidroxibenzóico; III- Ácido argaminolico C; IV- Ácido argaminolico A, V.- Ácido argaminolico B; IX. 4,40- Ácido dihidróxi-3,30-imino-di-benzóico (Arganimida A). Fonte: Khallouki et al (2017).

Espécies de outras categorias de uso também têm sido investigadas quanto ao seu potencial inseticida. O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.[Euphorbiaceae]), planta cujo óleo fixo das sementes é fonte de biodiesel, possui ação inseticida e sobre a oviposição de *S. zeamais* (Oliveira, Santana e Antigo, 2013). A citronela (plantas do gênero *Cymbopogon* [Poaceae]) apresenta uma série de mono e sesquiterpenos, sendo o citral o composto majoritário, presente nas folhas. Esta planta tem sido usada como repelente de mosquitos e pernilongos em geral, além de ser usado como recreativo e medicinal (na forma de chá). O óleo essencial de *C. nardus* e *C.martinii* apresentou elevada toxicidade frente a larvas L₃-L₄ de *A. aegypti*, com CL₅₀114, 65mg/l para as duas espécies (Ríos, Stachenko e Duque, 2017).

O tabaco (*Nicotiana tabacum* L.[Solanaceae]), planta rica em nicotina, alcalóide majoritário da espécie e presente no cigarro; apresentou atividade inseticida dose-dependente de acordo com o tempo de contato (de 2,5 min a 10 min) contra o besouro cascudinho (*Alphitobius diaperinus* (Panzer) [Coleoptera: Tenebrionidae]). Esta praga geralmente ataca aves, causando prejuízos para a avicultura (Jacomini et al., 2016).

2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

2.3.1 Flavonoides

Os flavonoides são um dos grupos de metabólitos secundários mais amplamente distribuídos no reino vegetal. Já foram descobertos mais de 9.000 flavonoides isolados de produtos naturais. Estão presentes em todas as plantas, desde os musgos até as angiospermas; e atuam na proteção contra a radiação UV, coloração das flores, na interação entre espécies e na defesa contra patógenos e herbívoros. (Martens e Mithöfer, 2005).

As principais classes de flavonoides são: flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanonóis, flavolignanas, flavanois, isoflavonoides, antocianidinas, leucocianidinas, proantocianidinas, neoflavonoides e chalconas. Como bioatividades, os flavonoides apresentam atividades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e protetora do sistema cardiovascular. Além disso, algumas pesquisas mostraram que os flavonoides podem apresentar atividade antitumoral, principalmente no câncer de cólon e de mama, por induzir a apoptose e reduzir a angiogênese (Sun et al., 2016).

Alguns estudos mostraram o papel dos flavonoides no combate a inflamação. Os flavonoides podem inibir o complexo enzimático cicloxigenase (COX), que estimula as dores. Acredita-se que este complexo possa estar relacionado com a esquizofrenia e alguns tipos de câncer, como o de mama. No entanto, deve-se ter cuidado, pois alguns fármacos e flavonoides usados para o combate a infecções também pode estar relacionado a doenças cardíacas e derrames (Revankar et al., 2017). No entanto, Blunder et al. (2017) discordam desta informação. Eles afirmam que os flavonoides diminuem o risco de doenças coronarianas, podendo ajudar no tratamento da diabetes tipo dois, e podem estar atrelados a uma melhor cognição em pacientes de idade avançada.

Os flavonoides também podem inibir outros mediadores de inflamação e eliminar do organismo espécies reativas de oxigênio. Também está relacionada ao combate a alguns tipos de câncer, apresentando atividade antitumoral, possuindo propriedades diuréticas, anti-hemorragica e ação sobre a musculatura lisa (Blunder et al., 2017).

Com relação a identificação de flavonoides, Blunder et al. (2017) relatam que a espectrometria de massas muitas vezes não consegue identificar compostos desta classe porque sofrem isomerização muito rapidamente. Assim, eles sugerem o uso do HPLC-MS mais a ressonância magnética nuclear. Métodos de identificação de flavonoides e outros compostos secundários são importantes para a indústria, principalmente no controle de

qualidade. Muitos alimentos, tanto de origem natural como industrializados ou não, apresentam flavonoides na sua composição.

Como exemplo de bioprospecção, Sun et al. (2016) isolaram os flavonoides de caules e raízes de *Daphne giraldii* Nitsche (Thymelaeaceae) e identificaram estes compostos por espectrometria de massas por infravermelho e ressonância magnética nuclear. Os flavonoides apresentaram atividade citotóxica e baixa toxicidade (CL_{50} variando de 4.26 até 20.82 μ M).

2.3.1.1 Flavonas

As flavonas são outra classe de flavonoides de grande importância (Figura 2). Segundo Singh et al. (2014), as seguintes atividades biológicas são relatadas para as flavonas: anti-inflamatória, anti-estrogênica, antimicrobiana, antialérgica, antioxidante, antitumoral e citotóxica. A maioria dos estudos sobre estes compostos aborda a relação entre as flavonas e doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como a aterosclerose, diabetes, cancro, doença de Alzheimer, etc. Flavonas de origem natural, como a naringenina, podem ser encontradas em alimentos sem nenhum efeito colateral sobre a saúde da população.

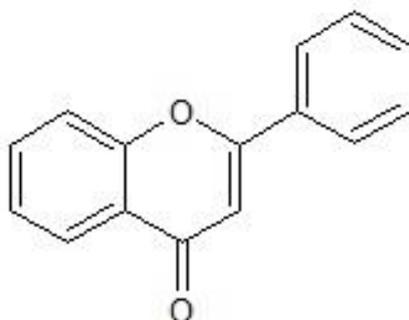


Figura 2. Flavona. Fonte: Autor.

2.3.1.2 Isoflavonoides

Os isoflavonoides são também conhecidos como fitoestrógenos. Vários alimentos contêm isoflavonoides, como a soja; assim, estes metabólitos são facilmente absorvidos pelo organismo humano. Os isoflavonoides são usados em formulações de cosméticos e na indústria de alimentos, como um antioxidante e suplemento alimentar (Nemitz et al, 2016).

Alguns isoflavonoides são considerados xenoestrógenos e podem ou não interferir na fertilidade humana porque alguns estudos relataram que estes compostos prejudicam a eficiência de reprodução e este efeito é estudado desde a década de 50 do século passado.

Estes xenoestrógenos podem ser encontrados na soja, que vem ganhando espaço na casa das pessoas desde os anos 1940; no entanto, isso vem mudando com novos métodos de processamento da soja, uso do melhoramento genético e o aprendizado de novos meios de preparação de pratos com esta leguminosa (Fernandez-Lopez et al, 2016).

2.3.1.3 Quinonas

As quinonas são muito importantes para a medicina, pois são usadas para o tratamento de parasitoses e tumores. Geralmente, entra na composição de quimioterápicos para o tratamento de câncer. Porém, no ambiente, elas podem ser um poluente extremamente tóxico, pois são formadas por foto-oxidação de ácidos aromáticos policíclicos originados de hidrocarbonetos ou emitidos pela combustão de combustíveis fósseis, ricos em hidrocarbonetos aromáticos (Sousa et al., 2015) (Figura 3).

As quinonas isoprenoides, ao contrário das demais quinonas, fazem parte das membranas plasmáticas de quase todos os seres vivos e sua função está relacionada ao transporte de elétrons em complexos proteicos na membrana (Nowicka e Kruk, 2010).

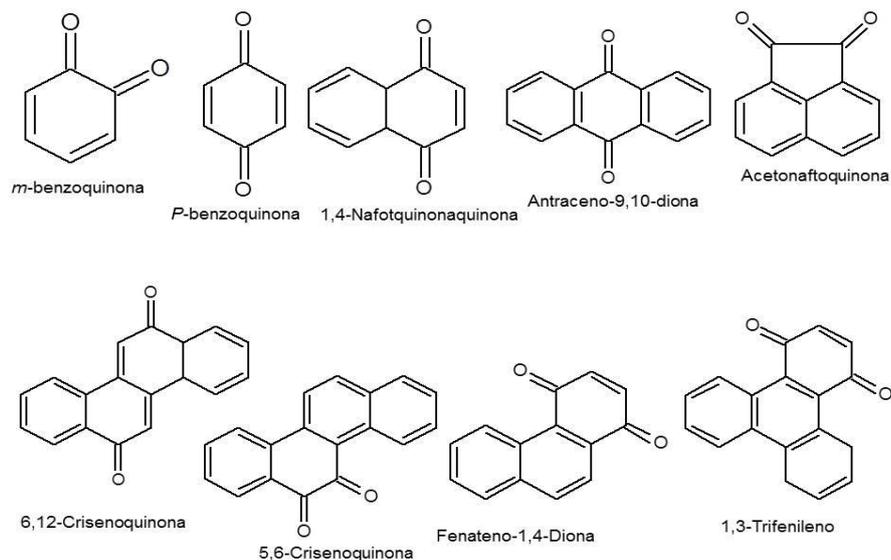


Figura 3. Exemplos de quinonas. Fonte: Autor.

2.3.1.4 Antocianinas

As antocianinas são conhecidas como pigmentos naturais bastante difundidos entre as plantas, apresentando uma grande diversidade de cores, em praticamente todos os espectros

visíveis, desde laranja até o vermelho, com matiz roxo e azul. Foi desafiador para a comunidade científica isolar estes compostos, elucidar suas cadeias, detectar suas propriedades biológicas e físico-químicas e estudar sua biossíntese. Agora, seus benefícios para a saúde e sua utilização pela indústria química, farmacológica, de cosméticos e de alimentos estão sendo revelados (Fernandes et al., 2014).

As antocianinas são compostos fenólicos que se originam de derivados oxigenados cátion 2-fenilbenzopirílico (flavilium), que contém dois anéis benzoílicos (A e B) separados por um anel heterocíclico de seis membros que contém oxigênio. Nos últimos 30 anos foram descobertas mais de 30 antocianinas, porém elas se subclassificam em seis apenas: cianindinas, delphinidinas, malvidinas, pelargonidinas, peonidinas e petunidinas. As antocianinas podem ser encontradas nos vacúolos das células de quase todas as partes vegetais e em quase todas as plantas, além de ser encontradas em alguns protistas fotossintetizantes (Zhao et al., 2017).

As antocianinas, juntamente com os taninos, são responsáveis pela cor e odor do vinho tinto. O teor de antocianinas no suco de uva a ser fermentado pode demonstrar a qualidade do vinho, bem como o seu sabor, podendo ser usado como indicador de qualidade para a indústria de vinhos, porque os taninos e antocianinas são liberadas na maceração das uvas (Ortín et al., 2016).

As antocianinas podem estar ligadas a monossacarídeos ou a dissacarídeos, geralmente glicose, galactose, arabinose ou galactose. Podem estar presentes na planta toda, principalmente em frutos e flores. Nos frutos, geralmente as antocianinas são glicosiladas. No entanto, são moléculas bastante reativas e sensíveis à degradação ou a reações diversas. Fatores físico químicos, como a presença de oxigênio, temperatura, luz e enzimas podem afetar a química das antocianinas, bem como a sua estabilidade e cor. Podem ser degradadas através de vários processos durante a sua extração, processamento e armazenamento de alimentos (Fernandes et al, 2014).

As antocianinas fazem parte da dieta humana e podem ser encontrados em vários alimentos como alguns cereais, raízes e frutos vermelhos como cerejas, morangos, ameixas, amoras, framboesas, uvas e groselhas. Ainda são encontradas principalmente na pele, mas também podem aparecer na carne. Normalmente, a quantidade de antocianinas aumenta durante o amadurecimento e pode atingir até 2-4 g/kg de peso fresco em groselhas, enquanto que no vinho tinto, pode alcançar 200 a 350 mg (Fernandes et al., 2014) (Figura 4).

Outras aplicações das antocianinas são medicinais e cosméticas. As antocianinas apresentam atividades anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antitumoral, citotóxica

e vasodilatador (Zhao et al., 2017). As antocianinas também apresentam atividade protetora contra a isquemia. Outros benefícios das antocianinas são relacionados a doenças do coração e degenerativos, desordens e cancro. As antocianinas isoladas de frutas vermelhas apresentam atividade antioxidante 27 vezes maior (Arend et al., 2017).

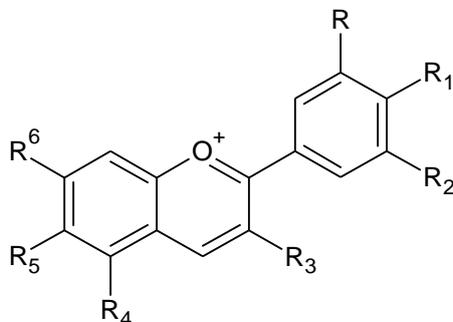


Figura 4. Estrutura química básica de antocianinas. Fonte: Autor.

2.3.1.5 Cumarinas

As cumarinas são outra classe de compostos fenólicos derivadas do ácido *p*-cumárico e da 1,2-benzopirona (Souza et al., 2016) (Figura 5). Revanka et al. (2017) relatam que as cumarinas são derivadas da 2-benzopirona e que são uma importante classe de compostos fenólicos oxigenados com heterociclos e encontrados de forma ampla na natureza e empregados como remédio derivados de plantas herbáceas desde o início da antiguidade e mais de 1300 cumarinas foram descritas até hoje.

O primeiro relato de isolamento de cumarinas ocorreu em 1820, quando Vogel isolou cumarinas de sementes de cumaru. A partir de Vogel, outros estudos também isolaram cumarinas. Por exemplo: em 1902, Tilden e Burrows isolaram precursores de citropeno, também conhecido como 5,7- dimetoxicumarina, presente em óleos essenciais de *Citrus*.

As cumarinas apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, tais como: antimicrobiana, antiviral, antiparasitária, antitumoral, anti-inflamatórios, anti-hiperlipidêmico e anticolinesterase. Alguns fármacos como varfarina, acenocumarol e fenilpropilidroxycumarina são derivados de cumarinas sintetizadas (Souza et al., 2016).

A atividade antitumoral das cumarinas é relatada por Bisi et al. (2017). Em sua revisão, eles relatam que as cumarinas inibem e combatem alguns tipos de tumor. A 7-hidroxycumarina inibe a ação de glicoproteínas importantes para a proliferação celular, mas podem alterar o transporte ativo e as membranas de células tumorais. Outras bioatividades das cumarinas são atividade anti HIV, antioxidante, inibidores de acetilcolina e DNA girase (Revanka et al.,

2017).

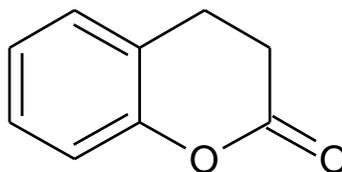


Figura 5. Cumarina (= 1,2 benzopirona). Fonte: Autor

2.4 TERPENOS

Os terpenos são um grupo bastante diverso de metabólitos secundários. São os principais constituintes dos óleos essenciais de várias plantas com bioatividades. Foram identificados mais de 25.000 terpenos, sendo o grupo de compostos secundários com maior quantidade de moléculas identificadas. Estudos tem sugerido que os terpenos proporcionam às plantas uma vantagem evolutiva, com os seus odores e sabores característicos, enquanto outros terpenos são impalatáveis e pungentes o suficiente para repelir insetos e herbívoros; e outros atraem predadores do herbívoro (Oz et al., 2015).

Os terpenos atacam fungos parasitas, ajudam a planta a atrair abelhas para a polinização e para levar pólen da planta para outras plantas. As plantas sintetizam combinações de terpenos, proporcionando-lhes o seu cheiro único, ativando receptores olfativos dos polinizadores ou gerando sabor por ativação (Oz et al., 2015).

Os terpenos na verdade são hidrocarbonetos saturados, na maior parte. Por isso apresenta propriedades apolares e geralmente é extraído por hidrodestilação. Os terpenos são formados por unidades de isopreno, também conhecido por 2-metil - 1,4-butadieno (C_5H_8) (Figura 6). A classificação dos terpenos segue essa conformação. As subclasses de terpenos são: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos; onde difere na quantidade de unidades de isopreno; ou seja, com duas, três, quatro, seis, e oito unidades do isopreno, respectivamente (Oz et al., 2015).

Os óleos essenciais são formados pelo mono, sesqui, di e triterpenos. Geralmente os tetraterpenos formam resinas e látex. As propriedades bactericidas, antivirais, fungicidas, antiparasitárias, inseticidas, efeitos medicinais e propriedades sensoriais dos óleos essenciais e mais precisamente, dos terpenos é conhecida desde a idade média. Outras propriedades como: anticancerígena, antiespasmódica, anti-hiperglicêmica, antialérgica, anti-inflamatória, imunomoduladora e organolépticas tornam os óleos essenciais e terpenos moléculas interessantes e desejáveis para as indústrias farmacêutica, sanitária, cosmética e alimentar (Schewe et al., 2011). Os efeitos medicinais dos óleos essenciais e sua utilização para a

promoção da saúde bem-estar e relaxamento mental têm sido visados durante séculos. Os óleos essenciais são utilizados para fins terapêuticos e culinários como agentes aromatizantes ou conservantes de alimentos.

O esqueleto terpênico é acíclico ou contém estruturas mono-, bi-, tri-, tetra- ou pentacíclicas. No entanto, alguns termos referentes a terpenos podem causar confusão na hora de nomear a cadeia. Por exemplo: para diferenciar triterpenos de triterpenoides são frequentemente utilizados para descrever o mesmo terpeno com 3 unidades de isopreno (C_{30}), no entanto diferenciar as duas expressões é necessária. Como o triterpeno é um termo coletivo usado para terpenos de ocorrência natural, a expressão triterpenoides também abrange compostos naturais degradados como, por exemplo, iononas; bem como substâncias naturais e derivados, tais como: álcoois terpênicos, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, epóxidos e produtos de hidrogenação. Como os triterpenos se apresentam com estruturas complexas de compostos terpenoides, são geralmente referidos por seus nomes triviais em vez da nomenclatura oficial da IUPAC (Muller et al., 2011).

Atualmente, os terpenos usados como remédio têm sido sintetizados. A síntese orgânica de compostos secundários tem sido intensificada nos últimos anos devido ao perigo de extinção de espécies, dificuldades em isolamento (geralmente atrelada a misturas de diterpenos e até mesmo a presença de misturas racêmicas de um mesmo diterpeno numa mesma planta); baixa abundância na natureza e falta de cultivo padronizado de plantas com fins medicinais e ausência de domesticação de espécies vegetais selvagens (Zerbe e Bohlmann, 2015).

No entanto, Zerbe e Bohlmann (2015) apontaram o desenvolvimento de sistemas de produção alternativos de diterpenos, como a síntese total ou a semi-síntese. O ingenol, exemplo citado pelos pesquisadores em sua revisão, é precursor do quimioterápico ingenol mebutato; e culturas de células vegetais para a produção de taxol (metabólito secundário naturalmente extraído de plantas da família Taxaceae, divisão Pinophyta, superdivisão Spermatophyta). Porém, essas duas técnicas nem sempre são aplicáveis para todos os diterpenos. Outros caminhos, não somente para os terpenos, mas para todos os compostos secundários de plantas, é o sequenciamento genético de plantas que produzem determinados tipos de metabólitos, a biossíntese a partir do uso da engenharia genética e genômica, a bioinformática atrelada à engenharia metabólica de microrganismos.

Os óleos essenciais são uma importante ferramenta para o controle de pragas. Uma das formas de repelência são os compostos voláteis de plantas envolvidas em interações entre plantas e pragas naturais. Estudos tem demonstrado que muitos insetos herbívoros usam

compostos secundários voláteis de plantas para localizar plantas hospedeiras na postura de ovos. Logo, muitas dessas substâncias foram usadas para confundir os insetos durante a localização da planta hospedeira (efeito dissuasor), capturá-los (efeito atrativo) ou afetar negativamente seu desenvolvimento (efeito alelopático ou tóxico). No entanto, deve-se ter cuidado na isomeria óptica: os enantiômeros da mesma droga podem ter efeitos diferentes em insetos, dependendo da espécie. Por exemplo, (+) limoneno e pineno impedem a oviposição de alguns insetos, enquanto que o (-) limoneno e pineno a estimulam (Panzavolta et al., 2015).

A bioatividade estudada dos óleos essenciais tem sido mais bem visto nos monoterpenos (Oz et al., 2015). Victorio et al. (2009) informaram que os óleos essenciais apresentam importante atividade antimicrobiana. Óleos essenciais também apresentam benefícios também para a formulação de antibióticos e fármacos de uso veterinário (Castro et al., 2016).

Os métodos de extração de óleos essenciais são a hidrodestilação, métodos cromatográficos, fluido supercrítico e prensagem. Porém tais técnicas precisam de muitas quantidades de material botânico de boa qualidade e nem sempre isso é possível. Outro problema é que a concentração destes compostos em plantas varia de acordo com a sazonalidade, a temperatura, ou fatores externos, como a herbivoria. Assim, Schewe et al. (2011) citam como solução a este problema a síntese orgânica e técnicas empregadas de engenharia genética, como a programação de bactérias para a bioconversão catalítica.

Com relação as técnicas de identificação de terpenos em óleos essenciais, a técnica mais empregada é a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. Porém, segundo Brochini et al. (1999), essa técnica muitas vezes não detecta e não identifica com precisão porque a técnica pede bancos de dados que contenham os valores de tempo de retenção necessários para confrontar com os dados obtidos nas corridas. Às vezes esses dados não estão disponíveis ou não existem.

Por exemplo, os sesquiterpenos não são identificados com eficiência por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) porque na análise as substâncias rearranjam facilmente e formam fragmentos com m/z (razão massa carga) iguais. O que difere neste caso são as intensidades dos picos, quando não coeluem. Outro problema relatado pelos autores é que existe muita variação entre os espectros obtidos em instrumentos diferentes, tornando complicada a interpretação dos dados. Portanto, eles recomendam que façam uma cromatografia gasosa acoplada a ressonância magnética nuclear de ^{13}C ainda que exista alguns fatores limitantes, como por exemplo, poucos dados de NMR na literatura sobre sesquiterpenos.

Como veremos os demais terpenos apresentam uma ampla gama de bioatividades e uma composição química diversa e importante para a farmacologia e também para os estudos de polinização e de interação planta-animal.

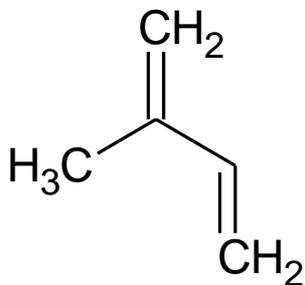


Figura 6. Isopreno. Fonte: Autor.

2.3.1 Monoterpenos

Os monoterpenos são um dos constituintes dos óleos essenciais. São formados por uma unidade de isopreno (C₅-C₁₀) (Figura 7). Os monoterpenos têm sido utilizados na medicina há séculos, e mais recentemente, no processamento de alimentos, fragrâncias de perfumes e drogas medicinais. Devido à altas taxas de emissão e reatividade, os monoterpenos influenciam em processos químicos da atmosfera mais baixa e participam fortemente na oxidação, bem como na formação de componentes secundários de aerossóis orgânicos (Štejfa et al., 2014).

Como principal bioatividade, os monoterpenos apresentam potencial anti-inflamatório e analgésico (Souza et al., 2014). Os monoterpenos também apresentam baixa toxicidade para mamíferos, são biodegradáveis e altamente seguros (Zhang et al., 2016). Quarenta monoterpenos foram aplicados por fumigação em populações de *Drosophila melanogaster* (Família Diptera). Foram ativos contra *D. melanogaster* o terpinoleno, 3-careno, eugenol, timol, carvacrol, isoeugenol, citral, (±) -citronelal, cuminaldeído, (-) - verbenona, e (+) – pulegona; sendo mais tóxicos o (±) -citronelal e (+) - pulegona (aldeídos e cetonas), com CI₅₀ variando de 0,015 e 0,002 µl/l, respectivamente. Monoterpenos oxigenados apresentaram maiores toxicidades do que monoterpenos hidrocarbonados.

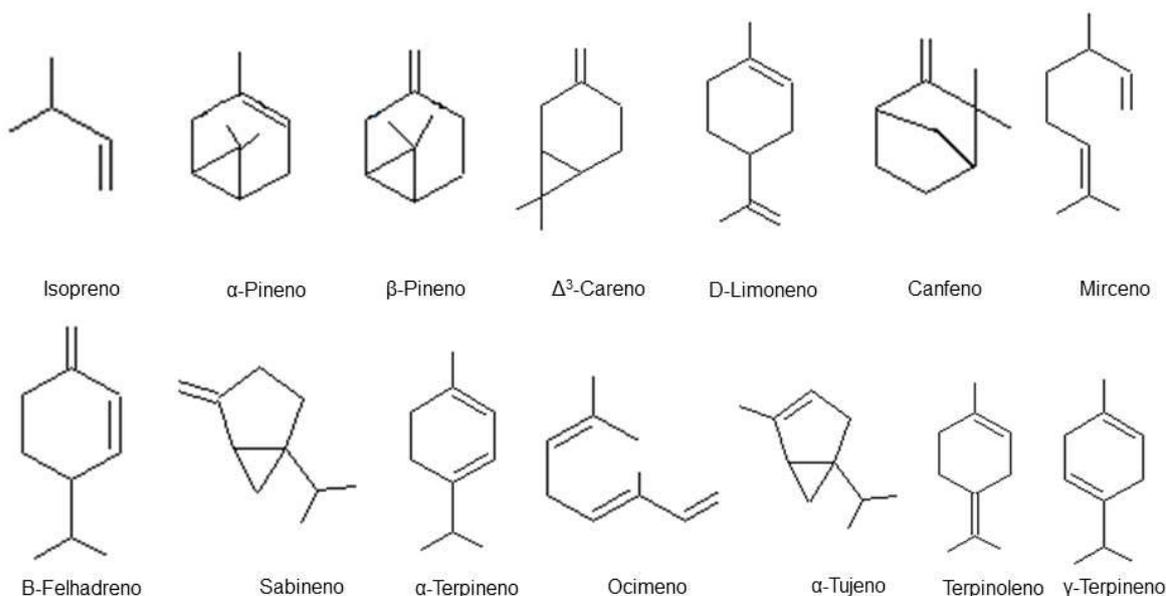


Figura 7. Exemplos de monoterpenos. Fonte: Autor.

2.4.2 Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são formados por três unidades de isopreno (C_{15}). Apresentam uma grande diversidade de formas de suas cadeias carbônicas, mas a maioria são cíclicas. São subdivididos em alguns grupos, onde quatro desses são encontrados em *Cinnamosma fragrans* (Família Canellaceae): os drimanos, lactonas sesquiterpênicas, lactâmicos e coloratanos (Quéro et al., 2016).

Os sesquiterpenos drimanos tem esse nome porque foi inicialmente descoberto em materiais vegetais de *Drimys winterri* (Família Canellaceae). O cinamodial, primeiro sesquiterpeno drimano a ser isolado, foi descoberto pela primeira vez em 1967. Os drimanos são abundantes em plantas da família Canellaceae e apresentam um sabor picante (Quéro et al., 2016).

As lactonas sesquiterpênicas são derivadas de sesquiterpenos que sofreram oxidação no radical metil do grupo isopropil para o grupo lactona. São usadas na medicina para o tratamento do cancro e de doenças cardiovasculares e apresentam importantes atividades biológicas. Já os sesquiterpenos lactâmicos são difíceis e raros de se encontrar na natureza e ainda é tema de debate entre pesquisadores pois a presença de um átomo de nitrogênio no anel

heterocíclico é muitas vezes usada para classificar estes compostos no grupo dos alcaloides e não em terpenos.

Os sesquiterpenos coloratanos são semelhantes aos drimanos, porém o que diferem entre si é um dos grupos metil na posição 4 deslocado para a posição 3 enquanto deixa um grupo metil fora do anel alifático. Todos esses sesquiterpenos apresentam atividade inibitória de alfa glucosidase e pode ser uma chave para o tratamento da diabetes tipo dois. Também apresentaram toxicidade frente ao adenocarcinoma humano e a *Leishmania major* (Quéro et al., 2016) (Figura 7).

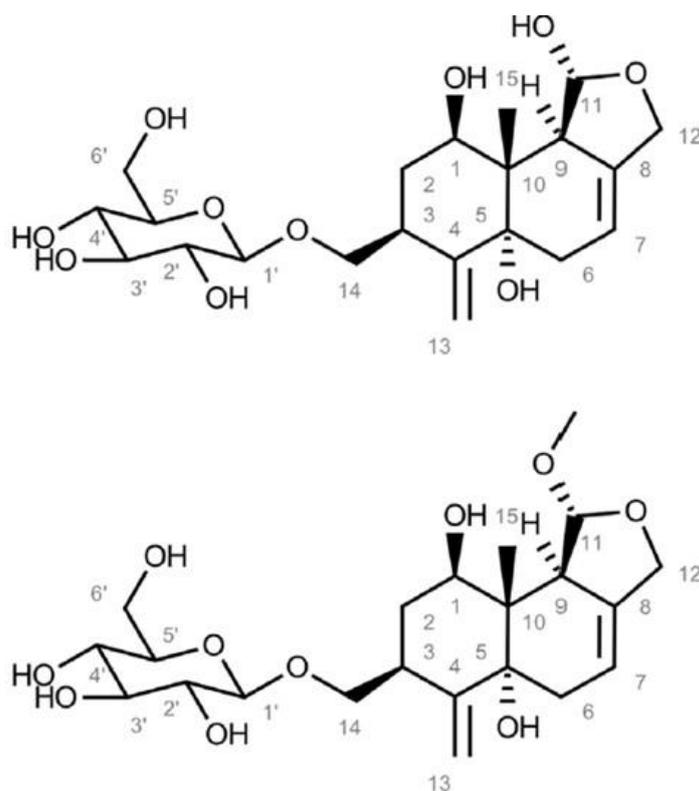


Figura 8. Sesquiterpenos Coloratanos. Fonte: Queró et al (2016).

2.4.3 Diterpenos

Os diterpenos são formados por quatro unidades de isopreno (C_{20}). Alguns diterpenos e seus derivados tem função primária, principalmente como precursor de fitohormônios, como as giberelinas; e precursores de cadeias de moléculas essenciais para a respiração e fotossíntese, como os diterpenos precursores de cadeias fitol da clorofila, ocorrendo em todo o reino vegetal (Zerbe e Bohlmann, 2015).

No geral, os diterpenos e seus derivados apresentam funções secundárias, variando suas moléculas de planta a planta. Cada planta produz um ou determinados diterpenos. Portanto, os diterpenos também são estudados em nível de taxonomia vegetal e ajuda na identificação taxonômica de plantas. Sua biossíntese ou acúmulo de diterpenos especializados podem ser limitados a tipos celulares específicos, tecidos, ou órgãos, podendo ser regulamentados em resposta a perturbações ecológicas. Alguns diterpenos conferem resistência e combate a pragas ou agentes patogênicos. Estudos arqueológicos têm apontado evidências da apreciação humana de diterpenos e derivados de plantas desde o neolítico, com a utilização de âmbar (resina amarela fossilizada, rica em terpenos) em cerimônias e fragrâncias e que hoje são usados na confecção de joias. Extratos vegetais e óleos essenciais contendo diterpenos são usados por diversas comunidades e populações no mundo como incenso cerimonial, medicamentos tradicionais, fragrâncias, sabores e biomateriais; e que cuja aplicações destes metabólitos na sociedade geram um comércio que fatura vários bilhões de dólares anualmente (Zerbe e Bohlmann, 2015).

Os diterpenos apresentam bioatividades variadas. O ácido carnosólico e o carnosol, isolados do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), por exemplo, são usados como antioxidantes naturais e aplicados na indústria de processamento de alimentos para preservar carne bovina, suína e de aves (Petiwala e Johnson, 2015). Alguns estudos têm apontado que estes metabólitos do alecrim possuem propriedades protetores contra toxinas ambientais em modelos animais experimentais de hepatotoxicidade, proteção contra danos causados pela radiação gama em camundongos e sua dose letal média em extratos de alecrim (DL₅₀) é desconhecida, mas pode ser razoavelmente superior a 2000 mg/kg. Assim, em 2008, o Painel da Autoridade Europeia para a alimentação aprovou o uso do carnosol e do ácido carnosólico como antioxidante e conservante em alimentos (Petiwala e Johnson, 2015).

O rosmanol, também isolado do alecrim, mas sendo um diterpeno com um fenol, possui atividade anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral. O ácido carnosólico é altamente antitumoral e citotóxico, assim como o carnosol (Petiwala e Johnson, 2015).

Existe também os diterpenos clerodânicos, identificados em diferentes partes vegetais de *Casearia sylvestris* Swartz (família Salicaceae) e em plantas da família. Carvalho et al. (2009) isolaram estes diterpenos por cromatografia em camada delgada (CCD) e suas estruturas foram identificadas por NMR (Ressonância magnética nuclear) e CLAE (Cromatografia líquida de alta eficiência). Foi encontrada em toda a planta, em maior concentração nas folhas o rel-19S-acetoxi- 18R- butanoiloxi-18,19- epóxi -6S -hidroxi -2R- (2-metilbutanoiloxi) -5S,8R, 9R, 10S -cleroda-3,13(16),14-trieno. A espécie é usada na

medicina popular no Brasil para o tratamento de o tratamento de úlceras, gastrites, picadas de cobras, cicatrizante tópico e antitérmico. Na literatura, a espécie apresenta atividades anti-inflamatória, anti-ulcerogênica, cicatrizante, citotóxica em linhagens de células tumorais, antiofídica, tripanossomicida e apresenta baixa toxicidade.

2.4.3.1 Cembranos

Os diterpenos cembranos foram um grupo descoberto em 1962, onde dois grupos de pesquisa estudavam compostos secundários isolados de espécies de pinheiro. Outro grupo estudava a isomeria de dióis de metabólitos isolados de *Nicotiana tabacum*. Todos os grupos isolaram diterpenos até ali ainda não descobertos. Estes compostos eram derivados do hidrocarboneto hipotético duvano (Marshal, 1992). Os diterpenos cembranos podem ser encontrados em plantas de tabaco, em corais moles (Marshal, 1992) e em plantas do gênero *Cleome* e *Tarenaya* (Collins et al., 2004).

Os diterpenos cembranos apresentam como atividades biológicas: antiviral, antimicrobiana, antiprotozoária, neoplásica contra tumores de leucemia, inibidor e citotóxica (Marshal, 1992). Collins et al. (2004), relataram que diterpenos cembranos isolados de *Cleome* apresentam atividade contra o vírus da AIDS e antitumoral.

Hou et al. (2013), isolaram diterpenos cembranos dos extratos de éter de petróleo de *Euphorbia pekinensis* Rupr (Euphorbiaceae) e testaram em linhagens de células humanas cancerosas pelo método do MTT. Os resultados indicaram atividade citotóxica significativa. Eles analisaram os diterpenos isolados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e suas estruturas foram elucidadas a partir da espectrometria por polarização óptica, espectrometria por infravermelho e ressonância magnética nuclear. Foi identificado um novo cembrano: o L-(1S) -15-hidroxi-18-carboxicembrano.

Foram isolados dos corais do filo Cnidaria, ordem Alcyonacea: *Sarcophyton* sp., *Lobophytum sarcophytoides* e *Asterospicularia laurae* diterpenos cembranos que foram nomeados, após elucidação de suas cadeias: (4Z,8S*,9R*,12E,14E) -9-hidróxi-1-(prop-1-en-2-il) -8,12-dimetiloxabiciclo[9.3.2]-hexadeca-4,12,14-trien-18-ona e (1E,3E,7R*,8R*,11E) -1-(2-metoxipropan-2-il) -4,8,12-trimetiloxabiciclo[12.1.0]-pentadeca-1,3,11-trieno. Estas moléculas podem ativar genes supressores de tumor em câncer de rim, por atrapalhar a síntese da proteína VHL, juntamente com outros 151 compostos secundários já conhecidos (Grkovic et al., 2011).

Foram isolados diterpenos cembranos do coral *Sarcophyton trocheliophorum* Marenzeller.

Estes diterpenos apresentaram atividade inibitória sobre a tirosina humana *in vitro*; além de inibir a Fosfatase 1B (PTP1B) em cobaias, molécula chave para o tratamento da diabetes tipo dois (Liang et al., 2013).

Outros diterpenos podem apresentar bioatividades. É o caso dos diterpenos dolabelhanos, isolados de corais marinhos 13-ceto-1(R),11(S) -dolabella-3(E),7(E),12(18) -trieno e β -araneoseno, que possuem alta atividade antiviral e baixa atividade citotóxica (Vargas et al, 2014).

2.4.4 Triterpenos

Os triterpenos são terpenos com seis unidades de isopreno (C_{30}). Foram descobertos e isolados mais de 30.000 triterpenos. Os triterpenos podem estar isolados ou ligados a glicosídeos. A maioria triterpenos ligados a glicosídeos foram isolados de organismos marinhos, como corais e poríferos. Porém, Muffler et al. (2011) informam que os triterpenos podem ser encontrados em todo o reino vegetal, principalmente nas angiospermas, em bálsamos e resinas. Como exemplo de isolamento, temos esqualeno, também encontrado no óleo de fígado de peixes.

Ainda sobre o triterpeno esqualeno, este composto produzido por meio de condensação cabeça-cauda de duas unidades C_{15} de farnesil-difosfato (precursor dos sesquiterpenos), por meio de enzimas chamadas de ciclases, pois elas fazem reações de ciclização. Outros exemplos de triterpenos são: o oleano, o ursano, o lupano e o eufano (Muffler et al., 2011). Segundo Muffler et al. (2011), os triterpenos apresentam como bioatividades: anti-inflamatória, hepatoprotetora, analgésica, antimicótica, antiviral, imunomoduladora, além de apresentar efeitos tônicos. Já os triterpenoides apresentam atividade citostática e hemolítica.

2.5 FAMÍLIA CLEOMACEAE

Brassicaceae e Cleomeceae faziam parte de uma única família, contudo divergiram há 38 milhões de anos atrás. Comparando com o mamão (*Carica papaya*), que também fazia parte juntamente com as Brassicales num mesmo grupo, mas divergiram entre 178 a 100 milhões de anos atrás. Brassicaceae e Cleomaceae têm características que compartilham entre si, tais como: espécies herbáceas, o mesmo plano floral geral (quatro sépalas, quatro pétalas, seis estames e dois carpelos fundidos) e frutos principalmente deiscentes, referidas como cápsulas.

No entanto, os dois grupos apresentam diferenças entre si, como: localização geográfica (Cleomaceae vive nos trópicos e subtropicais, incluindo desertos; enquanto Brassicaceae é encontrado em regiões temperadas); simetria floral (Cleomaceae tem flores principalmente monocromáticas e Brassicaceae têm principalmente flores dissimétricas); Cleomaceae também apresentam maior variação na base floral com aumentos no número de estames e dimorfismos de pétalas enquanto que as Brassicaceae exibem maior diversidade na morfologia da fruta, poliploidia e na deiscência (Cheng et al., 2013).

A família Cleomaceae possui mais de 200 espécies descritas. Algumas espécies são usadas como ornamental e medicinal (Leal, 2008). Segundo o sistema APG IV (Byng et al., 2016), a família Cleomaceae se encontra dentro do Clado Eurosídeas II, ordem Brassicales, mas a classificação da família, ainda há uma discussão. Inicialmente plantas desta família foram classificadas na família Capparidaceae e na ordem Capparales, por Cronquist em 1981 (Jordheim et al., 2009). Posteriormente foi incluída na ordem Brassicales, família Capparaceae (Machado et al., 2006), sendo reclassificada na família Brassicaceae em 1991 por Dorr e Wollemweber (Jordheim et al., 2009; Silva., 2012).

Lorenzi e Matos (2008) analisaram o sistema taxonômico APG II, onde a família foi incluída em um grupo novo: família Cleomaceae. Segundo a Flora do Brasil 2020 (Reflora, 2017), *Cleome spinosa* é um sinônimo de *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf., juntamente com *Cleome pubescens* Sims e *Cleome pungens* Willd, estando também de acordo com o The Plant List (2013).

2.5.1 Gênero *Cleome*

Segundo a literatura, já foram isolados compostos secundários de vinte e nove espécies do gênero *Cleome*; dentre as quais 12 apresentam atividades biológicas. Para *Cleome africana*, Tschritzis et al. (1993) isolaram triterpenos damaranos de extratos de acetato de etila de partes aéreas da espécie. Nagaya et al. (1997), isolaram dezoito triterpenos damaranos do extrato etanólico de folhas de *C. africana* por cromatografia em camada delgada e HPLC/MS. Os compostos isolados citados a seguir apresentaram atividade citotóxica frente a linhagem P₃₈₈ (Leucemia induzida em camundongos), mas não informam os dados de inibição do MTT. Os compostos identificados foram: 7- α -hidroxi-cabralealactona, 3-O-acetil-12-fla-acetoxi-17-e-hidroxi-cabralea-hidroxi-lactona, 17- α -hidroxi-cabraleahidroxi-lactona, 12-fla-acetoxicleocarpona, 2-fla-acetoxi-cleocarpanol e 3-O-acetil-12-fla-hidroxicleocarpanol; 12-

fla-acetoxi-A 1'2-dehidrocabralealactona, os demais compostos são isômeros destes (Figura 9).

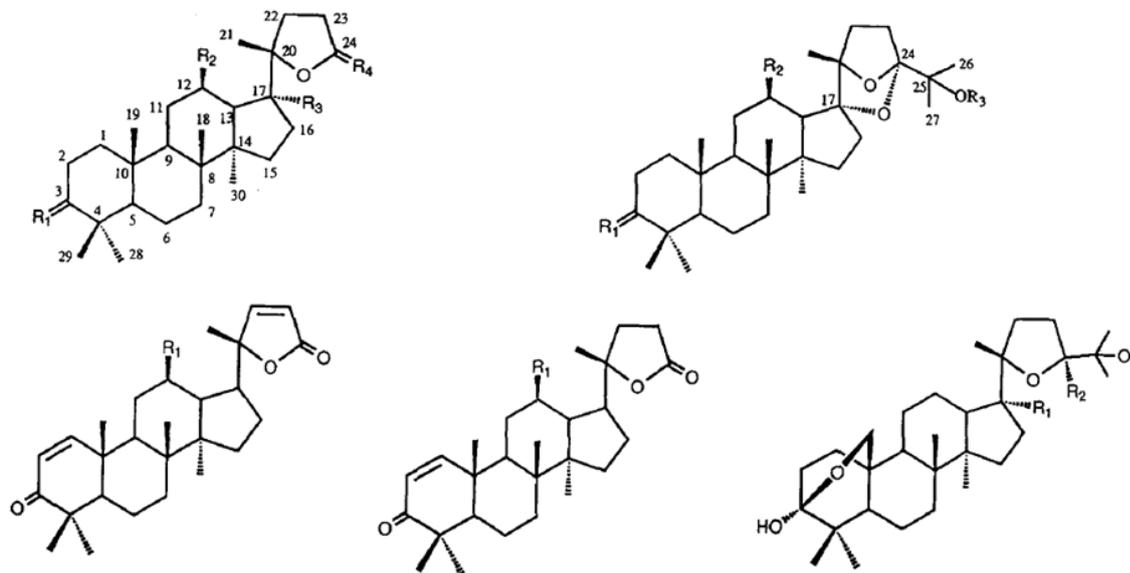


Figura 9. Triterpenos Damaranos isolados de *Cleome africana*. Fonte: Nagaya et al, 1997.

Para *Cleome arabica*, foi relatado um estudo fitoquímico no qual informa o isolamento de um triterpeno damarano, o 1-deacetilbraquicarpon-22(23)-eno, a partir de extrato de acetato de etila de sementes da espécie (Figura 10) (Ladhari et al., 2014).

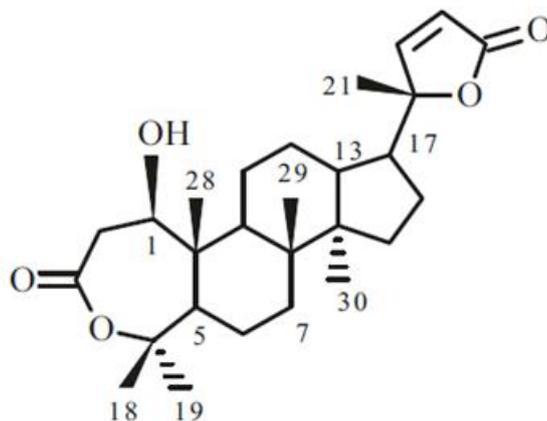


Figura 10. Estrutura do 1-deacetilbraquicarpon-22(23)-eno. Fonte: Ladhari et al (2014).

Para *Cleome amblyocarpa*, Harraz et al. (1995) isolaram de extratos etanólicos 85% de partes aéreas da espécie dois triterpenos damaranos: cleocarpanol e cabraleahidroxi-lactona. Já Sharaf et al. (1992) isolaram de extratos etanólicos de folhas e caules e frações: 5,7,4'-trihidroxi-3-metoxiflavona (isocaempferidea), 5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxi-6,3'-dimetoxiflavona (jaceosidina), 5,4'-dihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona (penduletina), 5,7,3',4''-tetrahidroxi-3,6-dimetoxiflavona (axilarina), 5,7,4'-trihidroxi-6,3',5''-

trimetoxiflavona, 5,4'-dihidroxi-3,6,7,3'-tetrametoxiflavona (crisoplenetina), 5,3'-dihidroxi-3,6,7,4',5'-pentameoxiflavona, 5,4''-dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona e 5-hidroxi-3,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona.

Para *Cleome brachicarpa*, Ahmad e Alvi (1986), isolaram e identificaram por HPLC/MS, a partir da goma de partes aéreas da espécie, a braquicarpona. No mesmo ano eles isolaram o trinortriterpeno braquicarpona, mas não informaram as partes usadas da espécie. Em 1987, eles isolaram a deacetoxicarpona, um triterpenóide, mas não informaram as partes usadas da espécie. Pelo mesmo processo de caracterização, Ahmad et al. (1990), isolaram um composto batizado de cleocarpona (Figura 11), que também foi encontrado em outras plantas do gênero. A cleocarpona foi isolada a partir do extrato etanólico de partes aéreas da espécie.

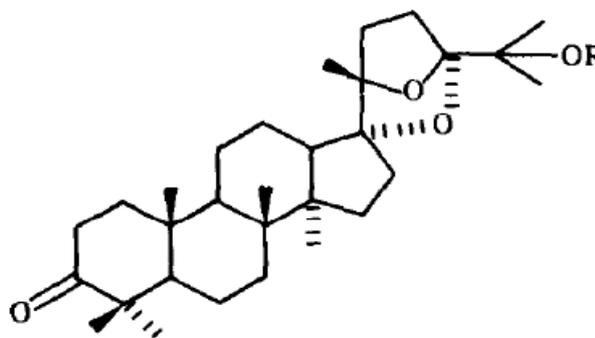


Figura 11. Estrutura da Cleocarpona. Fonte: Ahmad et al (1990)

Sharaf et al. (1992), também isolaram os seguintes compostos de extratos etanólicos de folhas de *C. brachicarpa* e suas respectivas frações: 5,7,4'-trihidroxi-3-metoxiflavona (isocaempferidea), 5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxi-6,3'-dimetoxiflavona (jaceosidina), 5,4'-dihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona (penduletina), 5,7,3',4''-tetrahidroxi-3,6-dimetoxiflavona (axilarina), 5,7,4'-trihidroxi-6,3',5''-trimetoxiflavona, 5,4'-dihidroxi-3,6,7,3'-tetrametoxiflavona (crisoplenetina), 5,3'-dihidroxi-3,6,7,4',5'-pentameoxiflavona, 5,4''-dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona e 5-hidroxi-3,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona.

Em *Cleome chelidonii*, há apenas um estudo de composição química com o isolamento dos glucosinolatos a partir de calos estabilizados da espécie (Songsak e Longwood, 2004). Sharaf et al. (1992) isolaram extratos etanólicos de folhas desta espécie, e suas respectivas frações: 5,7,4'-trihidroxi-3-metoxiflavona (isocaempferida), 5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxi-6,3'-dimetoxiflavona (jaceosidina), 5,4'-dihidroxi-3,6,7-

trimetoxiflavona (penduletina), 5,7,3',4''-tetrahidroxi-3,6-dimetoxiflavona (axilarina), 5,7,4'-trihidroxi-6,3',5''-trimetoxiflavona, 5,4'-dihidroxi-3,6,7,3'-tetrametoxiflavona (crisoplenetina), 5,3'-dihidroxi-3,6,7,4',5'-pentameóxiflavona, 5,4''-dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona e 5-hidroxi-3,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona.

Foram isolados de óleos fixos da semente de *Cleome dolichostyla* os seguintes ácidos graxos: esteárico, linoleico, palmítico, oleico e linolênico (Ahmad et al., 1984).

Para *Cleome droserifolia*, Sharaf et al. (1992), isolaram de extratos etanólicos de folhas e da espécie, e suas respectivas frações: 5,7,4'-trihidroxi-3-metoxiflavona (isocaempferidea), 5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxi-6,3'-dimetoxiflavona (jaceosidina), 5,4'-dihidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona (penduletina), 5,7,3',4''-tetrahidroxi-3,6-dimetoxiflavona (axilharina), 5,7,4'-trihidroxi-6,3',5''-trimetoxiflavona, 5,4'-dihidroxi-3,6,7,3'-tetrametoxiflavona (crisoplenetina), 5,3'-dihidroxi-3,6,7,4',5'-pentameóxiflavona, 5,4''-dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona e 5-hidroxi-3,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona.

Em sua revisão de literatura, El Shenawi, Soliman e Abdel-Nabi (2006), informam que os extratos metanólicos de *C. droserifolia* apresentam flavonoides. Abdel-Kader et al. (2009) isolaram o flavonoide bucaríol, tecladiol, daucosterol (b-sitosterol glucosídeo), 5,3-dihidroxi-3,6,7,4,5? pentametoxiflavona, 5-hidroxi-3,6,7,3,4,5-hexametoxoflavona, luteolina e um diterpeno dolabelano (1R,2R,3E,7E,11R,12S)-2-O-acetil-16-O-(3-hidroxi-3-metilglutaril)-dolabella- 3,7-dien-2,16,18-triol). Motaal, Ezzel e Edziri (2011) identificaram e isolaram 3 terpenos e 5 flavonoides gliosilados, corroborando com o estudo anterior. El-Askary (2005), isolou um novo triterpeno acetil lactona, a drosericarpona e também o bucharíol de extratos hexânicos de partes aéreas da espécie.

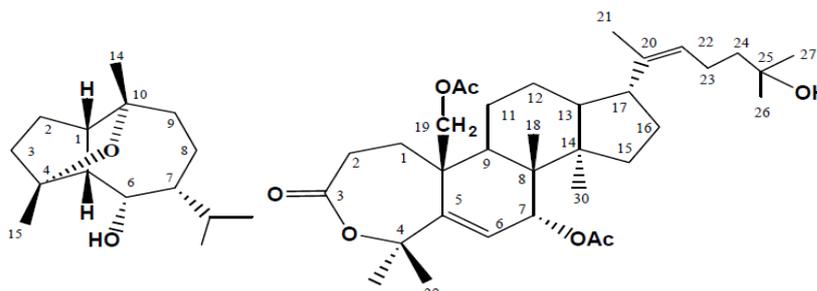


Figura 12. Bucariol e tecladiol. Fonte: El Askary (2005).

Para *Cleome gynandra*, Das et al. (1999), isolaram e identificaram por HPLC/MS a partir de extratos éter de petróleo de partes aéreas o composto (20S,24S) -epoxi-19,25-dihidroxi-dammaran-ona hemicetal, ou o cleoginol. Gao et al. (2011), isolaram das folhas da

espécie e de sementes a enzima polifenol oxidase e identificaram por CCD.

Para as seguintes espécies: *Cleome gigantea* L., *C. graveolens* (Raf.) Schults, *C. integrifolia* Torr. Et Gray, *C. macricarpa* Raf., *C. ornithopodioides* L, *C. pilosa* Benth., *C. specisissima* Depie, *C. trachsperma* (Torr. Et Gray) Paz Et. K. Hoffm., *C. monophla*, *C. rosea* Vahl., Kjaer (1963), isolou os seguintes glicosídeos glucocaparina e glucocleomina.

Para *Cleome icosandra*, foi relatado apenas um estudo com relação a composição química: Mahato et al. (1979), identificaram a partir de extrato de éter de petróleo de partes aéreas da espécie o diterpeno cleomeolida, também identificado em outras plantas do gênero.

Para *Cleome monophilla*, os óleos essenciais da espécie foram analisados por CG/MS. Foram identificados os seguintes terpenos: 1-a-terpeneol, pentacosano, (a + 3) -humuleno, fitol e 2-dodecanona (Ndungu et al., 2005).

Para *Cleome serrulata*, Nozolillo et al. (2010), identificaram antocianinas, derivados de cumarinas, ácido cinâmico e flavonoides glicosilados de néctar, pétalas e sépalas da espécie, por HPLC.

Para *Cleome rutidosperma*, Ojiako et al. (2007), identificaram no óleo das sementes as seguintes classes de compostos: alcaloides, açúcares reduzidos e pentoses (em maior concentração), taninos, glicosídeos cardiotônicos, esteroides, flavonoides e saponinas (em menor concentração).

O primeiro estudo fitoquímico com a *Cleome viscosa* (Kumar e Kjaer, 1962), utilizou cromatografia em papel para isolar os glicosídeos de treze espécies de *Cleome* (incluindo *T. spinosa* e *C. viscosa*). As fases móveis empregadas foram butanol-etanol-água destilada (4:1:4) e butanol-piridina-água (6:4:3). Os cromatogramas foram pulverizados em nitrato de prata amoniacal (AgNO_3 (2 g) + NH_3 (s)) dissolvidos em 5 ml de metanol e aquecido a 120 °C durante 3-5 minutos. Após a pulverização, os cromatogramas foram mergulhados em ácido nítrico 1N e lavados. Os glicosídeos apareceram em manchas azul-violeta em fundo amarelo. Os compostos foram recromatografados com compostos de referência. A análise mostrou que há a presença de glucocaparina em *C. viscosa* e glucocleomina em *T. spinosa*.

Chahuan et al. (1979), isolaram a caempferida 3-glucoronida de extrato etanólico de raízes secas de *C. viscosa*. Depois da extração, por exaustão, os extratos foram mantidos a zero grau durante dois dias e diluído em água e extraído com solventes polares. A fração metanólica foi separada e sofreu hidrólise e separações analíticas, sendo separado 150 mg do composto, que foi identificado por HPLC/MS-RMN.

Burkf et al. (1980), identificaram o diterpeno cembrano cleomeolida, a partir da goma (extraída via percolação a frio, com benzeno e posterior rotaevaporação). A goma foi

submetida a cromatografia em camada delgada com placa de alumina e foi submetida a posterior eluição com benzeno-acetato de etila. As frações subsequentes foram cristalizadas em metanol. Depois foi submetida a HPLC/MS-RMN.

Srivastava e Srivastava (1980) isolaram uma glicoflavanona: a 7-3'-4'-trihidroxi-5-metoxi-flavanona, por HPLC/MS. Extratos etanólicos de partes aéreas da espécie foram fracionados por cromatografia em coluna líquida usando solventes orgânicos de diferentes polaridades. Em outro estudo no mesmo ano, eles isolaram o glicosídeo: Estigmasta-5,2,4(28)-dieno-3- β -O- α -L-ramnosida e saponinas de extrato etanólico de partes aéreas; também em outro estudo eles isolaram glicoflavanonas, identificadas por HPLC/MS.

Ray et al. (1985) analisou a presença de cumarinas em sementes de *Cleome viscosa*. Eles identificaram cleomiscosinas A, B e C. Kumar et al. (1987), seguiram o mesmo caminho que o autor anterior, agora para identificar as cleomiscosinas B e D.

Jente et al. (1990), isolaram a cleomeolida, diterpenos cembrano presente também em *T. spinosa*. Paquette et al. (1993), descobriram que a cleomeolida apresenta isomeria óptica e conseguiram não somente sintetizar, mas identificar os enantiômeros por RMN.

Tandom et al. (2010), desenvolveram um método para isolar a cleomiscosinas A, B e C, cumarinas presentes na espécie. Eles desengorduraram sementes, depois as mesmas sofreram extração por rotaevaporação e trituração com metanol. Depois foi isolado um precipitado e este precipitado foi submetido ao fracionamento com acetato de etila, tolueno e metanol e posterior cristalização das cumarinas citadas.

Janas e Biwas (2011), isolaram o ácido 2-amino-9-(4-oxoazetidín-2-il) -nonanóico de frações de exudatos das raízes da espécie. As frações foram separadas por CCDP 20x20 revestido com sílica gel. A fase móvel era composta de acetona-metanol (95:5). A substância foi identificada por meio de HPLC/MS/HRMN.

Kaul (2015), em sua revisão de literatura, relatou que *C. viscosa* apresenta os seguintes compostos, citando os estudos já relatados: cofatores, proteínas lipídeos, cálcio ferro, ácido ascórbico, glucocapparina, Glucocleomina caempferida, 3-glucoronida, cumarinolignóides, cleomiscosinas, ácido lactananóico, estigmasta-5,2,4(28)-dieno-3- β -O- α -L-ramnosida, saponinas, eridoil-5-ramnosida, 3'-4'-dihidroxi-5-metóxi-flavanona, 7-O- α -1-ramnopiranosida, ergast-5-en-o-3-O- α -1 ramnopiranosida, 5'-4'-D-glucopiranosida, ácidos graxos, taxicol, aminoácidos, diterpenos bicíclicos e macrocíclicos, fenóis, esteroides, alcaloides, flavonoides, cumarinas, terpenoides, taninos, anto e leucocianidinas.

Além dos estudos químicos, a literatura relata diferentes atividades biológicas para o gênero *Cleome*. Para *C. amblyocarpa*, por exemplo, Edziri et al (2013) avaliaram a atividade

genotóxica *in vitro* dos extratos metanólicos de partes aéreas da espécie. No teste preliminar aparentou não haver toxicidade, mas no teste de absorção no vermelho neutro, apresentou uma inibição dos tumores testados.

Para *C. arabica*, Bouriche et al. (2005), constataram que os extratos de folhas da espécie apresentam atividade anti-inflamatória inibindo enzimas envolvidas no processo inflamatório. Djeridane et al. (2010), avaliaram a ação antioxidante de extratos metanólicos da espécie. Os resultados mostraram uma CI_{50} de 13,15 mg mL⁻¹.

El-shenawy, Soliman e Abdel-N Abi (2006), avaliaram a ação do extrato etanólico de folhas de *C. droserifolia* em ratos infectados por *Schistosoma mansoni*. Eles avaliaram também parâmetros hepáticos e verificaram que o extrato tem ação hepatoprotetora. Os extratos também foram capazes de diminuir a viabilidade dos ovos deste verme.

A ação hepatoprotetora de *Cleome droserifolia* foi confirmada pelos estudos de Abdel-Kader, Alqasoumi e Al-Taweel (2009). Eles informaram que a espécie é encontrada na Arábia Saudita. Motaal, Ezzat e Haddad (2011) avaliaram a ação antihiperlicêmica de extratos etanólicos de partes aéreas da espécie. A espécie é usada por Beduínos e povos do Deserto do Saara e Sinai para o tratamento de diabetes. Os resultados mostraram que os extratos e suas frações diminuem os níveis de glicose no sangue das cobaias e também atuam sobre a glicose.

Para *C. gynandra*, que é conhecida como *The African Spider Flower*, pois é encontrada na África e no Sudeste Asiático, Narendhirakannan et al. (2007) avaliaram a atividade anti-inflamatória dos extratos etanólicos de partes aéreas da espécie em artrites induzidas em cobaias. Na dose de 150 mg/kg corporal durante 30 dias. Os resultados mostraram que os extratos inibiram a ação de enzimas lipossomais envolvidas diretamente no processo inflamatório. Eles também testaram os extratos etanólicos de partes aéreas de *C. chelidonii* nas mesmas concentrações e obtiveram o mesmo.

Bala et al. (2010), avaliaram a atividade antitumoral de extratos metanólicos de *C. gynandra* em carcinomas induzidos em ratos. Os extratos atuaram sobre os tumores, diminuindo sua densidade e anulando a metástase. Sridhar et al. (2014) avaliaram a atividade antimicrobiana dos extratos em dez microrganismos e duas leveduras. Os extratos foram ativos em *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, com CMI de 0,039 mg/mL.

Ndebia, Sewani-Rusike e Sisulu (2014), avaliaram a atividade antioxidante dos extratos etanólicos de *C. gynandra* (pelo método do DPPH) e a redução da glicemia em ratos não diabéticos induzidos. Os resultados mostraram que houve atividades significativas, mas não informaram em qual dose e concentração.

Os óleos essenciais de *C. hirta* apresentaram atividade repelente e inseticida por fumigação frente ao fitófago *Sitophilus zeamais* (Ndungu, Chhabra e Lwande, 1999). Os óleos essenciais da espécie são compostos de Cedrol (2,3%), fitol (8,9), pulegona (8,7%), *n*-octacosano (1,2%) e terpinen-4-ol (1,1%).

Os óleos essenciais de *C. monophylla* também apresentaram atividade inseticida por fumigação e repelente. Os constituintes químicos dos óleos essenciais são: 1- α -terpeneol (10%), pentacosano (9%), ($\alpha + 3$)-humuleno (8%), fitol (5%) e 2-dodecanona (4%) (Ndungu, Chhabra e Lwande, 1999).

Muhaidat et al. (2015), avaliaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *C. droserifolia* e *C. trinervia*. Os principais constituintes dos óleos essenciais foram: (E)-3,7,11-trimetil-1,6,10-decatrieno (11,8%), carotol (10,1%), δ -cadineno (8,9%), β -eudesmol (7,0%) e benzil isotiocianato (5,9%) (para *C. droserifolia*); 1,5-hexandien-3-ol (28,3%), santeno (20,0%), 3-metil-2-metilenebutanitrila (14,9%) e 3,5-dimetil-1,2,4-tritriolano (7,0%), sesquiterpenos (86,6%) e monoterpenos (31,1%) (para *C. trinervia*). Ambas as espécies apresentaram alta atividade antimicrobiana, com CIM variando 150 a 550 $\mu\text{g/mL}$.

Bose et al. (2007) avaliaram os extratos metanólicos de partes aéreas de *C. rutidosperma* nas atividades antipirética, anti-inflamatória e analgésica, em induções em cobaias. Os resultados mostraram que os extratos, bem como as suas frações apresentaram tais atividades nas doses de 200 a 400 mg/kg de peso corporal.

Extratos metanólicos de partes aéreas de *C. ramosissima* reduziram significativamente a glicemia e colesterolis totais em cobaias, em valores de 40 a 90% (Ezzat et al., 2014).

C. rosea, espécie com inflorescência de cor rosa, é encontrada no Brasil principalmente em ambientes de restinga. Para esta espécie, Simões et al. (2006) avaliaram a atividade citotóxica, pelo método do sal de tetrazolium (MTT) e antioxidante pelo método do cloreto de estanho (SnCl_2), de extratos metanólicos de partes aéreas da espécie obtendo bioatividade significativa.

Em outro estudo, avaliaram a atividade antiviral de extratos metanólicos de *C. rosea* frente a cepas de herpes simples. Os extratos inibiram a capacidade de o vírus penetrar na membrana celular em valores de 68 a 90%. Em 2011, eles realizaram um estudo de micropropagação, utilizando antocianinas isoladas de partes aéreas da espécie como meio de cultura.

Para *Cleome viscosa*, Devi, Boominathan e Mondal (2002) avaliaram a ação dos extratos metanólicos de todas as partes vegetais sobre a diarreia induzida em camundongos. Os extratos reduziram a motilidade gastrointestinal e inibiram a diarreia. Segundo eles, a

espécie é usada na medicina tradicional indiana e bengali para febres (suco da planta diluído com água e administrado oralmente em pequena quantidade), verminoses (sementes), cicatrização de feridas e úlceras, sob a forma de emplastro (folhas). Na medicina Ayuverdica, a espécie é usada para febre, inflamações, doenças do fígado, bronquite, convulsões infantis e diarreia. Em outro estudo, mas no ano seguinte, eles avaliaram a atividade antipirética dos extratos metanólicos de todas as partes da planta. Os extratos reduziram a temperatura corporal das cobaias nas seguintes doses: 200 a 400 mg/kg de peso corporal; os efeitos só foram constatados 5 h depois da administração. Comparando-se com o paracetamol (150 mg/kg corporal), os extratos demonstraram uma relação dose-dependente.

Willians et al. (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana, inseticida por contato, nematicida e antifúngica das folhas e caules de *C. viscosa*. Eles analisaram micrografias das folhas e verificaram que as mesmas apresentam tricomas na sua superfície, rica em secreção. Os extratos apresentaram as seguintes concentrações inibitórias mínimas (CMI): 5.0 µg/spot e 1.0 µg/spot, respectivamente, frente as bactérias: *Bacillus subtilis* (Gram-positiva) e *Pseudomonas fluorescens* (Gram-negativa). Não houve atividade antifúngica, mas apresentou atividade inseticida por contato frente ao fitófago *Cylas formicarius elegantulus*, um coleóptera, comparando-se com piretróides. Houve também alta atividade nematicida frente ao verme *Meloidogyne incognita*, com porcentagem de Abott 72,69.

Os resultados da atividade antifúngica testada pelos autores anteriores divergem dos estudos de Sudakar et al. (2006). Os extratos metanólicos de folhas de *C. viscosa* apresentaram inibição moderada frente a *Aspergillus niger*, *Candida albicans* e *Rhizopus oligosporus*. No entanto, Bose et al. (2011) verificaram que os extratos metanólicos apresentaram atividade antimicrobiana frente aos seguintes microrganismos: *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sonnie*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Streptococcus epidermidis*, *Shigella flexneri* e *Staphylococcus aureus* com halos de inibição variando de 10,76 a 16,34 mm.

Bose et al. (2011), ainda verificaram a toxicidade dos extratos de *C. viscosa* frente a *Artemia salina*, com CL₅₀ de 28,18 µg/mL e CL₉₀ de 112 µg/mL. Também verificaram a ação antinociceptiva dos mesmos em ferimentos orais induzidos em cobaias induzido por ácido acético, com doses de 250 e 500 mg/kg de peso corporal ($p < 0.001$), comparando-se os valores com o diclofenaco sódico, droga padrão, que apresenta valor até 25 mg/kg de peso corporal ($p < 0.001$).

Gupta e Dixit (2009), em um ensaio de toxicidade aguda de extratos etanólicos de partes aéreas de *C. viscosa* verificaram que a espécie não somente é atóxica, como apresentou

atividade hepatoprotetora.

Sakthivadivel et al. (2014) avaliaram a atividade larvicida dos extratos clorofórmico, acetato de etila, éter de petróleo, acetônico e aquoso de partes aéreas de *C. viscosa* frente a larvas L₃ do mosquito *Culex quinquefasciatus*. Com os valores de Cl₅₀ 52,62 e 43,16 mg/L, respectivamente, para extratos de éter de petróleo; e 328,64 e 280,58; 493,44 e 298,76; 509,27 e 434,40 mg/L após 24 e 48 h respectivamente, para os demais extratos, a espécie apresentou boa atividade larvicida significativa. Segundo Sarouop e Kaul (2015), *C. viscosa* apresenta as seguintes atividades biológicas: anti-helmíntica, analgésica, antipirética, antidiarreica, hepatoprotetora, antimicrobiana, antifúngica, inseticida, nematocida e alelopática.

2.5.2 Gênero *Tarenaya*

O gênero *Tarenaya* difere de *Cleome* nas seguintes características: tamanho da planta, pubescência, cor da flor e textura da casca de sementes. No entanto, a presença típica de acúleos, brácteas e as características dos discos e das sementes unem suas espécies. Em *Tarenaya*, os discos são obsoletos ou disformes, se cônicos, são quase sempre pouco desenvolvidos. A fenda da semente madura é coberta na sua maior parte por uma membrana fina e frágil, ligeiramente encolhida; a cavidade fissurada entre as duas garras é esférica, obovoíde ou oblonga. O gênero também tem como características: pétalas unilaterais e eretas na flor aberta e com pele estreita. O número de cromossomos varia entre n = 20 a n = 40. Quanto a distribuição geográfica, este gênero pode ser encontrado em planícies e montanhas da América do Norte e do Sul, e no Oeste da Índia (Iltis e Cochrane, 2017).

Tarenaya, assim como o gênero *Cleome*, na verdade, estão mais intimamente ligados a um braço irmão para a família Brassicaceae, do que para a família Cleomaceae, embora sejam classificados nessa família. Ambos estão dentro subgênero Neocleome (Bhide et al., 2014).

Segundo Iltis e Cochrane (2007), *T. spinosa* e *T. hassleriana* são as espécies mais conhecidas. Outras espécies são: *T. longipes* (encontrado no México e Guianas), *T. costaricensis* (encontrado na América Central continental) e *T. parviflora* (Encontrada na Amazônia, Guianas, Venezuela e noroeste do Peru, facilmente confundida com a espécie *Cleome trachycarpa* Klotzsch). Para este estudo abordaremos as duas primeiras espécies, sendo a segunda nosso objeto de estudo.

2.5.2.1 *Tarenaya hassleriana*

Esta espécie se confunde com *T. spinosa*, porém tem flores brancas e rosadas. Outra diferença entre as duas espécies é que *T. hassleriana* apresenta as pontas das pétalas e cápsulas glabras e as pétalas são de rosa pálido ou profundo ou roxo ou raramente branco em variedades cultivadas na Argentina. *T. hassleriana* é cultivada em jardins da América do Sul e é conhecida por planta flor de aranha (*spider flower plant*) (Jordheim et al., 2010). Quanto a distribuição geográfica, pode ser encontrada na Jordânia, América do Sul, Estados Unidos, Bangladesh, Austrália, estado americano do Havaí, partes da África e Ásia (Iltis e Cochrane, 2014).

Em *T. hassleriana*, foram identificados cinco antocianinas (3-(20-0-(60-0-0-cafeoil- β -glucopiranosil)-60-0-(E-*p*-cumaroil)- β -glucopiranosida)-cianidina 3-5- β -glucopiranosida; 3-(20-0-(60-0-0-E-sinapoil- β -glucopiranosil)-60-0-(E-*p*-cumaroil)- β -glucopiranosida)5- β -glucopiranosida; 3-(20-0-(60-0-0-feroil--glucopiranosil)-60-0-(E-*p*-cumaroil)- β -glucopiranosida)-5- β -glucopiranosida; pelargonidina (3-(20-0-(60-0-0-E-sinapoil-glucopiranosil)-60-0-(E-*p*-cumaroil)- β -glucopiranosida)-5- β -glucopiranosida e pelargonidina 3-(20-0-(60-0-0-E-*p*-cumaroil- β -glucopiranosil)-60-0-(E-*p*-cumaroil)- β -glucopiranosida)-5- β -glucopiranosida) (Jordheim et al., 2010).

2.5.2.2 *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf.

Tarenaya spinosa, objeto do presente estudo, é conhecida como mussambê, mussambê-branco, mussambê-miúdo, mussambê de espinho ou sete-marias (Lorenzi, 2008; Albarello et al., 2013). Tem como sinônimas: *Cleome spinosa* Jacq. *Cleome pubescens* Sims e *Cleome pungens* Wild (Lorenzi, 2008). É uma planta perene, ereta, subarborescente, de 1,0 a 1,5 m de altura, com acúleos, pouco ramificada, com ramos e pecíolo novos revestidos por pelos glandulares, nativa da América Tropical. Propaga-se apenas por sementes. No Brasil, é uma planta típica de terrenos úmidos e arenosos, principalmente das regiões Norte e Nordeste e do Pantanal Mato-grossense. É ocasionalmente cultivada como ornamental e usada na medicina caseira (Lorenzi, 2008). Por terem seus nomes sinonimizados (Flora Brasiliensis, 2016), as informações literárias sobre *C. spinosa* também são válidas para *Tarenaya spinosa*. Assim, abaixo serão descritos alguns estudos químicos e de bioatividade com *Cleome spinosa*.



Figura 13. *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. Fonte: Autor.

O óleo essencial de folhas, flores e frutos, extraídos por hidrodestilação, apresentaram atividade antimicrobiana significativa frente a *Candida albicans* e *Streptococcus pyogenes*, comparando-se os resultados com os antibióticos gentamicina e ampicilina. No entanto, não foi citada as concentrações inibitórias mínimas e nem os halos de inibição (Mc neil, 2004).

Silva et al. (2015), analisaram a atividade antimicrobiana de diferentes extratos de raízes e folhas do mussambê frente a 12 microrganismos. Dentre os extratos testados, o extrato clorofórmio e acetato de etila de folhas foram ativos em CIM menores que 1 mg/MI e sugerem que os compostos fenólicos da espécie apresentam metabólitos secundários responsáveis por esta bioatividade, que precisa ser melhor investigada.

A atividade anti-inflamatória dos extratos metanólicos de folhas e raízes da espécie foi avaliada por Silva (2012), nas concentrações de 100 mg/kg, 150 mg/kg e 200 mg/kg, pelo método de indução da peritonite por carragenina. Em todas as concentrações testadas, os extratos apresentaram bioatividade. Albarello et al. (2013), analisaram a atividade anti-inflamatória pelo método de edema induzido de pata de rato por carragenana de extratos metanólicos de caule e folhas de plantas de mussambê ocorrentes em áreas naturais e plantas micropropagadas. Tanto os extratos metanólicos de caules e folhas de áreas naturais como os micropropagados, na concentração de 10 mg/kg, inibiram o edema e atuaram contra a inflamação. Os autores ainda avaliaram a atividade antinociceptiva (ativo na dose de 50 mg/kg) e a toxicidade frente a *Artemia salina*, que não apresentou toxicidade.

Com relação a atividade neuroprotetora e antiviral, há apenas uma citação feita por Collins et al. (2004), onde eles relatam que os diterpenos da espécie apresentam estas bioatividades, que foram verificadas em outras espécies.

O extrato hidroalcolólico das raízes da espécie apresentou atividade anti-helmíntica frente ao nematoide *Haemonchus contortus* (Andrade et al., 2014). A atividade antioxidante dos extratos hidroalcolólicos (em microemulsões) pelo método do DPPH foi verificada por Leal et al. (2007); no entanto eles não informaram as partes usadas. Houve inibição da atividade do DPPH (CI₅₀) entre 225 e 248 µg/ml.

Com relação a prospecção química, foram relatados cinco estudos com os compostos isolados da espécie. Ahmed et al. (1972) isolaram e caracterizaram os glucosinolatos da espécie e de plantas que permaneceram no gênero *Cleome*.

Collins et al. (2004) identificaram por espectrometria de massas cinco diterpenos cembranos, identificados como cleosprenóis 1,2,3,4 e 5 e um flavonoide (5-hidroxi-3,7,8,4- ψ -tetrametoxiflavona) (Figura 14). A estrutura destes compostos foi elucidada por ressonância magnética nuclear (RMN ¹³C).

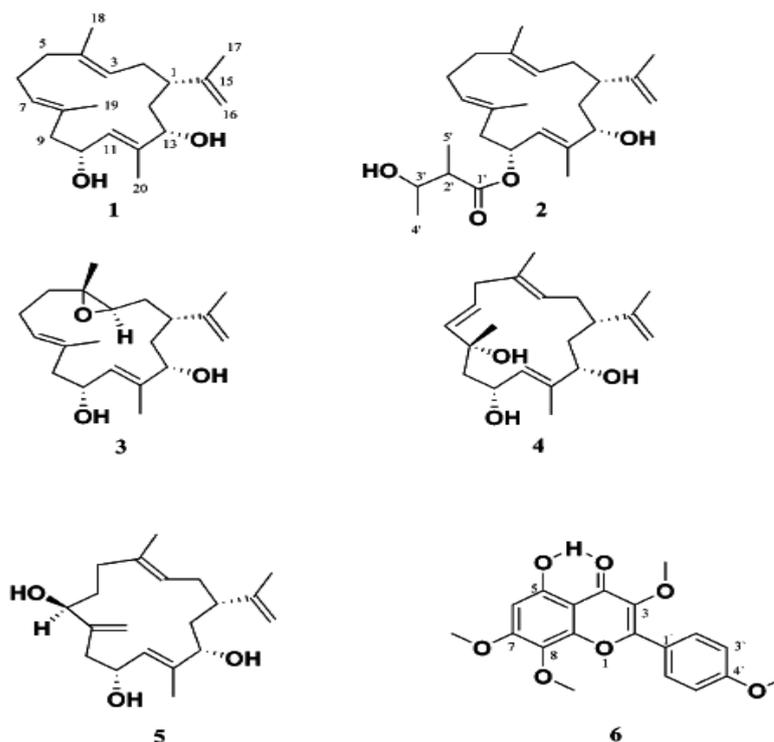


Figura 14. Cinco diterpenos cembranos (1 a 5) e um flavonoide (6) isolado de *Tarenaya spinosa*. Fonte: Collins et al (2004).

2.6 ATIVIDADE INSETICIDA

2.6.1 *Sitophilus zeamais* e Atividade inseticida

Um dos grandes desafios da agricultura passa justamente pelo controle de pragas. Como atrelar o combate a fitófagos na agricultura com menos agressão ao meio ambiente e sem prejuízos para a saúde da população? A bioprospecção entra como aliada ao controle de pragas, e vários estudos foram conduzido nessa direção.

Correa e Salgado (2011) relataram que o crescimento populacional no planeta levou a um aumento na produção de alimentos, a expansão de lavouras e uma diminuição na população rural, atrelada a um aumento na população urbana e uma mecanização da agricultura. Com isso, o grande desafio é aumentar a produtividade para alimentar uma população mundial tão grande. Um preço pago é a destruição dos ecossistemas, e implantação de grandes monoculturas com aplicação de fertilizantes e defensivos agrícolas, que gera um altíssimo impacto ambiental, com poluição do solo, ar e água; perda de hábitat, um aumento na desigualdade social no campo; além de problemas de saúde nas populações rurais e alta incidência de câncer nas populações urbanas.

No Brasil, desde a chegada de colonizadores até hoje, muitas espécies vegetais e animais foram introduzidas (Viegas Jr, 2003), inclusive as pragas de algumas culturas, provocando imensos prejuízos e queda na produtividade. Os insetos endêmicos eram controlados naturalmente por meio de predadores, porém, com a destruição dos ecossistemas, a urbanização e a expansão da agricultura, foram alterados os ciclos de vida dos insetos, bem como o comportamento desses animais; e suas populações multiplicaram-se demasiadamente, por ocasião de desequilíbrio ambiental (Viegas Jr, 2003; Correa e Salgado, 2011). Outro problema é a transformação de um inseto praga de uma cultura em outra cultura totalmente diferente. Correa e Salgado (2011) e Nörnberg et al. (2013), analisaram a predação de *Sitophilus zeamais* (inseto praga do milho e outros grãos) em macieira, pereira, ameixa e marmelo, provocando prejuízos imensos e queda na produtividade

Para combater as diferentes pragas, os inseticidas químicos são até hoje implementados. A função dos inseticidas é atrair para matar direta ou indiretamente as pragas (Viegas Jr, 2003). A descoberta de novos inseticidas, isolamento, síntese, avaliação, efeitos tóxicos nos seres vivos e os impactos ambientais que tais compostos provocam são objetos de estudos e tem levado a elaboração de publicações que tem enriquecido a ciência de informações pertinentes não somente a comunidade acadêmica em si, mas a toda população

em geral.

Segundo Viegas Jr (2003), o uso de inseticidas nas lavouras tem custado anualmente cifras da ordem de bilhões de dólares. Até a década de quarenta, usava-se inseticidas naturais, orgânicos (derivados de plantas na sua maioria) e inorgânicos (arseniatos de cálcio e chumbo (verde Paris, extremamente tóxico e poluente), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários sulfatos, cal, fluorsilicato de bário, aminosselenossulfito de potássio (criolite) e óleos minerais); mas após a segunda guerra mundial, entraram os biocidas (organoclorados) sintetizados industrialmente e relativamente mais baratos.

Os biocidas sintéticos foram implementados gradativamente; porém, os impactos ambientais provocados por estes compostos, bem como seus efeitos na saúde humana e nas cadeias tróficas até hoje são preocupantes. Em 1969, com a publicação do livro: “*The silent spring*” (primavera silenciosa), os pesquisadores começaram a entender os processos de interação planta-inseto e os efeitos dos biocidas químicos na natureza. Além disso, começou-se a redespertar o interesse nos inseticidas naturais, os quais foram postos de lado, mas são biodregadáveis e/ou biorremediáveis (que podem ser transformados ou metabolizados por microrganismos); principalmente os metabólitos secundários de plantas com atividade inseticida ou repelente.

Os estudos de Viegas Jr (2003) estão de acordo com Coitinho et al. (2006), onde relataram que o controle da espécie *Sithophilus zeamais* se dá por meio de uso de inseticidas fumigantes, que também provocam intoxicações graves aos aplicadores e quem manipula-os. Eles ainda relataram a seleção de indivíduos resistentes e a presença de resíduos tóxicos nos grãos.

Outro problema relatado por Viegas Jr (2003), são os mecanismos de seleção natural de herbívoros resistentes, apresentados por Correa e Salgado (2011) e Aguirre-Obando e et al. (2015, 2016). O uso de mais de 200 mil toneladas de inseticidas nas lavouras tem causado problemas de resistência, pois muitas espécies-chave têm-se tornado resistentes a estas substâncias, enquanto que espécies secundárias estão correndo risco de extinção dos seus predadores naturais, devido a ação tóxica dos produtos utilizados (Viegas Jr, 2003). Assim, a bioprospecção entra como aliada na pesquisa de controle de pragas, oferecendo maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de insetos e baixos impactos ambientais e na saúde humana (Viegas Jr, 2003; Coitinho et al., 2006; Correa e Salgado, 2011; Aguirre-Obando et al. (2013-16).

Não bastasse, ainda existe o problema da durabilidade do inseticida, inclusive em altas

temperaturas e umidade. Esses dois fatores podem fazer com que o grão libere enzimas hidrolíticas, que deteriora o biocida. Com a utilização de técnicas de aeração e secagem (*dryaeration*) de grãos, os inseticidas perdem a capacidade biocida e os grãos ficam vulneráveis à ação de pragas (Silveira et al., 2009).

A bioprospecção de metabólitos secundários em plantas é uma aliada na busca por novos biocidas. Como exemplo de bioprospecção, temos a busca de inseticidas botânicos (Correa e Salgado, 2011), que são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas onde compõe a defesa dos vegetais contra herbívoros (incluindo insetos). Muitos inseticidas sintetizados foram isolados de plantas medicinais. A ação destes compostos sobre os insetos não somente repele, mas mata os insetos por contato direto ou contato pelas traquéias. O eugenol, citado por Correa e Salgado (2011), é um monoterpeneo com atividade inseticida e repelente.

Entendendo como ocorre a herbivoria de insetos ajuda a melhorar e aumentar a nossa compreensão da evolução de metabólitos defensivos encontradas em plantas hospedeiras e seu papel nas interações planta-herbívoro. As plantas são ricas nestes metabólitos. Outro fator é que os mecanismos de defesa da planta são induzidos a partir de um ataque de herbívoros. Além disso, a variação na taxa de crescimento de diferentes espécies vegetais frente a um inseto polífago, poderia ser atribuída a composição química das suas plantas hospedeiras (Riach et al., 2015).

Dentre os compostos estudados hoje para o controle de pragas de insetos nas lavouras, estão as piretrinas e piretróides (tóxicos aos insetos e menos tóxico para o ser humano), alcaloides (como a nicotina, mas que apresenta o agravante de provocar dependência e alucinações, sendo de uso controlado e observando as regras de segurança) os terpenoides (mono, sesqui e diterpenos) e os compostos fenólicos (Viegas Jr, 2003).

O gorgulho do milho, segundo Copatti et al. (2013), é uma praga primária das mais importantes no Brasil. No mundo é quarta mais importante (Lara e Bergvingson, 2013). Ataca grãos armazenados como trigo, arroz, milho e sorgo, provocando danos significativos já que estes perfuram os grãos sadios para sua alimentação e oviposição possibilitando a instalação de patógenos e pragas secundárias (Pauliquervis e Farveiro, 2015). Além dos grãos, o gorgulho do milho pode atacar alguns alimentos industrializados a base de trigo, como o macarrão (Fazolin et al., 2010). Esta praga ainda apresenta como características: número elevado de hospedeiros, elevado potencial biótico, capacidade de penetração na massa de grãos e infestação cruzada (Lima-Mendonça et al., 2010). As perdas com a ação deste coleóptero podem ultrapassar mais de 30%, sendo cerca de 10% nos ataques diretos (Antunes

et al., 2011).

Vásquez-Castro et al. (2009) apontam que o gorgulho prefere o milho, enquanto que outra espécie do mesmo gênero, *S. oryzae*, prefere atacar o arroz. A infestação ocorre no período pré-colheita; e os fatores que levam a infestação do milho pela espécie são: proximidade e fonte de infestação, grau de cobertura da casca e variedade do grão armazenado. O pico de atividade de vôo em *S. zeamais* ocorre entre 15:00h e 17:00h, e é influenciado por condições ambientais, especialmente a temperatura.

Segundo Coitinho et al. (2011), *S. zeamais* efetua a postura no interior dos grãos, onde também as larvas e pupas se desenvolvem. As perdas ocorrem antes, durante e após a colheita, no transporte, industrialização e armazenamento dos grãos; que são influenciadas por diversos fatores, como: a precária estrutura das unidades armazenadoras, o alto teor de umidade, impureza dos grãos e a presença de pragas. São necessários apenas 180 adultos/kg em trigo armazenado para causar 1,5% de grãos danificados, umedecer os grãos em 0,13% e reduzir o peso hectolitro em 0,4 kg/hL e provocar uma perda de matéria seca em 0,7%.

O gorgulho pode provocar a morte do embrião do milho, a perda e a diminuição na germinação de sementes viáveis, conteúdos de óleo, proteínas e amido. Além disso, provoca a entrada de infecções secundárias bacterianas e fúngicas e outras pragas secundárias (Cruzat et al., 2009). Assim, os valores nutricionais e de mercado dos grãos atacados caem significativamente. Um exemplo disso é a ração feita com grãos de milho que sofreram ataques de insetos, onde sua utilização pode diminuir o ganho de peso médio diário do animal, o consumo médio diário, a conversão alimentar dos animais e a razão proteica líquida, sendo inviável a produção e a comercialização (Antunes et al, 2011).

Antunes et al. (2011) avaliaram as perdas de grãos de milho armazenados e contaminados com o gorgulho. Eles perceberam que, quanto maior o tempo de armazenamento, maior o contato dos grãos maiores com a praga e maior os prejuízos.

Assim, o gorgulho do milho é um bom modelo de atividade inseticida, por ter também um alto potencial biótico (Souza et al., 2008). Algumas populações da espécie apresentam seleção de indivíduos resistentes a inseticidas organofosforados e piretróides (Vásquez-Castro et al., 2009; Fazolin et al., 2010). Pimentel et al. (2008) e Rivera et al. (2014), citaram a ocorrência de indivíduos resistentes a fosfina e a trinta e dois inseticidas, como: carbaril, cloropirofosfometilocipermetrila, DDT, deltametrina, gama-HCH, malatião e permetrina (Riveira et al, 2014). Outros produtos químicos têm sido estudados, como o ozônio (Rozado et al, 2008).

Geralmente, são testados óleos essenciais contra *S. zeamais*, Coitinho et al. (2010),

num primeiro estudo, avaliaram a toxicidade do eugenol e óleos essenciais de *Piper hispidinervum* (Piperaceae) *Eugenia uniflora* (Myrtaceae), *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae), *P. marginatum* (Piperaceae) *Schinus terebinthifolius* (Anarcadiaceae), *Melaleuca leucadendron* (Myrtaceae) e dos frutos verdes de *S. terebinthifolius*. As razões de toxicidade (RT) variaram entre 1,3 e 98,8, respectivamente. Na fumigação nos adultos, as concentrações letais dos óleos variaram de 0,53 a 94,7 µL/L de ar, obedecendo à seguinte ordem decrescente de toxicidade: *P. hispidinervum* > *P. aduncum* > *S. terebinthifolius* > frutos verdes de *S. terebinthifolius* > *P. marginatum* > eugenol. Os óleos essenciais de *Laurelia sempervirens* mostraram-se tóxicos para o gorgulho do milho, com 5, 50, 75, 100, 125, 150, e 175 microgramas de óleo essencial fumigado e sementes fumigadas mostraram-se sem toxicidade. Os efeitos do óleo duram 15 dias (Torres et al., 2014).

O pó das folhas e partes aéreas desidratadas do boldo (*Peumus boldus* Molina [Monimiaceae]) apresentou alta atividade inseticida contra o gorgulho e 80% das sementes de milho e trigo armazenadas duraram mais de 150 dias, mesmo com a presença do *S. zeamais*. Cinquenta por cento das sementes reservadas para o plantio tratadas com o pó desidratado germinaram. A mortalidade dos insetos foi maior que 60% (Rivera et al., 2014). Os óleos essenciais da espécie apresentaram mortalidade de 100% sobre *S. zeamais* (Herrera-Rodriguez et al, 2015).

O pó da tepa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) Shodde [Atherospermataceae]) também apresentou mortalidade acima de 94% e não atrapalhou a germinação de sementes de milho (Ortiz et al., 2012). Os pós de 81 espécies de Asteraceae também matam indivíduos de *S. zeamais* (Juarez- Flores et al., 2010). A atividade inseticida é realizada pelos métodos de fumigação, contato ou alimentação. A forma do material varia, pode ser na forma de óleo essencial ou extrato e suas respectivas frações (Aguilar et al, 2014).

Os exemplos dados acima remetem a dois tipos de atividade inseticida: por fumigação e por contato. Ainda há um teste de atividade inseticida, que foi melhor descrito por Xie et al. (1996). Utiliza-se placas de Petri com discos de farinha de trigo onde são embebidos os extratos ou os discos de farinha são feitos com um veículo (um solvente que dissolva bem os extratos. Em caso de uma substância apolar, esta deve ser dissolvida em ciclohexano ou etanol, que são menos tóxicos). Para cada placa, são adicionados dez ou vinte insetos-testes, previamente pesados e deixados sem se alimentar por 24 h antes do teste. As placas também são previamente pesadas. O teste pode variar entre 7 a 14 dias. No fim, os insetos são novamente pesados. Para esta pesagem acontecer, devem ser isolados em tubos de plástico com tampa rosqueada. As placas também são pesadas. A contagem de insetos vivos e mortos

deve ser feita. A partir daí alguns parâmetros são avaliados estatisticamente, usando ANOVA e Teste de Tukey, a depender se as amostras seguem uma distribuição normal.

As quantidades de alimento ingerido são determinadas como a diferença entre o peso do prato contendo os discos no dia 0 e no dia 7, usando os dados obtidos nos ensaios descritos. Com base nas IDAs, as amostras com o extrato são classificadas como tendo pré-promovidos: não dissuasão na alimentação ($IDA < 20\%$), a dissuasão fraca na alimentação ($50\% > IDA > 20\%$), a dissuasão na alimentação moderada ($70\% > IDA > 50\%$), ou forte dissuasão na alimentação ($IDA > 70\%$) (Liu et al., 2007). Outro parâmetro usado é a mortalidade (%), que consiste em: $Mortos / (Vivos + Mortos) * 100$.

Napoleão et al. (2013) analisaram os efeitos de extratos isolados e lectinas isoladas das folhas de aroeira do sertão (*Schinus terebinthifolius*) sobre a alimentação, mortalidade e deterrência frente ao *S. zeamais*. Além disso, eles analisaram as proteínas digestivas do inseto e verificaram que os extratos apresentam alta atividade deterrente (quando o animal come os discos com o extrato, mas o extrato interfere na alimentação de tal forma que o alimento não ajuda no desenvolvimento e nem no crescimento; e isso é verificado a partir de taxas de consumo e crescimento relativo iguais ou abaixo de zero). A CL_{50} (72,4 mg/g), demonstrou toxicidade significativa, ocasionado pela deterrência, nas maiores concentrações (150-200 mg/g). A atividade deterrente equivale a atividade repelente.

Estes resultados foram confirmados em um estudo de Camarotti et al. (2018), onde eles verificaram que a toxicidade dos extratos e lectinas isoladas das folhas da espécie, bem como a ação deterrente estão relacionadas aos taninos hidrolisáveis e flavonoides, que foram isolados de enzimas digestivas presentes no estômago dos insetos mortos. A toxicidade aumentou de acordo com o tempo (os bioensaios duram sete dias, podendo ser ampliado para 15 e/ou 32 dias, para visualização dos efeitos em relação ao tempo de exposição).

Essa metodologia pode ser aplicada a produtos químicos ou biocidas que atuarão diretamente em grãos armazenados, silos ou em grãos que estão sendo transportados, pois são aplicados inseticidas nestes locais antes do armazenamento e transporte. Esta metodologia pode tanto ser usada para extratos, produtos químicos líquidos ou óleos essenciais, embora que seja mais aplicada a técnica de fumigação para este.

2.6.1 Plantas da família Cleomaceae com atividade inseticida

Os estudos a seguir mostram que a família Cleomaceae possui espécies de potencial

inseticida e que podem ser usados em programas de controle biológico de pragas.

Nyalala e Grout (2007) avaliaram a ação biocida e repelentes de plantas de *C. gynandra* frente ao ácaro vermelho aranha (*Tetranychus urticae* Koch). Os resultados mostraram que as plantas são mais eficientes na repelência de acordo com o aumento da densidade das plantas. Eles avaliaram num plantio consorciado com rosas, já que esta praga ataca as roseiras.

Os óleos essenciais de *C. hirta* foram analisados por Ndungu, Chhabra e Lwande, (1999), os quais identificaram os seguintes compostos: (+)-cedrol (2,3%), fitol (8,9), pulegona (8,7%), *n*-octacosano (1,2%) e terpinen-4-ol (1,1%). O óleo essencial e os compostos: fitol, cedrol, *n*-octacosano, pulegona e N,N-dietil-*m*-toluamida (DEET) (composto de referência), nas foram usados para os testes de atividade repelente em adultos de *S. zeamais* e *R. appendiculatus*, usando a mesma metodologia que o estudo anterior. Os óleos essenciais e o cedrol tiveram valores acima do composto de referência, apresentando atividade repelente significativa, sendo o cedrol reponsável pela repelência.

Ndungu et al. (1995) analisaram o óleo essencial de partes aéreas, extraído via hidrodestilação, de *C. monophilla*, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de Massas (GC-MS) e foram identificados os compostos: 1- α -terpineol (10%), pentacosano (9%), (a + 3)-humuleno (8%), fitol (5%) e 2-dodecanona (4%), além de outros compostos, com menos de 1%. Tanto o óleo essencial quanto os compostos foram usados para os testes de atividade repelente adultos de *S. zeamais* e *Rhipicephalus appendiculatus*. O óleo essencial e todos os constituintes foram testados, assim como N,N-dietil-*m*-toluamida (DEET), como composto de referência. Os resultados foram expressos em μ l: 0,1, 0,01, 0,001 e 0,0001. Foi verificado que a 3-undecanona, α - terpineol, (+) cedrol, carvacrol, 2-undecanona e o óleo essencial da espécie apresentaram valores acima do composto de referência ($> 52,2 \pm 0,3$). Assim, os autores concluem que o óleo essencial possui atividade repelente e os compostos anteriormente citados reponsáveis pela repelência.

Willians et al. (2003), avaliaram a atividade inseticida por contato do extrato hexânico de folhas de *C. viscosa*, frente ao coleóptero *Cylas formicarius elegantulus* (Summer) (Coleoptera: Curculionidae). O extrato hexânico foi administrado com piperonil butóxico (PBO) ou acetona, no volume de 2-6 μ l. Os resultados mostraram que o extrato administrado com PBO apresentaram maior mortalidade (DL₅₀ entre 0 e 90 μ g/inseto) em relação ao extrato administrado com acetona (DL₅₀ entre 0 e 60 μ g/inseto).

Para *T. hassleriana* Lazzeri; Leoni; Mancini (2004) avaliaram a ação fungitóxico do extrato aquoso de partes aéreas de *T. hassleriana* e plantas da família Brassicaceae, cultivadas

sob cultivo padronizado, desidratadas e peletizadas. Com 100% de toxicidade frente aos fungos *Phytilium* e *Rizoctonia*, a espécie se destacou entre plantas de Brassicaceae. Eles citam o potencial inseticida através de fumigação possivelmente devido aos seus glicosinolatos, nos quais eles identificaram por HPLC isocianato, glicocaparina e glicocleomina.

Para *T. spinosa*, foram analisados os seguintes estudos:

Melo et al. (2015), verificaram a ação do pó seco de folhas de *Cleome spinosa* e de nove outras espécies vegetais ocorrentes na Caatinga paraibana sobre a oviposição reprodução de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes plântulas emergentes de feijão caupi. Os resultados mostraram que a espécie, juntamente com o juazeiro (*Ziziphus joazeiro*) reduziu a emergência de adultos da espécie (70%), bem como a proporção entre indivíduos machos e fêmeas, sendo indicado como um bioinseticida.

O óleo essencial de folhas, flores e frutos, extraídos por hidrodestilação, apresentaram atividade antimicrobiana significativa frente a *Candida albicans* e *Streptococcus pyogenes*, comparando-se os resultados com os antibióticos gentamicina e ampicilina. (Mc neil, 2010). Não houve atividade antioxidante dos óleos essenciais da espécie, mas apresentou atividade inseticida moderada frente ao inseto *Cylas formicarius elegantulus*. Os autores não informaram a metodologia e as concentrações, bem como a CL₅₀.

**3 POTENCIAL INSETICIDA, TOXICIDADE PRELIMINAR E PROSPECÇÃO
FITOQUÍMICA DE *TARENAYA SPINOSA* (JACQ.) RAF. (CLEOMACEAE)**

Potencial inseticida, toxicidade preliminar e prospecção fitoquímica de *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (Cleomaceae)

A ser submetido no periódico: Journal of Stored Products Research (Qualis biodiversidade B1)

Fator de impacto: 1,750

Potencial inseticida, toxicidade preliminar e prospecção fitoquímica de *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (Cleomaceae)**Resumo**

O presente estudo investigou a toxicidade dos extratos hexânicos e metanólicos de *Tarenaya spinosa* frente ao fitófago *Sitophilus zeamais* e a náuplios de *Artemia salina*. Houve mortalidade significativa nos dois modelos usados, mas apenas para os extratos metanólicos. Indivíduos de *S. zeamais* consumiram o alimento impregnado com os extratos, mas isso não é traduzido em ganho de biomassa; as taxas de consumo e crescimento relativo, bem como o índice de deterrência foram menores que 1 ou negativos, indicando que os insetos pouco se desenvolveram nos sete dias de experimento. Para *A. salina*, os extratos metanólicos apresentaram CL_{50} menores que 100 $\mu\text{g/ml}$, indicando toxicidade significativa. Os extratos metanólicos da espécie apresentaram atividade inseticida cujo mecanismo de ação foi por toxicidade dose-dependente. Análises fitoquímica revelaram a presença de ácidos graxos, flavonoides, fenilpropanoides e terpenos nos extratos. Os flavonoides glicosilados e os fenilpropanoides devem ser testados isoladamente para confirmação se são os principais responsáveis pela bioatividade encontrada. O mussambê apresenta um potencial preliminar como inseticida que poderá ser usado em controle biológico, no entanto, estudos de toxicidade aguda devem ser feitos para garantir a segurança no uso e aplicação.

Palavras-chave: Bioprospecção, *Cleome*, herbívoros, metabólitos secundários, pestes agrícolas.

1. Introdução

Um dos grandes desafios da agricultura passa pelo controle de pragas. O gorgulho-do-milho (*Sithophilus zeamais* Mots., Coleoptera: Curculionidae), por exemplo, é uma praga primária das mais importantes no Brasil, e no mundo, é quarta mais importante (Copatti et al., 2013). *S. zeamais* ataca grãos armazenados como milho, trigo, arroz e sorgo, provocando danos significativos, já que perfuram os grãos sadios para sua alimentação e oviposição possibilitando a instalação de patógenos e pragas secundárias como o fungo *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (Pauliquervis & Farveiro, 2015; Zunino et al., 2015). Além dos grãos, o gorgulho-do-milho pode atacar alguns alimentos industrializados a base de trigo, como o macarrão (Fazolin et al., 2010). As perdas com a ação deste coleóptero podem ultrapassar mais de 30%, sendo cerca de 10% nos ataques diretos (Antunes et al., 2011).

O controle populacional de *S. zeamais* é baseado em inseticidas sintéticos. Além da ineficiência de alguns inseticidas e os problemas associados ao uso contínuo desses compostos a saúde humana, algumas populações de *S. zeamais* estão se tornando resistentes aos organofosforados e piretróides (Vásquez et al., 2009; Fazolin et al., 2010). Foi relatada a ocorrência de indivíduos resistentes a fosfina (hidreto de fósforo) e a 32 inseticidas, como por exemplo, carbaril, cloropirofosfometilocipermetrila, DDT, deltametrina, gama-HCH, malatão e permetrina (Pimentel et al., 2008). Assim, o gorgulho do milho é um bom modelo para estudar a atividade biológica de diferentes produtos, naturais ou sintéticos (Cruzat et al., 2009).

A bioprospecção de metabólitos secundários a partir de plantas entra como aliada ao controle de pragas. As ações destes compostos sobre os insetos vão da repelência a mortalidade (Fazolin et al., 2011). Ainda que muitas famílias botânicas

foram estudadas quanto ao seu potencial inseticida, poucos produtos, com exceção da piretrinas e óleos a base de neem são usados comercialmente. Recentemente, alguns estudos têm utilizados metabólitos secundários como óleos vegetais (Flores-Davila et al., 2017; Oliveira et al., 2017) e extratos de diversas plantas no controle de *S. zeamais* (Napoleão et al., 2013; Han et al., 2017). Ainda que em pequena escala, os resultados destes e inúmeros outros estudos têm mostrado algum sucesso no uso de produtos naturais no controle de pragas agrícolas.

Cleomaceae Bercht. & J. Presl é uma família de plantas de porte herbáceo a arbustivo com distribuição pantropical, mais frequentemente encontrada nas regiões tropicais e subtropicais do neotrópico. É formada por 18 gêneros e aproximadamente 200 espécies (Patchell et al., 2014). No Brasil, a família está representada por nove gêneros e 32 espécies, sendo 15 delas endêmicas (Soares Neto & Silva., 2020). *Tarenaya* Rafinesque (1838: 111) é um gênero de Cleomaceae do Novo Mundo, segregado de *Cleome* (Iltis & Cochrane, 2007). Até a presente data, as informações sobre a química e bioatividade do gênero *Tarenaya* são ausentes na literatura consultada. Segundo o The Plant List (2013), *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. é sinônimo de *Cleome spinosa* Jacq. Deste modo, as publicações baseadas em *Cleome spinosa* Jacq serão admitidas como sendo válidas para *T. spinosa*.

No Brasil, *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. (= *Cleome spinosa* Jacq.) é conhecida popularmente como mussambê e encontrada espontaneamente em terrenos úmidos e arenosos, principalmente das regiões Norte e Nordeste e no Pantanal Mato-grossense. É ocasionalmente cultivada como ornamental e usada na medicina caseira. Segundo a literatura, a espécie apresenta as seguintes atividades biológicas: antimicrobiana (Neil et al., 2004; Silva et al., 2016); anti-inflamatória (Albarello et al., 2013; Silva et al., 2016), antiviral e neuroprotetora (Neil et al., 2004), anti-helmíntica (Andrade et al., 2014).

Quimicamente foram identificados na espécie glicosinolatos, terpenos, flavonoides, sais de amônia quaternários, leucocianidinas e saponinas (Ahmed et al., 1972; Collins et al., 2004; Leal et al., 2008; Silva et al., 2016).

O potencial inseticida de *C. spinosa* ou seus efeitos na biologia de insetos foram investigadas contra *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae) e *Callosobruchus maculatus* Fabr. (Coleoptera: Bruchidae) (Melo et al., 2015; Riach et al., 2015), mas ainda não em *S. zeamais*. A presença de numerosas classes de metabólitos na espécie e os poucos trabalhos sobre seu potencial inseticida é uma das principais razões deste estudo. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extratos brutos de partes aéreas de *T. spinosa* contra o fitófago *S. zeamais*. A toxicidade dos extratos frente a *Artemia salina* também é relatada.

2. Materiais e Métodos

2.1 Coleta e processamento do material botânico

Indivíduos adultos de *T. spinosa* foram coletados em agosto e setembro de 2016 na região metropolitana da cidade do Recife (bairros da Várzea e Bultrins), estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. As amostras foram herborizadas e depositadas no Herbário Dárdano de Andrade Lima, do Instituto Pernambucano de Agronomia (IPA), sob os números 91449 (FIB N° 65/2016) e 91433 (FIB N°84/2016), respectivamente.

2.2 Obtenção dos extratos

Caules (1,5 kg), folhas (1,260 kg) e flores (238 g) de *T. spinosa* foram desidratados por cinco dias em estufa de secagem com circulação de ar a 50 °C. Após secagem, cada órgão, separadamente, foi triturado e submetido a extração com hexano

por 72 h. Os extratos hexânicos foram filtrados e os resíduos de cada extração foram submetidos a uma nova extração com metanol por 72 h. Os extratos foram mantidos a 5 °C até os bioensaios e estudos fitoquímicos.

2.3 Insetos

Indivíduos adultos de *S. zeamais* provenientes de colônias mantidas no Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, foram mantidas a 28 °C em recipientes de vidro (capacidade, 1 L) selados com tecido fino de tipo TNT para haver arejamento. A dieta consistiu em grãos de milho (100 g por recipiente), selecionados de acordo com a integridade dos grãos, condições sanitárias, tamanho e ausência de contaminação com outros insetos. Insetos que estavam acondicionados até 2 meses foram utilizadas nos ensaios.

Para o bioensaio, foram utilizados os procedimentos adotados por Napoleão et al. (2013), sendo adaptados para este estudo. A suspensão foi preparada para cada ensaio, utilizando 2,0 g de farinha de trigo autoclavada (Rosa Branca, Olinda, 2016, 2017) agitado em 5 ml de uma solução contendo a amostra diluída em etanol (para dissolver os extratos) e água destilada estéril. Alíquotas (100, 200, 400, 600, 800 µL) da suspensão foram medidas utilizando uma micropipeta, cujas ponteiros usadas foram cortadas na extremidade estreita para produzir um diâmetro interno de 2 mm. Cinco alíquotas de 200 µL foram colocadas numa placa de Petri com peso conhecido para formar discos de farinhas. As placas foram deixadas numa estufa durante a noite a 56 °C para secar. Em seguida, cada prato foi pesado novamente, e a massa dos discos de farinha foram determinadas pela diferença entre o peso do prato contendo os discos e o peso do recipiente vazio. Em cada placa todos os discos continham a mesma concentração da amostra.

Vinte indivíduos de *S. zeamais* adultos foram transferidos para um recipiente de plástico vazio com o peso previamente conhecido. O peso dos insetos foi então registrado como a diferença entre o peso de vaso contendo insetos e o peso de vaso vazio. Finalmente, os insetos foram transferidos para as placas contendo os discos de farinha, com as amostras. Cada ensaio foi realizado em quadruplicado, e as concentrações de ensaio de amostras em farinhas discos variaram de 25 a 150 mg. No controle, utilizou-se apenas etanol e água destilada estéril. Os ensaios foram mantidos a 28 °C na escuridão durante 7 dias. Após este período, a taxa de mortalidade e dos pesos dos discos (a diferença entre o peso do prato contendo discos quebrados após 7 dias e o peso do recipiente vazio previamente determinado) e os insetos foram registrados.

Para os bionsaios com *S. zeamais*, foram analisados os seguintes parâmetros: A biomassa adquirida (BA) em miligramas que consiste em: $BA = (PIF - PPI) / 1000$ (Eq.1); onde: PIF- Peso dos insetos no sétimo dia e PPI - Peso dos insetos no primeiro dia; e o resultado dessa diferença dividida por mil. A massa ingerida (MI) em miligramas que consiste em: $(PPI - PPF) / 1000$, onde PPI é o peso das placas com os discos no primeiro dia e PPF é o peso das placas no sétimo dia (Eq.2). A Taxa de consumo relativo (TCONSR) em porcentagem, consistem em: $TCONSR = MI / (PII * 1000)$ (Eq.3); a Taxa de crescimento relativo (TCRESCR), que consiste em: $TCRESCR = BA / (PII * 1000 * 7)$ (Eq4); a Taxa de eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI), que consiste em: $ECAI = (BI / PII * 100)$, expresso em porcentagem (Eq.5) (Xie et al., 1996). O Índice de deterrência alimentar de alimentar (IDA) consiste em: $IDA (\%) = (100 * (MI - MICT)) / MICT$, onde: MI- Médias das massas ingeridas em cada tratamento, e MICT- Média das massas ingeridas no grupo controle (Eq.6). As quantidades de alimento ingerido foram determinadas como a diferença entre o peso do prato contendo os discos no dia 0 e no dia 7, usando os dados obtidos nos ensaios descritos. Com base nas IDAs,

as amostras foram classificadas como tendo pré-promovidos: não dissuasão na alimentação ($IDA < 20\%$), a dissuasão fraca na alimentação ($50\% > IDA > 20\%$), a dissuasão na alimentação moderada ($70\% > IDA > 50\%$), ou forte dissuasão na alimentação ($IDA > 70\%$) (Liu et al., 2007). Outro parâmetro usado foi: a mortalidade (%), que consiste em: $Mortos / (Vivos + Mortos) * 100$. Estes resultados serão expressos nas figuras 1 e 2. A partir da mortalidade foi calculado a CL50, para os extratos que apresentaram as maiores taxas de mortalidade, usando a análise de probitos, com as concentrações testadas, usando os programas *Statplus 5.8* e *Graphpad Prism 7.0*.

2.4. Toxicidade baseada em *Artemia salina*

O protocolo usado foi adaptado a partir dos procedimentos adotados por Meyer et al. (1982). Ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em água do mar e luz artificial em uma bandeja 24 a 48 horas antes dos ensaios. Foram separados 2 ml de cada extrato para os testes. Para os controles foram usados os extratos nas seguintes concentrações: etanol e água destilada 2000 µg/ml (proporção de 1:1), metanol e água destilada 2000 µg/ml (1:1), hexano, etanol e água destilada 3000 µg/ml (1:1:1) e um controle negativo, contendo água do mar.

Os controles foram feitos em triplicata para confirmar se a toxicidade do extrato foi devido aos compostos nele dispostos ou foi devido ao solvente. Os testes foram feitos em triplicata. Para cada réplica da triplicata foram usados 9 ml de água do mar. Os extratos metanólicos foram dissolvidos em 1000 µl de água destilada.

Os extratos hexânico (2 mg cada) foram dissolvidos em 2 gotas de *Tween 80* cada e depois misturados a água destilada (2000 µl, devido baixa polaridade). Dos extratos dissolvidos e do controle, foram isoladas as seguintes alíquotas, em µg/ml: 1000, 500, 100, 50, respectivamente. De cada alíquota, foi retirado 10 µl e adicionado

aos tubos de ensaio com os náuplios de *A. salina*. Em cada tubo foi colocado 10 náuplios. Para cada extrato e controle foram usados 12 tubos de ensaio, sendo 3 para cada concentração (1000, 500, 100, 50 µg/ml). As amostras foram colocadas em luz artificial durante 24 horas.

Para os resultados dos bioensaios com *A. salina*, foi analisado apenas a mortalidade. A diferença apresentada foram as concentrações de extratos, bem como os controles positivos (metanol e água destilada (2ml), hexano, etanol e água destilada (6 ml) (2:2:2), etanol e água destilada (2 ml). Destes, foram reservadas as seguintes concentrações de cada: 1000, 500, 100, 50 µg/ml, respectivamente. De cada concentração de extrato ou controle, exceto o negativo (que consistiu apenas em 9 ml de água do mar) foi retirado uma alíquota de 10 µl com uma micropipeta e injetado nos tubos com as artemias. Essas concentrações foram usadas na análise de probitos, utilizando os programas *Statplus 5.8* e *Graphpad Prism 7.0*.

2.5. Análise fitoquímica

2.5.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Os extratos hexânicos e metanólicos brutos foram averiguados quanto a presença de metabólitos secundários por meio de cromatografia em camada delgada (TLC, Merck, *Darmstadt*, Alemanha). Os detalhes das classes pesquisadas, fases móveis usadas, reveladores e padrões estão na Figura 1.

2.5.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)

O extrato hexânico seco (1 g) foi solubilizado em hexano (6 ml), agitados em vórtex e centrifugados (2.000 rpm por 10 min). O sobrenadante foi coletado, evaporado

e submetido a reação com N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) e piridina (1:1) a 70 °C por 30 min. 1,0 µl da amostra, previamente filtrada com filtro Millipore 0,45 µm, foi analisada por cromatografia gasosa (CG-FID) (Shimadzu 2010 Plus, Japão) com auto injetor (Shimadzu AOC20I). Foi utilizada uma coluna Zebron ZB-5HT (difenil 5% e dimetilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e gás de arraste de arraste hélio com fluxo de 1 cm³. O cromatógrafo foi operado inicialmente a 150 °C por 3 minutos, aumentando a temperatura em 10 °C/min até 280 °C, permanecendo nesta temperatura por 34 min; posteriormente a temperatura subiu mais 10 °C/min até 300 °C, permanecendo nesta por 10 min. O detector FID foi ajustado a 310 °C e usada uma razão Split de 1:50.

Os espectros de massas foram obtidos em cromatógrafo gasoso com espectrometria de massas (GC/MS QP5050 Shimadzu). Foi utilizada uma coluna capilar de sílica DB-5 (difenil 5% e dimetilpolisiloxano 95%, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A programação da temperatura foi idêntica a descrita acima. O espectrômetro de massas foi operado por ionização eletrônica (EI) a 70 eV. Os picos foram identificados por comparação com dados disponíveis de biblioteca Wiley229 (Wiley, New York) e NIST11 (NIST/EPA/NIH).

2.5.3 Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (UPLC-MS)

Seguindo o mesmo procedimento, os extratos metanólicos (1 g) foram dissolvidos em 6 ml de etanol e agitados em vórtex por 1 min. Foi adicionado 2 ml de HCl 3% e aquecido em banho maria por 1 h min a 100 °C. Após hidrólise, o extrato foi particionado com acetato de etila e esta fração analisada por UPLC. Foi utilizado um cromatógrafo líquido de ultra performance (UPLC) *Acquity H-Class (Waters)* e uma coluna BEH 2,1 x 100 mm e tamanho de partícula de 1,7 µm. As fases móveis utilizadas

consistiram de solução aquosa contendo 2% de MeOH, 5 mM de formiato de amônio e 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e solução metanólica contendo 0,1% de ácido fórmico (eluente B), que foram bombeadas a uma vazão de 0,3 ml/min. A eluição foi realizada em modo gradiente e a condição inicial (98% A/ 2% B) foi mantida por 0,25 minutos. A proporção de B foi aumentando linearmente para 99% em 8,5 minutos, se mantendo em 99% de B por um minuto, seguida da imediata diminuição para 2% de B, onde foi mantida até 11 minutos. Dez microlitros de amostra foram injetados. A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C e o auto injetor a 10 °C. O sistema UPLC foi acoplado a um espectrômetro de massa single quadrupolo SQ Detector 2 (Waters). A voltagem do capilar foi de 3,5 KV, a voltagem do cone 30 V, a temperatura de dessolvatação foi de 450 °C, com fluxo de gás da fonte de 650 l/h. A aquisição dos dados foi feita em modo *fullscan*, buscando massas entre 100 e 1000 Da, em ionização negativa. A aquisição dos cromatogramas e espectros de massas foi feita através do software *MassLynx*TM (Waters).

3. Resultados

3.1. Atividade inseticida

Os extratos hexânicos não apresentaram atividade deterrente nem inseticida em nenhuma das concentrações utilizadas. Para os extratos metanólicos, a taxa de crescimento relativo dos insetos foi negativa, demonstrando que estes, pouco se desenvolveram durante os sete dias de experimento. Os extratos metanólicos também não demonstraram atividade deterrente, pois os resultados para este parâmetro foram negativos. Os extratos de caule e folha foram os mais ativos contra os insetos, mas só a partir da concentração de 150 mg/g (Figura 1). Os valores de CI_{50} para os extratos

metanólicos foram 1,96 mg/g/dia, 1,33 mg/g/dia, 2,97 mg/g/dia, para o caule, folha e flor, respectivamente. Os valores de Cl_{50} para o controle (etanol) foi de 39,21 mg/g/dia.

Os resultados dos experimentos de ingestão de massa pelos insetos são mostrados na Figura 2. Em geral, houve uma baixa ingestão da farinha de trigo misturada com os extratos do caule e flor para todas as concentrações. Para a mistura com o extrato de folha, observou-se uma alta ingestão nas concentrações de 150 e 200 mg/g, sendo este consumo semelhante ao do grupo controle (Figura 2). A biomassa adquirida pelos insetos decresceu de acordo com o aumento da concentração dos extratos (Figura 3). Os insetos que se alimentaram da farinha tratada com o extrato de folhas adquiriram mais biomassa na concentração de 25 mg/g.

Na eficiência de conversão do alimento ingerido, os insetos que se alimentaram com o extrato metanólico de folhas tiveram os maiores valores de conversão, sendo estes, dose-dependente (Figura 4). O extrato de flores resultou num valor de ECAI próximo de zero, não havendo conversão do alimento ingerido.

3.2 Toxicidade preliminar

Com relação aos bioensaios de toxicidade preliminar usando os náuplios de *Artemia salina*, nenhum dos extratos hexânicos testados apresentou toxicidade. Os extratos metanólicos de flores foram potencialmente tóxicos aos náuplios, seguidos dos extratos de caule e folhas (Figura 5). A Cl_{50} para estes extratos foi 94,66 $\mu\text{g/ml}$, 70,49 $\mu\text{g/ml}$ e 72,44 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente.

3.3. Análise Fitoquímica

Os testes cromatográficos em camada delgada foram positivos para fenilpropanoides, flavonoides e terpenos em todos os extratos (Tabela 2, Figuras 6 a 8), sendo negativo para as demais classes de substâncias ensaiadas. O extrato hexânico derivado com BSTFA analisado por cromatografia gasosa revelou a presença de fitol e ácidos graxos cujo perfil variou de acordo com o extrato analisado (Figura 9). Em todos os extratos hexênicos foram identificados os ácidos palmítico, linoleico, linolênico e esteárico.

A fração acetato de etila analisada cromatografia líquida e espectrometria de massas mostrou a ocorrência de seis flavonoides, a maioria deles derivados de flavonas (Tabela 3, Figura 10). Todos os extratos possuem isocampferida (Figuras 10 e 11) e campferol, enquanto que luteolina só foi confirmada nos extratos da folha (Figuras 10 e 12) e flor. A presença de jaceosidina só foi confirmada no extrato da flor de *T. spinosa* (Figuras 10 e 13). As estruturas das moléculas de jaceosidina, luteolina e Campferol são mostradas na Figura 14.

4. Discussão

Os resultados obtidos mostram que a composição dos extratos hexênicos não apresentaram atividade inseticida nem deterrente e esta ausência pode ser devida a composições destes extratos marcadamente por terpenos e ácidos graxos comuns. O extrato metanólico das folhas de *T. spinosa* foi atrativo aos insetos, mas ocasionou a diminuição da biomassa adquirida pelos mesmos, influenciando nas taxas de crescimento relativo negativo. Estes extratos apresentaram maiores percentuais de eficiência de conversão e mortalidade. O extrato de flores, por outro lado, foi o mais ignorado pelos insetos, com

isso os insetos adquiriram menor biomassa, influenciando nos resultados da eficiência de conversão. Ainda assim, estes extratos apresentaram menor mortalidade.

Uma maior massa ingerida não necessariamente estará diretamente relacionada com uma maior biomassa adquirida. Isso porque os insetos podem ingerir os alimentos tratados com os extratos, mas ainda assim eliminar mais o alimento por excreção do que converter em biomassa. Lira et al., 2015, demonstraram em seu estudo que *S. zeamais* consumiram alimentos tratados com óleo essencial de flores de *Alpinia purpurata*, sem, no entanto, haver aumento da biomassa adquirida.

Outro ponto observado em nosso estudo foi que os insetos tratados com os extratos nas maiores concentrações tiveram as maiores taxas de mortalidades e tanto a massa ingerida quanto a mortalidade apresentaram relação dose-dependente, sugerindo que, quanto maior a concentração, maior é o consumo do alimento e os efeitos letais no organismo do gorgulho. Para os extratos de caules e flores, que apresentaram menores valores de massa ingerida e biomassa adquirida, podem ou não apresentar compostos impalatáveis ou de difícil digestão, fazendo com que o inseto ignore mais o alimento e consuma menos, por isso a mortalidade foi menor para estes extratos. Nossos achados estão de acordo com os estudos de Napoleão et al. (2013), onde as concentrações de 100 e 150 mg/g de extratos de folhas e lectinas isoladas de *Myracrodruon urundeuva* apresentaram as maiores taxas de mortalidade, sendo esta também, dose-dependente.

Menores percentuais de eficiência de conversão, mas, ainda assim, acima de zero indicam ausência de deterrência alimentar. Assim a deterrência alimentar precisa que a eficiência de conversão esteja com valores menores que zero (negativos), o que não ocorreu no presente estudo. Deterrência alimentar foi constatada nos estudos com óleos essenciais de *A. purpurata* (Lira et al., 2015) e outro estudo com lectinas e extrato de folhas de *Myracrodruon urundeuva* (Napoleão et al., 2013).

Uma maior mortalidade no extrato de folhas pode indicar maior quantidade de compostos secundários com ação inseticida do que os extratos de caule e folhas, até o limiar de 150 mg/g, onde houve uma inversão, na qual o extrato de folhas teve uma mortalidade menor que a de caule. Também pode indicar uma circulação maior destes compostos entre o caule e a folha da espécie, já que as folhas ficam mais expostas a ação de herbívoros do que o caule. Uma baixa mortalidade no extrato de flores não isenta a presença destes compostos, já que a flor também pode sofrer com a herbivoria.

Em um estudo com a espécie e outras espécies vegetais da Caatinga, o pó seco das folhas e caules inibiram o crescimento e reprodução da ninfa da praga do feijão-caupi, sendo indicada como atividade repelente e inseticida (Melo et al., 2014). Na família Cleomaceae, a espécie *Cleome viscosa* apresenta atividade inseticida e repelente por fumigação (Ndungu et al., 2005).

Um produto natural para ser considerado inseticida, deve matar os insetos, mas a toxicidade de um produto natural não necessariamente a qualifica como possuidora de atividade inseticida. É desejável que os inseticidas sejam biodegradáveis, sem efeitos cumulativos sobre alimentos, ambiente e produtos armazenados, e de fácil obtenção e manipulação (Viegas Jr, 2003). Geralmente a maioria dos produtos naturais de origem vegetal atende estes pré-requisitos por ter todas estas propriedades e também por quebrar a seleção de indivíduos resistentes. Assim, recursos vegetais podem ser úteis no controle biológico de pragas, diminuindo custos de produção.

Para *T. spinosa*, a presença de terpenos e flavonoides ligados a açúcares (Figura 8) corrobora com a literatura (Ahmed et al 1972; Collins et al, 2004; Leal et al, 2008; Silva et al 2016). A presença de compostos secundários glicosilados em toda a planta, segundo estes estudos, pode ser um indicativo de que a planta os produza para ter uma proteção contra herbívoros durante todo o ano.

As folhas apresentam uma maior concentração de metabólitos secundários polares do que apolares, levando a um maior rendimento dos extratos, corroborado com Albarello et al. (2013) e Silva et al. (2015). Com relação aos terpenos da espécie, Collins et al (2004) identificaram compostos secundários apolares em partes aéreas da espécie e dentre estes compostos houve uma predominância de diterpenos cembranos, com atividade citotóxica, nos quais já foram identificados em outras espécies. Não foram detectados saponinas, taninos e alcaloides, nem mesmo havendo indícios destes compostos em plantas da família.

A presença de jaceosidina (Figura 14A), isocampferida, 5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona, 5,4'-dihidroxi-3,6,7,3'-tetrametoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona e crisoplenetina (Tabela 3) na família Cleomaceae foi demonstrada experimentalmente por Sharaf et al. (1992), onde isolaram tais compostos das frações de extratos etanólicos de folhas de *Cleome chelidonii*. Além destes, outros flavonoides também foram isolados. Com relação aos ácidos graxos encontrados no extrato hexânico e na fração hexânica do extrato metanólico, a presença de ácidos graxos é comum em sementes das plantas da família. Em sementes de *Cleome dolichostyla*, foram isolados de óleos fixos da os seguintes ácidos graxos: esteárico, linoleico, palmítico, oleico e linolênico (Ahmad et al., 1984).

A presença de luteolina (Figura 14B) na fração acetato de etila dos extratos metanólicos de folhas pode também apresentar um espectro de bioatividades, já que este flavonoide tem atividade antitumoral e antiviral. Estudos com a luteolina demonstraram que esta molécula pode inibir a replicação do vírus da dengue (Peng et al., 2017). O campferol (Figura 14C), também tem atividade antitumoral e antiviral, mas é citotóxico, mutagênico e genotóxico, a depender da concentração (Devi et al., 2015). A baixa mortalidade na atividade inseticida e a alta mortalidade na toxicidade dos náuplios de

Artemia promovida pelo extrato metanólico de flores pode ou não ter relação com a presença de traços destas duas moléculas nos extratos.

Com relação a toxicidade usando *A. salina* como modelo, valores de CL_{50} igual ou superior a $500 \mu\text{g/mL}$ são indicativos de baixa toxicidade, toxicidade de 500 a $100 \mu\text{g/mL}$ são indicativos de toxicidade moderada e resultados menor que $100 \mu\text{g/mL}$ são indicativos de alta toxicidade (Mesquita et al., 2015). Em estudos com metanólico de folhas de plantas do gênero *Ferdinandusa* (Família Rubiaceae), foi indicada alta toxicidade sobre *A. salina*, enquanto que os extratos apolares apresentaram uma atividade moderada. Os extratos hexânicos de *T. spinosa*, por serem apolares, também não mostraram toxicidade sobre *A. salina*, corroborando como estudos prévios. Para a espécie, um estudo de toxicidade em artemias com extratos de folhas em microcápsulas revelou uma CL_{50} entre 224 e $248 \mu\text{g/mL}$, sendo moderadamente tóxica. No entanto, ainda é preciso estimar a dose letal humana e a dose efetiva, bem como a toxicidade da planta.

Plantas da família Cleomaceae (incluindo a espécie estudada) pode ser um bom indicativo de plantas com potencialidades de uso em controle biológico de pragas de produtos armazenados, bem como apresenta um espectro de compostos bioativos, com potencial uso inseticida e medicinal. O Brasil depende muito de inseticidas importados e isto tem agravado as perturbações sobre os biomas, mas o controle biológico é ideal para minimizar ou tentar anular tais efeitos no meio ambiente (Melo et al., 2014).

5. Conclusões

Extratos metanólicos do mussambê apresentam atividade inseticida e esta atividade pode estar mais relacionada de flavonoides. Estudos complementares podem indicar que a espécie pode ser usada em programas de controle biológico de pragas, tanto no campo,

quanto em produtos armazenados, assim, como pode ser ativo em outras pragas; no entanto, a toxicidade aguda e subaguda deve ser investigada para se ter uma maior segurança no uso de compostos isolados da espécie.

6. Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fomento a pesquisa e a Universidade Federal de Pernambuco, através dos Centros de Biociências, Ciências da Saúde e Exatas e da Natureza, através dos Laboratórios e Departamentos aqui citados, pela parceria firmada; ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal e ao Instituto Pernambucano de Agronomia (IPA) pela identificação e confirmação botânica da espécie.

7. Conflito de interesse

Não há nada a declarar.

8. Fontes de financiamento

Este trabalho foi apoiado pela Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior (Capes) na forma de concessão de bolsa de estudo.

9. Referências Bibliográficas

- Ahmad, S.A., Sawaya, W.N., Karim, A.M.A. 1984. Chemical characterization of *Cleome dolichostyla* seed oil. Food Chemistry, 14, 1, 21-26.
- Ahmed, Z.F., Rizk A.M., Hammouda, F.M., El-Nasr, M.M. 1972. Naturally occurring - glucosinolates with special reference to those of family Capparidaceae. Planta Medica, 21, 35-60.
- Albarelo, N., Simões-Gurgel, C., Castro, T.C. Gayer, C.R.M., Coelho, M.G.P., Mourair, S., Mansur, E. 2013. Antiinflammatory and antinociceptive activity of field growth plants and tissue culture of *Cleome spinosa* (Jacq.) in mice. Rio de Janeiro: Journal of Medicinal Plants Research, 7,1, 1043-1049.
- Andrade, F.D., Ribeiro, A.R.C., Medeiros, M.C., Fonseca, S.S., Athayde, A.C.R., Ferreira, A.F., Rodrigues, O.G., Silva, W.W. 2004. Anthelmintic action of the hydroalcoholic extract of the root of *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. for *Haemonchus contortus* control in sheep. Pesquisa Veterinaria Brasileira 34, 10, 942-946.
- Antunes, L.E.G., Ferrari Filho, E., Gottardi, R., Sant'Ana, J., & Dionello, R. 2013. Efeito da dose e exposição à terra de diatomácea de diferentes insetos em milho armazenado. Arquivos do Instituto Biológico, 80,2, 169-176.
- Collins, D., Reynolds, M.G.P., Reese, P. 2004. New cembranes from *Cleome spinosa*. Natural Products Journal, 67,1, 179-183.
- Copatti, C.E.Macon, R., Machado, M.B.2013. Avaliação de dano de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Laemophloeus minutus* em grãos de arroz armazenados. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 17, 8, 850-860.
- Cruzat, M., Silva, G., Serri, H., Hepp, R.2009. Protección de ocho cultivares de trigo con polvo de *Peumus boldus* Molina contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Idesia, 27,2, 39-46.

- Devi, K.P., Malar, D.S., Nabavi, S.F., Sureda, A., Xiao, J. Nabavi, S.M., Daglia, M. 2015. Kaempferol and inflammation: From chemistry to Medicine. *Pharmacological Research*, 99, 1-10.
- De Melo, B.A., Molina-Rugama, A.J., Haddi, K., Leite, D.T., de Oliveira, E.E. 2015. Repellency and bioactivity of Caatinga biome plant powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Florida Entomologist*, 98,2, 417-423.
- Fazolin, M, Costa, C.R.D.,Oliveira J. E., Albuquerque, E. S., Cavalcante, Silva,A. S., Estrela, J. L. V. 2010. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45,1, 1-6.
- Flores-Davila, M., Aguirre-Uribe, L.A., Cerna-Chavez, E., Quinones-Dena, H., Ochoa-Fuentes, Y.M., Frias-Trevino, G.A., Hernandez-Juarez, A., Chacon-Hernandez, J.C. 2017. Plant oils to control *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Southwestern Entomologist*, 42,3, 725-730.
- Han, G.D., Kum, H.J. Chun, Y.S., Na, J., Kim, W. 2017. Repellency and attractancy of plant extracts against *Plodia interpunctella* and *Sitophilus zeamais*. *Journal of Stored Products Research*, 74, 33-35.
- Iltis, H. H., Cochrane, T.S. 2007. Studies in the Cleomaceae V: a new genus and ten new combinations for the Flora of North America. *Novon*, 17, 447-451.
- Leal, M. A. M.R., Maciel, T. N. C., Dantas, M. D., K., Pissinate, A., Echevarria. 2007. Perfil Etnobotânico e Atividade Antioxidante de *Cleome spinosa* (Brassicaceae) e *Pavonia varians* (Malvaceae). *Fitos*, 3,3, 25-31.
- Lira, C. S., Pontual, E. V., Albuquerque, L. P., Paiva, L. M., Paiva, P. M. G., Oliveira, J. V., Napoleão, T. H., Navarro, D. M. A. F. 2015. Evaluation of the toxicity of

- essential oil from *Alpinia purpurata* inflorescences to *Sitophilus zeamais* (maize weevil). *Crop Protection*, 71, 95-100.
- Liu, Z.L., Goh, S.H., Ho, S.H., 2007. Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 43,3, 290-296.
- Neil M.J; Porter R.B; Williams L.A; Rainford, L.2010. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Cleome spinosa*. *Natural Products Communications*, 5,8, 1301-1306.
- Melo, B.A., Molina-Rugama, A.J., Haddi, K., Leite, D.T., Oliveira, E.E., 2015. Repellency and bioactivity of Caatinga Biome plant powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Florida Entomologist*, 98, 17-423.
- Mesquita, D.W.O., Mesquita, A.S.S., Cursino, L.M.C., Souza, E.S., Oliveira, A.C., Pinheiro, C.C.S., Novaes, J.A.P., Oliveira, J.A.A., Nunez, C.V. 2015. Atividades biológicas de espécies amazônicas de *Rubiaceae*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17, 4, 604-613.
- Meyer, B.N. Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. et al. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45, 5, 31-40.
- Napoleão, T.H., Belmonte, B.R., Pontual, E.V., Albuquerque, L.P., Sá, R.A. Paiva, L.M., Coelho, L.C.B.B, Paiva, P.M.G et al. 2013. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 54, 24-33.

- Ndungu, M. Chhabra, S.C., Lwande, W. 1995. *Cleome monophylla* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellents. *Entomol. Experimentalis et Applicata*, 2,2, 217-222.
- Oliveira, A.P., Santana, A.S., Santana, E.D.R., Lima, A.P.S., Faro, R.R.N., Nunes, R.S., Lima, A.D., Blank, A.F. Araujo, A.P.A., Cristaldo, P.F, Baaci, L. 2017. Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 107, 198-205.
- Patchell, M.J, Roalson, E.H., Hall, J.C. 2014. Resolved phylogeny of Cleomaceae based on all three genomes. *Taxon*, 63,2, 315-328.
- Pauliquevis, C.F., Favero, S.2015. Atividade insetistática de óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* sobre *Sitophilus zeamais*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 19,12, 1192-1196.
- Peng, M., Watanabe, S., Chan, K.W.K., He, Q., Zhao, Y., Zhang, Z., Lai, X., Luo,D., Vasudevan, S.G., Li, G. 2017. Luteolin restricts dengue virus replication through inhibition of the proprotein convertase furin. *Antiviral Reseach*, 143, 176-185.
- Pimentel, M. A. G. et al.2008. Resistance of stored-product insects to phosphine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*,43 12,1671-1676.
- Pubchem (2018). Published on the Internet; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Accessed 11 st 2018).
- Riach, A.C., Perera, M.V.L., Florance, H.V. Penfield, S.D., Hill, J.K. 2015. Analysis of plant leaf metabolites reveals no common response to insect herbivory by *Pieris rapae* in three related host-plant species. *Journal of Experimental Botany*, 66,9, 2547-2556.

- Sharaf, M., Mansour, R.M.A.A., Saleh, N.A.M. 1992. Exudate flavonoids from aerial parts of four *Cleome* species. *Biochemicals and Systematics Ecology*, 20, 5,443-448.
- Silva, A.P.S., Silva, L.C.N., Fonseca, C.S.M., Araújo, J.M., Correia, M.T.S., Cavalcanti, M.S. 2016. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of organic extracts from *Cleome spinosa* Jacq. *Frontiers in Microbiology*, 7,1-10.
- Soares, N.2020. *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. In: Flora do Brasil 2020 em Construção. Publishing on the internet; http://servicos.jbrj.gov.br/flora/search/Tarenaya_spinosa/ (Accessed 5 th February, 2018).
- The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 5th February, 2018).
- Vásquez, C. J. A, Baptista, G. C., Trevizan, L. R. P., Gadanha Jr, C. D. 2009. Flight activity of *Sitophilus oryzae* (L.) and *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae) and its relationship with susceptibility to insecticides. *Neotropical Entomology*, 38,3, 405-409.
- Viegas Jr, C.2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, 26, 3, 390-400.
- Xie, Y.S., Bodnaryk, R.P., Fields, P.G.1996. A rapid and simple flour-disk bioassay for testing substances active against stored-product insects. *Canadian Entomology*, 128, 865- 875.
- Zunino, M.P., Herrera, J.M., Pizzolitto, R.P., Rubinstein, H.R., Zygadlo, J.A., Dambolena, J.S. 2015. Effect of Selected Volatiles on Two Stored Pests: The Fungus *Fusarium verticillioides* and the Maize Weevil *Sitophilus zeamais*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63,35, 7743-7749.

Tabela 1. Metabólitos secundários, reveladores, padrões e fases móveis usadas no perfil fitoquímico de *Tarenaya spinosa*. Fonte: Wagner e Bladt (1996).

Classe	Fase móvel	Revelador	Padrão
Alcaloides	Reação de precipitação	Dragendorff	Butilbrometo de escolpolamina (Buscopan®)
Fenilpropanoides	Tolueno: éter etílico (1:1 v/v)	KOH 10% em etanol	Ácido <i>p</i> - cumárico, extrato clorofórmico de <i>Justicia pectoralis</i> (chambá)
Flavonoides (glicosídeos)	Acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético glacial: água (100:11:11:26 v/v)	NP-PEG (NEU)	Quercetina
Flavonoides (agliconas)	Acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético glacial: água (100:11:11:1 v/v)	NP-PEG (NEU)	Quercetina
Saponinas	-	Teste de formação de espuma	Extrato aquoso de casca de <i>Zizipus joazeiro</i> (juá)
Taninos	Clorofórmio:metanol:água (67:30:3 v/v)	FeCl ₃	Ácido tânico
Terpenos	Tolueno:acetato de etila (93:7)	Anisaldeído sulfúrico	Extrato clorofórmico de <i>Mesosphaerum suaveolens</i> (alfavaca)
Triterpenos	Tolueno:clorofórmio:etanol (40:40:10 v/v)	Anisaldeído sulfúrico	Lupeol

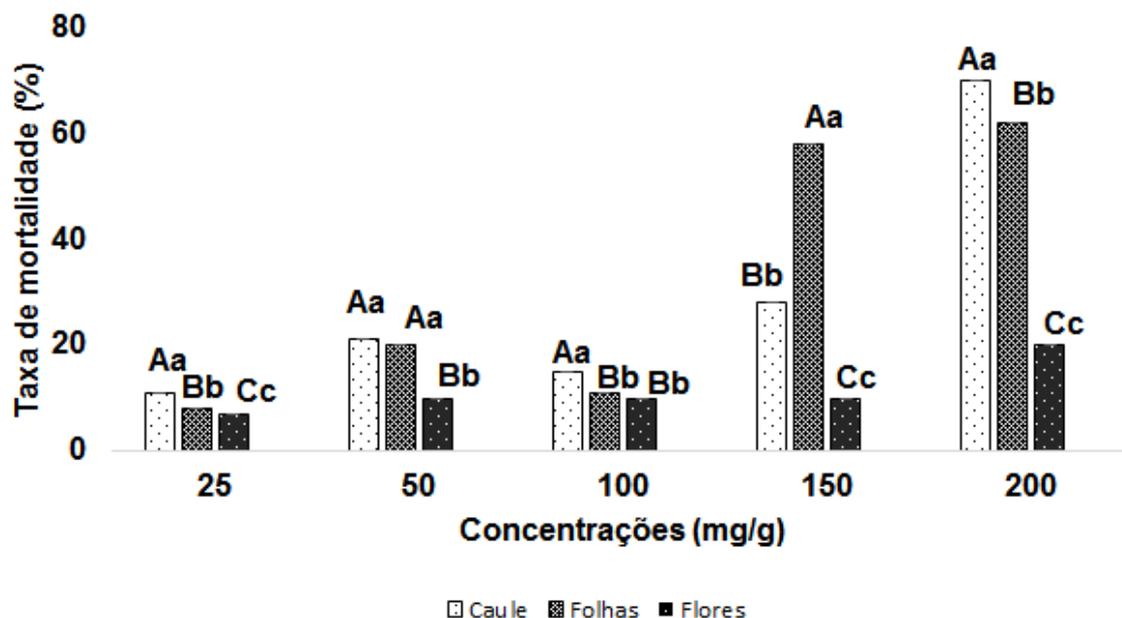


Figura 1. Efeito dos extratos metanólicos de *Tarenaya spinosa* na taxa de mortalidade de *Sitophilus zeamais*. Letras maiúsculas iguais indicam que não diferenças significativas entre os extratos numa mesma concentração e letras minúsculas iguais indicam que não diferenças entre as concentrações (Tukey, $P < 0,05$). Os controles não influenciaram no resultado (mortalidade igual a zero).

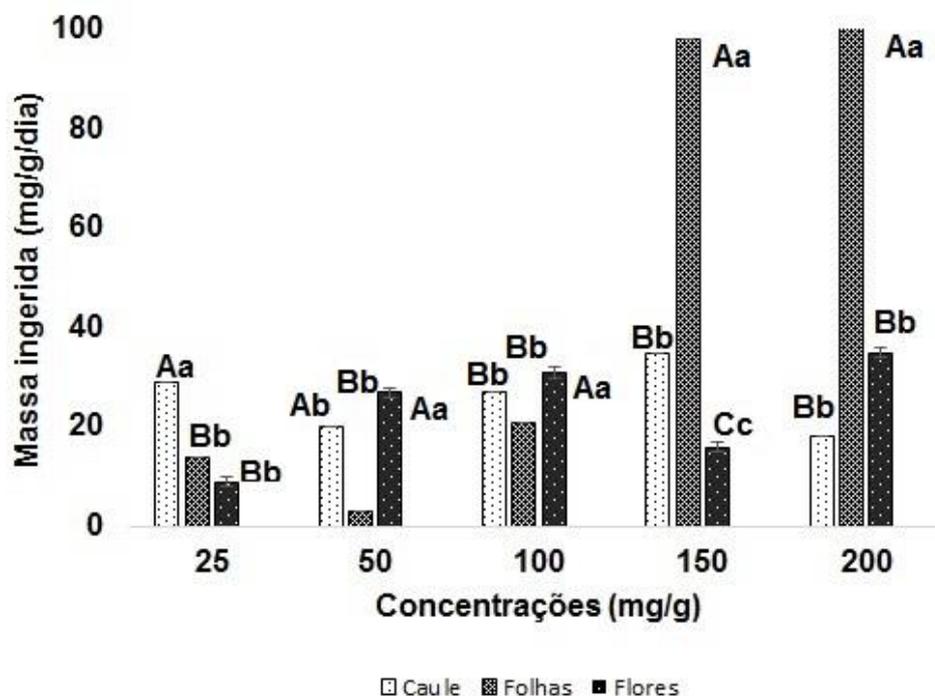


Figura 2. Efeito dos extratos metanólicos de *Tarenaya spinosa* na ingestão de massa de *Sitophilus zeamais*. Letras maiúsculas iguais indicam que não diferenças significativas entre os extratos numa mesma concentração e letras minúsculas iguais indicam que não diferenças entre as concentrações (Tukey, $P < 0,05$). Massa ingerida pelo grupo controle foi acima de 80 mg/g/dia.

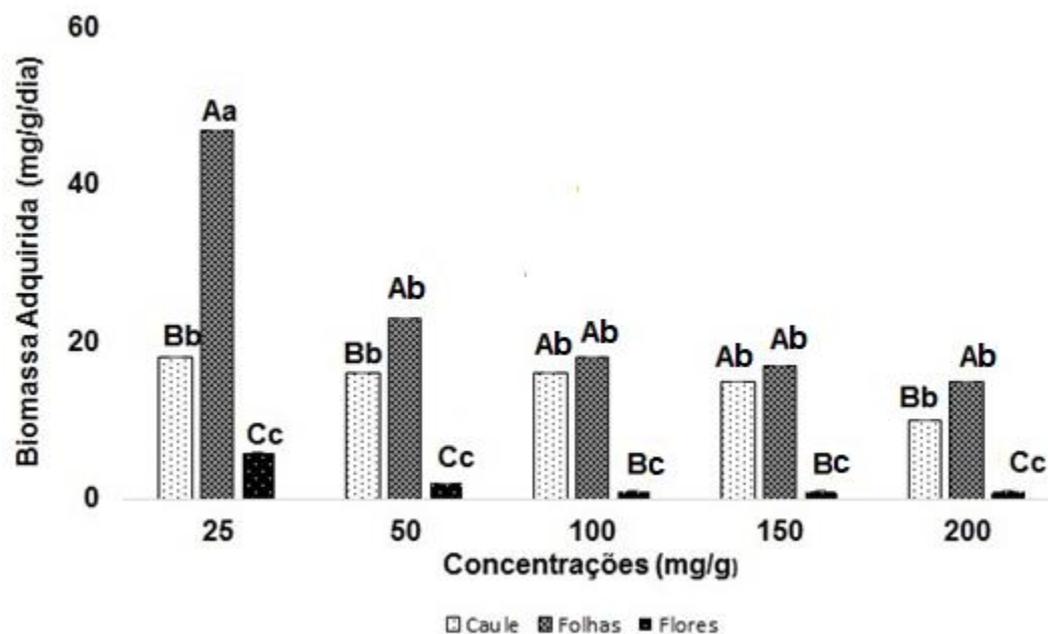


Figura 3. Efeito dos extratos metanólicos de *Tarenaya spinosa* na biomassa adquirida por *Sitophilus zeamais*. Letras maiúsculas iguais indicam que não diferenças significativas entre os extratos numa mesma concentração e letras minúsculas iguais indicam que não diferenças entre as concentrações (Tukey, $P < 0,05$). Biomassa ingerida pelo grupo controle foi acima de 80 mg/g/dia.

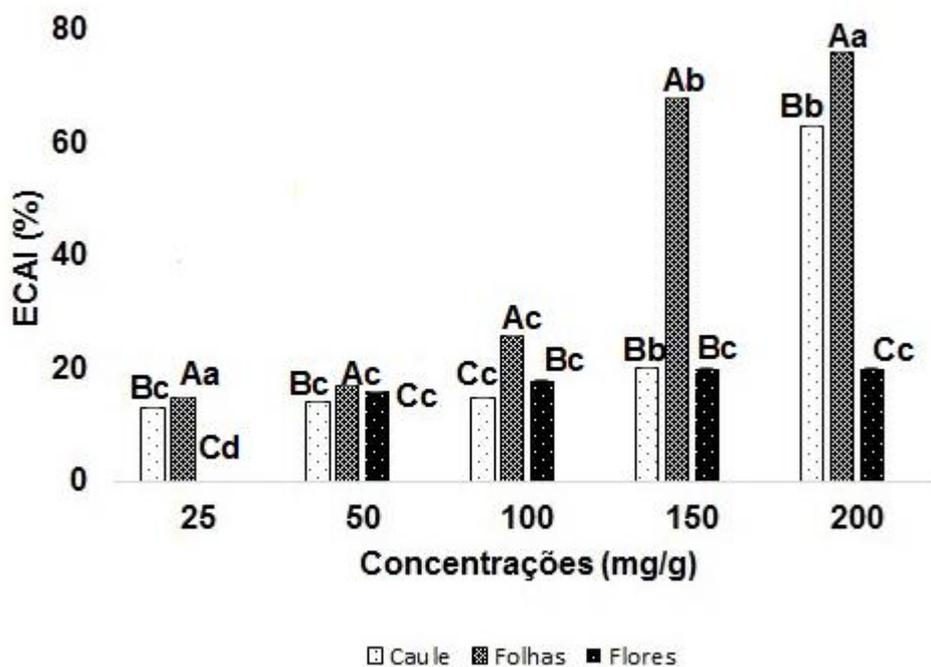


Figura 4. Eficiência de conversão do alimento ingerido. Letras maiúsculas iguais indicam que não há diferenças significativas entre os extratos numa mesma concentração e letras minúsculas iguais indicam que não há diferenças entre as concentrações (Tukey, $P < 0,05$). Biomassa ingerida pelo grupo controle foi acima de 80 mg/g/dia.

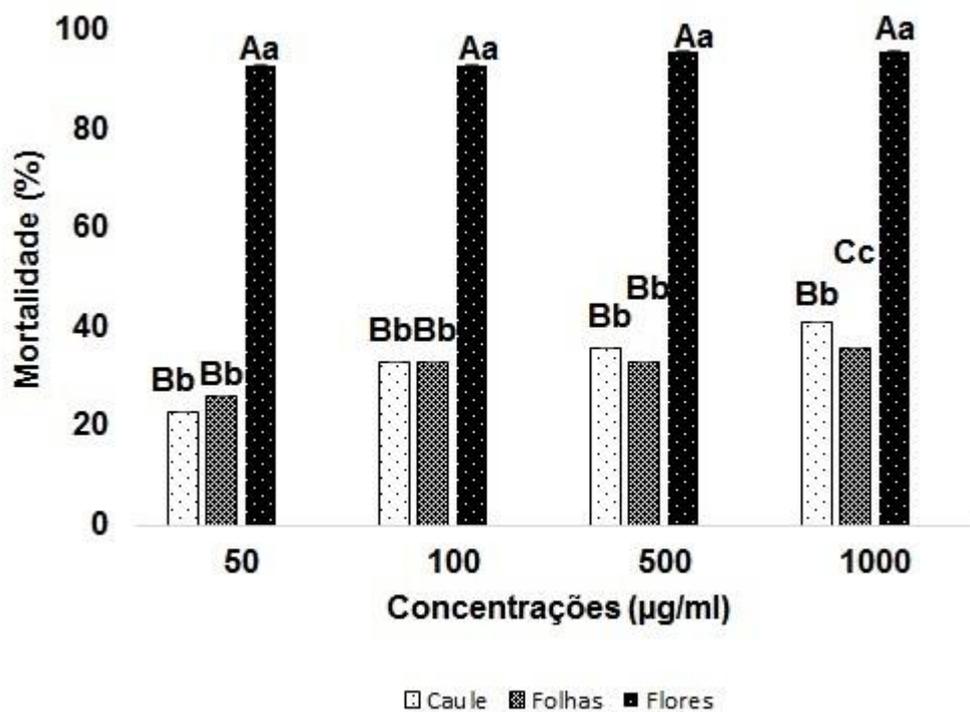


Figura 5. Efeito dos extratos metanólicos de *Tarenaya spinosa* na taxa de mortalidade de *Artemia salina*. Letras maiúsculas iguais indicam que não diferenças significativas entre os extratos numa mesma concentração e letras minúsculas iguais indicam que não diferenças entre as concentrações (Tukey, $P < 0,05$). Mortalidade do grupo controle igual a zero.

Tabela 2. Perfil fitoquímico dos extratos hexânico e metanólico de *Tarenaya spinosa*.

Classe	Subclasse	Extrato hexânico			Extrato metanólico		
		Cau	Fol	Flo	Cau	Fol	Flo
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-
Fenólicos	Flavonoides	-	-	-	+	+	+
	Fenilpropanoides	+	+	+	+	+	+
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	-	-	-	-	-	-	-
Terpenoides	Mono	+	+	+	+	+	+
	Sesqui	+	+	+	+	+	+
	Di	+	+	+	+	+	+
	Tri	-	-	-	-	-	-

Cau = caule, Fol = folha, Flo = flor, + = positivo, - = negativo



Figura 6. Cromatograma do extrato hexânico de *Tarenaya spinosa* para detecção de terpenos. 1 = caule, 2 = folha, 3 = flor, P = extrato clorofórmico de *Mesosphaerum suaveolens* (alfavaca de cabloco). Fase móvel e revelador conforme Tabela 1.



Figura 7. Cromatograma do extrato hexânico de *Tarenaya spinosa* para detecção de fenilpropanoides. 1 = caule, 2 = folha, 3 = flor, Pc = *p*-cumárico, Pj = extrato clorofórmico de *Justicia pectoralis* (chambá). Fase móvel e revelador conforme Tabela 1.

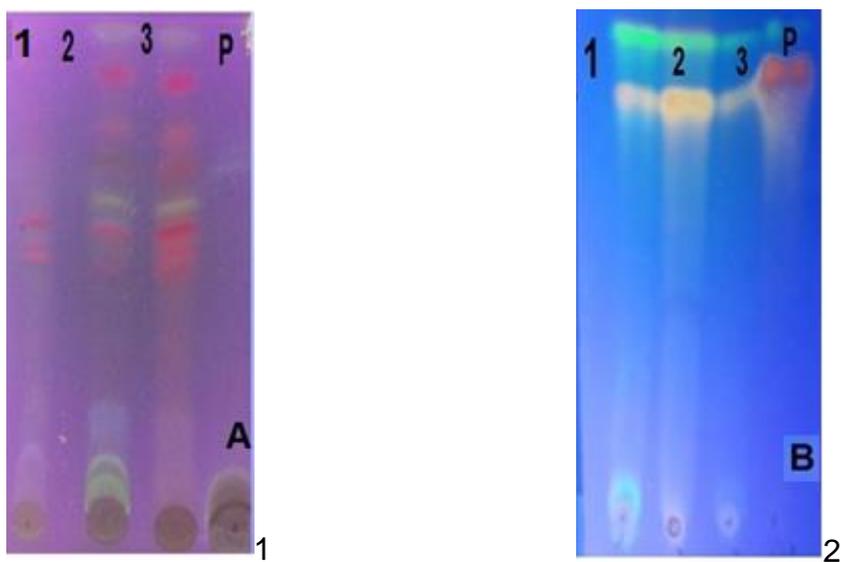
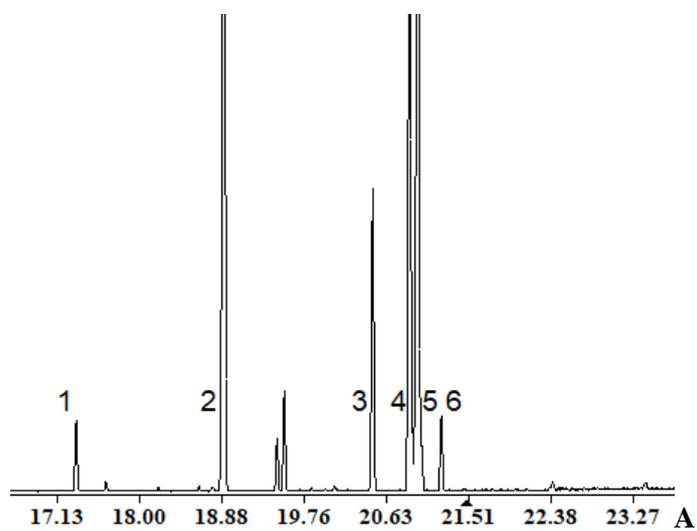


Figura 8. Cromatograma do extrato metanólico de *Tarenaya spinosa* para detecção de flavonoides glicosilados (1) e agliconas (2). 1 = caule, 2 = folha, 3 = flor, A e B = quercetina. Fase móvel e revelador conforme Tabela 1.



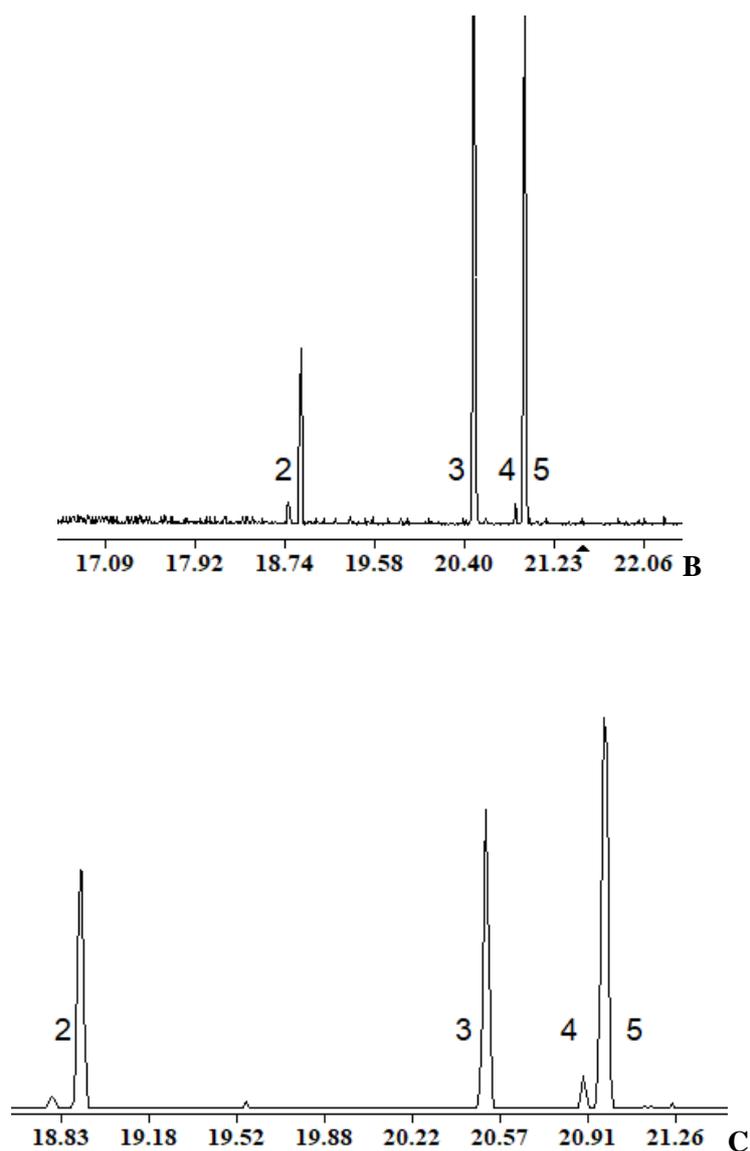


Figura 9. Cromatograma em fase gasosa do extrato hexânico derivado (BSTFA) de *Tarenaya spinosa*. A= caule, B = folha, C = flor, 1= ácido láurico, 2 = ácido palmítico, 3 = fitol, 4 = ácido linoleico, 5 = ácido linolênico, 6 = ácido esteárico.

Tabela 3. Compostos fenólicos identificados por HPLC-MS na fração acetato de etila do extrato metanólico de *Tarenaya spinosa*.

Composto	Extrato/Tempo de retenção (min)			Dados moleculares	
	Caule	Folha	Flor	Fórmula molecular	Massa monoisotópica
5,7,4'-trihidroxi-3-metoxiflavona (isocampferida)	7,40	7,40	7,40	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302.07
5,7,4'-trihidroxi-3,3'-dimetoxiflavona	7,42	7,42	-	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302.07
3',4',5,7-tetrahidroxiflavona (luteolina)	-	7,94	7,94	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.04
campferol	8,51	8,51	8,51	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.23
4',5,7-trihidroxi-3'-6-dimetoxiflavona (jaceosidina)	-	-	8,68	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.29
5,4'-dihidroxi-3,6,7,3'-tetrametoxiflavona	-	9,14	9,13	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	374.74

- = não detectado

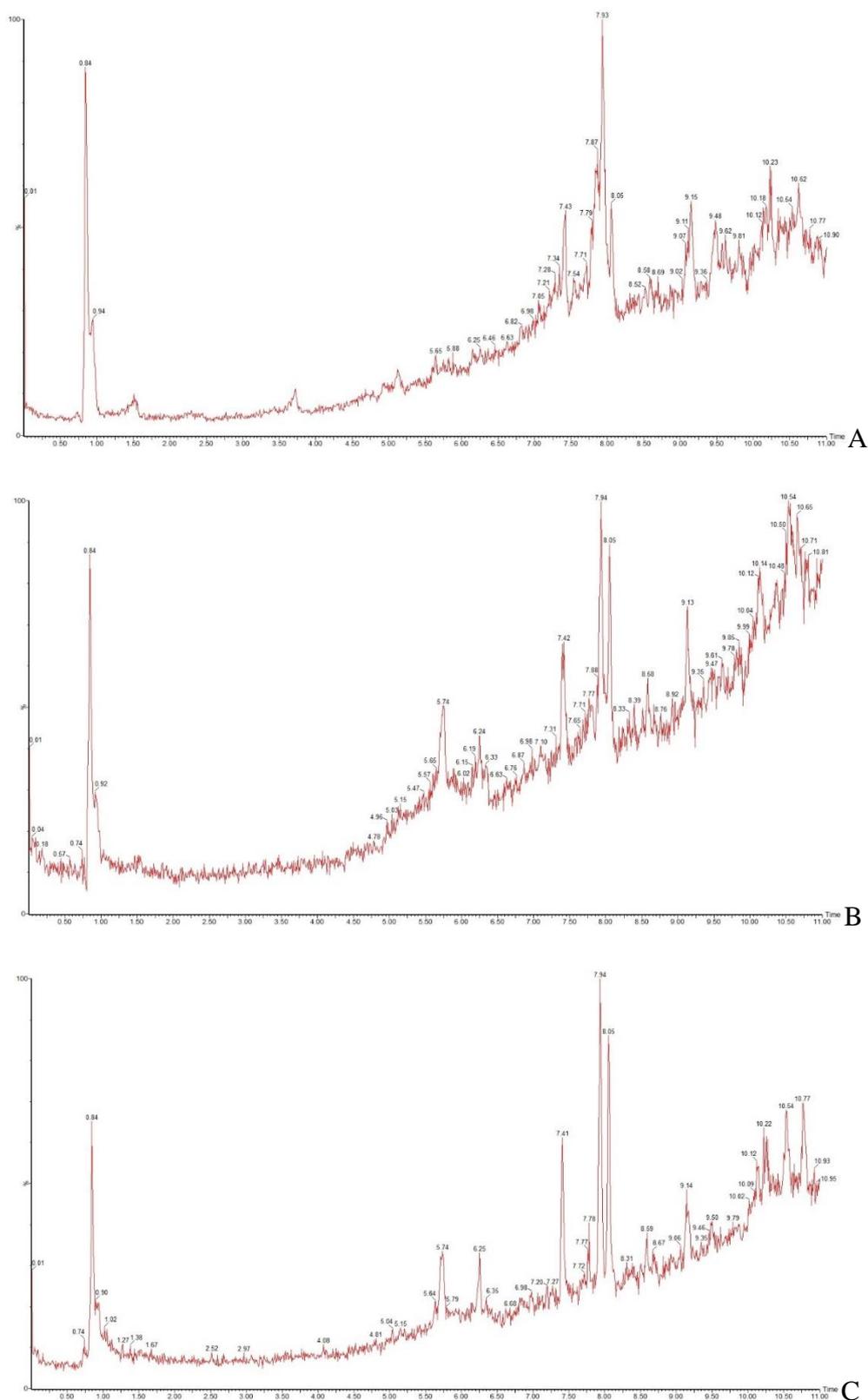


Figura 10. Cromatogramas (HPLC) da fração acetato do extrato metanólico do caule (A), folha (B) e flor (C) de *Tarenaya spinosa*.

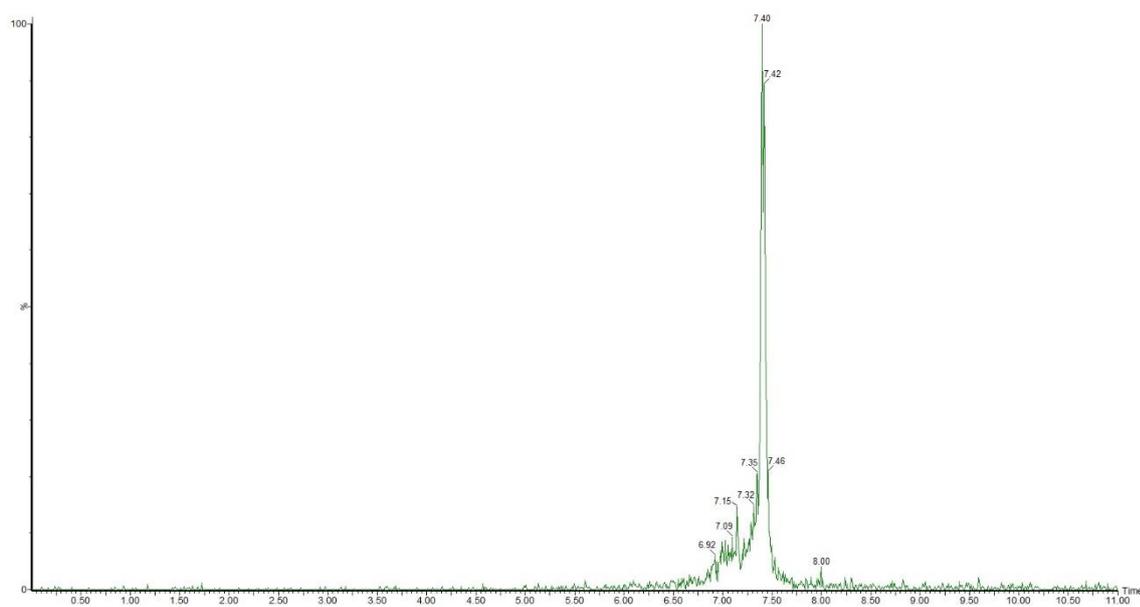


Figura 11. Cromatograma (HPLC) da isocampferida identificada na fração acetato do extrato metanólico do caule de *Tarenaya spinosa*.

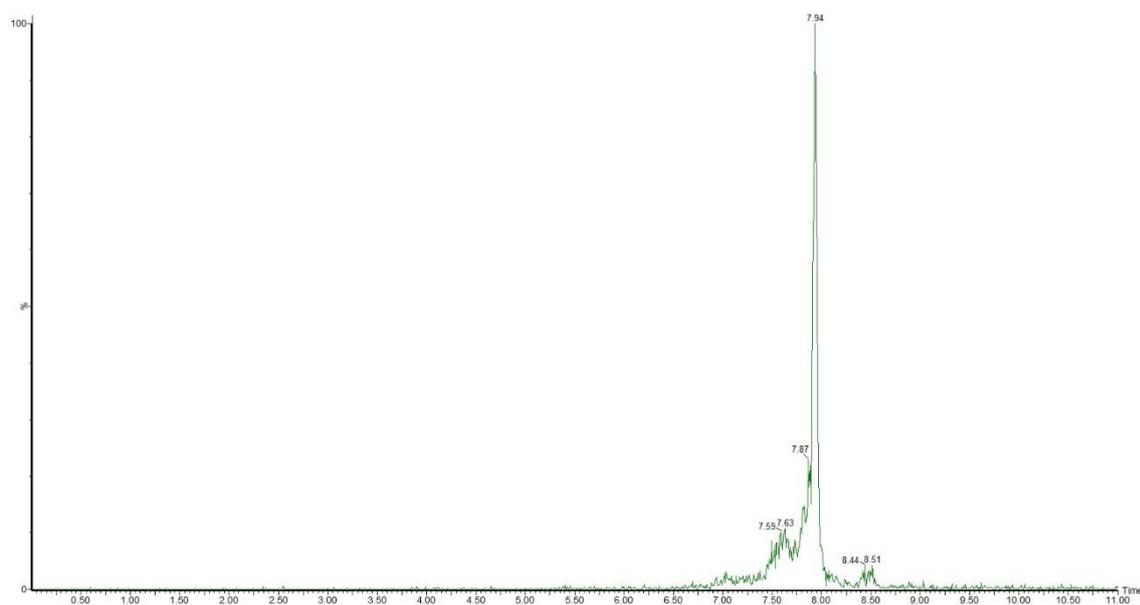


Figura 12. Cromatograma (HPLC) da luteolina identificada na fração acetato do extrato metanólico da folha de *Tarenaya spinosa*.

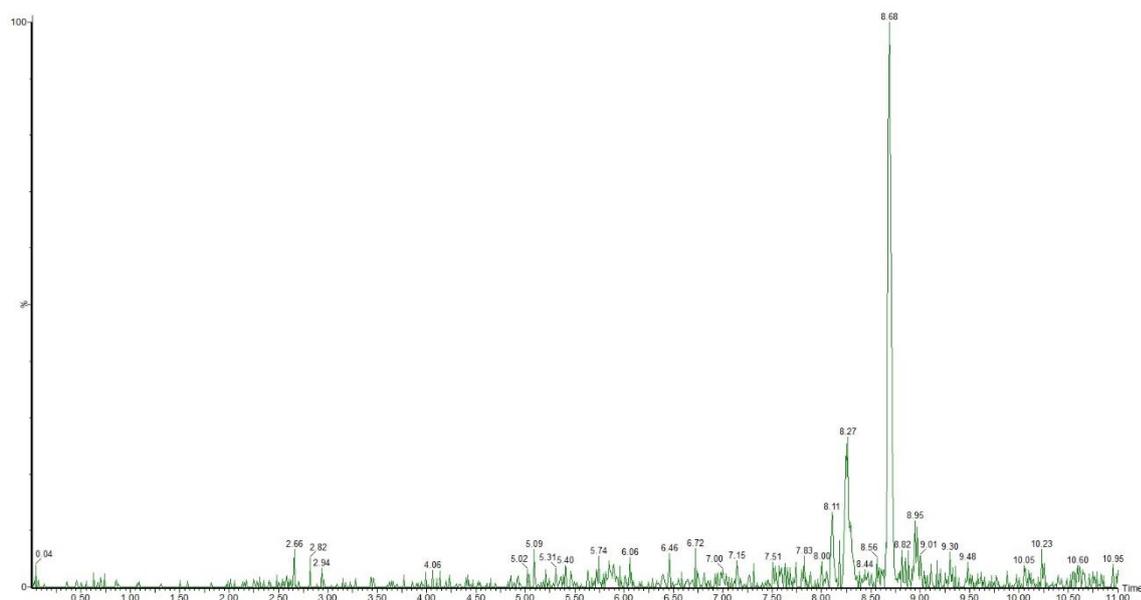


Figura 13. Cromatograma (HPLC) da jaceosidina identificada na fração acetato do extrato metanólico da flor de *Tarenaya spinosa*.

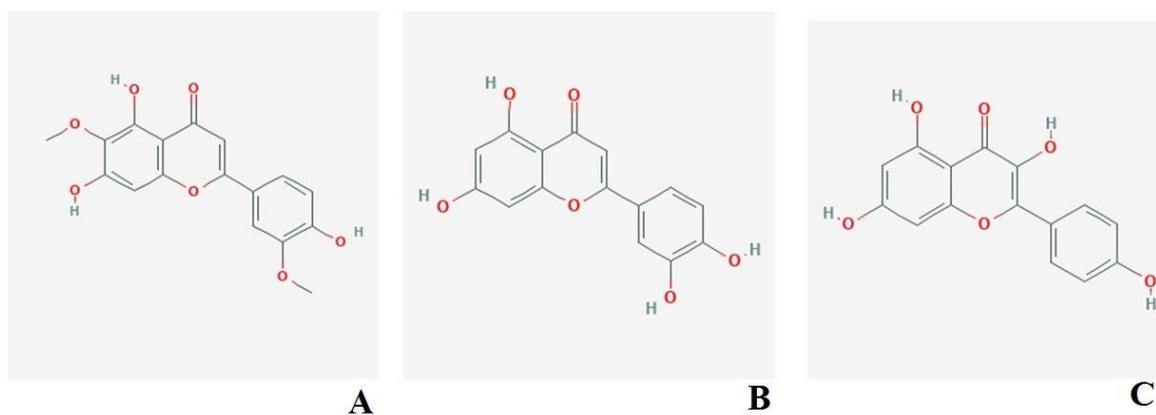


Figura 14. Estruturas químicas da jaceosidina (A); luteolina (B) e campferol (C). Fonte das imagens: Pubchem (2018).

4 CONCLUSÕES

Com este estudo nós podemos concluir que:

- a) O mussambê tem potencialidade de ser usado no controle biológico de pragas, como foi mostrado no teste de atividade inseticida, mas outros protocolos (ação repelente, por exemplo), devem ser utilizados para avaliar sua real bioatividade;
- b) Os terpenos da espécie não apresentaram bioatividade inseticida, mas podem estar relacionados a atração dos alimentos fornecidos.
- c) Os compostos apolares não apresentaram toxicidade possivelmente devido a composição em ácidos graxos;
- d) A toxicidade dos compostos polares pode ser atribuída aos fenilpropanoides e/ou ou flavonoides, e esses compostos devem ser melhor investigados de forma isoladas.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, M.S.A; ALQASOUMI, S.I; AL-TAWEEL, A.M. 2009. Hepatoprotective Constituents from *Cleome droserifolia*. **Chem. Pharm. Bull.** v.57, n.1, p.620-624.
- AGUILAR, L.C.M.R. et al. 2014. Estudio químico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante, antialimentaria y tóxica, de la especie *Pernettya prostrata* (Ericaceae). **Rev. Cub. Plant. Med.** v.19, n.2, p.138-150.
- AHMAD, S.A.; SAWAYA, W.N.; KARIM, A. M. A. 1984. Chemical characterization of *Cleome dolichostyla* seed oil. *Food. Chem.*, v.14, n.1, p. 21-26.
- AHMAD, V.U; ALVI, K.A. 1986. The molecular structure and absolute configuration of brachycarpone, a new trinortriterpenoid Dilactone from *Cleome brachycarpa*. **J. Nat. Prod.** v.49, n.2, p 249-252.
- AHMAD, V.U; ALVI, K.A. 1987. Deacetoxybrachycarpone, a trinortriterpenoid from *Cleome brachycarpa*. **Phytochem.** v.26, n.1, p. 315-316.
- AHMAD, V.U et al.1990. Cleocarpone, a triterpenoid from *Cleome brachycarpa*. *Phytochem.* v. 29, n.7. 670-672.
- AHMED, Z.F, et al. 1972. Naturally occurring glucosinolates with special reference to those of family Capparidaceae. **Plant Med.** v.21, n.1, p.35-60. Doi:10.1055/s-0028-1099522.
- ALBARELLO, N. et al. 2013. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of field- growth plants and tissue culture of *Cleome spinosa* (Jacq.) in mice. **J. of Med. Plant. Res.** v.7, n.16, p. 1043-1049.
- ALBUQUERQUE, U.P. 2005. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **J. Ethnobiol. Ethnomed.** v.2, n.3, p.1-10.
- ANTUNES, L.E.G. et al. 2013. Efeito da dose e exposição à terra de diatomácea de diferentes insetos em milho armazenado. **Arq. Inst. Biol.** V. 80, n.2, p. 169-176.
- ARAÚJO, M.C.P.M. et al. 2017. Acute and sub chronic toxicity study of leaves and branches of *Campomanesia velutina* (Cambess.) O. Berg. **J. Ethnopharm.** V. 201, n.1, p.17-25.
- AREND, G.D.2017. Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) juice by nanofiltration membrane. **J. Food. Eng.** V.201, n.1, p.36-41.
- AUTRAN, E.S et al. 2009. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Bioresour. Technol.** v.100, n.1, p. 2284-2288.
- BALA, A, et al. 2010. Evaluation of anticancer activity of *Cleome gynandra* on Ehrlich's Ascites Carcinoma treated mice. **J. Ethnopharmacol.** v.129, n,1, p.131-134.

- BAUTISTA-ORTÍN, A.B. 2016. Anthocyanins influence tannin–cell wall interactions. **Food Chem.** v.206, n.3, p.239-248.
- BAUTISTA, E.G. et al. Phenolic compounds inhibit cellulase and xylanase activities of *Cellulomonas flavigena* PR-22 during saccharification of sugarcane bagasse. **Fuel**, v.196, n.1, p.32-35.
- BLUNDER, M. et al. 2017. Efficient identification of flavones, flavanones and their glycosides in routine analysis via off-line combination of sensitive NMR and HPLC experiments. **Food Chem.** v. 218, n.7, 600-609.
- BOURICHE H et al. 2005. Effect of *Cleome arabica* leaf extract, rutin and quercetin on soybean lipoxygenase activity and on generation of inflammatory eicosanoids by human neutrophils. Prostaglandins, Leukotrien. **Essent. Fat. Acid.**v. 72, n.1, p. 195-201.
- BOSE, A. et al. 2007. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*. **Fitoter.**v.78, n.1, p.515-520.
- BOSE A. et al. 2011. Antinociceptive, cytotoxic and antibacterial activities of *Cleome viscosa* leaves. **Rev Bras. Farmacog.** v. 21, n.1, p. 165-169.
- BROCHINNI, C.B. et al. Identificação de componentes de óleos voláteis: análise espectroscópica de misturas de sesquiterpenos. **Quim. Nov.**v.22, n.1, p.37-40.
- BURKF, A.B. et al. The structure of cleomeolide, an unusual bicyclic diterpene from *Cleome viscosa* L. (capparaceae). **Tetrah.** V.36, n.10, p.3489-3493.
- BYNG, J.W. et al. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Bot. J. Linn. Soc.** v.181, n.1, p. 1-20.
- CAMPOS S.C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Rev. Bras. Plant. Med.**v.18, n.1, p. 373-382.
- CARVALHO, E.S. et al. 2009. Identificação de diterpenos clerodânicos em diferentes órgãos de *Casearia sylvestris* Swartz. **Rev. Ciênc. Farm Bas. Apl.**, v.30, n.3, p.277-284.
- CHAHUAN, J.S. et al. Kaempferide 3-glucuronide from the roots of *Cleome viscosa*. **Phytochem.** v18, n.1.687- 691.
- CHENG, S.F. et al. 2013. The *Tarenaya hassleriana* Genome Provides Insight into Reproductive Trait and Genome Evolution of Crucifer. **Plant Cell.**, v. 25, p. 2813-2830.
- CASTRO, K.N.B. et al. 2016. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arq.Inst.Biol.**v.83. n.1, p.1-7.
- CASTRO, T.C. et al. 2002. Morphological aspects of fruits, seeds, seedlings and in vivo and in vitro germination of species of the genus *Cleome*. **J. Seed Sci.** v.36, n.3, p.326-335.
- CAMAROTTI, J.S.R.L. 2015. Evaluation of the toxicity of essential oil from *Alpinia*

- purpurata* inflorescences to *Sitophilus zeamais* (maize weevil). **Crop Prot.**v.71, n.1, p.95-100.
- COLLINS, D.O et al. 2004. New Cembranes from *Cleome spinosa*. **J. Nat. Prod.**, v.67, n.2, p.179-183. Doi: 10.1021/np0303299.
- COITINHO, R.L.B.C. et al. 2011. Toxicidade por Fumigação, Contato e Ingestão de Óleos Essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciênc. Agrot.** v.35, n.1, p.172-178.
- COPATTI, C.E. et al. 2011. Avaliação de dano de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Laemophloeus minutus* em grãos de arroz armazenados. **Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.** v .17, n.8, p.850-860.
- CORDEIRO, L.S et al. 2015. Multiplication and cryopreservation of adventitious roots of *Cleome rosea* Vahl. **In Vitro Cell Develop. Biol-Plant**, v. 51, n.3, p.249-257.
- COSTA, J.C.M. et al. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Braz. J. Farmacog.** v.18, n.4, p.583-586.
- CRUZAT, M. et al. 2009. Protección de ocho cultivares de trigo con polvo de *Peumus boldus* Molina contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Idesia**, v.27, n.2, p.39-46.
- DAMATO, T.C. et al. 2017. The interactions between surfactants and the epicuticular wax on soybean or weed leaves: Maximal crop protection with minimal wax solubilization. **Crop Prod.** v.91, n.1, p.57-65.
- DAS, P.C et al. 1999. Cleogynol, a Novel Dammarane Triterpenoid from *Cleome gynandra*. **J. Nat. Prod.** v.62, n.1, p.616-618.
- DEVI, B.P.; BOOMINATHAN, R.; MANDAL, S.C. 2002. Evaluation of anti-diarrheal activity of *Cleome viscosa* L. extract in rats. **Phytomed.** v. 9, n.7, p.739-742.
- DE LIRA, C.S. et al. 2018. *Sitophilus zeamais* adults have survival and nutrition affected by *Schinus terebinthifolius* leaf extract and its lectin (SteLL). **Ind. Crop.Prod.**v.116, n.1, p.81-89
- DJERIDANE, A. et al. 2010. Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. **Food Chem. Toxicol.**, v. 48, n. 12, p.2599-2601.
- DOMINGUES, E.A. et al. 2010. Estudo fitoquímico e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* e da atividade antimicrobiana de *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae. **Braz. J. Farmacog.** v.20, n.1, p.23-27.
- EDZIRI, H. et al. 2013. Investigation on the genotoxicity of extracts from *Cleome amblyocarpa* Barr. and Murb, an important Tunisian medicinal plant. **South Africa J. Bot.**, v.84, n.1, p.102-103.
- EL-ASKARY, HI.2005. Terpenoids from *Cleome droserifolia* (Forssk.) **Del. Mol.**, v. 10, n.9,

p. 971-977.

ELUFIONE, T.O; ONOJA, J.O.2016. In vivo Anti-malarial Activity of *Cleome viscosa* L. **Whol. Plant. Res. J. Phytochem.**v.10, n.1, p.30-38.

ENSIKAT, H.J. et al. 2006. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. **Chem. Phys. Lipids.** v. 144, n.1, p.45–59.

FAZOLIN, M. et al. 2010. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). **Pesq. Agrop. Bras.** v.45, n.1, p.1-6.

FERNANDES, I. et al.2014. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **J. Funct. Food.** v.7, n.1, 54-66.

FERNANDES, L.C.S. et al.2012. Constituintes químicos de *Capraria biflora* (Scrophulariaceae) e atividade larvicida de seu óleo essencial. **Quim. Nov.** v.35, n.11, p.2258-2262.

FERANDEZ-LÓPEZ, A. et al. 2016. Removing isoflavones from modern soy food: Why and how? **Food Chem.** v.210, n.3, p.283-294.

FERREIRA, E.A. et al. 2005. Composição química da cera epicuticular e caracterização da superfície foliar em genótipos de Cana-de-açúcar. **Plant. Dan.** v.23, n.4, p.611-619.

FIGUEREDO, K.V. et al. 2015. Changes in leaf epicuticular wax, gas exchange and biochemistry metabolism between *Jatropha mollissima* and *Jatropha curcas* under semi-arid conditions. **Act. Physiol. Plant.** v.37, n.108, p.1-11.

FLOSS, E. L. 2008. Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo do que está por trás do que se vê. 4ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo,373 p.

FRIERI, R.L. et al. 2013.Study of ecological niches from pathogenic yeasts of the species *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Londrina City, PR. **Ciênc.Agrar.** v.34, n.2, p.793-803.

FURTADO, R.F et al. 2005. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. **Neotrop. Entomol.** v.34, n.5, p. 843-847.

GAN, L. 2015. Wax crystal-sparse leaf 3 encoding a b-ketoacyl-CoA reductase is involved in cuticular wax biosynthesis in rice. **Plant. Cell. Rep.** v.35, n.1, p. 1687-1698

GARCIA, C.S.C. et al. 2016. Pharmacological perspectives from Brazilian *Salvia officinalis* (Lamiaceae): antioxidant, and antitumor in mammalian cells. **An. Acad. Bras. Ciên.** v. 88, n.2, p. 281-292.

GAO, Z.; LIU, J.; XIAO, X. 2011. Purification and characterisation of polyphenol oxidase from leaves of *Cleome gynandra* L. **Food Chem.** v.129, n.10, p.1012-1018.

GERMANO, M.P. et al. 2002. Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source. **J. Agric. Food Chem.**, v.50, n.10, p.1168-1171.

Doi: 10.1021/jf010678d.

GIESE, B.N. 1975. Effects of light and temperature on the composition of epicuticular wax of barley leaves. **Phytochem.** v.14, n.9, p.921-929.

GREENE, P.R; BAIN, C. D. 2005. Total internal reflection Raman spectroscopy of barley leaf epicuticular waxes in vivo. **Colloid. Surfac. B: Biointerf.** v. 45, n.2, p. 174–180

GROVIC, T. et al. 2011. Identification and evaluation of soft coral diterpenes as inhibitors of HIF-2a induced gene expression. **Bioorg. Med Chem. Lett.** v.21, n.1, p. 2113–2115.

GUO, L. et al. 2014. Variations in leaf epicuticular n-alkanes in some *Broussonetia*, *Ficus* and *Humulus* species. **Biochem. System. Ecol.** v.54, n.2, p. 150-156.

GURIB-FAKIM, A. 2005. Medicinal plants: traditions on yesterday and drugs of tomorrow. **Molec. Asp. Med.**, v. 27, n.1, p.1-93.

HARHAR, H. et al., 2010. Composition of the essential oil of *Argania spinosa* (Sapotaceae) fruit pulp. **Nat Prod Commun.** v.5, n.6, p. 935-936.

HARRAZ, F.M. et al. 1992. Dammarane Terpenes from *Cleome amblyocarpa*. **Phytochem.** v. 39, n.1, p.175-178.

HERRERA-RODRIGUEZ, C. et al. 2015. Bioactivity of *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. and *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde (Monimiaceae) essential oils against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Chi. J. Agric. Res.** v.75, n.3, p.334-340.

ILTIS, H. H.; Cochrane, T.S. 2007. Studies in the Cleomaceae V: a new genus and ten new combinations for the Flora of North America. **Novon.**v.17, 447--451.

JACOMINI, D. et al.2016. Extrato de tabaco no controle do besouro cascudinho de aviário. **Pesq. Agrop. Bras.** v.51, n.5, p.680-683.

JANA, A; BISWAS, S.M. 2011. Lactam nonanic acid, a new substance from *Cleome viscosa* with allelopathic and antimicrobial properties. **J. Biosc.** v.36, n.1, p.27-35.

JENTE, R. et al. 1987. A cembranoid diterpene from *Cleome viscosa*. **Phytochem.**v. 29, n.6, p. 666-667.

JORDHEIM, M. et l. 2009. Acylated Alkilamides in inflorescence of spider flower (*Cleome hassleriana*). **Phytochem.** v.70, n.7, p. 740-745.

JUÁREZ-FLORES, B.I. et al. 2010. Efecto de polvos de asteráceas sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motsch). **Polibot.** v.1, n.30, 123-125.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Biologia Celular e Molecular. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, 348 p.

- KALANTZAKIS, G. et al. 2006. Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** v.108, n.3, p. 329-335.
- KHALLOUKI, F. et al. 2017. Comparison of the major polyphenols in mature Argan fruits from two regions of Morocco. **Food Chem.** v. 221, n.10, p.1034-1040.
- KHAN, M.K. et al. 2014. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. **J. Food Compos. Anal.** v.33, n.1, p.85-104.
- KJAER A; THOMSEN H. 1963. Isothiocyanate-producing glucosides in species of Capparidaceae. **Phytochem.** v.2, n.1, p. 29-32.
- KRAMOVA, A. B.; JONHSON, G.J. 1999. Mechanisms of elongation in the biosynthesis of fatty acid components of epi-cuticular waxes. **Phytochem.** v.50, n.1, p.1341-1345.
- KOLIPOULOS, G. et al. 2010. Chemical larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia* and *Melissa* essential oils against the West Nile Virus mosquito *Culex pipiens*. **Parasitol. Res.** v.107, n.2, p. 327-345.
- KUMAR, S. et al. 1988. Cleomiscosin d, a coumarino-lignan from seeds of *Cleome viscosa*. **Phytochem.** v.27, n.6., p.636-638.
- KWEKA, E.L. et al. 2016. Larvicidal efficacy of monoterpenes against the larvae of *Anopheles gambiae*. **Asian Pac J Trop Biomed.** v. 6, n.4, p. 290–294.
- LADHARI, A. et al. 2013. Phytotoxic activity of *Cleome arabica* L. and its principal discovered active compounds. **South Afr. J. Bot.** v.8, n.7, p. 88341-88351.
- LADHARI, A. et al. A new dammarane triterpene from *Cleome arabica*. **Chem. Nat. Comp.**, v. 50, n.6, p. 684-686.
- LARA, G.S.; BERGVINSON, D.J. 2013. Identification of maize landraces with high level of resistance to storage pests *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Prostephanus truncatus* Horn in Latin America. **Rev. Fitotec. Mex.** v.36, supl.3-a, p.347-356.
- LAZZERi, L.; LEONI, O.; MANICI, L.M. 2004. Biocidal plant dried pellets for biofumigation. **Ind Crop Prod**, v. 20, n.1, p.59-65.
- LEAL, R.S. Estudo Etnofarmacológico e fitoquímico das espécies medicinais *Cleome spinosa* Jacq., *Pavonia varians* Moric e *Croton cajucara* Benth. Msc. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2008. Originalmente apresentado como tese de doutorado, UFRN, 2008.
- LHULLIER, C. et al. 2006. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Rev. Bras. Farmacog.** v.16, n.2, p.158-163.
- LIANG, L. et al. 2013. Cembrane diterpenoids from the soft coral *Sarcophyton trocheliophorum* Marenzeller as a new class of PTP1B inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.** v.21, n.1, p. 5076-5080.

- LICHSTON, J. E.; GODOY, S.A.P. 2006. Morfologia e teor de cera de folhas de café após aplicação de fungicida. **Pesq. Agrop. Bras.** v.41, n.6, p.919-926.
- LIMA, C.M.P. et al. 2014. Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. **Rev. Bras. Pl. Med.** v.16, n.4, p.832-838.
- LIMA-MENDONÇA, A. et al. 2013. Efeito de pós vegetais sobre *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae). **Arq. Inst. Biol.** v.80, n.1, p.91-97.
- LORENZI, H.C. Botânica sistemática: Guia ilustrativo para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas introduzidas no Brasil, baseado em APG II. 2 ed. **Nova Odessa**, Instituto Plantarum, 2008, 640 p.
- MACHADO, I.C. et al. 2004. *Cleome spinosa* (Capparaceae): polygamodioecy and pollination by bats in urban and Caatinga areas, northeastern Brazil. In: **Botanische Jahrbuecher fuer Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie.** v.127, 1ed, p.69-82.
- MAHATO, S.B. Et al. 1979. Structure of Cleomeolide, a Novel Diterpene Lactone from *Cleome icosandra* Linn. **J. Amer. Chem. Soc.** 1, v.101, n.4, p.4720-4723.
- MARTENS, S.; MITHÖFFER, A. 2005. Flavones and flavone synthases. **Mol. Inter.** v.66, p.2399-2407.
- MAYORGA, P. et al. 2010. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Braz. J. Farmacog.** v.20, n.6., p.897-903.
- MELO, B.A. et al. 2015. Repellency and bioactivity of Caatinga Biome plant powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Florida Entomol.** v.98, n.4, p.417-423.
- MESQUITA, D.W.O. et al. 2015. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.** v.17, n.4, p.604-613.
- MEYER, B.N et al. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Plant. Med.** v.45, n.5, p. 31-40.
- MOSSMAN, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Met.** v.65, n.1, p.55-63.
- MOTA, K.S.L. et al. 2008. Evaluation of the toxicity and antiulcerogenic activity of the ethanol extract of *Maytenus obtusifolia* Mart. Leaves. **Braz. J. Farmacog.** v.18, n.3, p.441-446.
- MUFFLER, H. 2011. Biotransformation of triterpenes. **Proc. Bioch.** v. 46, n.1, p. 1-15.
- NAGAYA H. et al. 1997. Cytotoxic triterpenes from *Cleome africana*. **Phytochem.** v. 44, n.10, p.1115-1119.

- NARENDHIRAKANNAN, R.T et al. 2007. Anti-inflammatory and lysosomal stability actions of *Cleome gynandra* L. studied in adjuvant induced arthritic rats. **Food Chem Toxicol.** v.45, n.10, p.1001-1012.
- NAPOLÉÃO, T.H et al.2013. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **J. Stor. Prod. Res.** v. 54, p.24-33.
- NDEBIA, E.J et al. 2014. Radical scavenging activity and hypoglycaemic effects of two wild leafy vegetables: *Sonchus oleraceus* and *Cleome gynandra*. **Diabetes Res. Clin. Pract.** v.103, n.1, p. 60-61.
- NEIL, M.C.M.J et al. 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Cleome spinosa*. **Nat. Product. Communic.** v.58, n.13, p.1301-1306.
- NDUNGU, M. et al. 1995. *Cleome monophylla* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellents. **Entomol. Experiment et Appl.** v.2, n, 2, p.217-222.
- NEMITZ, M.C. et al. 2016. The international scenario of patents concerning isoflavones. **Trend. Food Sci. Technol.** v.49, n.1, p.85-95.
- NÖMBERG, S. et al. 2016. Residual effects of pesticides in peach orchards on the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Rev. Bras. Frutic.** v.38, n.3, p.1-8.
- NOWICKA, B.; KRUK, J. 2010. Occurrence, biosynthesis and function of isoprenoid quinones. **Bioch. et Biophys. Acta.** v.1797, n.9, p.1587-1605.
- NOZOLILLO, C. et al. Novel aspects of the flowers and floral pigmentation of two *Cleome* species (Cleomaceae), *C. hassleriana* and *C. serrulata*. **Biochem. System. Ecol.** v.38, n.3, p.361-369.
- NYLAYALA, S; GROUT, B. 2007. African spider flower (*Cleome gynandra* L. /*Gynandropsis gynandra* (L.) Briq.) as a red spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) repellent in cut flower rose (*Rosa hybrida* L.) cultivation. **Scient. Horticult.** v.114, n.2, p. 194-198.
- OJIAKO O.A.; IGWE C.U. 2007. Nutritional and Anti-Nutritional Compositions of *Cleome rutidosperma*, *Lagenaria siceraria*, and *Cucurbita maxima* Seeds from Nigeria. **J. Med. Food.** v.10, n.7, p735-738.
- OLIVEIRA, H.N.; SANTANA, A.G.; ANTIGO, M.R.2013. Atividade insetida dos óleos de Pinhão Manso (*Jatropha curcas*) e nem (*Azadirachta indica* A. Juss.) em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Arq. Inst. Biol.** v.80, n.2, p.229-232.
- OLIVEIRA, C.M. et al. 2017. Quinones as Strecker degradation reagents in wine oxidation processes. **Food Chem.** v.228, n.1, p.618-624.
- ORTIZ, M. et al. Toxicity of Boldo (*Peumus boldus* Molina) for *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* Herbst. **Chi. J.Agric.Res.** v.72, n.3, p.345-349.

- OZ, M. et al. 2013. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. **Pharm. Therap.** v.52, n.1, p.83-97.
- PANZAVOLTA, T. et al. 2015. Pine monoterpene deterrence of pine processionary moth oviposition. **Urb. Forest. Urb. Green.** v.14, n.6, p.538-543.
- PARIMALADEVI, B. et al. 2003. Studies on analgesic activity of *Cleome viscosa* in mice. **Fitoter.** v. 74, n.3, p. 262-266.
- PAULIQUEVIS, C.; FAVEIRO, S. 2015. Atividade insetistática do óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* sobre *Sitophilus zeamais*. **Rev. Bras. Eng. Agric. Amb.** v.19, n.12, p.1192-1196.
- PETIWALA, S.M.; JOHNSON, J.J. Diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Defining their potential for anti-cancer activity. **Cânc. Lett.** v.367, n.1., p.93-102.
- PIMENTEL, M.A.G. et al. 2008. Resistance of stored-product insects to phosphine. **Pesq. Agrop. Bras.** v.43, n.12, p.1671-1676.
- PINO-GARCIA, R. 2017. The effects of heat treatment on the phenolic composition and antioxidant capacity of red wine pomace seasonings. **Food Chem.** v.221, n.17, p.1723-1732.
- PINTO, Z. T. et al. 2015. Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v.24, n.1, p.36-44.
- RAMOS, R.S. et al. 2017. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). **The World J. Sci.** v.2017, p.1-8.
- RAY, A.B. et al. 1988. Structures of cleomiscosins, coumarinolignoids of *Cleome viscosa* seeds? **Tetrahed.** v.41, n.3, p.209-214.
- REVANKAR, H.M. et al. 2017. Coumarins scaffolds as COX inhibitors. **Bioorg. Chem.** v.71, n.1, p.146-152.
- RIOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E. 2017. Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Rev. Bras. Entomol.** v. 61, n. 4, p. 307-311.
- ROSA, C.S. et al. 2016. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Rev. Bras. Pl. Med.** v.18, n.1, p.19-26.
- ROZADO, A.F. et al. 2008. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.** v.12, n.3, p.282-285.
- SAROOUP, S; KAUL, V. 2015. *Cleome viscosa*: a promising underutilized minor crop. **Gen. Res. Crop Evol.** v.62, n.11, p.1121-1126.

- SCHEWE, H. et al. 2011. Biooxidation of monoterpenes with bacterial monooxygenases. **Proc. Bioch.** v.46, n.1, p.1885-1899.
- SHARAF, M. et al. 1992. Exudate flavonoids from aerial parts of four *Cleome* species. **Biochem. Systemat. Ecol.** v.20, n.5, p.443-448.
- SIMÕES, C. et al. 2010. Antiviral activity of *Cleome rosea* extracts from field-grown plants and tissue culture-derived materials against acyclovir-resistant Herpes simplex viruses type 1 (ACVr-HSV-1) and type 2 (ACVr-HSV-2). **World J. Microbiol. Biotechnol.** v.26, n.1, p.93-99.
- SIMÕES C, A. et al 2009. Medicinal potential from in vivo and acclimatized plants of *Cleome rosea*. **Fitoterap.** v.77, n.1, p. 94-99.
- SIMÕES, C. et al. 2010. New approaches for shoot production and establishment of in vitro root cultures of *Cleome rosea* Vahl. **Plant Cell. Tiss. Organ.Cult.** v.98, n.1, p. 79-86.
- SIMÕES-GURGEL, C. et al. 2011. Establishment of anthocyanin-producing cell suspension cultures of *Cleome rosea* Vahl ex DC. (Capparaceae). **Plant Cell. Tiss. Organ.Cult.** v.106, n. 6, p. 537-545.
- SINGH, M. et al. 2014. Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. **Eur. J. Med.Chem.** v.84, n.3, p.206-239.
- SILVA, I.G. et al.2003. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) em criadouros artificiais. **Rev. Patol. Trop.** v.1, n.32, p.73-86.
- SILVA, A.P.S. et al. 2015. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Organic Extracts from *Cleome spinosa* Jacq. **Front. Microbiol.** v.7, n.1, p.1-10.
- SRIDHAR, N. et al.2014. In vitro antimicrobial screening of methanolic extracts of *Cleome chelidonii* and *Cleome gynandra*. **Bangl. J. Pharmacol.** v.9, n.2, p.161-166.
- SRIVASTAVA, S.K.; SRIVASTAVA, S.D.1978. A New Glucoflavanone from *Cleome viscosa* Whole plants. **Curr. Sci.** v.48, n.5, p.430-431.
- SRIVASTAVA, S.K. 1980. Stigmasta-5,24(28) -diene-3P-O-r-L-rhamnoside from *Cleome viscosa*. **Phytochem.** v.19, n.12, p.2510-2511.
- ŠTEJFA, V. et al. 2013. Thermodynamic study of selected monoterpenes II. **JChem. Thermodyn.** v.79, n.3, p.280-289.
- ŠTEJFA, V. et al. 2014. Thermodynamic study of selected monoterpenes III. **J.Chem. Thermodyn.**v.79, n.3, p.280-289.
- SONGSAK, T. LOCWOOD, G.B. 2004. Production of two volatile glucosinolates hydrolysis compounds in *Nasturtium montanum* and *Cleome chelidonii* plant cell cultures. **Fitoter.** v.75, n.3, p.293-301.

- SOUZA, M.T.S. et al. 2014. Monoterpenos com atividade anti-inflamatória: uma prospecção tecnológica. **Geintech**. v.4, n.2, p.867-874.
- SOUZA, L.G; RENNÓ, M.N.; FIGUEROA-VILLAR, J.D. 2016. Coumarins as cholinesterase inhibitors: A review. **Chem. Biol. Interact.** v.225, n.1, p. 11-23.
- SUN, Q. et al. Cytotoxic prenylated flavones from the stem and root bark of *Daphne giraldii*. **Bioorg. Med. Chem.** v.26, n.1, p.3968-3972.
- TANDON, S. et al. 2010. Pilot scale processing technology for extraction of Cliv-92: A combination of three coumarinolignoids cleomiscosins A, B and C from *Cleome viscosa*. **Ind Crops Prod.** v.31, n.4, p.335-343.
- THE PLANT LIST (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 3st February 2018).
- TORRES, C. et al.2014. Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Chi. J. Agricult. Res.** v.74, n.4, p.421-426.
- TSICHIRITZIS, F. et al.1992. Dammarane triterpenes of *Cleome Africana*. **Phytochem.** v.33, n.5, p.423-425.
- VAKARELSKA-POPOVSKA, M.H; VELKHOV, Z. 2011. Monohydroxy flavones. Part IV: Ehthalpies of different ways of O–H bond dissociation. **Comput. Theoret. Chem.** v.1077, n.1, p.87-91.
- VARGAS, A. et. al. 2014. Semi-synthesis of oxygenated dolabellane diterpenes with highly in vitro anti-HIV-1 activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v.24, p.4381-4383.
- VAZQUEZ-CASTRO, J.A. et al. 2009. Flight activity of *Sitophilus oryzae* (L) and *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae) and its relationship with susceptibility to insecticides. **Neot. Entom.**v.38, n.3, p.405-409.
- VICTORIO, C. P. et al .2010. Chemical composition of the fractions of leaf oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm. and antimicrobial activity. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 19, n. 3, p. 697-701.
- VIEGAS JR, C.2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Quím. Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400.
- XIE, Y.S. et al. 1996. A rapid and simple flour-disk bioassay for testing substances active against stored-product insects. **Can. Entomol.** v.128, n.9, p.865-875.
- WILLIAMS, L.A.D. et al. 2003. Biologicals Activities of an extract of *Cleome viscosa* L. (Capparaceae). **Naturwiss.** v. 90, n.5, p.468-472.
- ZERBE, P.; BOHLMANN, J. 2014. Plasticity and evolution of (+)-3-carene synthase and (–)-sabinene synthase functions of a sitka spruce monoterpene synthase gene family associated with weevil resistance. **J. Biol. Chem.** v.289, n.24, p.23859-23869.

ZERBE, P.; BOHLMANN, J. 2015. Plant diterpene synthases: exploring modularity and metabolic diversity for bioengineering. **Trends in Biotechnol.** v.33, n.7, p.419-428.

ZHANG, Z. et al. 2014. Variations in leaf epicuticular n-alkanes in some *Broussonetia*, *Ficus* and *Humulus* species. **Biochem. System. Ecol.** v.54, n.1, p.150-156.

ANEXO A- NORMAS PARA A REVISTA *JOURNAL OF STORED PRODUCTS RESEACH*

<https://www.elsevier.com/journals/journal-of-stored-products-research/0022474x/guide-forauthors>



TABLE OF CONTENTS

●	Description	p.1
●	Audience	p.2
●	Impact Factor	p.2
●	Abstracting and Indexing	p.2
●	Editorial Board	p.2
●	Guide for Authors	p.4



ISSN: 0022-474X

DESCRIPTION

The *Journal of Stored Products Research* provides an international medium for the publication of both reviews and original results from laboratory and field studies on the preservation and safety of stored products, notably food stocks, covering storage-related problems from the producer through the supply chain to the consumer. Stored products are characterised by having relatively low moisture content and include raw and semi-processed foods, animal feedstuffs, and a range of other durable items, including materials such as clothing or museum artefacts.

Manuscripts are welcomed on:

- the biology, ecology, physiology, behaviour, taxonomy or genetics of pests and spoilage agents
- environmental factors influencing insect life cycles
- the physical, chemical or biological control of pests and spoilage agents but excluding routine laboratory screening of candidate plant materials
- biochemical or behavioural resistance to control measures
- storage biotechnology, pest management and decision support systems
- the effects of physical and environmental control procedures on the physical and chemical nature of the stored products
- the assessment, prevention and control of losses
- regulatory, technological and socio-economic subjects relevant to stored products
- improvements in the design and structure of the storage environment

The *Journal of Stored Products Research* reflects the worldwide interest in the scientific problems of infestation in stored food and their relevance to food stock security, market access and trade, and the increasing problem of world food distribution.

Contact details for submission:

Based on your topic, your manuscript will be handled by one of the Editors-in-Chief:

Greg Darglish:

Chemical control and contaminant

Frank Arthur:

Biology and Ecology