

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

**A OBTENÇÃO DE COMPOSTOS FARMACOLOGICAMENTE ATIVOS A PARTIR
DO EXTRATO DA POLPA DO *Astrocaryum acaule*. PARA OTIMIZAÇÃO DA
ATIVIDADE INSETICIDA, LARVICIDA E REPELENTE NO TRATAMENTO DE
ARBOVIROSES.**

LARISSA SABOIA DE FREITAS DIÓGENES¹ZILMAR TIMÓTEO SOARES²

AFILIAÇÃO

¹Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL- Centro de Ciências da Saúde/Medicina - R. Godofredo Viana, 1300 - Centro, Imperatriz - MA, 65900-000.

² UEMASUL- Centro de Ciências Biológicas - Centro, Imperatriz - MA, 65900-000.

RESUMO

O estudo buscou avaliar as atividades repelentecida frente a formigas e análise para a ação larvicida do óleo de *Astrocaryum acaule* (tucum mirim) frente a *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres). Para tal, foram realizados diversos testes para analisar o potencial repelente e os efeitos dos componentes ativos do nos organismos estudados. Os ensaios em material biológico confirmaram a capacidade repelente da solução, inibindo o comportamento de aproximação e picada das formigas. Além disso, as larvas da mosca do chifre apresentaram mudanças genéticas após a aplicação do extrato, indicando potencial de esterilização em fêmeas e controle populacional da praga. Comparado a um repelente industrializado, o extrato do *Astrocaryum acaule* se destacou pela maior concentração de princípios ativos e menor tempo de volatilização. Esses componentes ativos, como dilapiol, icaridina, dietitoluamida e cipermetrina, agem como neurotoxinas, afetando o sistema nervoso dos insetos e levando a hiperexcitação neuronal, convulsões e paralisia. É importante ressaltar que a toxicidade desses compostos químicos pode variar entre diferentes espécies e estágios de desenvolvimento dos insetos. Em resumo, os resultados indicam que o repelente do *Astrocaryum acaule* é uma opção promissora e eficaz para o controle de insetos, contribuindo para a prevenção de doenças transmitidas por eles e auxiliando no manejo de pragas agrícolas e urbanas. Destaca-se por sua eficácia, menor volatilização e menor impacto ambiental, sugerindo seu potencial como alternativa sustentável. Portanto, é essencial continuar a pesquisa para assegurar seu uso responsável e sustentável, promovendo a saúde pública e a preservação do meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Meio Ambiente e Saúde; Repelentes de Insetos; Compostos Fitoquímicas.

INTRODUÇÃO

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Sendo um país de clima predominantemente tropical e possuindo uma vasta extensão territorial, o Brasil apresenta cerca de 850.000 km², distribuídos em regiões como Amazônia, litoral leste e sudeste, com ricos espaços florestais. A precariedade das condições sanitárias de algumas regiões, a migração populacional desordenada e o crescente desmatamento favorecem um ambiente propício para o desenvolvimento e proliferação dos vetores de doenças no país, dessa forma, acarretando uma maior incidência de arboviroses (Lopes et. al, 2014). Dengue, zika e Chikungunya são arboviroses transmitidas pela picada do vetor, o mosquito *Aedes aegypti*, que representa um dos principais problemas de saúde pública no Brasil, devido ao seu eminente grau de morbidade e mortalidade.

Diante disso, como resultado do aumento dos casos, temos como causadores relevantes as mudanças climáticas e urbanização desordenada (Oliveira, 2016). De acordo com a última atualização semanal do Centro de Operações de Emergências de Arboviroses (COE Arboviroses), instaurado neste ano pelo Ministério da Saúde devido ao avanço das doenças no país, o Brasil ultrapassou a marca de um milhão de casos prováveis de dengue em 2023. O número de casos em relação ao mesmo período do ano passado (maio de 2022) sofreu um aumento de 22% (Globo, 2023).

Os casos de arboviroses necessitam de atenção e notificação aos órgãos públicos, tendo em vista que a transmissão não afeta apenas o ser humano, mas também a fauna do país. Como mecanismo de prevenção à problemática apresentada, na região norte do Estado do Tocantins especificamente nos municípios de São Bento do Tocantins, Cachoeirinha e Ananás, a população usa o extrato da polpa e o óleo da amêndoa do tucum mirim como unguento na prevenção de picadas de insetos, tanto em pessoas, quanto na fauna da região.

Nesse contexto, encontra-se *Astrocaryum acaule* Mart., espécie do cerrado pertencente à família *Arecaceae*, conhecida popularmente por tucum mirim, possui um potencial econômico e cultural relevante, contando com o aproveitamento de praticamente todas as partes da planta (Henderson, 1995). Nessa perspectiva, encontra-se o óleo da polpa e da amêndoa de *A. acaule*. Descobriu-se que, como princípios ativos responsáveis pelos teores de repelência e inseticida, têm-se os seguintes componentes encontrados no fruto: Dilapiol, Icaridina, Dietitoluamida e Cipermetrina (Soares; Serra; Sampaio, 2022). Além disso, estudou-se a possibilidade da solução repelenticida extraída a partir do Tucum Mirim ser utilizada como inseticida e larvicida, por possuir princípios ativos que podem atuar com essa finalidade.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as atividades repelenticida frente

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

a formigas e análise para a ação larvívora do óleo de *Astrocaryum acaule* (tucum mirim) frente a *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres).

METODOLOGIA

Coleta das amostras

A metodologia adotada no estudo envolveu diversas etapas. Inicialmente, os frutos do Tucum mirim foram coletados em uma área caracterizada por um ambiente úmido e pertencente à região do Cerradão. Totalizando-se 293 frutos, dos quais se dividiram em verdes e maduros, sendo posteriormente constatado que os frutos maduros apresentaram os resultados mais promissores, totalizando 159 frutos desta categoria.

Produção da solução repelente

Em seguida, os frutos maduros foram submetidos à avaliação de massa e medidas. A extração do álcool da polpa do *Astrocaryum acaule* foi conduzida com base em métodos estabelecidos por Biase e Deschamps (2009) e Farmacopeia Brasileira (2010). Para isso, utilizou-se 500g de polpa de tucum, 1 pacote de fermento biológico, 500 ml de água. A solução extraída foi então utilizada no processo de fermentação, onde a *Saccharomyces cerevisiae* foi inoculada, resultando na produção de glicose e frutose e, por fim, mediante processos de atuação enzimática, obteve-se o etanol, que será utilizado na produção da solução repelente, como será discutido posteriormente.

A extração do óleo da amêndoa do tucum mirim foi realizada por meio de prensagem contínua a frio. Para obter o pó do tucum mirim, os frutos in natura foram despolpados e, posteriormente, foram submetidos a um processo de cozimento e desidratação em estufa. No que concerne a obtenção de *A. acaule* foi realizada pelo processo de prensagem contínua a frio.

A etapa subsequente envolveu a preparação da solução repelente, que incluiu a adição de gramas de pó triturado, de álcool produzido anteriormente e de óleo do Tucum mirim. As 4 amostras foram preparadas em concentrações diferentes de álcool e de óleo do *Astrocaryum acaule*. A amostra 01 possui concentração de 80% de álcool e 20% de óleo, a partir disso, nas demais amostras 2,3 e 4, optou-se por reduzir 10% da concentração de álcool e aumentar 10% da concentração de óleo. Dessa forma, as amostras ficaram com as respectivas concentrações de álcool e de óleo, 70%/30% (amostra 02), 60%/40% (amostra 03), 50%/50% (amostra 04).

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Posteriormente, o material foi posto em repouso por 8 dias, sendo agitado a cada 5 horas durante o dia. Após esse período, o óleo essencial das amostras foi extraído. As amostras contendo os óleos essenciais foram então submetidas a uma estufa à vácuo. A filtração das amostras foi realizada e repetida por mais três vezes. Em seguida, as amostras foram submetidas a um processo de purificação, produzindo-se, assim, 4 diferentes amostras.

Ensaio repelentida em material orgânico

Os ensaios de repelência biológica foram baseados em uma adaptação de Guerra *et al.* (2012). Nessa etapa, o procedimento experimental, foi utilizado duas espécies de formigas: formiga de fogo (*Solenopsis invicta*) e formiga faraó (*Monomorium pharaonis*) para a participação no estudo. Foram postas placas de presunto de porco e observou-se a atratividade das formigas ao longo do tempo nas placas com e sem a solução repelentida. Foi adicionado 5 gotas da solução em cada placa, variando a concentração de princípios ativos em amostras diferentes (amostras 01 a 04).

Na placa 01 adicionou-se a amostra 01 com 31,1% de princípios ativos, na placa 02 adicionou-se a amostra 02, com 68,1% de princípios ativos, na placa 03, foi a amostra 03, com 68,7% de princípio ativo e, por fim, na placa 04, adicionou-se a amostra 04 com 86,9% de princípios ativos da solução extraída do óleo do Tucum Mirim.

Ensaio comparativo entre a solução repelentida do óleo do Tucum mirim e repelente industrial (fármaco 1) em material orgânico

Utilizou-se amostras de presunto para realizar uma comparação entre a solução repelente derivada do óleo do Tucum mirim e um repelente comercial disponível no mercado, designado como fármaco 01, que apresenta 11,05-14,5% de concentração de princípios ativos, de acordo com Stefani et al. (2009). Sabe-se que a solução repelente extraída do Tucum Mirim incluiu Dilapiol, Icaridina, Dietitoluamina e Cipermetrina. No decorrer do procedimento experimental, cada amostra foi aplicada em placas de teste contendo material orgânico, permitindo-se um período de ação de 10 minutos. Este ciclo foi repetido, totalizando 1 hora e 30 minutos de exposição.

Volatilização da solução repelentida do óleo do Tucum Mirim, realizando-se também um comparativo com o fármaco 1

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Foi realizado, então, um ensaio de volatilização, para isso, aplicou-se 2 ml da amostra do fruto maduro produzido em papel tornassol, que foi exposto ao sol e à sombra a uma temperatura de 37°C. Os tempos de volatilização foram registrados e tabulados em uma tabela de resultados.

Teste Genético e Molecular dos princípios ativos do *Astrocaryum acaule* (tucum mirim) em larva de mosca do chifre (*Haematobia irritans*)

A metodologia utilizada para o tópico descrito foi a de sequenciamento em pequena Escala de Sanger e colaboradores (1977), baseado em reações enzimáticas, que permitem determinar a sequência de nucleotídeos de fragmentos maiores de DNA. Portanto, baseia-se no uso de uma enzima de DNA polimerase para sintetizar cadeias de DNA de comprimento variados. Os materiais utilizados foram as larvas do chifre (*Haematobia irritans*), sequenciador portátil de DNA e RNA (NANOPORE), amostra de DNA da espécie analisada. Na realização da simulação computadorizada das sequências biológicas, como os nucleotídeos do DNA e aminoácidos de proteínas, foram utilizados os Softwares BLAST e CLUSTAL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao ensaio de repelência utilizando presunto foi realizado para avaliar a eficácia de uma solução repelenticida extraída do óleo essencial do fruto estudado contra duas espécies de formigas: a formiga de fogo (*Solenopsis invicta*) e a formiga faraó (*Monomorium pharaonis*), pode ser observado na Figura 01. As observações demonstraram que as placas contendo o material orgânico, o presunto, atraíram consideravelmente as formigas ao longo do tempo. Em contrapartida as placas tratadas com o repelente à base do óleo do tucum mirim não apresentaram a presença de insetos, o que demonstrou a alta eficácia da solução repelenticida extraída do fruto.

Em um segundo teste, diferentes concentrações de princípios ativos foram adicionadas às placas sem a utilização da solução. Os resultados mostraram que a placa com a maior concentração de princípios ativos (86,9%) obteve um índice de repelência de 100%, e foi responsável pela morte de 56% dos insetos. Os dados anteriores confirmaram que essa concentração utilizada é eficiente, também, como inseticida biológico.

Figura 01: Resultado do ensaio de repelência contra formigas de fogo (*Solenopsis invicta*) e contra formigas faraó (*Monomiriam phoraonis*) utilizando material biológico.

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

Fonte: Autor (2022).

Observa-se na Figura 1 a placa contendo *Solenopsis invicta* a atratividade do material biológico foi reduzida, entretanto, ainda assim, houve um nível de repelenência superior na amostra contendo a solução repelenticida extraída do *Astrocaryum acaule*. Em relação à *Monomorium pharaonis*, percebeu-se que a atratividade foi alta, notando-se, dessa forma, que o nível de repelenência da placa contendo a solução repelenticida foi superior comparando-a ao repelente industrializado analisado

Esses resultados indicam que os princípios ativos presentes no óleo essencial do tucum mirim podem ser aplicados com sucesso como solução repelenticida e inseticida contra as espécies de formigas testadas, e a eficácia pode variar de acordo com a quantidade de princípios ativos presente. Ademais, a ação dos princípios ativos foi atribuída à inibição do funcionamento das enzimas responsáveis pela função de desintoxicação das formigas. Logo, esse mecanismo bloqueia o sistema de autodefesa do organismo dos insetos, levando ao acúmulo de toxinas e, por consequência, à morte deles.

No que concerne ao estudo das análises de volatilização do repelente biológico extraído do *Astrocaryum acaule*, teve-se como finalidade avaliar a sua eficácia e tempo de ação na pele humana ou animal. Para o ensaio, aplicou-se 2 ml de cada amostra produzida em papel tornassol, e as amostras foram postas em exposição ao sol e à sombra, com temperatura de 37°C. Os resultados comparados foram que na amostra do fruto maduro, a volatilização na sombra foi de 1 hora e 41 minutos e no sol foi de 1 hora e 15 minutos. Já no fármaco 01 a volatilização na sombra foi de 25 minutos e no sol foi de 17 minutos.

Diante dos resultados, observa-se que o repelente biológico utilizando os princípios ativos do *Astrocaryum Acaule* apresentou maior eficiência, pelo menor tempo de volatilização,

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

permanecendo, assim, mais tempo em contato com o tecido epitelial, o que diminui a probabilidade de arboviroses e elucida suas capacidades fixadoras na pele.

Finalizando a coleta de resultados, foram realizados testes genéticos e moleculares dos princípios ativos do *Astrocaryum acaule* em larvas da mosca do chifre (*Haematobia irritans*). Na simulação computadorizada da alteração do códon da larva *Haematobia irritans*, verificou-se que os aminoácidos metionina e triptofano foram alterados após o contato da larva com a amostra com 86,9% de princípios ativos em 100 ml do produto sintetizado. Essa modificação ocorreu após 30 minutos de aplicação.

A simulação computadorizada demonstrou que o contato das larvas com a cipermetrina e dilapiol, presentes nos princípios ativos do tucum mirim, resultou na destruição do triptofano, a UGG (uracila e guanina). Cada teste realizado demonstrou que o princípio ativo extraído do fruto estudado atuou como inseticida, destruindo o organismo das larvas da mosca do chifre. Isso comprova cientificamente a eficácia do produto, que já é aplicado de forma empírica pela população.

Ademais, no teste de sequenciamento genético, observou-se a alteração do códon UGG nos genes da larva da mosca do chifre após o tratamento com as amostras do tucum mirim. A modificação da UGG pode acarretar alterações estruturais moleculares nas funções reprodutivas, como o desenvolvimento de fêmeas estéreis. Sabe-se que a linhagem genética de separação sexual é influenciada pelo sistema de cromossomos sexuais XX/XY nas moscas do chifre. A sensibilidade à aplicação de inseticida é ligada ao alelo selvagem no cromossomo Y usando a translocação. A linhagem mutante para a separação sexual pode possuir fêmeas homozigotas para a sensibilidade à cipermetrina, o que pode acarretar a morte de fêmeas ou sua esterilidade. Essa abordagem de controle pode ser aplicada à população como um todo, evitando a manipulação individual de larvas e mantendo a qualidade reprodutiva.

Portanto, esses resultados indicam que os princípios ativos do tucum mirim possuem efeitos significativos na larva da mosca do chifre, atuando como inseticida e interferindo em suas funções genéticas e reprodutivas.

CONCLUSÕES

Os resultados apresentados têm implicações significativas para futuras pesquisas em controle biológico de insetos e para o desenvolvimento de produtos mais seguros e eficazes em ambientes onde o controle de artrópodes é crucial. Além disso, a solução do fruto estudado

VI Semana Acadêmica de Pesquisa, Inovação e Extensão da UEMASUL
07 a 09 de novembro de 2023- Imperatriz - MA

mostrou eficácia na volatilização, prometendo repelentes mais duradouros e eficazes na proteção contra arboviroses e outras doenças transmitidas por insetos. Logo, o estudo indica um caminho promissor para o desenvolvimento de soluções mais eficazes e seguras no combate a doenças transmitidas por insetos.

APOIO FINANCEIRO

Este trabalho foi financiado pela FAPEMA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIASI, L.A.; DESCHAMPS, C.; Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda. 2009.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, v. 2, n. 5, v., p. 546, 2010

Dengue no Brasil: país ultrapassa 1 milhão de casos em 2023. O GLOBO, 15 de maio 2023. Disponível: em: <https://oglobo.globo.com/saude/noticia/2023/05/dengue-brasil-ultrapassa-1-milhao-de-casos-em-2023-por-que-doenca-cresce.ghtml>. Acesso em: 20 jul. 2023.

GUERRA, A. M. N. de M. et al. Teste de repelência de óleos essenciais sobre *Callosobruchus maculatus*. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável, v. 9, n. 3, 2019.

HENDERSON et al. The palms of the Amazon. Oxford University Press, 1995.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde. v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

OLIVEIRA, F.; DIAS, M. Situação epidemiológica da dengue, chikungunya e zika no estado do RN: uma abordagem necessária. Revista Humano Ser. V.1, n. 1, p. 64-85, 2016.

SOARES, Z.; SERRA, G.; SAMPAIO; FONSECA, C. Óleo do tucum mirim (*astrocaryum acaule*): avaliação do seu potencial como repelente veiculado a um modelo experimental in vitro. Brazilian Journal of Development, v. 8, n. 1, p. 1312-1350, 2022.

STEFANI, G. P. et al. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. Revista Paulista de Pediatria, v. 27, n. 1, p. 81-89, 2009.