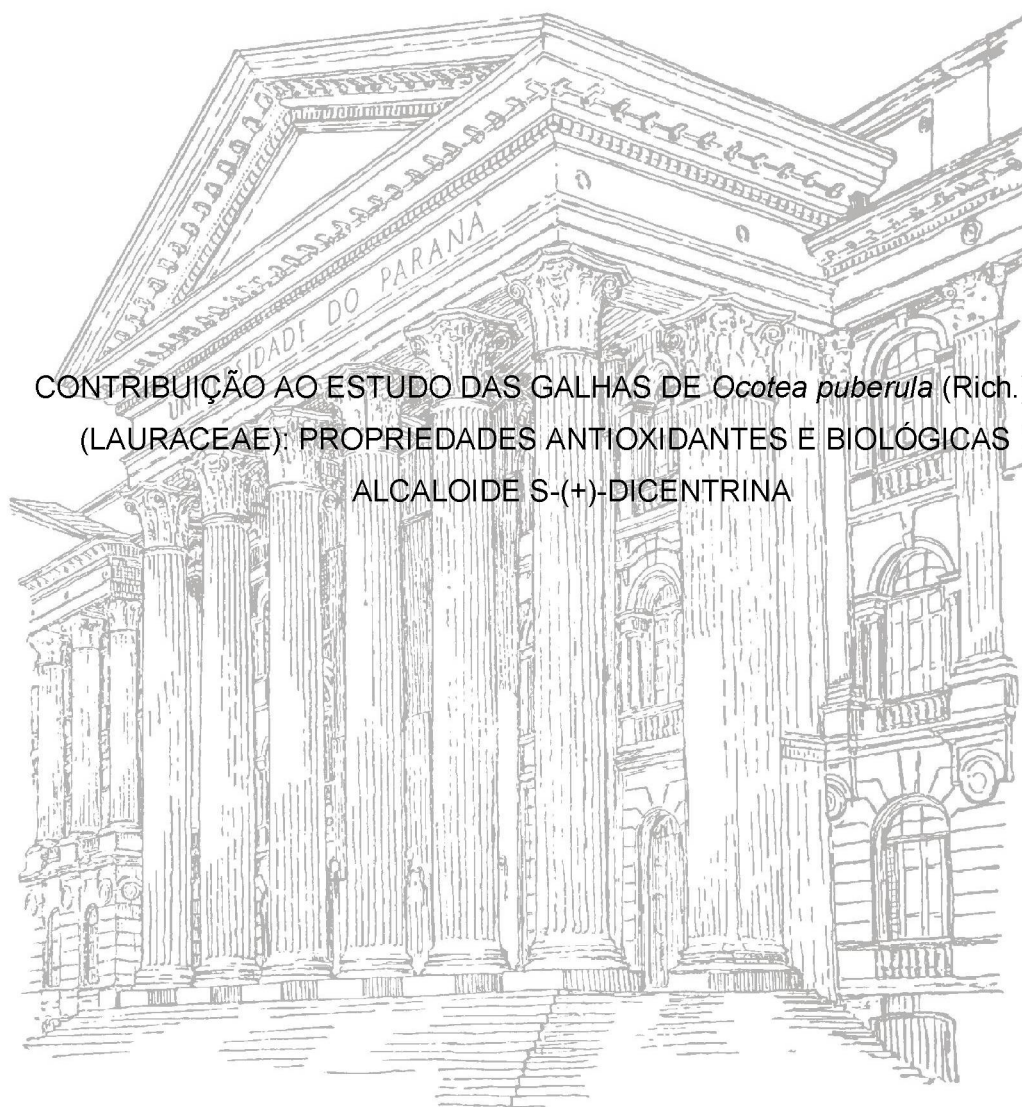


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROSEMARI POVALUK PEREWALO



CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DAS GALHAS DE *Ocotea puberula* (Rich.) Nees
(LAURACEAE): PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E BIOLÓGICAS DO
ALCALOIDE S-(+)-DICENTRINA

CURITIBA

2019

ROSEMARI POVALUK PEREWALO

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DAS GALHAS DE *Ocotea puberula* (Rich.) Nees
(LAURACEAE): PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E BIOLÓGICAS DO
ALCALOIDE S-(+)-DICENTRINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^aDr.^a Josiane de Fátima Gaspari
Dias

Coorientadora: Prof.^aDr.^a Sandra Maria W. Zanin
Coorientadora: Prof.^aDr.^a Deise Prehs Montrucchio

CURITIBA

2019

Perewalo, Rosemari Povaluk

Contribuição ao estudo das galhas de *Ocotea puberula* (Rich.) Nees (Lauraceae)
[recurso eletrônico]: propriedades antioxidantes e biológicas do alcaloide S-(+)-
dicentrina / Rosemari Povaluk Perewalo – Curitiba, 2019.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná,
2019.

Orientadora: Professora Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias
Coorientadora: Professora Dra. Sandra Maria W. Zanin
Coorientadora: Professora Dra. Deise Prehs Montrucchio

1. *Ocotea*. 2. Alelopatia. 3. Potencial antioxidante. 5. *Aedes aegypti*. I. Dias,
Josiane de Fátima Gaspari. II. Zanin, Sandra Maria W. III. Montrucchio, Deise
Prehs. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDD 583.931



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÉUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ROSEMARI POVALUK PEREWALO** intitulada: **CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DAS GALHAS DE *Ocotea puberula* (Rich.) Nees (LAURACEAE): PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E BIOLÓGICAS DO ALCALOIDE ISOLADO S-(+)-DICENTRINA**, sob orientação da Profa. Dra. JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 19 de Dezembro de 2019.

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

MARLIS DALLARMI MIGUEL

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho ao meu amado esposo Igor e ao nosso grande amor Matheus.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo Dom da vida.

A Nossa Senhora pela saúde e graças recebidas.

Aos meus pais Iracema e José (*in memoriam*) por todo o amor recebido, exemplo de vida e por nunca terem medido esforços para minha formação. Os valores que me passaram sempre serão minha base.

Aos meus irmãos Ana e Savius pelas mais doces lembranças da infância.

Ao meu amado esposo Igor pelo apoio e suporte desde a graduação até os dias de hoje. Pelo amor, carinho e paciência em todos os momentos em que cogitei não ser possível finalizar essa etapa e por ser meu o meu parceiro nessa jornada.

Ao meu grande amor, meu filho Matheus, por me ensinar tanta coisa desde tão pequenino. És com certeza minha maior riqueza! Agradeço por dividir a mamãe com o mestrado!

A minha família, meus amigos e afilhados.

A Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Ao Núcleo de Estudos em Produtos Naturais e Farmacotécnica, professores, técnicos e alunos de iniciação científica, mestrado e doutorado.

Aos amigos que o mestrado me trouxe, especialmente Ana Angélica que desde o primeiro dia esteve comigo e tornou tudo mais leve! Paula, Carol, Larissa, Natasha e Fernando Betim por todo o auxílio durante essa caminhada.

À Profa. Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias pela compreensão, conhecimento e apoio sempre! Agradeço também a oportunidade e experiência do estágio em docência.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

EPÍGRAFE

***“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor,
seria como o metal que soa ou como o sino que tine.***

***E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda
a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os
montes, e não tivesse amor, nada seria.”***

1 Coríntios 13:1,2

RESUMO

A espécie *Ocotea puberula* (Rich.) Nees, pertencente à família Lauraceae, é rica em metabólitos secundários dentre eles, os alcaloides. Os alcaloides possuem um amplo espectro de ações farmacológicas reconhecidos tais como, anti-inflamatória, analgésica, ansiolítica e antimalárica. Estudos já relataram atividade citotóxica, larvicida e efeito antinociceptivo do alcaloide dicentrina. Sendo assim este trabalho teve como objetivo investigar o potencial antioxidante e biológico da dicentrina isolada das galhas de *Ocotea puberula*. Para avaliar o potencial antioxidante foram utilizadas as técnicas da formação do complexo fosfomolibdênio e a redução do DPPH•. Ao avaliar o potencial antioxidante foi verificado pelo método do fosfomolibdênio que a dicentrina teve um potencial antioxidante de 90,68% em comparação a rutina, 30,88% em comparação ao BHT e 16,62% em relação ao ácido ascórbico. Pelo método DPPH• apresentou $Cl_{50} = 943,11 \mu\text{g/mL}$, indicativo de baixo potencial antioxidante. A atividade biológica foi avaliada utilizando *Artemia salina*, eritrócitos de carneiro, larvas de *Aedes aegypti* e duas espécies alvo. Ao avaliar a dicentrina em *Artemia salina* foi verificado um baixo potencial tóxico e sobre eritrócitos de carneiro a dicentrina não causou hemólise nas concentrações testadas. Na avaliação da atividade larvicida em *Aedes aegypti* a dicentrina apresentou $CL_{50} = 23,62 \mu\text{g/mL}$, ou seja, potencial larvicida. Sobre *Lactuca sativa* a dicentrina não influenciou a germinação, o IVG e crescimento do hipocótilo, porém o crescimento da radícula foi estimulado com $250 \mu\text{g/mL}$ e inibido com $500 \mu\text{g/mL}$. Sobre *Allium cepa* a dicentrina com 25 e $100 \mu\text{g/mL}$ estimulou a porcentagem de germinação e o IVG. O crescimento da radícula de *Allium cepa* não foi influenciado pelas amostras testadas, porém, o coleóptilo foi estimulado com $25 \mu\text{g/mL}$ e inibido com $50 \mu\text{g/mL}$. Após avaliação dos resultados apresentados nos testes escolhidos foi observado que a dicentrina possui um potencial larvicida e alelopático.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*. Alelopatia. *Ocotea*. Potencial antioxidante

ABSTRACT

The species *Ocotea puberula* (Rich.) Nees, belongs to the Lauraceae family and is rich in secondary metabolites, among them, the alkaloids. Alkaloids have a wide range of recognized pharmacological actions, such as anti-inflammatory, analgesic, anxiolytic and antimalarial. Studies have already reported cytotoxic activity, larvicide and antinociceptive effects of the dicentrine alkaloid. Therefore, this study aimed to investigate the antioxidant and biological potential of isolated dicentrine from galls of *Ocotea puberula*. To evaluate the antioxidant potential, the techniques used to form the phosphomolybdenum complex and the reduction of DPPH• were used. When assessing the antioxidant potential, it was verified by the phosphomolybdenum method that the dicentrine has had an antioxidant potential of 90.68% compared to rutin, 30.88% compared to BHT and 16.62% compared to ascorbic acid. By the DPPH• method it was presented IC₅₀ = 943.11 µg/mL, indicative of low antioxidant potential. Biological activity was assessed using *Artemia salina*, sheep erythrocytes, *Aedes aegypti* larvae and two target species. When evaluating dicentrine in *Artemia salina*, a low toxic potential was found and on sheep's erythrocytes, dicentrine did not cause hemolysis in the tested concentrations. In the assessment of larvicidal activity in *Aedes aegypti*, dicentrine showed LC₅₀ = 23.62 µg/mL, which is, larvicidal potential. On *Lactuca sativa*, dicentrine did not influence germination, IVG and hypocotyl growth, but root growth was stimulated with 250 µg/mL and inhibited with 500 µg/mL. In addition, *Allium cepa* dicentrine with 25 and 100 µg/mL stimulated the germination percentage and the IVG. The growth of the *Allium cepa* root was not influenced by the tested samples, however, the coleoptile was stimulated with 25 µg/mL and inhibited with 50 µg/mL. After evaluating the rerresults presented in the chosen tests, it was observed that dicentrine has a larvicidal and allelopathic potential.

Keywords: *Aedes aegypti*. Allelopathy. *Ocotea*. Antioxidant potential

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESTRUTURA DE ALCALOIDES APORFÍNICOS	24
FIGURA 2 – ESTRUTURA MOLECULAR DA DICENTRINA	26
FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DE ATIVIDADES PRÁTICAS REALIZADAS.....	32
FIGURA 4 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (AAR%) DA DICENTRINA COMPARADA AO BHT, ÁCIDO ASCÓRBICO E RUTINA, PELO MÉTODO DA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO	41
FIGURA 5 – CURVAS DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DA DICENTRINA, ÁCIDO ASCÓRBICO, BHT E RUTINA NO ENSAIO DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH.....	42
FIGURA 6 – RESULTADOS DO ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE A <i>Artemia</i> <i>salina</i> DE AMOSTRAS QUE CAUSARAM MORTALIDADE	44
FIGURA 7 – RESULTADOS DO ENSAIO DE ATIVIDADE LARVICIDA DA DICENTRINA FRENTE AO <i>Aedes aegypti</i>	46
FIGURA 8 – PERCENTUAL HEMOLÍTICO CAUSADA PELA SAPONINA COMPARADA A ATIVIDADE DO TRITON E DA ÁGUA.....	48
FIGURA 9 – INFLUÊNCIA DA DICENTRINA NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i>	50
FIGURA 10 – INFLUÊNCIA DA DICENTRINA NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE SEMENTES DE <i>Allium cepa</i>	53

LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1 – QUANTIDADES UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA	37
TABELA 2 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DA DICENTRINA EM COMPARAÇÃO À RUTINA, BHT E ÁCIDO ASCÓRBICO.....	40
TABELA 3 – VALORES DE CI_{50} DO ÁCIDO ASCÓRBICO, DO BHT, DA RUTINA E DA DICENTRINA NO ENSAIO DE REDUÇÃO DO DPPH•	42
TABELA 4 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA DICENTRINA FRENTE À <i>Artemia salina</i>	44
TABELA 5 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DA DICENTRINA EM <i>Aedes aegypti</i>	45
TABELA 6 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA DICENTRINA EM HEMÁCIAS DE CARNEIRO.....	47
TABELA 7 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DA DICENTRINA EM <i>Lactuca sativa</i>	49
TABELA 7– RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DA DICENTRINA EM <i>Allium cepa</i>	51
QUADRO 1 - ATIVIDADE BIOLÓGICAS E FARMACOLÓGICAS EM PLANTAS DO GÊNERO <i>Ocotea</i>	18
QUADRO 2– ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DA ESPÉCIE <i>Ocotea puberula</i>	19
QUADRO 3– EXEMPLOS DE ALCALOIDES APORFINOIDES ISOLADOS EM ESPÉCIES DE <i>Ocotea</i>	25

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA - Atividade antioxidante

AAR - Atividade antioxidante relativa

Abs – absorbância

BHT – hidroxitolueno butilado

BOD – biochemical oxygen demand

CI₅₀ – concentração inibitória 50%

CL₅₀ – concentração letal 50%

CL₉₀ – concentração letal 90%

Dic – dicentrina

DMSO – dimetilsulfóxido

DP – desvio padrão

DPPH• – Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

gl – grau de liberdade

INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial

IVG – índice de velocidade de germinação

LCI – limite de confiança inferior

LCS – limite de confiança superior

p – p valor

PBS – phosphate-buffered saline

pH – potencial hidrogeniônico

rpm – rotações por minuto

SQ – sulfato de quinidina

TAS – toxicidade em *Artemia salina*

UR – umidade relativa

UV – ultravioleta

W – watts

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVO GERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 FAMÍLIA LAURACEAE	16
2.2 GÊNERO <i>Ocotea</i> Aubl.	17
2.3 ESPÉCIE <i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees	19
2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	21
2.5 ALCALOIDES	22
2.5.1 Alcaloides aporfinicos	23
2.6 DICENTRINA	26
2.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	27
2.8 ALELOPATIA E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	28
2.9 <i>Artemia salina</i> : BIOENSAIO E CITOTOXICIDADE	29
2.10 SUBSTÂNCIAS DE ORIGEM NATURAL COM ATIVIDADE LARVICIDA	29
3 METODOLOGIA	32
3.1 OBTENÇÃO DA DICENTRINA	32
3.2 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES	32
3.2.1 Formação do Complexo Fosfomolibdênio	32
3.2.2 Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical 2,2- difenil-1- picrilhidrazila (DPPH•)	33
3.3 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS	34
3.3.1 Avaliação da toxicidade frente a <i>Artemia salina</i>	34
3.3.2 Avaliação da toxicidade frente ao <i>Aedes aegypti</i> L.	35
3.3.2 Avaliação da Atividade Hemolítica <i>in vitro</i>	36
3.3.4 Atividade alelopática	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES	40
4.1.1 Formação do complexo fosfomolibdênio	40
4.1.2 Avaliação da atividade antioxidante pela redução do radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazila (DPPH•)	41

4.2 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS	43
4.2.1 Avaliação da toxicidade frente a <i>Artemia salina</i>	43
4.2.2 Avaliação da atividade larvícida frente ao <i>Aedes aegypti</i>	45
4.2.3 Avaliação da atividade hemolítica <i>in vitro</i>	47
4.2.4 Atividade alelopática	48
5.CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais destacam-se na pesquisa de fontes de novas moléculas bioativas. Muitos fármacos utilizados são sintetizados a partir de estruturas descobertas de metabólitos secundários ou derivadas diretamente de produtos naturais. (HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015; FIELD et al., 2017). Uma grande variedade de substâncias é produzida pelas plantas, o que as torna objeto de estudo para a pesquisa de compostos com propriedades biológicas. (GIORDANI et al., 2008). Dentre os fármacos anticâncer, 60% são provenientes de produtos naturais, como por exemplo: vimblastina (Velban[®]), vincristina (Oncovin[®]), vindesina (Eldisine[®]), vinorelbina (Navelbine[®]) e o paclitaxel (Taxol[®]). (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

Representada no Brasil por 24 gêneros e 441 espécies, a família Lauraceae destaca-se ao ser empregada na medicina popular e em distintas áreas de interesse econômico como na indústria química, farmacêutica e alimentícia. (QUINET et al., 2015).

Metabólitos secundários como as neolignanas e lignanas, alcaloides aporfínicos e benzilisoquinolínicos, flavonoides, sesquiterpenos e pironas são encontrados na família Lauraceae, o que torna a família um alvo frequente de estudos. (GARCEZ et al., 2011). Os alcaloides desempenham importantes funções nos vegetais, dentre elas, reserva de nitrogênio, hormônios reguladores do crescimento, defesa contra a invasão de microrganismos e vírus e proteção contra a radiação ultravioleta. (KLEIN-JÚNIOR; HENRIQUES, 2017). Cordell, Quim-Beattie e Farnsworth (2001) registraram em seu trabalho o isolamento de 425 alcaloides distribuídos em 189 espécies de 25 gêneros da família Lauraceae.

O gênero *Ocotea* apresenta compostos químicos de interesse industrial e farmacológicos relevantes. (BARREIRO; BOLZANI, 2009). Extratos e óleos essenciais de espécies do gênero *Ocotea* apresentam atividades biológicas distintas o que confere a ele importância econômica e aplicação em vários estudos. (DA SILVA et al., 2017). O interesse fitoquímico nesse gênero pode ser verificado pela quantidade de moléculas já isoladas, como por exemplo, a nantenina, bloqueadora de contração muscular e da translocação de cálcio (RIBEIRO et al., 2003) e a glaucina, que possui ação citotóxica. (HOET et al., 2004). A *Ocotea puberula* (Reich)

Nees é uma árvore nativa brasileira e uma das plantas pioneiras mais comuns do Planalto Meridional ou Planalto Sul-Brasileiro (LORENZI, 1998). A composição fitoquímica inclui diversas classes de compostos flavonoides, taninos, esteróides, triterpenos e principalmente alcaloides. (ARAUJO, 2000).

Os alcaloides do tipo aporfinoídeos são comumente encontrados em espécies do gênero *Ocotea*, e em *Ocotea puberula* há descrição de sua ocorrência e uso (ARAUJO, 2000; ZANIN et al., 2011). A dicentrina, um alcaloide do tipo aporfinoide, foi isolada em *Ocotea puberula* e *Ocotea velloziana* e farmacologicamente apresentou efeito citostático contra algumas células tumorais, efeitos de inibição sobre agregação plaquetária induzida por ácido araquidônico, efeito vasorelaxante e anti-hipertensivo. (HUANG et. al., 1998; WOO et al., 1999; STÉVIGNY et al., 2002; HOET et al., 2004; STÉVIGNY, BAILLY, QUETIN-LECLERCQ, 2005).

Nesse contexto, essa pesquisa se justifica por investigar atividades biológicas e propriedades antioxidantes da dicentrina, alcaloide isolado de um gênero com grande potencial.

1.1 OBJETIVO GERAL

Pesquisar as propriedades antioxidantes e atividades biológicas do alcaloide S-(+)-Dicentrina isolado das galhas de *Ocotea puberula* (Reich.) Nees (Lauraceae).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar as propriedades antioxidantes;
- Verificar a toxicidade sobre *Artemia salina*;
- Avaliar a atividade hemolítica *in vitro*;
- Avaliar o potencial larvicida;
- Avaliar a atividade alelopática.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A FAMÍLIA LAURACEAE

A família Lauraceae pertence à ordem Laurales e está entre as famílias mais primitivas da subclasse Magnoliidae. (APG, 2016). Estima-se que existam entre 2500 a 3500 espécies de Lauraceae, subdivididas em 50 gêneros. (ROHWER, 1993).

Em relação a sua distribuição geográfica, sabe-se que essa família está presente em todos os continentes e possui diversos espécimes nas Américas, Ásia Tropical, Austrália e Madagascar. Ainda, existem relatos da presença de alguns membros da família nas regiões temperadas. (ROHWER, 1993).

Considerado um dos mais relevantes grupos da flora brasileira, a família Lauraceae reúne espécies de valor, tanto pela qualidade da madeira, como pela produção de frutos, óleos e especiarias. (MARCHIORI, 1980). Destaca-se pela sua importância econômica, tendo espécies empregadas em indústrias de perfume e cosméticos, materiais de limpeza, alimentos e medicamentos. (MARQUES, 2001). No Brasil, foi relatada a presença de 24 gêneros e 441 espécies, sendo que no Paraná existem 12 gêneros e 66 espécies. (QUINET et al., 2015).

De acordo com Marques (2001), a família Lauraceae é utilizada de forma variada na medicina popular, agindo em diferentes patologias. A infusão das folhas de *Persea americana* Mill (abacateiro), por exemplo, é utilizada no tratamento da artrite e reumatismo. (ALBUQUERQUE, 2001). A espécie *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) mostrou ter ação antisséptica, digestiva e anti-inflamatória. (CABRAL; MACIEL, 2011); os frutos e folhas de *Nectandra pichurim* (Kunth) Mez, que são odoríferos, são usados no combate à cólicas e problemas gástricos; e o lenho de *Nectandra rodiei* Schomb. é reconhecido como tônico, antipirético, relaxante vascular e antimalárico. (MARQUES, 2001).

Estudos realizados comprovaram diversas atividades farmacológicas de espécies de Lauraceae, dentre as quais se destacam atividade anti-inflamatória (MELO et al., 2006), analgésica, anti-pirética, imunomoduladora (RAVINDRAN; NIRMAL-BABU; SHYLAJA, 2004), antiviral (KOHN et al., 2012) e antibacteriana. (NABAVI et al., 2015). A espécie *Aniba canellila* (Kunth) é utilizada no tratamento de

atrite, febre, cólica, dispepsia e malária. (BOTSARIS, 2007). No entanto, várias espécies desta família encontradas no Brasil ainda não foram investigadas quanto às suas atividades biológicas.

Dentre os metabólitos secundários de maior relevância na família Lauraceae estão os alcaloides, com destaque especial para os do tipo aporfinicos, benzilisoquinólicos, indolizínicos e triptamínicos. (CORDEL; QUIRN-BEATTIE; FARNSWORTH, 2001).

2.2 O GÊNERO *Ocotea* Aubl.

Contando com cerca de 350 espécies, localizadas principalmente na região neotropical, porém com algumas espécies na África e Madagascar, o gênero *Ocotea* Aubl é um dos maiores da família Lauraceae. (VAN DER WERFF; RICHTER, 1996). No Brasil, cerca de 170 espécies podem ser encontradas (QUINET et al., 2016) e no Estado do Paraná 31 espécies. (BROTTO; CERVI, SANTOS, 2013).

Conhecido por ser uma fonte de neolignanas e alcaloides benzilisoquinoleínicos, este gênero também apresenta suas espécies como geralmente aromáticas, sendo empregadas em produtos de perfumaria e aromatizantes. O óleo essencial apresenta composição distinta de acordo com a espécie da qual é extraído. (TAKAKU, 2007). A variação na composição de cada óleo confere diferentes propriedades, como atividade antiplaquetária (TOGNOLINI et. al., 2006) e anti-hipertensiva. (BARBOSA-FILHO et. al., 2008).

O gênero caracteriza-se quimicamente por apresentar em sua composição metabólitos secundários, como alcaloides isoquinolínicos, lignanas e óleos essenciais. (COUTINHO et al., 2006). Dentre as atividades já encontradas em algumas espécies de *Ocotea*, destacam-se a atividade analgésica (MONTRUCCHIO et al., 2012), antioxidante (BRUNI et al., 2004) antibacteriana e antifúngica (SOUZA, 2004), relaxante muscular (RIBEIRO et al., 2003) e antimalárica (MENUT, 2002). Algumas atividades biológicas e propriedades farmacológicas do gênero *Ocotea* estão apresentadas no QUADRO 1.

QUADRO 1 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E FARMACOLÓGICAS EM PLANTAS DO GÊNERO
Ocotea

ESPÉCIE	ATIVIDADE BIOLÓGICA/ FARMACOLÓGICA
<i>Ocotea acutifolia</i> (Nees) Mez	Anestésica (SILVA et al. 2013) Genotoxicidade (GUTERRES et al., 2013) Citotóxica (GARCEZ et al., 2011)
<i>Ocotea bullata</i> (Burch.) E. Mey. ex Drège	Anti-inflamatória (ZSCHOCKE et al., 2000)
<i>Ocotea cymosa</i> Benth.	Larvicida; antiplasmodial (RAKOTONDRAIBE et al., 2015)
<i>Ocotea longifolia</i> Kunth.	Inseticida e fungicida (PRIETO et al., 2010)
<i>Ocotea leucoxydon</i> (Sw.) Laness.	Anticolinesterásica (YAMAGUCHI et al., 2012)
<i>Ocotea notata</i> (Nees & Mart.) Mez	Anti-herpética (GARRETT et al., 2012) Toxicidade (GARRETT et al., 2013) Antimicrobiana (GARRETT et al., 2007)
<i>Ocotea minarum</i> (Nees & Mart.) Mez	Genotoxicidade (GUTERRES et al., 2012)
<i>Ocotea duckei</i> Vattimo	Leishmanicida (MONTE-NETO et al., 2007) Cardiovascular (BARBOSA-FILHO et al., 2008)
<i>Ocotea quixos</i> (Lam.) Kosterm.	Antibacteriana (BRUNI et al, 2004) Anti-inflamatória (BALLABENI et al., 2010) Antiplaquetária e anti-trombose (BALLABENI et al., 2007)
<i>Ocotea suaveolens</i> (Meisn.) Benth. & Hook. ex Hieron.	Antinociceptiva (BEIRITH et al., 1999)
<i>Ocotea heterochorma</i> Mez & Sodiro	Toxicidade (CUCA et al., 2009)
<i>Ocotea vellosiana</i> (Meisn.) Mez	Larvicida (SILVA, 2010)
<i>Ocotea macropylla</i> Kunth	Anti-inflamatória (BARRERA; SUAREZ, 2011) Fungicida (PRIETO et al., 2010)
<i>Ocotea pulchella</i> (Nees) Mez	Antioxidante, citotoxicidade, alelopatia (ARAUJO et al., 2012)
<i>Ocotea odorífera</i> (Vell.) Rohwer	Inseticida (JUNIOR et al., 2010) Alelopatia (CARMO et al., 2007)
<i>Ocotea nutans</i> (Nees) Mez	Antimicrobiana, antioxidante, larvicida, toxicidade (BETIM et al., 2019).
<i>Ocotea bicolor</i> Vattimo-Gil	Antioxidante, Antimicrobiano, toxicidade (DAMASCENO et al., 2017)
<i>Ocotea lancifolia</i> (Schott) Mez	Leishmanicida (FOURNET et al., 2007)
<i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees	Alelopatia (SILVA et al., 2006) Antinociceptiva (MONTRUCCHIO et al., 2012) Antioxidante, alelopatia (RIGONI, 2019)
<i>Ocotea diospyrifolia</i> (Meisn.) Mez	Antioxidante; tóxica; alelopatia (FABRI, et al. 2019)

FONTE: O autor (2019).

Custódio e Veiga Júnior (2014) listaram os principais alcaloides presentes no gênero *Ocotea*. Dentre as espécies, foram descritos como metabólitos da *Ocotea puberula* a dicentrina, N-metillaurotetanina, predicentrina, leucoxina, ocoteína, talicminina, isodomesticina, N-óxido-dicentrina, dehidroocoteína, didehidroocoteína e 3-hidroxidicentrina. A dicentrina, alcaloide majoritário encontrado na *Ocotea puberula*, destaca-se por possuir atividade antinociceptiva, atuando na dor neurogênica e inflamatória. (MONTRUCCHIO, 2012). No entanto, outros alcaloides encontrados no gênero *Ocotea* apresentam bioatividade, como por exemplo, a nantenina (bloqueador de contração muscular e translocação de cálcio) (RIBEIRO et al., 2003), e derivados da nantenina (antagonista α 1- adrenoreceptor). (INDRA et al., 2002).

2.3 A ESPÉCIE *Ocotea puberula* (Rich) Nees

O enquadramento taxonômico de *Ocotea puberula* (Reich) Nees (Lauraceae) está apresentado no QUADRO 2.

QUADRO 2 – ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DA ESPÉCIE *Ocotea puberula*

Hierarquia	Taxonomia
Espécie	<i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees
Gênero	<i>Ocotea</i> Aubl
Família	Lauraceae Juss.
Ordem	Laurales Juss. ex Bercht & J. Presl.
Superordem	Magnolianaes Takht.
Subclasse	Magnoliidae Novák. ex Takht.
Classe	Magnoliopsida (Dicotyledonae)

FONTE: Adaptado de CARVALHO (2002).

Denominada popularmente como canela-guaicá, canela-amarela, canela-parda ou canela-sebo, a *Ocotea puberula* (Rich.) Nees é frequentemente encontrada no Planalto Meridional ou Planalto Sul-Brasileiro. (BROTTO; CERVI; SANTOS, 2013). A espécie possui frutos com amadurecimento entre dezembro e fevereiro, folhas subcoriáceas com floração de julho a agosto, é uma árvore perenifólia com 10

a 15 metros de altura na idade adulta. (CARVALHO, 2003; LORENZI; MATOS, 2002).

A espécie *Ocotea puberula* apresenta frutos pequenos e de cor preta. Em alguns exemplares da espécie, no entanto, é observada a ocorrência de frutos fenotipicamente distintos dos descritos na literatura. (SOUZA; MOSCHETA, 2000). Os frutos modificados possuem um tamanho maior e coloração marrom, com as sementes íntegras. (MONTRUCCHIO, 2012).

De acordo com de Oliveira et al. (2006) as galhas podem estar relacionadas com alterações bioquímicas na planta, que em resposta ao ataque de organismos indutores diferem a estruturas do fruto, levando a modificação e/ou o aumento de determinados metabólitos. Dentre tais alterações na espécie vegetal estão a hiperplasia e hipertrofia do mesófilo, e o aumento da produção de amidos, flavonas, flavonoides e flavononas, conferindo ao galhador proteção e nutrição. (DE OLIVEIRA et al., 2006). Embora não esteja completamente elucidado, há relatos de que a diferenciação nos frutos (formação de galhas) ocorre devido à presença do fungo *Botryconis pallida*. (HIRANO; POSSAMAI, 2008).

Estudos etnobotânicos de povos indígenas do Paraná e Santa Catarina descrevem o uso popular de folhas e cascas de *Ocotea puberula* no tratamento de afecções cutâneas e no combate a diarreias e disenterias. (MARQUESINI, 1995). A composição química de *Ocotea puberula* é conhecida e diversos estudos indicam a presença de óleos essenciais, alcaloides, taninos, flavonoides (ARAUJO, 2000; FARAGO 2002). Posteriormente, a partir do extrato etanólico das folhas, ARAUJO (2000), demonstrou a presença dos alcaloides: ocoteína, dicentrina, predicentrina, leucoxina. Zanin e colaboradores (2011) relataram o isolamento dos alcaloides isodomesticina, dicentrina e leucoxina em fases do desenvolvimento da planta (folhas, caule e raízes). Montrucchio (2012) realizou estudos com extratos orgânicos dos frutos de *Ocotea puberula*, e concluiu que a fração clorofórmio apresenta efeito antinociceptivo nos modelos agudos de formalina e ácido acético e dessa mesma fração isolou o alcaloide dicentrina que com estudos semelhantes indicou ser o responsável pelo efeito farmacológico.

2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Diferente da maioria dos animais, as plantas não podem mover-se quando submetidas a condições desfavoráveis ou estressantes. Desta maneira, ao longo da sua história evolutiva, os vegetais foram selecionados por outros mecanismos de defesa. Uma das maneiras desses organismos responderem a essas situações de estresse é a produção de substâncias conhecidas como metabólitos secundários. Os metabólitos secundários constituem um grupo diversificado de compostos envolvidos na adaptação das plantas ao seu ambiente. (BASER; BUCHBAUER, 2012).

Denominados “metabólitos especiais”, de acordo com Gottlieb et al. (1996), são definidos como compostos orgânicos presentes em células especializadas, sem função direta sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas, porém com importante relação na sua interação com o meio ambiente. (VERPOORTE, 2000). Com grande plasticidade genética e diversidade química, os metabólitos secundários apresentam características que permitem às plantas adaptar-se às necessidades do ambiente. (HARTMANN, 2007).

Por não participarem dos processos de formação de protoplasto e geração de energia, muitas destas substâncias atuam como mediadores em processos de interação das plantas com o ambiente. No entanto, nem sempre são produzidas, não possuem em muitos casos, suas funções bem definidas e apresentam ampla diversidade estrutural. (DEWICK, 2009). Por conta dessas características apenas a partir da década de 50 estes compostos passaram a ser estudados de maneira aprofundada. Até este período eram considerados, por muitos, como substâncias originárias de erro metabólico servindo como meio de desintoxicação do vegetal, por exemplo. (HARTMANN, 2007).

Os metabólitos secundários estão relacionados com a adaptação das plantas ao seu ambiente. Atuam na defesa do vegetal contra herbívoros e patógenos, manutenção da simbiose, influência sobre a germinação de sementes, inibição de espécies de plantas e são integrantes das interações de espécies vegetais superiores em comunidades vegetais e animais. (OOTANI, 2013).

Estima-se que existam mais de 200.000 metabólitos secundários conhecidos (HARTMANN, 2007), dentre os quais se encontram inibidores da protease, lecitinas, alcaloides, aminoácidos não proteínas, glicosídeos, cianogênicos, saponinas, taninos, entre outros. (OOTANI, 2013).

De acordo com Simões et al. (2007) os metabólitos secundários tem sua origem a partir do metabolismo da glicose, por meio de dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato. O primeiro é precursor de taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcaloides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanoides, já os derivados do acetato são os aminoácidos alifáticos e os alcaloides derivados deles; terpenoides, esteroides, ácidos graxos e triglicerídeos. (LEITE, 2008).

De acordo com Taiz e Zeiger (2006) os metabólitos secundários podem ser classificados em três grupos principais distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, onde se encontram os alcaloides.

2.5 ALCALOIDES

Os alcaloides constituem uma das maiores classes de metabólitos secundários (LUCA; PIERRE, 2000) e nas plantas distribuem-se de maneira heterogênea, sendo mais específicos para determinados gêneros e espécies. (FUMAGALI et al., 2008). São encontrados predominantemente em plantas angiospermas. (SIMÕES et al., 2007; FUMAGALI et al., 2008).

De acordo com Croteau et al. (2000) os alcaloides atuam nas defesas químicas das plantas o que explica a gama de efeitos fisiológicos que estes exercem sobre os animais e também por suas atividades antimicrobianas. Em geral os alcaloides são produzidos em um local da planta e armazenados em outro, exemplo disto é a nicotina produzida nas raízes de *Nicotiana tabacum* e posteriormente translocadas para as folhas, nas quais é armazenada. (PERES, 2004).

Alcaloides apresentam uma ampla diversidade estrutural (LUCA; PIERRE, 2000), possuem caráter básico, baixo peso molecular, e são constituídos de um ou mais átomos de nitrogênio dispostos como aminas primárias, secundárias ou terciárias. (DEWICK, 2009).

A maioria dos alcaloides deriva de aminoácidos alifáticos, aromáticos como a fenilalanina ou a tirosina, ou do triptofano, porém, existem alcaloides originados de processos de transaminação de substratos diferentes de aminoácidos, como terpenos ou esteroides. (DEWICK, 2009). Nesse sentido, os alcaloides podem ser classificados de acordo com sua origem biossintética em: (1) alcaloides verdadeiros

(derivados de aminoácidos, possuem nitrogênio em heterociclo), (2) protoalcaloides (derivados de aminoácidos, possuem o nitrogênio fora do heterociclo), e (3) pseudoalcaloides (proveniente de outras vias – acetato, chiquimato, mevalonato ou desoxixilulose fosfato – e podem incorporar nitrogênio através de outras reações). (ANISZEWSKI, 2015; KLEIN-JÚNIOR; HENRIQUES, 2017).

Embora a classificação dos alcaloides geralmente seja realizada de acordo com a sua origem biossintética, a complexidade estrutural de alguns expande o número de subdivisões. (DEWICK, 2009).

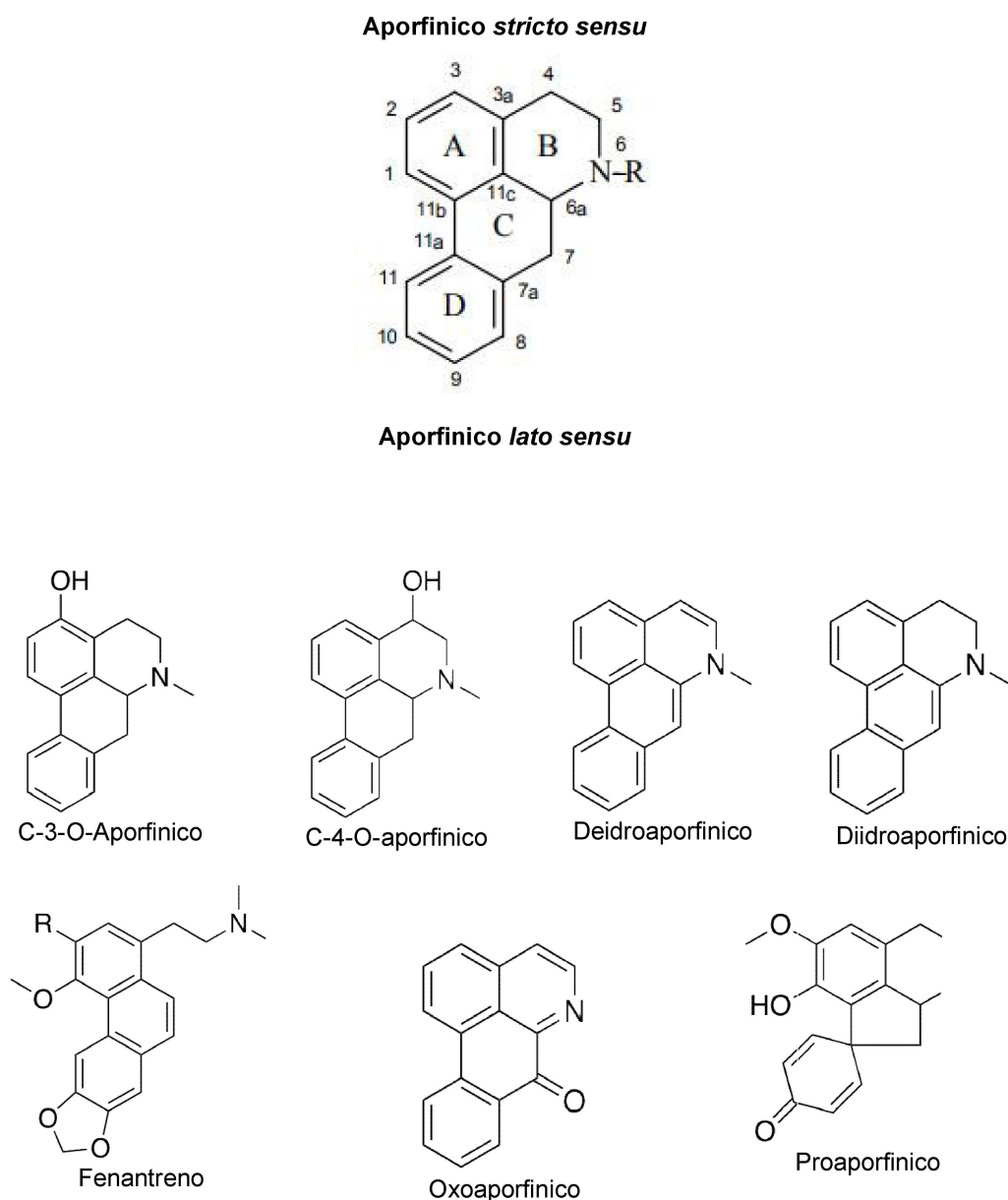
Segundo Ogungbe e Setzer (2016), alguns alcaloides podem atuar como agonistas ou antagonistas de neuroreceptores; outros têm como alvo canais iônicos, como os de sódio, potássio e cálcio. O alcaloide reticulina, por exemplo, promove vasodilatação por meio do bloqueio dos canais de cálcio. (MEDEIROS et al., 2009). Outros alcaloides com atividades farmacológicas relevantes são: brucina (estimulante do sistema nervoso), codeína (analgésico), efedrina (anti-hipertensivo), glaziovina (ansiolítico), morfina (analgésico), reserpina (anti-hipertensivo) e a quinina (antimalárico e antipirético). (MEDEIROS et al., 2009; ELAMIN et al., 2010; O'CONNOR, 2012; PARK et al., 2012; AMIRKIA; HEINRICH, 2014; QIU et al., 2014).

De acordo com Cardoso et al. (2014), alcaloides isoquinolínicos isolados da casca de *Annona spinescens* e *Guatteria foliosa* foram ativos frente a *Leishmania donovani* e *Leishmania amazonensis*. Da mesma forma, os alcaloides conodurina e N-desmetil-conodurina, demonstraram atividade em formas promastigota de *Leishmania braziliensis* e amastigota de *Leishmania amazonensis*. Dessa maneira, verifica-se a importância dessa classe na busca de substâncias bioativas.

2.5.1 Alcaloides aporfinicos

Os alcaloides aporfinoides englobam os aporfínicos *stricto sensu* e os alcaloides aporfínicos *lato sensu*. Este último é subdividido em alcaloides proaporfínicos e os derivados do catabolismo, os oxoaporfínicos e também os fenantrenos, os quais são os produtos de degradação mais frequentes para estes compostos. Neste grupo também estão presentes as formas diméricas e os desidroaporfínicos, caracterizados por uma insaturação adicional no carbono 6. (STÉVIGNY; BAILLY; QUETIN-LECLERCQ, 2005). O esqueleto básico dos alcaloides aporfinicos pode ser visto na FIGURA 1.

FIGURA 1 – ESTRUTURA BÁSICA DAS CLASSES DE ALCALOIDES APORFÍNICOS



FONTE: Adaptado de ZANIN; LORDELLO (2001).

Os alcaloides aporfínicos *stricto sensu* constituem-se por bases tetracíclicas formadas por ligação direta dos anéis aromáticos A e D dos núcleos benzilisoquinolínicos típicos (1). O átomo de nitrogênio na posição 6 é geralmente terciário na forma básica, porém, do mesmo modo pode ser quaternário, menos frequentemente acetilado ou formilado. Compostos N-óxidos também foram descritos. O alcaloide é denominado noraporfínico quando o nitrogênio é secundário. Nos aporfínicos naturais, as posições 1 e 2 são normalmente substituídas por grupos

hidroxila, metoxila ou metilenodioxílico. O núcleo tetracíclico pode ser substituído em diferentes locais, nas posições 9, 10 e 11 e menos frequentemente nas posições 3 e 8, e em uns poucos casos, a posição 7 (ou 4) é oxigenada. Os aporfínicos são opticamente ativos, possuindo tanto a configuração absoluta R-(-) ou S-(+), dependendo da estereoquímica do carbono 6. (STÉVIGNY; BAILLY; QUETIN-LECLERCQ, 2005).

Os alcaloides aporfínicos, de maneira ampla, apresentam grande variedade de propriedades biológicas. Apenas uma parte do grande número de alcaloides, no entanto, foi estudada quanto a sua atividade anticancerígena. (HABLI et al., 2017).

O QUADRO 3 ilustra um levantamento bibliográfico de alcaloides isolados e identificados em algumas espécies do gênero *Ocotea*.

QUADRO 3 – EXEMPLOS DE ALCALOIDES ISOLADOS EM ESPÉCIES DE *Ocotea*

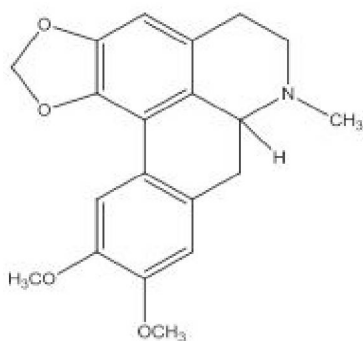
ESPÉCIE	ALCALOIDE
<i>O. brenesii</i> (Nees & Mart.) Mez	3-hidroxi-6a,7-diidronuciferina (LOPEZ et al., 1996)
<i>O. minarum</i> Standl.	4-hidroxidicentrina (VECCHIETTI et al., 1979) triptofol-5-O-β -D-glicopiranosídeo (GARCEZ et al., 2005)
<i>O. macropoda</i> (Kunth) Mez	Deidrodicentrina, Deidroocopodina (CAVA; WENKATESWARLU, 1971)
<i>O. puberula</i> (Rich.) Nees	Ocoteina, dicentrina, predicentrina, isodomesticina, leucoxina, N-óxido dicentrina (ARAUJO, 2000; ZANIN et al. 2011)
<i>O. macrophylla</i> Kunth.	(S)-3-methoxy-nordomesticina, dicentrina (PABON; CUCA, 2010)
<i>O. leucoxylon</i> (Sw.) Laness.	Dicentrinona, Leucoxilonina, dicentrina (ZHOU et al., 2000)
<i>O. vellosiana</i> (Meisn.) Mez	predicentrina, glaucina, dicentrina, isocoridina, ocoteina, ocopodina, leucoxilonina (GARCEZ; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1995)
<i>O. acutifolia</i> (Ness) Mez	dicentrina, ocoteina, leucoxina (GARCEZ et al., 2011; GUTERRES et al., 2013)
<i>O. duckei</i> Vattimo	reticulina, coclaurina, N-acetilnorjuzifina (DIAS et al., 2003)

FONTE: O autor (2019).

2.6 DICENTRINA

Dentre os alcaloides do tipo aporfínicos presentes na espécie *Ocotea puberula*, a dicentrina é um dos mais abundantes. Na FIGURA 2 observa-se a estrutura molecular do composto dicentrina.

FIGURA 2– ESTRUTURA MOLECULAR DA DICENTRINA



FONTE: Adaptado de MONTRUCCHIO et al. (2012).

Estudos a respeito do potencial antitumoral da dicentrina descrevem atividade citotóxica moderada em linhagens de células leucêmicas de humanos (CCRF-CEM e HL-60) e murinos (L1210), linhagens de hepatoma humano (HuH-7 e MS-G2) e linhagens de carcinoma esofágico (HCE-6). Tal efeito é sugestivo de inibição da enzima topoisomerase II, envolvida na quebra das fitas de DNA para a replicação celular. (STÉVIGNY; BAILLY; QUETIN-LECLERCQ, 2005; HOET et al., 2004; WOO et al., 1999; HUANG et. al., 1998).

A (S)-dicentrina, isolada do extrato etanólico do caule de *Ocotea vellosiana* atuou impedindo as divisões celulares durante o desenvolvimento larval, o que demonstra atividade larvívica sobre *Aedes aegypti*. (DA SILVA, 2010).

Ainda, de acordo com Lin et al. (2015), a dicentrina apresenta efeitos citotóxicos em adenocarcinoma do cólon, hepatoma, leucemia, e células de carcinoma epidermoide, o que a torna um promissor fitofármaco para o tratamento dessas enfermidades. Por exercer atividade em alvos distintos, pode-se afirmar que a dicentrina possui grande potencial terapêutico. (KONKIMALLA; EFFERT, 2010).

Além disso, a dicentrina mostrou ter efeito antinociceptivo significativo em modelos agudos e crônicos de dor de origem inflamatória e neuropática em camundongos (MONTRUCCHIO et al., 2012) e a literatura sugere uma correlação entre propriedade antioxidante e anti-inflamatória, ou seja, as substâncias com

potencial antioxidante reduzem as inflamações por diminuir radicais livres que participam no recrutamentos de células para os tecidos inflamados. (THAMBI, et al. 2009). Assim, a molécula foi alvo de patente, no pedido intitulado: “Identificação da propriedade antinociceptiva (analgésica) do alcaloide aporfínico S-(+)-dicentrina e usos do mesmo” está depositado no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) sob nº 016339-5 A2. (MIGUEL et al., 2014).

2.7 PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

De acordo com Halliwell et al. (2000), substâncias antioxidantes podem ser definidas como aquelas que mesmo presentes em baixas concentrações, quando comparadas ao substrato oxidável, inibem ou desaceleram de maneira relevante a oxidação desse substrato. Para se avaliar a capacidade antioxidante de uma amostra, conta-se com uma série de metodologias que se baseiam em um mesmo princípio: formação de um radical sintético e avaliação da capacidade da amostra em eliminar ou neutralizar, monitorando tal capacidade em espectrofotômetro. Considerando as possíveis interferências as quais estes ensaios estão sujeitos, propõem-se que sejam utilizadas no mínimo 2 técnicas distintas para caracterizar um composto como antioxidante. (ARNÃO, 2000; HUANG et al. 2005).

As plantas produzem substâncias com características antioxidantes. Entre eles, os compostos fenólicos compreendem o principal grupo de compostos com ação antioxidante de origem vegetal, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro*, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Destes, os flavonoides constituem o grupo mais importante. (BEHLING et al., 2004, SOARES, 2002).

De acordo com Huang et al. (2005), nenhum ensaio utilizado isoladamente para determinar o potencial antioxidante avalia a capacidade antioxidante de uma amostra. Assim, preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas.

Para avaliar o potencial antioxidante dos extratos, frações e isolados podem ser utilizadas diversas metodologias, entre elas pode-se ressaltar a redução do DPPH• e a redução do complexo do fosfomolibdênio.

Na metodologia de Mensor et al. (2001), avalia-se a capacidade das substâncias testadas em reduzir o radical livre 2,2 - difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) para difenil-picril-hidrazina, onde a solução apresenta mudança de coloração de

púrpura para amarela, é avaliado em espectrofotometria de UV visível a capacidade antioxidante.

No ensaio de redução do complexo de fosfomolibdênio observa-se a capacidade das amostras em reduzir o molibdênio (VI) em molibdênio (V). Essa técnica pode avaliar substâncias lipofílicas e hidrofílicas. (PRIETO, PINEDA e AGUILAR et al., 1999) .

2.8 ALELOPATIA E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Espécies vegetais produzem variados tipos de metabólitos secundários que possuem funções fisiológicas distintas promovendo interações com outras plantas quando liberados no meio ambiente. Tais interações químicas são diversas e complexas, e garantem vantagens adaptativas à planta que libera tais substâncias. (REIGOSA et al., 2013).

A capacidade de um vegetal em influenciar o crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrônômicos por meio da liberação de compostos químicos no meio ambiente (aleloquímicos) é avaliada por meio do estudo definido como alelopatia. (REIGOSA et al., 2013). Atuando como um estudo preliminar do comportamento vegetal, a alelopatia pode conduzir a prováveis atividades farmacológicas da planta. (FRANÇA et al., 2008).

Com rápida e uniforme germinação e alta sensibilidade a compostos variados a *Lactuca sativa* L. é descrita como um modelo universal em estudos envolvendo alelopatia. (SANTIAGO et al., 2017).

De acordo com Gabor e Veatch (1981), a tolerância ou resistência aos metabólitos bioativos de uma planta é espécie-específica, desta maneira algumas plantas são mais indicadas para testes de atividade alelopática. Consideradas espécies indicadoras de atividade alelopática, as espécies *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola) são sensíveis a baixas concentrações de aleloquímicos, também apresentam rápida e uniforme germinação e um crescimento linear pouco sensível a variações de pH. (SOUZA et al., 2007).

2.9 *Artemia salina*: BIOENSAIO E CITOTOXICIDADE

Frequentemente utilizado em pesquisas envolvendo produtos naturais, a *Artemia salina* (Anostraca) é um microcrustáceo de água salgada que atua como bioindicador de toxicidade. A avaliação de toxicidade é apontada como bioensaio preliminar no estudo de substâncias com propriedades biológicas. (MEYER et al., 1982; PERSOONE; WELLS, 1987; SUBHAN et al., 2008).

De acordo com Bednarczuk et al. (2010), o ensaio de toxicidade em *Artemia salina* (TAS), consiste em um teste simples e rápido, que tem como objetivo avaliar os efeitos tóxicos da espécie vegetal nos sistemas biológicos e estimar a toxicidade relativa das substâncias. De maneira geral, os extratos provenientes de plantas com toxicidade elevada verificada em TAS sugerem alto potencial para atividades biológicas. (AMARANTE et al., 2011).

De tamanho e colorações variadas, do rosa-pálido a avermelhado, branco ou esverdeado de acordo com seu tipo de alimentação, o microcrustáceo *Artemia salina* apresenta dimorfismo sexual e atinge a fase adulta em 20 dias. Utilizado na alimentação de peixes, é encontrado em lojas de aquaristas. Embriões encapsulados metabolicamente inativos (cistos dormentes) eclodem, iniciando o ciclo de vida da *Artemia salina*. Tais cistos podem ficar em estado de dormência por muitos anos, desde que fiquem em lugar seco, já que em contato com água salgada hidratam-se e reassumem seu desenvolvimento. (BORTOLOTTI, 2007).

2.10 SUBSTÂNCIAS DE ORIGEM NATURAL COM ATIVIDADE LARVICIDA

O *Aedes aegypti*, inseto pertencente à família Culicidae e subgênero *Stegomyia*, é o mais importante vetor da dengue, embora outras espécies deste gênero como *Aedes albopictus* e *Aedes polynesiensis* também possam exercer esta função. (TEIXEIRA et al., 2015).

Conhecido no Brasil desde o século XVII, o *Aedes aegypti* instalou-se em várias regiões sendo hoje responsável por diversos ciclos epidêmicos. O primeiro caso da doença ocorreu em 1685 no Recife. Com o comércio e extrativismo da madeira o *Aedes aegypti* começou a se propagar no Brasil. (MORAIS et al., 2004). Dados do boletim epidemiológico de fevereiro de 2019 indicam 54.777 notificações

de prováveis casos de dengue, chikungunya e o zika. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

De maneira semelhante à dengue, a febre chikungunya é uma doença provocada pelo vírus CHIKV, da família *Togaviridae*. Os sintomas incluem febre, mal-estar, dores pelo corpo, dor de cabeça, apatia e cansaço. No entanto, o vírus chikungunya afeta as juntas dos pacientes ocasionando inflamações acompanhadas de inchaço, vermelhidão e calor local. (TEIXERA et al., 2015). O vírus foi isolado pela primeira vez em 1950, na Tanzânia e até junho de 2004 foram relatados surtos, mas a partir desse ano, a febre chikungunya manifestou-se no Quênia, propagando-se para Ilhas do Oceano Índico, Índia, Malásia, Indonésia e Tailândia. No Brasil foram identificados os primeiros casos em 2010. (NUNES et al., 2015).

Originalmente isolado de uma fêmea de macaco Rhesus febril na Floresta Zika, situada próximo de Entebbe em Uganda, em 20 de abril de 1947, o Zika vírus trata-se de um flavivírus (*Flaviviridae*). (DICK et al., 1952; KARABATSOS et al., 1985). Também transmitido pelo *Aedes aegypti* causa a doença febril, incluindo sintomas como cefaleia, exantema, mal estar, edema e dores articulares, por vezes intensas. Apesar de aparentemente serem considerados benigna, mais recentemente na Polinésia Francesa e no Brasil, quadros mais severos que afetam o sistema nervoso central (síndrome de Guillain-Barré, mielite transversa e meningite). (OEHLER et al., 2014; CAMPOS; CANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015).

Facilmente adaptável ao ambiente urbano, onde encontra condições favoráveis para a sua reprodução, o mosquito apresenta a hematofagia, cópula e oviposição no período diurno (primeiras horas da manhã e ao anoitecer), e demonstra preferência pelo sangue humano, porém alimentam-se também em cães, roedores e aves. (ROZENDAAL, 1997).

No Brasil a dengue é endemo-epidêmica, dessa maneira a prevenção e controle da doença representam um desafio em virtude da complexidade dos fatores envolvidos na sua dinâmica de transmissão, inexistência de drogas antivirais capazes de atenuar a viremia e da inexistência de vacinas (BARRETO et al., 2011). Desta forma o combate aos vetores é a única medida disponível para a prevenção da doença. (BARRETO et al., 2011).

Nesse sentido, os pesticidas químicos piretróides e organofosforados desempenham papel relevante como ferramenta contra vetores. Porém, apresentam algumas desvantagens como riscos a saúde humana e a organismos não alvos,

bioacumulação, resistência dos organismos alvo, além de custo elevado. (THATHEYUS, 2007). Este controle químico é tradicionalmente eficaz contra mosquitos. Todavia, os culicídeos podem tornar-se menos susceptíveis se as mesmas substâncias químicas forem empregadas no controle de muitas gerações. (LAWLER; LANZARO, 2005).

De acordo com Lima et al. (2016), dentre os inseticidas mais utilizados para o controle dos vetores estão o Temephós um larvicida organofosforado de baixa toxicidade; o *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI), um inseticida biológico e metoprene, substância análoga ao hormônio juvenil dos insetos, cujo mecanismo de ação é impedir o desenvolvimento dos mosquitos para a fase adulta, afetando formas imaturas (larvas e pupas).

O monitoramento da susceptibilidade a inseticidas é uma estratégia racional importante para ampliar o conhecimento sobre os mecanismos de resistência e para o controle dos níveis de infestação vetorial em âmbito local. Estes inconvenientes têm motivado a pesquisa de estratégias alternativas usando produtos de origem natural, especialmente os derivados de plantas, de maneira a minimizar a dependência aos inseticidas químicos como os organofosforados e piretróides. (HEMINGWAY; RANSON, 2000). Importante destacar que esses novos compostos devem além do efeito larvicida deve demonstrar um efeito residual prolongado nos depósitos onde são aplicados. Essa é uma característica importante para a adoção de um determinado composto em atividades de campanha de saúde pública. (ZARA et al., 2016).

3 METODOLOGIA

A parte experimental do projeto foi realizada de acordo com o fluxograma representado na FIGURA 3.

FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DE ATIVIDADES PRÁTICAS REALIZADAS NO PROJETO



FONTE: O autor (2019).

3.1 OBTENÇÃO DA DICENTRINA

A pesquisa com *Ocotea puberula* está cadastrada no Sisgen e possui o número de autorização A0EB51A. O presente trabalho foi realizado com o alcaloide dicentrina previamente isolado das galhas e identificado por Montrucchio et al. (2012) e cedido para o desenvolvimento e estudo dessa pesquisa.

3.2 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

3.2.1 Formação do Complexo Fosfomolibdênio

Essa técnica foi realizada com base no método descrito por Prieto, Pineda e Aguilar (1999). Este ensaio tem como princípio a avaliação da oxidação ocorrida na

solução reativa, utilizando como padrões comparativos a rutina, o BHT (Hidroxitolueno butilado) e o ácido ascórbico.

Para a realização deste ensaio, a amostra (dicentrina) e controles positivos foram preparados na concentração de 200 µg/mL. O reativo foi preparado no dia do ensaio, e foi composto de ácido sulfúrico (0,6 M), fosfato de sódio (28 mM) e molibdato de amônio (4 mM).

Em um tubo de ensaio foi adicionado 3 mL do reativo e 0,3 mL da amostra, controle positivo ou branco. Os tubos foram tampados e aquecidos em banho-maria (95°C), por cerca de 90 minutos. Em seguida, as amostras foram transferidas para uma microplaca de 96 poços, a qual foi lida em espectrofotômetro UV (690 nm). O teste foi realizado em triplicata.

Os resultados foram expressos conforme a Fórmula **(1)**:

$$(1)AAR(\%) = \frac{Abs\ amostra - Abs\ branco}{Abs\ padrão - Abs\ branco} \times 100$$

Em que:

AAR (%) = potencial antioxidante relativa ao padrão;

Abs amostra= absorbância da amostra;

Abs branco= absorbância do branco;

Abs padrão = absorbância do padrão

A análise estatística foi feita pelo teste de ANOVA e o teste de Tukey, considerando um nível de significância de 95%. Para a análise destes resultados foi utilizado o software Sisvar[®]. (FERREIRA, 2014).

3.2.2 Avaliação do potencial antioxidante pela Redução do Radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazila (DPPH•)

A técnica empregada foi adaptada de Mensor et al. (2001) e Salgueiro et al. (2014). A solução metanólica de DPPH• na concentração de 0,03 mM foi preparada minutos antes de sua utilização. A partir de uma solução estoque (1mg/mL) foram preparadas soluções metanólicas da dicentrina em concentrações variando de 2 µg/mL a 500 µg/mL, a fim de fornecer a faixa de melhor atividade. Os ensaios foram realizados em microplacas com fundo redondo de 96 poços em formato de 'U', onde foram adicionados 71 µL da amostra e 29 µL da solução de DPPH• (0,3mM). Após trinta minutos de incubação no escuro foram realizadas leituras em

espectrofotômetro Multiscan FC, Thermo Scientific® a 518 nm. Como padrões foram utilizados rutina, ácido ascórbico e BHT (Hidroxitolueno butilado). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

A capacidade da dicentrina em reduzir o radical foi calculada de acordo com a Fórmula (2):

$$(2) \% \text{ Inibição da oxidação do DPPH} = \frac{100 - (Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{(Abs_{controle} - Abs_{branco})}$$

Em que:

Abs amostra= absorbância da amostra;

Abs branco= absorbância do branco;

Abspadrão= absorbância do controle negativo.

A partir das porcentagens de inibição de DPPH•, por regressão linear foi calculado o CI_{50%}, ou seja, a concentração necessária para exercer 50% da atividade antioxidante.

A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA e o teste de Tukey, considerando um nível de significância de 95%. Para a análise destes resultados foi utilizado o software Sisvar®. (FERREIRA, 2014).

3.3 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

3.3.1 Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina*

A toxicidade foi avaliada frente à *Artemia salina*, segundo a metodologia descrita por Meyer et al. (1982), com algumas adaptações. Os ovos de *Artemia salina* (200 mg/400 mL) foram colocados em contato com a água do mar artificial para eclodir por 48 horas, aerados por uma hora e expostos à iluminação constante (20 W) e temperatura controlada (27-30)°C.

A solução salina foi preparada com 30 g de sal marinho artificial adquirido da empresa Blue Treasure® e 1000 mL de água destilada. O pH foi ajustado com uma solução de Na₂CO₃ para a faixa de 8-9, para evitar o risco de morte dos náuplios por diminuição do pH durante a incubação, uma vez que o desenvolvimento de *Artemia salina* é viabilizado em um pH superior a 6 e inferior a 10,5. (LEWAN; ANDERSSON; MORALES, 1992).

A dicentrina foi pesada (5 mg) e diluída com metanol (1 mL) na concentração 5 mg/mL. A partir dessa solução, diluiu-se em três concentrações 5, 50 e 500 µg/mL. O solvente foi evaporado por 12 horas, a 37°C. Para efeitos de controle, os náuplios foram avaliados frente ao solvente (metanol). Como controle positivo foi utilizado o sulfato de quinidina cujo preparo foi realizado como descrito para a dicentrina. O ensaio foi realizado em triplicata.

Para avaliar a toxicidade, após a eclosão dos ovos, foram transferidos dez náuplios de *Artemia salina* para frascos de vidro contendo as amostras e controle negativo e positivo. O volume de todos os frascos foi ajustado para 5 mL com a solução salina. Os frascos foram incubados em estufa (27-30)°C pelo período de 24 horas. Posteriormente foi realizada a contagem dos náuplios vivos e mortos, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento, quando observados próximos a fonte luminosa. Os resultados foram submetidos a tratamento de análise estatística pelo método de Probitos, por meio do software SPSS® (IBM Corporation, 2013), o qual forneceu os valores de CL₅₀ e da CL₉₀ (concentração letal para 50% e 90% dos indivíduos) com 95% de confiabilidade.

3.3.2 Avaliação da toxicidade frente ao *Aedes aegypti* L.

A metodologia aplicada para avaliação da atividade larvicida foi adaptada de WHO (1981a) e WHO (2005). Foram utilizados ovos de *Aedes aegypti* da linhagem Rockefeller fornecidos pelo IBEX/Entomologia/LAFICAVE/ IOC/FIOCRUZ - Rio de Janeiro-RJ. Os ovos foram acondicionados em bandejas plásticas contendo 500 ml de água mineral e em seguida foram conduzidos para estufa BOD com temperatura (27 ± 2)°C e umidade relativa (80 ± 5)%. A dieta das larvas foi constituída por ração de peixe (aldon basic, MEP 200 complex), do período de eclosão até o 3° estágio larval. Para a análise da atividade larvicida foram utilizadas as larvas do terceiro estágio.

A dicentrina foi pesada e dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) à 0,2% em água sob agitação em ultrassom. Posteriormente, foram acrescentados 20 ml de água mineral. Foram distribuídos 5 mL por recipiente, à temperatura ambiente, sendo testadas 3 concentrações (1000, 100 e 10) µg/mL, em triplicata. Como controle negativo foi empregado a solução aquosa de DMSO 0,2%. Após o período de 24 horas de exposição foi verificada a mortalidade, considerando como mortas as

larvas incapazes de atingir a superfície da água quando tocadas. (WHO, 1981a; WHO, 1981b).

Os resultados foram submetidos a tratamento de análise estatística pelo método de Probitos, por meio do software SPSS® (IBM Corporation, 2013), o qual forneceu os valores de CL₅₀ e CL₉₀ (concentração letal para 50% e 90% dos indivíduos) com 95% de confiabilidade.

3.3.2 Avaliação da Atividade Hemolítica *in vitro*

Para avaliar a atividade hemolítica *in vitro* foi utilizada a técnica proposta por Banerjee et al. (2008) adaptada por Henneberg (2013).

Neste ensaio empregou-se uma solução de tampão fosfato salino (PBS), constituído por cloreto de sódio (8 g/L), cloreto de potássio (0,2 g/L), fosfato dissódico (1,15 g/L) e fosfato monopotássico (0,2 g/L). A solução foi mantida na temperatura de 4°C.

Em tubo falcon foram centrifugados cerca de 3 mL de sangue de carneiro desfibrinado, a 3000 rpm, descartando o sobrenadante. O precipitado obtido foi então lavado com 5 mL do PBS e centrifugado nas mesmas condições. O processo de lavagem foi repetido até obtenção de sobrenadante límpido. Com a papa de hemácias resultante, foi preparada uma solução a 2% (m/V) em PBS, a qual foi armazenada em temperatura de 4°C.

Inicialmente foi preparada uma solução-mãe na concentração de 1000 µg/mL de dicentrina, diluída em metanol 10% (m/V) e PBS. A partir dessa solução, foram realizadas diluições seriadas com PBS para ajuste de soluções nas concentrações de 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL, que foram utilizadas para verificar a atividade hemolítica da dicentrina. Como controles positivos foram utilizados Triton 1% em PBS e água potável. Como controle negativo foi utilizado o PBS e como padrão, foram preparadas soluções e diluições de saponina nas mesmas concentrações das amostras.

O teste de hemólise foi realizado em frasco do tipo *eppendorf*® e em triplicata, e as quantidades de dicentrina, controles e solução de hemácias utilizadas no ensaio estão apresentadas na TABELA 1.

TABELA 1 – QUANTIDADES UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA

AMOSTRAS / BRANCOS / CONTROLES	SOLUÇÃO
Amostra: diluições dicentrina	200 µL de amostra + 200 µL de hemácia 2%
Padrão: diluições saponina	200 µL saponina + 200 µL de hemácia 2%
Controle positivo: triton 1 % em PBS	200 µL triton 1 % + 200 µL de hemácia 2%
Controle positivo: água potável	200 µL água potável + 200 µL de hemácia 2%
Branca cor: amostras, padrão, controles positivos	200 µL amostras/padrão/controles positivos + 200 µL PBS
Controle negativo: PBS, PBS + metanol	200 µL PBS/PBS + metanol + 200 µL hemácia 2 %

FONTE: O autor (2019)

As soluções foram incubadas em estufa com temperatura controlada de 37°C, por 3 horas. Os frascos foram mantidos abertos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas e 150 mL do sobrenadante foi transferido para microplaca de 96 poços. Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro UV 540 nm.

Para cada concentração foi realizado o cálculo da porcentagem de hemólise conforme as Fórmulas (3) e (4).

$$(3) \% \text{ Hemólise} = \frac{100 - (Abs_{amostra} - Abs_{controlenegativo1} - Abs_{brancoamostra})}{(Abs_{triton} - Abs_{controlenegativo2} - Abs_{brancotriton})} \times 100$$

$$(4) \% \text{ Hemólise} = \frac{100 - (Abs_{amostra} - Abs_{controlenegativo1} - Abs_{brancoamostra})}{(Abs_{água} - Abs_{brancoágua})} \times 100$$

3.3.4 Atividade alelopática

A dicentrina foi testada em diferentes concentrações para obter a avaliação sobre a inibição ou indução na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* e *Allium cepa* seguindo metodologias descritas por Macias, Castellano e Molinillo (2000) e Dias et al. (2005).

Inicialmente foi preparada uma solução mãe de 500 µg/mL. Como solvente foi utilizado clorofórmio. A partir da solução mãe foram preparadas diluições nas concentrações 250, 100, 50 e 25 µg/mL.

Em placas de vidro contendo papel filtro duplo do tipo Whatman nº 6, previamente autoclavados, foi realizada a aplicação de 2 mL das soluções nas concentrações citadas. Como controle foi utilizado clorofórmio, sendo embebido o papel filtro com 2 mL de solvente. Em seguida as placas de petri foram acondicionadas em estufa com temperatura controlada de 36°C, durante 24 horas, para evaporação total do solvente. Posteriormente, os papéis foram transferidos (com auxílio de pinça) para placas de plástico, do tipo petri. Foram preparadas duas triplicatas para cada concentração da dicentrina testada avaliando separadamente germinação e crescimento.

Em fluxo laminar, o papel com as amostras e os controles foram embebidos com 2 mL de água destilada e vinte sementes de *Lactuca sativa* ou *Allium cepa* foram colocadas na caixa correspondente.

Após distribuição das sementes, as placas foram identificadas e envoltas em filme plástico e levadas para incubadora BOD 20 °C por 7 dias para sementes de *Lactuca sativa* e 12 dias para sementes de *Allium cepa*.

Para avaliar a germinação foi realizada a leitura diária, sempre no mesmo horário, sendo que as sementes germinadas eram retiradas das placas. Foi calculada a porcentagem de germinação **(5)** e o índice de velocidade de germinação (IVG) **(6)**.

$$\textbf{(5)} \% \textit{Germinação} = \frac{\textit{germinação amostra}}{\textit{germinação controle negativo}} \times 100$$

Em que:

% germinação= germinação, em porcentagem;

Germinação amostra= número de sementes germinadas nas placas de amostra;

Germinação controle= número de sementes germinadas nas placas de água destilada.

$$\textbf{(6)} \textit{IVG} = \left(\frac{n_1}{1} + \frac{n_2}{2} + \frac{n_x}{x} + \dots + \frac{n_{12}}{12} \right) \times 100$$

Em que:

IVG= índice de velocidade de germinação;

n1 = número de sementes germinadas no dia 1;

n2 = número de sementes germinadas no dia 2;

nx = número de sementes germinadas no dia x;

n7 = número de sementes germinadas no dia 12.

As placas referentes ao crescimento foram retiradas apenas no sétimo e décimo segundo dia (para *Lactuca sativa* e *Allium cepa* respectivamente). Foram então medidos com auxílio de régua e pinça a radícula e hipocótilo, para *Lactuca sativa*, e radícula e coleótilo para *Allium cepa*.

Os resultados da porcentagem de germinação, IVG e crescimento de radícula e hipocótilo foram analisados estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, com auxílio do programa Sisvar[®] (FERREIRA, 2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

4.1.1 Formação do complexo fosfomolibdênio

Os resultados obtidos no ensaio estão descritos na TABELA 2 e FIGURA 4.

No teste do fosfomolibdênio a dicentrina apresentou 90,68% de atividade antioxidante (AA%) em relação ao controle rutina. Sabe-se que a rutina tem potencial antioxidante considerado elevado e é utilizada em experimentos para atividade antioxidante. (BIANCHI; ANTUNES, 1999; SOUSA et al., 2007).

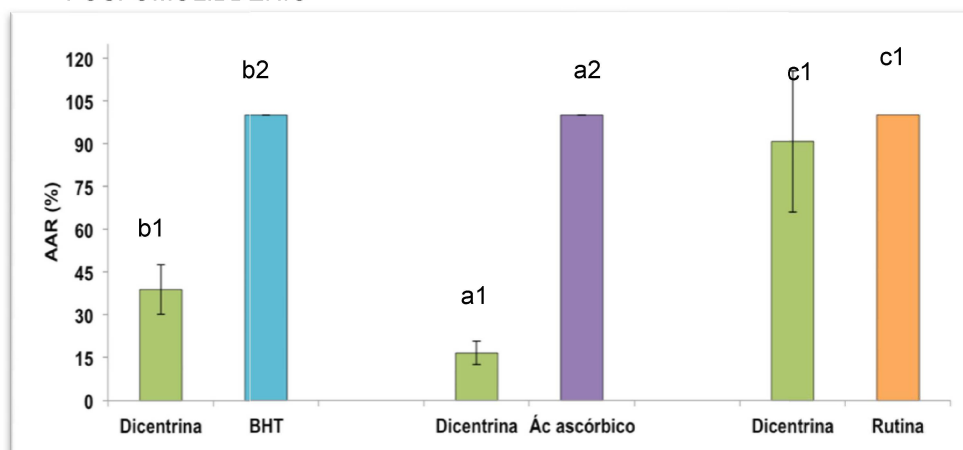
Frente ao BHT a dicentrina apresentou 30,88% de atividade antioxidante (AA%) e em relação ao ácido ascórbico, 16,62% de atividade antioxidante (AA%)

TABELA 2 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DA DICENTRINA EM COMPARAÇÃO À RUTINA, BHT E ÁCIDO ASCÓRBICO

Amostra	AAR Ácido ascórbico (%)		AAR BHT (%)		AAR Rutina (%)	
	Média± DP	Teste Tukey	Média± DP	Teste Tukey	Média± DP	Teste Tukey
Ác.ascórbico	100	a2	-	-	-	-
BHT	-	-	100	b2	-	-
Rutina	-	-	-	-	100	c1
Dicentrina	16,62 ± 4,04	a1	30,88 ± 8,65	b1	90,68 ± 24,67	c1

NOTA (1): Amostras classificadas no mesmo grupo na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). AAR= atividade antioxidante relativa. DP= desvio padrão. (2): BHT - Hidroxitolueno butilado
 FONTE: O autor (2019).

FIGURA 4 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA (AAR%) DA DICENTRINA COMPARADA AO BHT, ÁCIDO ASCÓRBICO E RUTINA, PELO MÉTODO DA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO



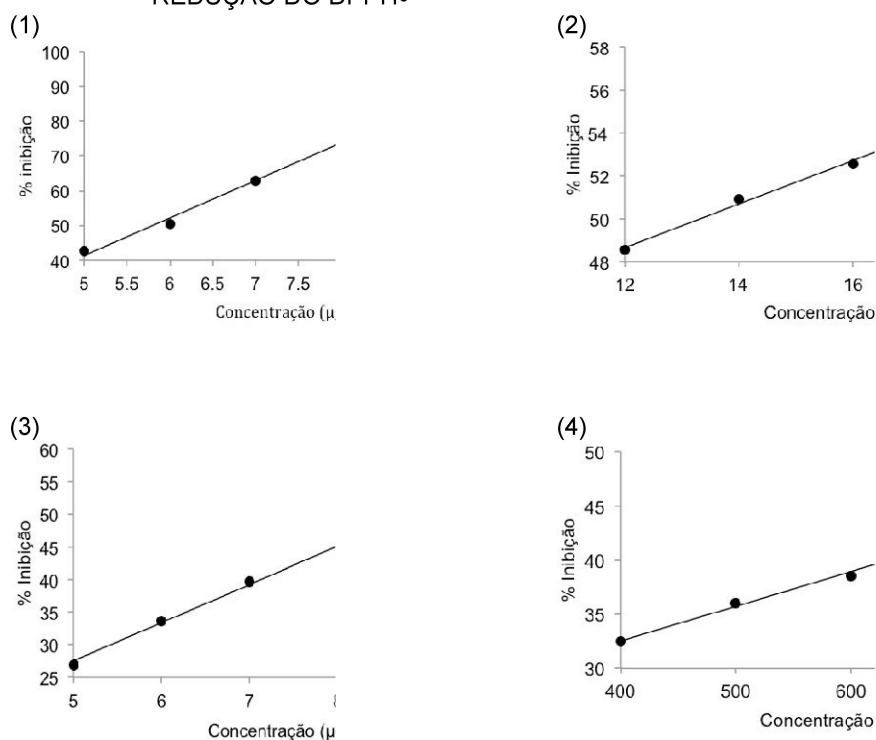
NOTA (1): Amostras classificadas no mesmo grupo não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). (2): BHT - Hidroxitolueno butilado
 FONTE: O autor (2019).

Souza (2008) testou o potencial antioxidante pelo ensaio da redução do complexo fosfomolibdênio dos alcaloides uleina e iombina isolados de *Himatanthus lancifolius* (família Apocynaceae) onde o potencial antioxidante foi considerado baixo em relação ao ácido ascórbico, com a uleina com 0,59% e a iombina 0,53% de potencial antioxidante. Da espécie *Hammada scoparia* (família Amaranthaceae) os alcaloides carnegina e N-metilisalsolina foram testados pela redução do complexo fosfomolibdênio e não apresentaram potencial antioxidante mensurável no teste. (BOUAZIZ et al., 2016).

4.1.2 Avaliação do potencial antioxidante pela redução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)

Neste ensaio, diferentes concentrações de dicentrina isolada das galhas e dos padrões foram testadas, e foi determinada a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional (% de DPPH• que não foi reduzida a hidrazina). Com os resultados obtidos foi plotado um gráfico em que a abscissa representa a concentração da amostra e a ordenada e a media da atividade antioxidante (AA%) das amostras em cada concentração (FIGURA 5).

FIGURA 5 – CURVA DA DICENTRINA, ÁCIDO ASCÓRBICO, BHT E RUTINA NO ENSAIO DE REDUÇÃO DO DPPH•



LEGENDA: (1) ácido ascórbico, (2) BHT - Hidroxitolueno butilado, (3) rutina, (4) dicentrina.
FONTE: O autor (2019).

A partir das curvas de cada amostra e padrão, os valores de CI_{50} foram calculados por regressão linear (TABELA 3).

TABELA 3 – VALORES DE CI_{50} DO ÁCIDO ASCÓRBICO, DO BHT, DA RUTINA E DA DICENTRINA NO ENSAIO DE REDUÇÃO DO DPPH•

Amostra	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ¹	
	Média $\pm$ DP	Teste Tukey
Ácidoascórbico	5,94 $\pm$ 0,01	a1
BHT	13,33 $\pm$ 0,43	a1
Rutina	8,19 $\pm$ 0,19	a1
Dicentrina	943,11 $\pm$ 121,05	a2

NOTA: Amostras classificadas no mesmo grupo na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

LEGENDA: (1) CI_{50} : concentração inibitória 50%. (2) BHT - Hidroxitolueno butilado
FONTE: O autor (2019).

A dicentrina apresentou $CI_{50} = 943,11 \mu\text{g/mL}$ (TABELA 3) valor que indica que a dicentrina não possui a capacidade de evitar a oxidação do DPPH•.

Castilhos et al., (2007), a partir do extrato etanólico de *Rhodophiala bifida* (família Amaryllidaceae) extraíram o alcaloide montanina e avaliaram o potencial antioxidante pelo método DPPH• constatando um potencial antioxidante de 36% em

relação ao ácido ascórbico. O alcaloide moscamina, isolado de *Croton echinoides* (família Euphorbiaceae) demonstra $CI_{50} = 14,5\% \mu\text{g/mL}$ quando avaliado pelo método DPPH•. (NOVELLO et al., 2016). Esta técnica também foi utilizada para avaliar os alcaloides isolados da espécie *Alseodaphne corneri* (família Lauraceae). (ZAHARI et al., 2016). Foram testados os alcaloides girolidina ($CI_{50} = 280,95$), O-metillimacusina ($CI_{50} = 265,09 \mu\text{g/mL}$), 2-norobaberina ($CI_{50} = 254,95 \mu\text{g/mL}$), laurotetanina ($CI_{50} = 131,72 \mu\text{g/mL}$). (ZAHARI et al., 2016).

As propriedades antioxidantes de metabólitos secundários podem ser atribuídas ao grupo hidroxila que poderia doar elétron aos radicais livres, assim, o grupo hidroxila que está presente nos alcaloides poderia ser a razão pela qual eles possuem atividades de eliminação de radicais livres (DPPH•) e que reagem de forma estequiométrica somente com moléculas que sejam boas doadoras de hidrogênio. (PRADINES et al., 2002; JANG et al., 2009; KEDARE; SINGH, 2011). Dentre essas moléculas destacam-se as que possuem grupos hidroxila ativos, com facilidade de doar hidrogênio, como por exemplo, os compostos fenólicos e as vitaminas C e E. (LU et al., 2010). Dessa maneira espera-se que moléculas mais polares, por apresentarem maior número de compostos com hidroxilas disponíveis, apresentem os melhores resultados. (MENSOR et al., 2001). Com essa observação e ao analisar a estrutura molecular do composto dicentrina observa-se que este não possui hidroxilas e isso pode justificar a baixa atividade antioxidante pelo método DPPH•.

4.2 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.2.1 Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina*

Este bioensaio é útil na busca de substâncias bioativas, além de ter fácil execução e baixo custo (AMARANTE et al., 2011). Extratos de plantas e derivados com alta toxicidade contra a *Artemia salina* sugerem alto potencial para atividades biológicas. (AMARANTE et al., 2011). Alguns estudos demonstram que com alta toxicidade evidenciada frente à *Artemia salina* é possível observar alto potencial de atividade contra o *Trypanosoma cruzi* (ALVES et al., 2000) e também atividade citotóxica em tumores humanos sólidos. (MCLAUGHLIN, 2008; MEYER et al., 1982)

Os resultados obtidos neste ensaio estão apresentados na TABELA 4 e FIGURA 6.

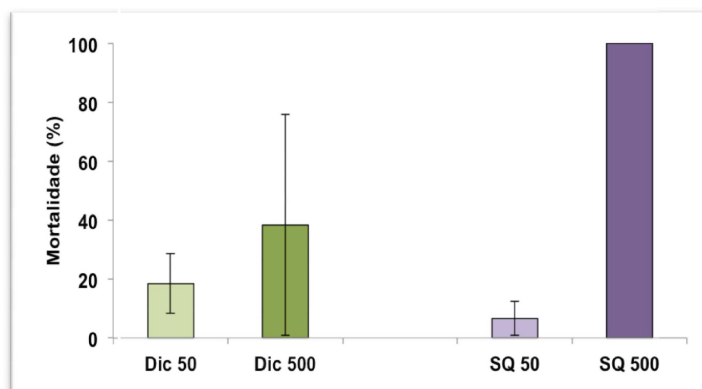
TABELA 4 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA DICENTRINA FRENTE À *Artemia salina*

Amostra	Conc. (µg/mL)	Mortalidade (%) ± DP	CL ₅₀ (µg/mL) (LCI – LCS)	CL ₉₀ (µg/mL) (LCI – LCS)	x ²	gl
Sulfato de quinidina	5	0,00 ± 0,00	108,69 (72,46 – 1087,47)	205,60 (109,5 – 15114,25)	0,61	1 (n.s)
	50	6,67 ± 5,77				
	500	100,00 ± 0,00				
Dicentrina	5	0,00 ± 0,00	926,23 (326,29 – 19838,21)	25392,47 (3214,40 – 50177512,6)	1,699	1 (n.s)
	50	18,46 ± 10,11				
	500	38,33 ± 37,53				

LEGENDA: Conc.= concentração; CL₅₀= concentração letal 50%; CL₉₀= concentração letal 90%; LCI= limite de confiança inferior; LCS= limite de confiança superior; x²= qui-quadrado; gl= grau de liberdade; n.s= não significativo (p<0,05).

FONTE: O autor (2019).

Segundo Meyer et al. (1982), as amostras são consideradas tóxicas quando a CL₅₀ for inferior a 1000 µg/mL. Porém, Amarante et al. (2011), descreve uma classificação melhor delimitada ao considerar baixa toxicidade quando a CL₅₀ for superior a 500 µg/mL; moderada para CL₅₀ entre 100 a 500 µg/mL e muito tóxico quando a CL₅₀ for inferior 100 µg/mL. De acordo com Amarante et al. (2011) a dicentrina apresentabaixa toxicidade.

FIGURA 6 – RESULTADOS DO ENSAIO DE TOXICIDADE COM A DICENTRINA FRENTE A *Artemia salina*

LEGENDA: Dic 50 = dicentrina 50µg/mL; Dic 500 = dicentrina 500µg/mL; SQ 50 = sulfato de quinidina 50µg/mL; SQ 500 = sulfato de quinidina 500 µg/mL.

FONTE: O autor (2019).

Na espécie *Glechoma hederaceae* (família Lamiaceae), Kumarasamy et al. (2003) isolou os alcaloides hederacina A e hederacina B e que foram testados em *Artemia salina* e os alcaloides apresentaram toxicidade com CL₅₀ de 3,2 e 14,0 µg / mL, respectivamente. Outro alcaloide que foi testado frente à toxicidade em *Artemia salina* foi a aspidospermina, isolada da espécie *Geissospermum vellosii*

(Apocynaceae) e apresentou atividade com uma CL_{50} de 232,63 $\mu\text{g/mL}$. (DIAS, 2012).

Wangenstein et al. (2016) isolou os alcaloides dihidronitidina, isoarnotianamida das cascas do caule de *Zanthoxylum heitzii* (família Rutaceae) e os testou quanto ao potencial tóxico em *Artemia salina*, sendo que os dois compostos apresentaram CL_{50} acima de 100 $\mu\text{g/mL}$. Nota-se que segundo a classificação de Meyer et al. (1982) os alcaloides supracitados seriam considerados tóxicos e com a classificação de Amarante et al. (2011) ambos teriam toxicidade moderada.

O ensaio em *Artemia salina* foi realizado no sentido de verificar se a dicentrina isolada das galhas apresenta características poluidoras do meio ambiente. A baixa toxicidade pode ser considerada uma característica interessante para utilização de metabólitos isolados em ambientes naturais. (LIMA et al., 2011).

4.2.2 Avaliação da atividade larvicida em *Aedes aegypti*

Os resultados obtidos na avaliação da atividade larvicida em *Aedes aegypti* podem ser vistos na TABELA 5 e FIGURA 7.

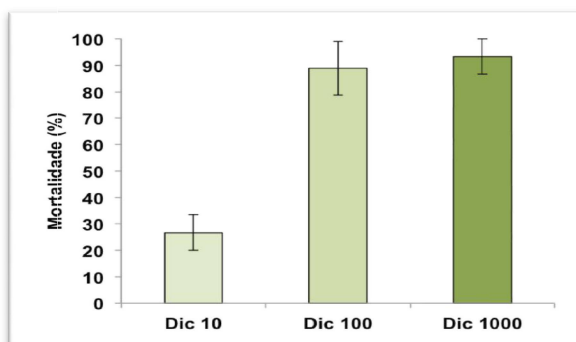
TABELA 5 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DA DICENTRINA EM *Aedes aegypti*

Amostra	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Mortalidade (%) $\pm$ DP	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	CL_{90} ($\mu\text{g/mL}$)	χ^2	gl
Dicentrina	10	26,67 $\pm$ 6,67	23,64	275,94	7,23	1 (s)
	100	88,89 $\pm$ 10,18				
	1000	93,33 $\pm$ 6,67				

NOTA: Conc.=concentração; CL_{50} =concentração letal 50%; CL_{90} =concentração letal 90%; χ^2 =qui-quadrado; gl= grau de liberdade; s=significativo ($p < 0,05$).

FONTE: O autor (2019).

FIGURA 7– RESULTADOS DO ENSAIO DE ATIVIDADE LARVICIDA DA DICENTRINA EM *Aedes aegypti*



LEGENDA: Dic 10 = dicentrina 10µg/mL; Dic 100 = dicentrina 100µg/mL; Dic 1000 = dicentrina 1000 µg/mL.

FONTE: O autor (2019).

Como pode ser observado a dicentrina apresentou atividade larvicida em *Aedes aegypti* com $CL_{50} = 23,62 \mu\text{g/mL}$. Garcez et al. (2009), utilizou a (+)-dicentrina isolada das cascas do caule da espécie *Ocotea velloziana* e esta apresentou efeito larvicida ($CL_{50} = 30,2 \mu\text{g/mL}$) frente as larvas do terceiro estágio do mosquito *Aedes aegypti*. Chalom et al. (2019), isolou alcaloides das partes aéreas de *Stemona aphylla* (família Stemonaceae) e os utilizou em atividade larvicida em *Aedes aegypti*. O alcaloide (2'S)-hidroxiestemofolina apresentou valores de CL_{50} e CL_{90} de 3,91 e 7,14 µg/mL e o alcaloide estemofolina apresentou valores de CL_{50} e CL_{90} de 4,35 e 7,60 µg/mL. (CHALOM et al., 2019).

As estratégias de controle do principal vetor da dengue, *Aedes aegypti* estão baseadas na utilização de produtos químicos e biológicos, integrados com programas de manejo ambiental. (LUNA et al., 2004). No Brasil, os programas que visam a controlar o *Aedes aegypti* utilizam principalmente inseticidas químicos, onde se destacam os organofosforados (temefós) e piretróides (cipermetrina) que requerem monitoramento constante, pois há forte correlação com resistência desses inseticidas e a ocorrência das mutações na população de mosquitos (LUNA et al., 2004; BRAGA; VALLE, 2007)

A vantagem dos inseticidas derivados de plantas é possuir ampla gama de compostos bioativos que possuem diferentes mecanismos de ação contra uma variedade de insetos. Estes compostos bioativos são menos tóxicos e têm meias-vidas mais curtas em comparação com os compostos sintéticos, resultando em menores quantidades de resíduos nocivos no meio ambiente e nos ciclos de vida de humanos e animais. (WHO, 2012; PAVELA, 2016; MUANGMOON et al., 2018).

O comportamento de larvas tratadas com alcaloides, isto é, os efeitos de sua exposição geram como consequência convulsões, paralisia e morte das larvas (não necessita seguir essa ordem), e indicam que os alcaloides de plantas provavelmente tenham um efeito tóxico no sistema neuromuscular das larvas. (CHAITHONG et al. al., 2006).

Tendo em vista os resultados obtidos, pode-se sugerir que a dicentrina apresenta resultados promissores como agente larvicida, visto que, de acordo com a literatura (CHENG et al., 2008), substâncias com valores de CL_{50} menores que 100 $\mu\text{g/mL}$ são consideradas bons agentes larvicidas, consideração também feita por Garcez et al., (2009) que sugerem que a dicentrina pode ser considerada um promissor agente larvicida.

4.2.3 Avaliação da atividade hemolítica *in vitro*

Na TABELA 6 podem ser vistos os resultados de hemólise obtidos para a dicentrina e saponina, e na FIGURA 8 encontra-se representado o potencial hemolítico da saponina.

Assim como o teste de toxicidade frente à *Artemia salina*, o teste que avalia a hemólise atua como um indicador de citotoxicidade. Por meio da avaliação da estabilidade mecânica da membrana do eritrócito de carneiro pode caracterizar os danos que o composto provoca e correlacionar a toxicidade analisada com potencial de atividade terapêutica. (SHARMA; SHARMA, 2001).

TABELA 6 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA DICENTRINA EM HEMÁCIAS DE CARNEIRO

Amostra	Conc. ¹ ($\mu\text{g/mL}$)	% hemólise em relação ao triton		% hemólise em relação a água	
		Média $\pm$ DP	Teste Tukey ²	Média $\pm$ DP	Teste Tukey ²
Dicentrina	100	nd ²	-	nd ²	-
	250	nd ²	-	nd ²	-
	500	nd ²	-	nd ²	-
	750	nd ²	-	nd ²	-
	1000	nd ²	-	nd ²	-
Saponina	100	79,42 $\pm$ 7,91	a1	78,69 $\pm$ 7,84	a1
	250	78,78 $\pm$ 5,33	a1	78,06 $\pm$ 5,28	a1
	500	83,75 $\pm$ 3,66	a1	81,63 $\pm$ 3,63	a1
	750	80,75 $\pm$ 5,97	a1	80,00 $\pm$ 5,91	a1
	1000	75,27 $\pm$ 5,31	a1	74,58 $\pm$ 5,26	a1

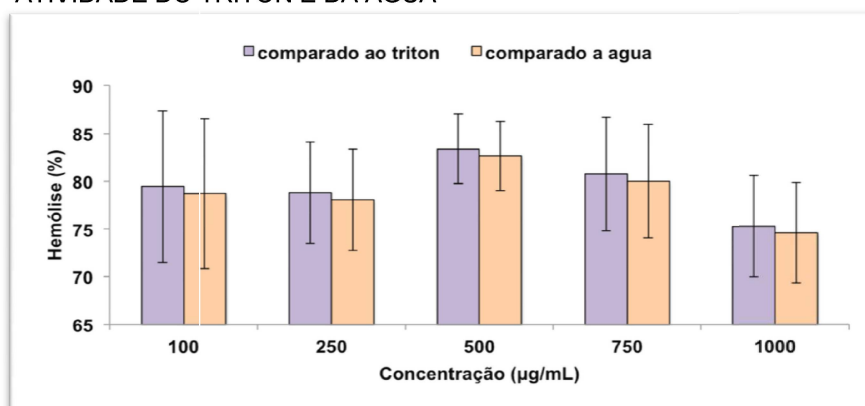
NOTA: Amostras classificadas no mesmo grupo na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey(p < 0,05).

LEGENDA: (1) Conc.= concentração; (2) nd= não detectado. DP = desvio padrão.

FONTE: O autor (2019).

Conforme a TABELA 6, nas concentrações avaliadas, a dicentrina não apresentou atividade hemolítica.

FIGURA 8 – PERCENTUAL HEMÓLITICO CAUSADO PELA SAPONINA COMPARADA A ATIVIDADE DO TRITON E DA ÁGUA



NOTA: Não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados.

FONTE: O autor (2019).

A hemólise também foi avaliada comparando-se com o padrão saponina, metabólito altamente ativo que, mesmo em concentrações baixas, tem a capacidade de causar hemólise dos glóbulos vermelhos com liberação de hemoglobina. (KARABALIEV; KOCHÉV, 2003). Conforme apresentado na FIGURA 8 a porcentagem de hemólise da saponina foi calculada frente ao Triton 1% e Água Potável, sendo considerados como 100% igual ao controle.

4.2.4 Atividade alelopática

Os dados obtidos na avaliação alelopática da dicentrina em sementes de *Lactuca sativa* são apresentados na TABELA 7 e FIGURA 9. De acordo com a análise estatística nenhuma das amostras testadas influenciou na germinação e não alterou o crescimento do hipocótilo

TABELA 7 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DA DICENTRINA EM *Lactuca sativa*

Amostra	Conc. ¹ (µg/mL)	Germinação				Crescimento (mm)			
		% germinação		IVG		Radícula		Hipocótilo	
		Média± DP	SK	Média± DP	SK	Média± DP	SK	Média± DP	SK
Água	-	100	a1	17,9 ± 1,0	a1	26,6 ± 15,4	a2	19,2 ± 9,1	a1
Clorofórmio	-	98,3 ± 2,9	a1	17,2 ± 1,8	a1	25,3 ± 18,3	a2	18,2 ± 11,6	a1
	25	98,3 ± 2,9	a1	16,7 ± 0,7	a1	20,3 ± 15,4	a2	16,6 ± 10,4	a1
	50	100,0 ± 0,0	a1	16,1 ± 1,9	a1	23,9 ± 14,7	a2	18,6 ± 10,1	a1
	100	98,3 ± 2,9	a1	15,6 ± 2,5	a1	24,2 ± 13,2	a2	21,7 ± 9,4	a1
Dicentrina	250	100,0 ± 0,0	a1	17,5 ± 1,0	a1	31,8 ± 16,6	a3	18,8 ± 8,7	a1
	500	96,7 ± 2,9	a1	16,6 ± 0,6	a1	17,2 ± 9,9	a1	20,0 ± 16,9	a1

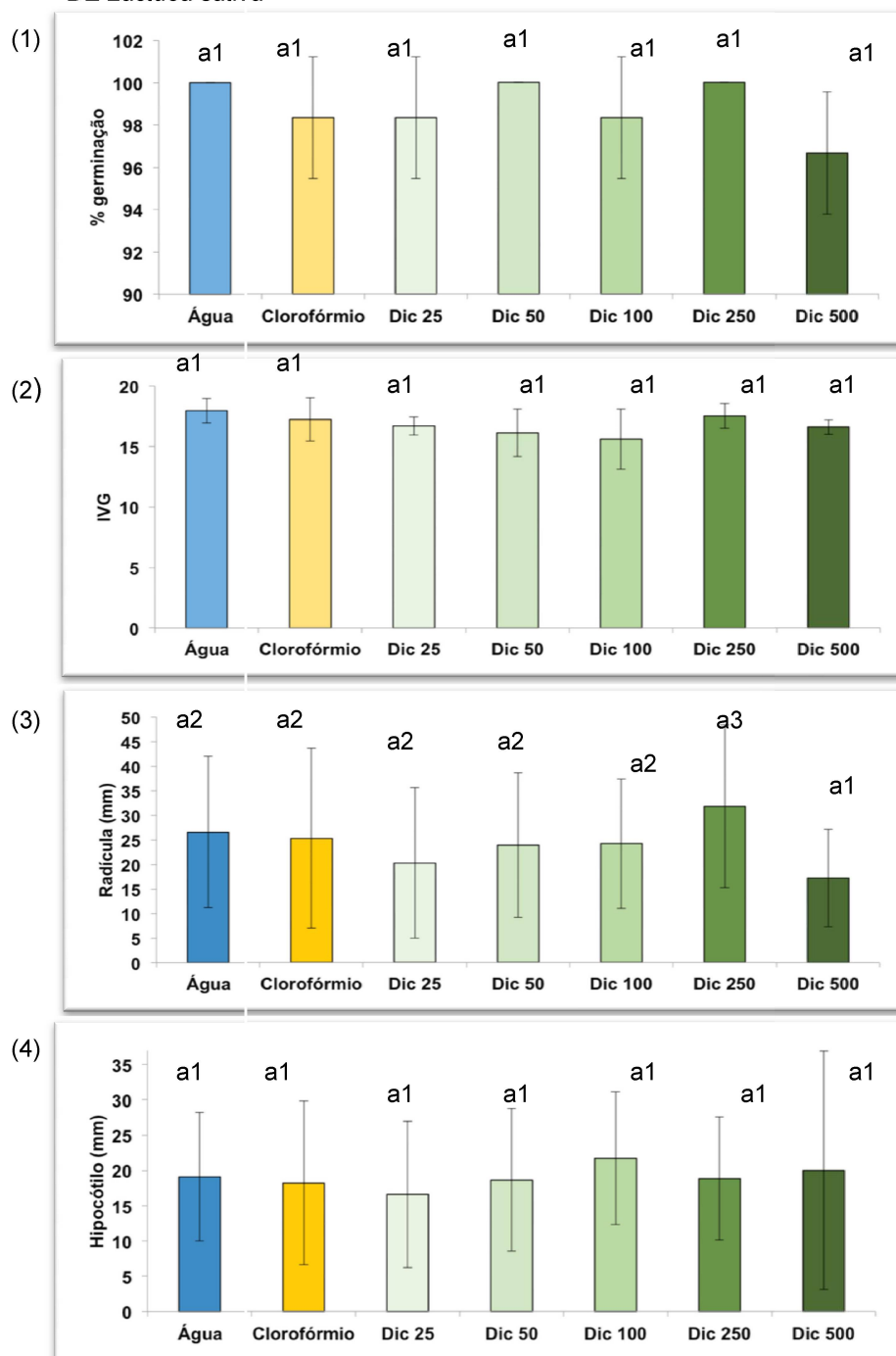
NOTA: Amostras classificadas no mesmo grupo na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). DP = desvio padrão. SK = Scott-Knott

LEGENDA: (1) Conc. = concentração

FONTE: O autor (2019).

Na TABELA 7 e na FIGURA 9, pode-se verificar que a dicentrina na concentração de 25, 50, 100 µg/mL não influenciou o crescimento da radícula, estando estatisticamente semelhante aos padrões água e clorofórmio. Já na concentração de 250 µg/mL a dicentrina estimulou o crescimento da radícula comparando-se com os mesmos padrões. Na concentração de 500 µg/mL pode-se observar, no entanto, que a dicentrina inibiu o crescimento radicular, quando comparada às padrões água e clorofórmio, assim, observa-se nesse caso que o efeito hormético, razão da alta concentração de dicentrina inibiu o crescimento radicular, mas em baixas doses apresenta estímulos que aumentam o crescimento radicular. (CALABRESE; BALDWIN, 2002).

FIGURA 9 - INFLUÊNCIA DA DICENTRINA NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa*



NOTA: Gráficos referentes à (1) % de germinação, (2) índice de velocidade de crescimento – IVG, (3) crescimento da radícula e (4) crescimento do hipocótilo. Dic 25 - dicentrina 25 $\mu\text{g/mL}$; Dic 50 - dicentrina 50 $\mu\text{g/mL}$; Dic 100 - dicentrina 100 $\mu\text{g/mL}$; Dic 250 - dicentrina 250 $\mu\text{g/mL}$; Dic 500 - dicentrina 500 $\mu\text{g/mL}$.

FONTE: O autor (2019).

Os dados obtidos na avaliação alelopática da dicentrina em sementes de *Allium cepa* estão apresentados na TABELA 8 e FIGURA 10.

TABELA 8 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA DA DICENTRINA EM *Allium cepa*

Amostra	Conc. ¹ (µg/mL)	Germinação				Crescimento (mm)			
		% germinação		IVG		Radícula		Coleóptilo	
		Média± DP	SK	Média± DP	SK	Média± DP	SK	Média± DP	SK
Água	-	100	a1	0,6 ± 0,5	a1	6,7 ± 8,4	a2	13,8 ± 20,6	a2
Clorofórmio	-	136,4 ± 27,3	a1	0,8 ± 0,1	a1	5,2 ± 7,1	a1	9,9 ± 16,7	a2
	25	327,3 ± 0,0	a2	2,2 ± 0,6	a2	9,4 ± 8,9	a2	20,6 ± 16,6	a3
	50	154,5 ± 83,3	a1	0,9 ± 0,5	a1	7,5 ± 11,7	a2	2,8 ± 4,2	a1
Dicentrina	100	418,2 ± 83,3	a2	2,7 ± 0,7	a2	5,0 ± 5,7	a1	11,4 ± 13,3	a2
	250	172,7 ± 15,7	a1	0,9 ± 0,1	a1	4,9 ± 5,0	a1	11,4 ± 13,6	a2
	500	200,0 ± 68,6	a1	1,3 ± 0,4	a1	3,4 ± 3,1	a1	8,5 ± 11,7	a2

NOTA: Amostras classificadas no mesmo grupo na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). SK = Scott-Knott

LEGENDA: (1) Conc. = concentração.

FONTE: O autor (2019).

Na TABELA 8, pode-se verificar que a dicentrina nas concentrações 25 e 100 µg/mL apresentou diferença estatística na porcentagem de germinação e do IVG das sementes de cebola, quando comparada aos padrões água e clorofórmio.

Segundo Imatomi et al. (2015), modificações no processo de germinação podem decorrer de processos fisiológicos na semente, os quais são afetados por fitotoxinas, responsáveis pela supressão de atividades enzimáticas, ou fitohormônios, associados com a hidrólise dos materiais de reserva do embrião no início do desenvolvimento. De acordo com Piña-Rodriguez et al. (2004), o IVG é usado na validação do vigor das sementes já que seu enfraquecimento leva à perda progressiva da capacidade produtiva, com a redução na uniformidade da germinação.

Na TABELA 8 observa-se que o crescimento da radícula de *Allium cepa* não foi influenciado pelas amostras testadas. Nota-se quanto ao crescimento do coleóptilo da cebola, este foi estimulado pela dicentrina na concentração de 25 µg/mL. Já na concentração 50 µg/mL pode-se verificar a inibição do crescimento. Dessa maneira verifica-se a ocorrência do efeito hormético. De acordo com Hartmann et al. 2017, a hormese ocorre quando uma substância considerada tóxica, em concentrações baixas da que apresenta toxicidade, estimula o desenvolvimento da planta alvo. O efeito geralmente observado no crescimento inicial é a redução do eixo hipocótilo-radícula da planta alvo, quando em contato com a amostra. (AQUILA,

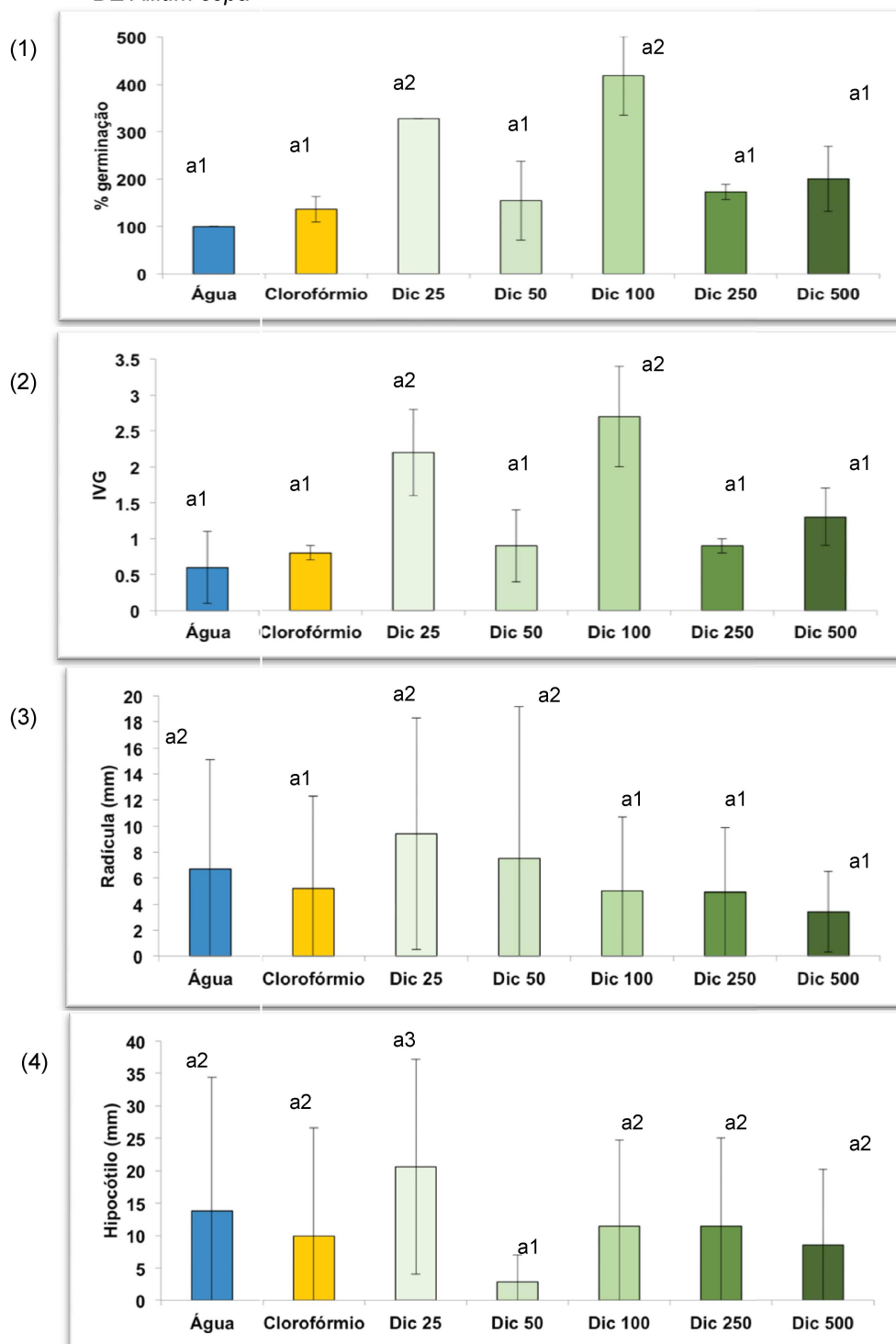
1999; RODRIGUES, 2002), e este efeito pode ser mais pronunciado no desenvolvimento da radícula tendo em vista que ocorre um maior contato desta com o papel de filtro embebido com a amostra. (CHUNG et al., 2001).

Geralmente os efeitos dos aleloquímicos tendem a serem mais acentuados em concentrações mais altas, entretanto, a influência alelopática podem escapar deste padrão uma vez que os efeitos observados resultam de um somatório de uma série de alterações moleculares, que justificam que os resultados para alelopatia, obtidos em laboratório, podem não se repetir em condições naturais, devido à ocorrência simultânea de diversos fatores bióticos e abióticos que podem mascarar este fenômeno. (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2006).

A atividade alelopática do gênero *Ocotea* já foi investigada. Segundo Borges et al. (1993), na espécie *Ocotea odorífera* foi observado efeito alelopático, ocorrendo inibição do desenvolvimento tanto da parte aérea quanto do sistema radicular das plantas submetidas aos seus extratos.

É reportado que os compostos genotóxicos possuem características e propriedades físicas e químicas capazes de interagir com os ácidos nucleicos, os quais podem levar a defeitos relacionados à hereditariedade mediante as mutações observadas em células germinativas. Há estudos que corroboram o emprego do sistema teste de *Allium cepa* como uma importante ferramenta e biomarcador no monitoramento de genotoxicidade de extratos e infusões de plantas medicinais e os resultados tem indicado como principais efeitos o aumento e diminuição da proliferação celular, estabelecendo que muitas plantas podem apresentar potencial mutagênico e antimutagênico. (KNOLL et al. 2006). A análise da ação genotóxica é avaliada pela redução do crescimento das raízes. (VICENTINI, et al. 2001). Assim, nota-se, que a dicentrina quando aumentada em concentração impede o crescimento radicular de *Allium cepa*, podendo indicar um potencial agente genotóxico dependendo da concentração empregada. Para a confirmação do potencial genotóxico outros testes deverão ser empregados.

FIGURA 10– INFLUÊNCIA DA DICENTRINA NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE SEMENTES DE *Allium cepa*



LEGENDA: Gráficos referentes à (1) % de germinação, (2) índice de velocidade de crescimento – IVG, (3) crescimento da radícula e (4) crescimento do coleóptilo. Dic 25 = dicentrina 25 µg/mL; Dic 50 = dicentrina 50 µg/mL; Dic 100 = dicentrina 100 µg/mL; Dic 250 = dicentrina 250 µg/mL; Dic 500 = dicentrina 500 µg/mL.

FONTE: O autor (2019).

5.CONCLUSÃO

A dicentrina, um alcaloide aporfinoide, é reconhecido por diversas atividades biológicas e farmacológicas. Ao avaliar o potencial antioxidante foi verificado pelo método do fosfomolibdênio que a dicentrina teve um potencial antioxidante de 90,68% em comparação a rutina, 30,88% em comparação ao BHT e 16,62% em relação ao ácido ascórbico. Pelo método DPPH• apresentou $CI_{50} = 943,11 \mu\text{g/mL}$, indicativo de baixo potencial antioxidante.

No teste de *Artemia salina*, a dicentrina apresentou baixo potencial tóxico. Não se observou na avaliação hemolítica a capacidade da dicentrina em atuar na ruptura da membrana de eritrócitos de carneiro, indicando assim, que ela não possui potencial tóxico frente ao teste preliminar. Na avaliação da atividade larvícida em *Aedes aegypti* a dicentrina apresentou $CL_{50} = 23,62 \mu\text{g/mL}$, ou seja, potencial larvícida

Na avaliação da atividade alelopática nas sementes de *Lactuca sativa*, a dicentrina não influenciou a germinação, do IVG e o crescimento do hipocótilo, porém estimulou o crescimento radicular na concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$ e inibiu o crescimento radicular na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$. Na atividade alelopática nas sementes de *Allium cepa* a dicentrina com 25 e 100 $\mu\text{g/mL}$ estimulou a porcentagem de germinação e o IVG. O crescimento da radícula de *Allium cepa* não foi influenciado pelas amostras testadas, porém, o coleóptilo foi estimulado com 25 $\mu\text{g/mL}$ e inibido com 50 $\mu\text{g/mL}$.

Após a avaliação dos resultados apresentados nos testes, foi observado que a dicentrina possui um potencial larvícida e alelopático.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. The use of medicinal plants by the cultural descendants of African people in Brazil. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Pernambuco, v. 20, n. 2, p. 139-144, 2001. Disponível em: <https://catbull.com/alamut/Bibliothek/LAJOP_20_2_1_9_X1A9PM770Z.pdf>. Acesso em: 25 de novembro de 2017.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010001000033&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10 de maio de 2019.
- AMARANTE, C. B. et al. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmodica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta amazônica**, v. 41, n. 3, p. 431-434, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672011000300015&script=sci_abstract>. Acesso em: 15 de agosto de 2017.
- AMIRKIA, V.; HEINRICH, M. Alkaloids as drug leads - A predictive structural and biodiversity-based analysis. **Phytochemistry Letters**, v. 10, p. xlviii–liiii, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187439001400113X>>. Acesso em: 22 de maio de 2019.
- ANISZEWSKI, T. **Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications**. 3 ed. Finlândia: Elsevier, 2015.
- APG. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.181, p. 1-20, 2016. Disponível em: <<http://1monde2commelinaceae.free.fr/pdf/apgll.pdf>>. Acesso em: 15 de agosto de 2017.
- ARAUJO, A. J. **Estudo fitoquímico das folhas de *Ocotea puberula* (Reich.) Nees (LAURACEAE)**. 2000. 110f. Dissertação (Mestrado em Química) - Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.
- ARAUJO, A. C. R. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades alelopática, antioxidante, antilarvicida e citotóxica das folhas de *Ocotea pulchella* Mart. (lauraceae)**. Curitiba, 2012. 118f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências Saúde – Universidade Federal do Paraná
- ARNÃO, M.B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in food Science and Technology**, v. 11, n.11, p. 419-421, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224401000279>>. Acesso em: 23 de junho de 2019.

AQUILA, M. E. A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, p.383-388, 1999.

BALLABENI, V.; TOGNOLINI, M.; BERTONI, S.; BRUNI, R.; GUERRINI, A.; RUEDA, G. M.; BAROCELLI, E. Antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from wild *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) calices from Amazonian Ecuador. **Pharmacological Research**, v.55, n.1, p. 23-30, 2007.

BALLABENI, V.; TOGNOLINI, M.; GIORGIO, C.; BERTONI, C.; BRUNI, R.; BAROCELLI, E. *Ocotea quixos* Lam. essential oil: *In vitro* and *in vivo* investigation on its anti-inflammatory properties. **Fitoterapia**, Volume 81, n.4, p.289-295, 2010.

BANERJEE, A. et al. Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. **Chemico-Biological Interactions**, v. 174, n.2, p. 134-139, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279708002731?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 de junho de 2019.

BARBOSA-FILHO, J. M. et al. CG-MS analysis and cardiovascular activity of the essential oil of *Ocotea duckei*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 37-41, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n1/a09v18n1.pdf>>. Acesso em: 02 de setembro de 2018.

BARALLE, F. et al. Dehydroocoteine and didehydroocoteine from *Ocotea puberula*. **Experientia**, v.28, n. 8, p. 875-876, 1972. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5076307>>. Acesso em: 20 de maio de 2019.

BARNECHE, S. et al. Prospección química y microbiológica del bosque de galería del río Uruguay. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 6, p. 878-885, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000600009&lng=en&nrm=iso&tling=es>. Acesso em: 21 de abril de 2019.

BARRERA, E. D. B.; SUAREZ, L. E. C. In vitro anti-inflammatory effects of naturally-occurring compounds from two Lauraceae plants. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, vol.83, n.4, pp. 1397-1402, 2011.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300012>. Acesso em: 17 de outubro de 2018.

BARRETO, M. L. et al. Successes and failures in the control of infectious diseases in Brazil: social and environmental context, policies, interventions, and research needs. **The Lancet**, v. 377, n. 9780, p. 1877-1989, 2011. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(11\)60202-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(11)60202-X/fulltext)>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2019.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: Science, technology, and applications**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2012.

BEDNARCZUK, V. O. et al. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, 2010. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/21366>>. Acesso em: 20 de abril de 2019.

BEHLING, E. B. et al. Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos Nutrição**, v. 15, n. 03, p. 285-292, 2004.

BEIRITH, A.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B.; HESS, S. C.; MESSANA, I.; FERRARI, F.; YUNES, R. A. Study of the antinociceptive action of the ethanolic extract and the triterpene 24-hydroxytormentic acid isolated from the stem bark of *Ocotea suaveolens*. **Planta Médica**, v.65, n.1, p. 50-55, 1999.

BETIM, F. C. M. et al. *Ocotea nutans* (Nees) Mez (Lauraceae): chemical composition, antioxidant capacity and biological properties of essential oil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 55, e18284, 2019.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/m/v12n2/v12n2a01.pdf>>. Acesso em: 20 de abril de 2019.

BORGES, L. L. et al. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopedia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-20, 2011. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2011a/saude/uma%20abordagem.pdf>>. Acesso em: 12 de Maio de 2019.

BORGES, E. E. L.; LOPES, E. S.; SILVA, G. F. Avaliação de substâncias alelopáticas em vegetação de uma floresta secundária. I - árvores. **Revista Árvore**, v. 17, p. 69 – 84, 1993.

BORTOLOTO, T. **Avaliação da atividade tóxica e genotóxica de percolados do aterro sanitário de Sombrio-SC, utilizando *Artemia sp.* e *Allium cepa* L.** 2007. 79 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.

BOTSARIS, A. S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, Reino Unido, v. 3, n. 18, p. 1-8, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/article/PMC1891273/pdf/1746-4269-3-18.pdf>>. Acesso em: 02 de abril de 2019.

BOUAZIZ, A.; MHALLA, D.; ZOUARI, I.; JLAIEL, L.; TOUNSI, S.; JARRAYA, R.; TRIGUI, M. Antibacterial and antioxidant activities of *Hammada scoparia* extracts and its major purified alkaloids, **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 89-96, 2016.

BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 16, n. 4, p. 179-293, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica. **Programa Nacional de Controle da Dengue**. 2009.

BROTTO, M. L. **Estudo taxonômico do gênero *ocotea* aubl. (lauraceae) na floresta ombrófila densa no estado do Paraná, Brasil**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

BROTTO, M. L.; CERVI, A. C.; SANTOS, E. P. dos. O gênero *Ocotea* (Lauraceae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 3, p. 495-525, 2013. Disponível em: <<http://rodriguesia.seer.jbrj.gov.br/index.php/rodriguesia/article/view/ID%20694/301>>. Acesso em: 10 de agosto de 2017.

BRUNI, R. et al. Chemical composition and biological activities of *Ischpingo* essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. **Food Chemistry**, v. 85, n.3, p.415-421, 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814603003698>>. Acesso em: 29 de março de 2019.

CABRAL, G.A.L; MACIEL, J. R. Levantamento etnobotânico da coleção de plantas medicinais do jardim botânico do Recife, PE. **Natureza on line**, v.3, n.9, p.146-151, 2011. Disponível em: <<http://jardimbotanico.recife.pe.gov.br/sites/default/files/midia/arquivos/pagina-basica/8.pdf>>. Acesso em: 02 de abril de 2019.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defining hormesis. **Human and Experimental Toxicology**, v. 21, n. 2, p. 91 – 97, 2002. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1191/0960327102ht217oa>>. Acesso em: 3 de julho de 2019.

CAMPOS, G. S; BANDEIRA, A. C; SARDI, S. I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Bahia, v. 21, p. 5-10, 2015. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/10/15-0847_article>. Acesso em: 15 de junho de 2019.

CANDIDO, L. P. et al. Evaluation of the allelopathic potential of leaf, stem, and root extracts of *Ocotea pulchella* Nees. et Mart. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 8, p. 1058-1067, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201500501>>. Acesso em: 02 de julho de 2019.

CARDOSO, E. A. et al. Leishmaniasis : History , Evolution of Treatment and the Need for New Drugs. **Current Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 279- 288, 2014. Disponível em: <<https://www.eurekaselect.com/129074/article>>. Acesso em: 04 de junho de 2019.

CARMO, F.M. da S.; BORGES, E. E. de L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, v.21, n.3, p. 697-705, 2007.

CARVALHO, P. E. R. Canela Guaicá. **Embrapa: Circular técnica 62**, Paraná, v. 1, p. 1-11, 2002. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/42000/1/CT0062.pdf>>. Acesso em: 10 de setembro de 2018.

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras volume 1. In: CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. 1 ed. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. p. 1-1039.

CASTILHOS, T.S., GIORDANI, R.B., HENRIQUES, A.T., MENEZES, F.S., ZUANAZZI, J.A.S. Avaliação *in vitro* das atividades antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcalóide montanina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(2): 209-214, 2007.

CAVA, M.P.; WENKATESWARLU, A. Dehydroocopodine, dicentrinone and other alkaloids from *Ocotea macropoda* and *Hernandia jamaicensis*. **Tetrahedron Letters**, v. 27, p. 2639-2643, 1971. Disponível: <[https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)98053-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)98053-6)>. Acesso em: 22 de abril de 2019.

CHAITHONG U, CHOOCHOTE W, KAMSUK K, JITPAKDI A, TIPPAWANGKOSOL P, CHAIYASIT D. Larvicidal effect of pepper plants on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, 31:138-144, 2006.

CHALOM, S.; JUMPATONG, K.; WANGKARN, S.; CHANTARA, S.; PHALARAKSH, C.; DHEERANUPATTANA, S.; SUWANKERD, W.; PYNE, S.G.; MUNGKORNASAWAKUL, P. Utilization of electrocoagulation for the isolation of alkaloids from the aerial parts of *Stemona aphylla* and their mosquitocidal activities against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, 2019.

CHENG, S. S. et al. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p 452-456, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18396398>>. Acesso em: 16 de junho de 2019.

CHUNG, I. M.; AHN, L. K.; YUN, S. J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928, 2001.

CORDEL, G.A.; QUIRN-BEATTIE, M. L.; FARNSWORTH, N. R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phytotherapy Research**, Estados Unidos, v. 15, n. 3, p. 183-205, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11351353>>. Acesso em: 20 de agosto de 2018.

COSTA-LOTUFO, L. V. et al. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia

Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, p.47-58, 2010. Disponível em: <<http://rvq.sbq.org.br/imagebank/pdf/v2n1a06.pdf>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2019.

COUTINHO, D. F. et al. Morfo-anatomia foliar de *Ocotea gardneri* (Meisn.) Mez (Lauraceae-Lauroideae). **Revista brasileira de farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 2, p. 178-184, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2006000200008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 16 de julho de 2017.

CROTEAU, R. et al. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAM, B.B. et al. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: Courier Companies, 2000. p.1250-1318.

CUCA, L. E.; LEON, P.; COY, E.D. A bicyclo(3.2,1) octanoid neolignan and toxicity of the ethanol extract from the fruit of *Ocotea heterochroma*. **Chemistry of Natural Compounds**, vol.45, n.2, p.179-18, 2009.

CUSTÓDIO, D. L.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Lauraceae alkaloids. **RSC Advances**, v. 4, p. 21864-21890, 2014. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ra/c4ra01904k#!divAbstract>>. Acesso em: 22 de fevereiro de 2019.

DAMASCENO, C. S. B. et al. Chemical composition, antioxidant and biological activity of *Ocotea bicolor* Vattimo-Gil (LAURACEAE) essential oil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 53, n. 4, e17298, 2017.

DA SILVA, L. M. G. E. **Estudo químico biomonitorado por ensaio com larvas *Aedes aegypti* das espécies *Ocotea vellosiana* (Meisn.) Mez. e *Aiouea trinervis* (Meisn.)**. 2010. 110 f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2010.

DA SILVA, T. B. C. et al. Citotoxic potential of selected medicinal plants in northeast Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 199, p. 1-9, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4938922/pdf/12906_2016_Article_1166.pdf>. Acesso em: 22 de abril de 2019.

DA SILVA, J.C. E. et al. Chemical Diversity, Biological Activity, and Genetic Aspects of Three *Ocotea* Species from the Amazon. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.18, n. 5, p. 1081-1096, 2017. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28524091>>. Acesso em: 16 de maio de 2019.

DE OLIVEIRA, D. C. et al. Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawf. (Hemiptera: Psyllidae). **Revista Brasil**, v. 29, n. 4, p. 657-667, 2006. Disponível em: <http://www.academia.edu/16084600/Rea%C3%A7%C3%B5es_de_defesas_qu%C3%ADmicas_e_estruturais_de_Lonchocarpus_muehlbergianus_Hassl._Fabaceae_%>

C3%A0_a%C3%A7%C3%A3o_do_galhador_Euphalerus_ostreoides_Crawf._Hemiptera_Psyllidae_>. Acesso em: 10 de maio de 2019.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3 ed. Wiltshire: John Wiley & Sons, Ltd., 2009.

DIAS, C. S.; SILVA, I. G.; CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; BRAZ-FILHO, R.; BARBOSA FILHO, J. M. Isolamento e identificação de novos alcalóides de *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**. v.13, ed. 1, p. 62-63, 2003.

DIAS, J. de F. G.; CIRIO, G. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Contribution to the allelopathic study of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 220-223, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2005000300011>. Acesso em: 13 de maio de 2019.

DIAS, J.F.G. **Fitoquímica e ensaios biológicos do extrato bruto etanólico, frações e substâncias isoladas provenientes das cascas de *Geissospermum vellosii* Allemão, (APOCYNACEAE)**. 135 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

DICK, G.W.A.; KITCHEN, S. F; HADDOW, A. J. Zika virus (I). Isolation and serological specificity. **Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene**, v.46, n.5, p.509-20, 1952. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0035920352900424>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2019.

ELAMIN, M. H. et al. Curcumin inhibits the Sonic Hedgehog signaling pathway and triggers apoptosis in medulloblastoma cells. **Molecular carcinogenesis**, v. 49, n. 3, p. 302–314, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mc.20604>>. Acesso em: 18 de janeiro de 2019.

FABRI, N.T. et al . Composition, antioxidant properties, and biological activities of the essential oil extracted from *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 55, e-18471, 2019

FERREIRA, D. F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 2014. 1 CD-ROOM. SISVAR 4.

FIELD, M. C. et al. Anti-trypanosomatid drug discovery: an ongoing challenge and a continuing need. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 4, p. 217-231, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28239154>>. Acesso em: 25 de maio de 2019.

FOURNET, A. et al. Phytochemical and antiprotozoal activity of *Ocotea lancifolia*. **Fitoterapia**, n. 78, n. 5, p. 382–384, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X07000937?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

FRANÇA, A. C et al. Atividades alelopáticas de nim sobre o crescimento de sorgo, alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1374-1379, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000500003>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2019.

FUMAGALI, E. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000400022>. Acesso em: 20 de novembro de 2018.

GABOR, W. E.; VEATCH, C. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. **Weed Science**, v. 29, n. 2, p. 155-159, 1981. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/weed-science/article/isolation-of-a-phytotoxin-from-quackgrass-agropyron-repens-rhizomes/E3EB3E9A28F3F7EC15F90BF95D610016>>. Acesso em: 03 de junho de 2019.

GARCEZ, W.S.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R. Benzylisoquinoline and flavonols from *Ocotea vellosiana*. **Phytochemistry**, v.39, n.4, p. 815-816, 1995. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/003194229400961R>>. Acesso em: 20 de agosto de 2018.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SHIMABUKURO, A. A. Indole alkaloid and other constituents from *Ocotea minarum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, vol.16, n.6b, pp.1382-1386, 2005.

GARCEZ, W. S. et al. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. **Bioresource Technology**, Nova York, v. 100, p. 6647-6650, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409007780>>. Acesso em: 25 de agosto de 2018.

GARCEZ, F. R. et al. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. **Planta Médica**, v.77, n.4, p. 383-387, 2011. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0030-1250401>>. Acesso em: 28 de agosto de 2019.

GARRETT, R. et al. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Ocotea notata* guiada pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* Leach. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, Santiago, v.6, n.6, p.344-345, 2007. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617472016>>. Acesso em: 15 de março de 2019.

GARRETT, R. et al. Antiherpetic activity of a flavonoid fraction from *Ocotea notata* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 306-313, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2012000200009>. Acesso em: 16 de maio de 2019.

GARRETT, R. et al. Chemical composition and toxicity of *Ocotea notata* (Nees) Mez. essential Oil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 13, n.4, p. 455-459, 2013. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2010.10643849>>. Acesso em: 17 de abril de 2019.

GIORDANI, R. B. et al. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico do *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, p. 2042-2046, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000800024>. Acesso em: 10 de janeiro de 2019.

GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M.A. C.; BORIN, M. R. de M.B. **Biodiversidade, um enfoque químico-biológico**. 1 ed. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996.

GUTERRES, Z. da R. et al. Atividade genotóxica de extratos etanólicos de plantas do gênero *Ocotea*. **Revista Brasileira Biociências**, Porto Alegre, v. 10, n. 2, p. 157-163, 2012. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1952/1115>>. Acesso em: 14 de agosto de 2018.

GUTERRES, Z. R. et al. Mutagenicity and recombinagenicity of *Ocotea acutifolia* (Lauraceae) aporphinoid alkaloids. **Mutation Research**, v.757, n.1, p. 91-96, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571813002040>>. Acesso em: 22 de agosto de 2018.

HABLI, Z. et al. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: overview of molecular mechanisms. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 1-22, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6155614/>>. Acesso em: 28 de junho de 2019.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox, **The Lancet**, v. 355, n. 1, p. 1179-1180, 2000. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(00\)02075-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(00)02075-4/fulltext)>. Acesso em: 29 de junho de 2019.

HARTBERG, W. K.; CRAIG-JR; G. B. Reproductive isolation in *Stegomyia* mosquitos. II Hybrid breakdown between *Aedes aegypti* and *A. mascarensis*. **Evolution**, v. 24, n. 4, p. 692-703, 1970. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28564933>>. Acesso em: 19 de maio de 2019.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, n. 68, p. 2831-2846, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942207005730?via%3Dihub>>. Acesso em: 15 de julho de 2019.

HARTMANN, K. C. D; FORTES, A. M. T.; CASSOL, R. V.; MENDOÇA, L. C. de Atividade alelopática de espécies invasoras sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de arbórea nativa. **Floresta**, v. 47, n. 3, p. 229 - 235, 2017

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 2, p. 111–129, 2015. Disponível em: <<https://strathprints.strath.ac.uk/51792/>>. Acesso em: 20 de março de 2019.

HEMINGWAY, J; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual Review Entomology**, v. 45, p. 371-391, 2000. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.ento.45.1.371?rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=ento>. Acesso em: 15 de julho de 2019.

HENNEBERG, R. **Estudo do efeito antioxidante de polifenóis em eritrócitos de pacientes de hemoglobina S**. 183 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

HIRANO, E. ; POSSAMAI, E. Estadio de maturação do fruto e germinação de sementes de três espécies de Lauraceae. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 2, p. 219-223, 2008. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/agraria/article/view/11006>>. Acesso em: 12 de maio 2019.

HOET, S. et al. Alkaloids from *Cassytha filiformis* and related aporphines: antitrypanosomal activity, cytotoxicity, and interaction with DNA and topoisomerases. **Planta Medica**, v. 70, n. 5, p. 407-413, 2004. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2004-818967>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2019.

HUANG, R.L.; CHEN, C.C.; HUANG, Y.L.; OU, J.C.; PO HU, C.; CHEN, C.C.; CHUNGMIN, C. Anti-tumor effects of d-dicentrine from the root of *Lindera megaphylla*. **Planta Medica** v.64, p.212-215. 1998.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IBM Corporation. IBM SPSS Statistics para Windows. Versão 22.0. Armonk, NY: IBM Corp, 2013.

IMATOMI, M.; NOVAES, P.; MIRANDA, M. A. F. M.; GUALTIERI, S. C. J. Phytotoxic effects of aqueous leaf extracts of four Myrtaceae species on three weeds. **Acta Scientiarum**, v. 37, n. 2, p. 241-248, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86212015000200241>. Acesso em: 21 de maio de 2019.

INDRA, B. et al. Structure-activity relationship studies with (±)-nantenine derivatives for α 1-adrenoceptor antagonist activity. **European Journal of Pharmacology**, n. 43, v.3, p.173-178, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299902013031?via%3Dihub>>. Acesso em: 14 de julho de 2019.

JANG, M.; KIM, H.; KANG, K.; YOKOZAWA, T.; PARK, J. Hydroxyl radical scavenging activities of isoquinoline alkaloids isolated from *Coptis chinensis*. **Archives of Pharmacal Research**, 32 (3) (2009), pp. 341-345

JUNIOR, A. R. P.; CARVALHO, R. I. N. DE; NETTO, S. P.; WEBER, S. H.; SOUZA, E. DE; FURIATTI, R.S. Bioatividade de óleos essenciais de sassafrás e eucalipto em cascudinho. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 637- 643, Mar. 2010

KARABALIEV, M.; KOCHEV, V. Interaction of solid supported thin lipid films with sapoin. **Sensors and Actuators**.v. B, n. 88, p. 101-105, 2003. Disponível: <PII:s0925-4005(02)00311-8>. Acesso em: 10 de julho de 2019.

KARABATSOS, N. **International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates**. 3 ed. San Antonio: American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1985.

KLEIN-JÚNIOR L. C.; HENRIQUES A. T. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**: Desenvolvimento tecnológico de produtos farmacêuticos a partir de produtos naturais, 1 ed. Brasil: Artmed, 2017 p 305 – 315, 2017.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Association of Food Scientists & Technologists**, India, v.48, n.4, p. 412-422, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551182/pdf/13197_2011_Article_251.pdf>. Acesso em: 20 de novembro de 2019.

KNOLL, M. F., SILVA, A. C. F., CANTO-DOROW, T. S., TEDESCO, S. B. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. **Genetics and Molecular Biology**, 29(3), 539-542, 2006.

KOHN, L. K. et al. In vitro activity of Brazilian plants (*Maytenus ilicifolia* and *Aniba roseodora*) against bovine herpesvirus type 5 and avian metapneumovirus. **Pharmaceuticalbiology**, Lisse, v. 50, n. 10, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22873798>>. Acesso em: 15 de julho de 2017.

KONKIMALLA, V.B.; EFFERTH, T. Inhibition of epidermal growth factor receptor over-expressing cancer cells by the aphorphine-type isoquinoline alkaloid, dicentrine. **Biochemical Pharmacology**, v.79, n. 8, p. 1092-1099, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295209010648?via%3Dihub>>. Acesso em: 21 de junho de 2019.

KUMARASAMY, Y.; COX, P.J.; JASPARS, M.; NAHAR, L.; SARKER, S.D. Isolation, structure elucidation and biological activity of hederacine A and B, two unique alkaloids from *Glechoma hederaceae*, **Tetrahedron**, v.59(34), p. 6403-6407, 2003.

LAWLER, S. P.; LANZARO, G. C. **Managing mosquitoes on the farm**. ANR Publication, n. 8158, 2005.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

LEWAN, L.; ANDERSSON, M.; MORALES, P.G. The use of *Artemia salina* in Toxicity test. **Alternatives to laboratory animals ATLA**, v. 20, p. 297-301, 1992.

LIMA, C.P. et al. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Bot. Bras.**, v. 25, n. 2, p. 331-336, 2011.

LIMA, J. B. P.; ROSA-FREITAS, M. G.; RODOVALHO, C. M.; BRAGA, A. B. Field and semi-field evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis versus Temephos® in *Aedes aegypti* control. **Journal of Health and Biological Sciences**, v. 4, n. 2, p. 65-74, 2016. Disponível em: <<https://periodicos.unichristus.edu.br/jhbs/article/view/695>>. Acesso em: 19 de maio de 2019.

LIN, H. F. et al. Dicentrine analogue-induced G2/M arrest and apoptosis through inhibition of topoisomerase II activity in human cancer cells. **Planta Medica**, v. 81, n. 10, p. 830-837, 2015. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1546128>>. Acesso em: 18 de setembro de 2018.

LOPEZ J. A. et al. Aporphine alkaloids of *Ocotea brenesii*. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 34, n.2, p.145-147, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1076/phbi.34.2.146.13187>>. Acesso em: 20 de março de 2019.

LORENZI H.. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, vol. 2. 1998

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarum: Nova Odessa, São Paulo, 2002.

LU, J. et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Foundation for Cellular and Molecular Medicine/Blackwell**, v.14, n. 4, p. 840-860, 2010. Disponível em: <[doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x)> Acesso em: 12 de maio de 2019.

LUCA, V.; PIERRE, B. S. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. **Trends in Plant Science Reviews**, v.5, p. 168-173, 2000. Disponível em: <[https://www.cell.com/trends/plant-science/fulltext/S1360-1385\(00\)01575-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1360138500015752%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/plant-science/fulltext/S1360-1385(00)01575-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1360138500015752%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em: 20 de setembro de 2018.

LUNA, J.E.D.; MARTINS, M.F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E.F.; NAVARRO-SILVA M.A. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 38(6), 842-843, 2004.

MACIAS, F.A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J.M.G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2512-2521, 2000. Disponível

em:<<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf990305>>. Acesso em:15 de agosto de 2018.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M.E.A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica** 20(1): 61-69, 2006.

MARCHIORI, J. N. C. **Estudo anatômico do xilema secundário e da casca de algumas espécies dos gêneros Acacia e Mimosa, nativas no estado do Rio Grande do Sul.**1980.86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1980.

MARQUES, C. A. Importância econômica da família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001. Disponível em: <<http://www.floram.org/files/v8n%C3%BAnico/v8nunicoa25.pdf>>. Acesso em: 10 de julho de 2017.

MARQUESINI, N.R. **Plantas usadas como medicinais pelos índios do Paraná e Santa Catarina, sul do Brasil – Guarani, Kaingang, Xogleng, Ava-Guarani, Kraô e Cayuá.** 1995. 290 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba,1995.

MCLAUGHLIN, J. L. Paw paw and cancer: Annonaceous acetogenins from discovery to commercial products. **Journal of Natural Products**, v.71, n. 7, p. 1311-1321, 2008. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np800191t>>. Acesso em: 22 de maio de 2019.

MEDEIROS, M. A. A.et al. (S)-reticuline induces vasorelaxation through the blockade of L-type Ca²⁺ channels. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 379, n. 2, p. 115–125, 2009. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00210-008-0352-1>>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

MELO, J. O. de.et al. Anti-inflammatory activity of crude extract and fractions of *Nectandra falcifolia* leaves. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 11, p. 2241-2245, 2006. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-17077521>>. Acesso em: 15 de julho de 2017.

MENUT, C. et al. Chemical and biological studies of *Ocotea comoriensis* bark essential oil. **Flavour and Fragrance journal**, v. 17, n. 6, p. 459-461, 2002. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ffj.1130>>. Acesso em: 17 de agosto de 2018.

MENSOR, L. L. et al. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoterapy Research**, Londres, v.15, p.127-130, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11268111>>. Acesso em: 04 de setembro de 2018.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17396775>>. Acesso em: 20 de julho de 2017.

MIGUEL, O. G. et al. "**Identificação da propriedade antinociceptiva (analgésica) do alcaloide aporfinico S - (+) – dicentrina e usos do mesmo**". BR 102014016339-5 A2, 24 Jun. 2014, 01 Jul. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em 20 de maio de 2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros**. MMA: Brasília, 2010.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science Technology**, v.26, n.3, p.211-219, 2004.

MONTE NETO, R. L. et al. Crude ethanolic extract, lignoid fraction and yangambin from *Ocotea duckei* (Lauraceae) show antileishmanial activity. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, n. 5-6, p. 348-352, 2007.

MONTRUCCHIO, D. P. **Avaliação da Atividade Antinociceptiva do Extrato e do Alcaloide S-(+)-Dicentrina Extraído de Frutos De *Ocotea Puberula* (Lauraceae)**. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Setor de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

MONTRUCCHIO, D. P. et al. Antinociceptive effects of a chloroform extract and the alkaloid dicentrine isolated from fruits of *Ocotea puberula*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 78, n. 14, p. 1543-1548, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22815198>>. Acesso em: 20 de julho de 2017.

MORAIS, N. B. et al. Dengue um desafio a vencer. **Revista CFMV**, Brasília-DF, v.10, n.33, p.11-17, 2004.

MORSE, J. G. Agricultural implications of pesticide-induced hormesis of insects and mites. **Human Experimental Toxicology**, v. 17, n. 5, p. 266-269, 1998. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9663935/>>. Acesso em: 19 de julho de 2019.

MUANGMOON, R.; JUNKUM, A.; CHAITHONG, U.; JITPAKDI, A.; RIYONG, D.; WANNASAN, A.; SOMBOON, P.; PITASAWAT, B. Natural larvicides of botanical origin against dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, 49 (2) (2018), pp. 227-239

NABAVI, S. F. et al. Antibacterial effects of cinnamon: from farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. **Nutrients**, Basileia, v. 7, n. 9, p. 7729-7748, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4586554/>>. Acesso em: 15 de julho de 2017.

NOVELLO, C.R., MARQUES, L.S.C., PIRES, M.E., KUTSCHENCO, A.P., NAKAMURA, C.V., NOCCHI, S., SARRAGIOTTO, M.H., MELLO, J.C.P. Bioactive Indole Alkaloids from *Croton echinoides*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 27(12), p. 2203-2209, 2016.

NUNES, M. R. T. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **BMC Medicine**, v.13, n.102, p.1-11, 2015. Disponível em: <<https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-015-0348-x>>. Acesso em: 06 de maio de 2019.

O'CONNOR, S. E. Alkaloids. In: CIVJAN, N. (Ed.). **Natural Products in Chemical Biology**. 1 ed. [s.l.] John Wiley & Sons, Inc. 209, 2012.p. 209–237.

OEHLER, E. et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome: case report, French Polynesia, December 2013. **Euro Surveill**, v.19, n.9, p.20720, 2014. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.9.20720>>. Acesso em: 07 de abril de 2019.

OGUNGBE, I. V.; SETZER, W. N. The Potential of secondary metabolites from plants as drugs or leads against protozoan neglected diseases-Part III: In-Silico molecular docking investigations. **Molecules**, v. 21, n. 10, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6274513/>>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

OLIVEIRA, G. L. S. Capacidade antioxidante celular da rutina frente ao dano oxidativo induzido em linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 3, p. 461-466, 2016. Disponível em: <<http://seer.fcfa.unesp.br/rcfba/index.php/rcfba/article/view/349/168>>. Acesso em: 12 de julho de 2019.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n.2, p. 162-172, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/296484491_Journal_of_Biotechnology_and_Biodiversity_Use_of_Essential_Oils_in_Agriculture>. Acesso em: 28 de junho de 2019.

PABON, L. C.; CUCA, L. E. Aporphine alkaloids from *Ocotea macrophylla* (Lauraceae). **Química Nova**, v.33, n.4, p.875-879, 2010. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol33No4_875_20-AR09450.pdf>. Acesso em: 21 de julho de 2018.

PARK, J. J. et al. Berberine inhibits human colon cancer cell migration via AMP-activated protein kinase-mediated downregulation of integrin β 1 signaling. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 426, n. 4, p. 461–467, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X12016567?via%3Dihub>>. Acesso em: 17 de junho de 2019.

PAULA, C. S. et al. Potencial antioxidante in vitro das folhas da *Bauhinia unguolata* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 2, p. 217-222,

2015. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/271373958_Potencial_antioxidante_in_vitro_das_folhas_da_Bauhinia_ungulata_L>. Acesso em: 04 de junho de 2019.

PAVELA, R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects – a review.

Plant Protection Science, 52 (4), pp. 229-241, 2016.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. 2004. Disponível em:

<https://cursosextensao.usp.br/pluginfile.php/18438/mod_resource/content/1/Apostila%2001b%20-%20Metabolismo%20secund%C3%A1rio.pdf>. Acesso em: 11 de maio de 2019.

PERSOONE, G.; WELLS, P. G. **Artemia in aquatic toxicology: a review**. Universa Press, Volume 1. Belgium, 1987.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Tecnologia de sementes: Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-282.

PRADINES, B.; ROLAIN, J.M.; RAMIANDRASOA, F.; FUSAI, T.; MOSNIER, J.; ROGIER, C.; et al. Iron chelators as antimalarial agents: *in vitro* activity of dicaticholate against *Plasmodium falciparum*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 50, pp. 177-187, 2002.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, Nova York, v. 269, p. 337-341, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269799940198>>. Acesso em: 12 de Agosto de 2018.

PRIETO, J. A.; PABON, L. C.; PATIÑO, O. J.; DELGADO, W. A.; CUCA, L. E. Constituyentes químicos, actividad insecticida y antifúngica de los aceites esenciales de hojas de dos especies Colombianas del género *Ocotea* (LAURACEAE) **Revista Colombiana de Química**, vol. 39, n.2, p.199-209, 2010

QIU S. et al. Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 12, n. 6, p. 401-406, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875536414600637?via%3Dihub>>. Acesso em: 09 de junho de 2019.

QUINET, A. et al. 2015. Lauraceae. In: FORZZA, R. C. et al (Ed.). **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8440>>. Acesso em: 9 de Abril de 2019.

RAKOTONDRAIBE, L. H. et al. Neolignans and Other Metabolites from *Ocotea cymosa* from the Madagascar Rain Forest and Their Biological Activities. **Journal of**

natural products, v. 78, n. 3, p. 431-440, 2015.

RAVINDRAN, P. N.; NIRMAL-BABU, K.; SHYLAJA, M. **Cinnamon and Cassia: the genus *Cinnamomum***. Boca Raton: CRC Press, 2004.

RIBEIRO, R.A.; CARMO, L.G.; VLADIMIROVA, J.; JURKIEWICZ, N.H.; JURKIEWICZ, A. Nantenine block muscle contraction and Ca²⁺ transient induced by noradrenaline and K⁺ in rat vas deferens. **European Journal of Pharmacology**, n.470, p. 37-43, 2003.

REIGOSA, M.; GOMES, A. S.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Basilica**, v. 27, n. 4, p. 629-646, 2013.

RIGONI, A. A. R. **Investigação do perfil de dicentrina em extratos de galha e goma oriundos de *Ocotea puberula* (Rich.) Nees (Lauraceae): propriedades antioxidantes e biológicas**. 2019. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

RODRIGUES, K. C. S. **Verificação da atividade alelopática de *Myrciaria cuspidata* Berg. (Camboim)**. 2002. 78f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

ROHWER, J.G. 1993. Lauraceae. In: K. Kubitzki, J.G.; Rohwer & V. Bittrich (eds.). **The Families and Genera of Vascular Plants**. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, GmbH. 2, p.366-391.

ROZENDAAL, J. A. **Vector control methods for use by individuals and communities**. 1 ed. Geneva: World Health Organization, 1997.

SALGUEIRO, F. B. et al. Phenolic composition and antioxidant properties of Brazilian honeys. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 821-826, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000500011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10 de julho de 2019.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002. Disponível em: < DOI: 10.1106/108201302026770>. Acesso em: 20 de abril de 2019.

SANTIAGO, J. A. et al. Cytogenotoxic effect of essential oil from *Backhousia citriodora* L. (Myrtaceae) on meristematic cells of *Lactuca sativa* L. **South African Journal of Botany**, v. 112, p.515-520, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629917305124>>. Acesso em: 03 de julho de 2019.

SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000300020>. Acesso em: 11 de junho de 2019.

SIMÕES, C.M. O. et al. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora Universidade, UFRGS, p. 765, 2007.

SHARMA, P.; SHARMA J. D. *In vitro* hemolysis of human erythrocytes- by plant extracts with antiplasmodial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 3 p. 239–243, 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874100003706?via%3Dihub>>. Acesso em: 11 de junho de 2019.

SILVA, L. M. G. E. **Estudo químico biomonitorado por ensaio com larvas de *Aedes Aegypti* das espécies *Ocotea velloziana* (Meisn.) Mez e *Aiouea trinervis* (Meisn.)**. 110 f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2010.

SILVA, L. L.; SILVA, D. T.; GARLET, Q. I.; CUNHA, M. A.; MALLMANN, B. B.; LONGHI, S. J.; PEREIRA, A. M. S.; HEINZMANN Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Neotropical ichthyology**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 443-451, 2013

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, L. A.; MOSCHETA, I. S. Morfo-anatomia do desenvolvimento do fruto de *Ocotea puberula* (Rich. Nees) e de *Nectandra megapotamica* (Spreng. Mez) (Lauraceae). **Acta Científica Venezolana**, Caracas, v. 51, n. 3, p. 84-89, 2000.

SOUZA, G. C. et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 1, p. 135-143, 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874103003611?via%3Dihub>>. Acesso em: 29 de maio de 2019.

SOUZA, C. S. M. et al. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 2, n. 2, p. 96-100, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/277476222_ALELOPATIA_DO_EXTRATO_AQUOSO_DE_FOLHAS_DE_AROEIRA_NA_GERMINACAO_DE_SEMENTES_DE_ALFACE>. Acesso em: 03 de julho de 2019.

SOUZA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200021>. Acesso em: 18 de fevereiro de 2019.

SOUZA, W. M. **Estudo químico e das atividades biológicas dos alcalóides indólicos de *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, APOCYNACEAE – (Agoniada)** 173 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

STEVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUENTIN-LECLERCQ, J. Cytotoxic and antitumor

potentialities of aporphinoid alkaloids. **Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents**, v. 5, n. 2, p. 173–182, 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15777224>>. Acesso em: 15 de setembro de 2018.

SUBHAN, N. et al. Bioactivity of *Excoecaria agallocha*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.521- 526, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000400004>. Acesso em: 11 de junho de 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2006.

TANVEER, A. et al. Allelopathic effects of aqueous and organic fractions of *Euphorbia dracunculoides* Lam. on germination and seedling growth of chickpea and wheat. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 4, p. 495- 501, 2012. Disponível em: <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-58392012000400006&script=sci_abstract&lng=en>. Acesso em: 10 de julho de 2019.

TAKAKU, S. et al. Leaf essential oil composition of 10 species of *Ocotea* (Lauraceae) from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 18, p. 525-532, 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197807000312>>. Acesso em: 13 de maio de 2018.

TEIXEIRA, M.G.; ANDRADE, A.M.S.; COSTA M,C.N.; CASTRO, J.S.M.; OLIVEIRA, F.L.S.; GOES, C.S.B.; MAIA, M.; SANTANA, E.B.; NUNES, B.T.; VASCONCELOS, P.F. East/Central/South African genotype Chikungunya virus, Brazil, 2014. **Emerging Infectious Diseases**. v.21, pp.906-7, 2015.

THAMBI, P. T.; KUZHIVELIL, B.; SABU, M. C.; JOLLY, C. I. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the flowers of *Tabernaemontana coronaria* (L) R. Br. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, n. 3, p. 352-55, 2006.

THATHEYUS, J.A. **Bio control of mosquitoes In: Defeating the public enemy, the mosquito: a real challenge**. Chennai: Loyola College; p. 76-94, 2007.

TOGNOLINI, M. et al. Comparative screening of plant essential oils: phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. **Life Sciences**, Oxford, v. 78, n. 13, p. 1419-1432, 2006. Disponível em: <<http://sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320505009392>>. Acesso em: 02 de setembro de 2018.

VAN DER WERFF, H.; RICHTER, H. G. Toward an improved classification of Lauraceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Missouri, v. 83, n. 3, p. 409-418, 1996. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/2399870?seq=1#page_scan_tab_contents>. Acesso em: 15 de julho de 2017.

VECCHIETTI, V. et al. New aporphine alkaloids of *Ocotea minarum*. **Farmaco Sci**, v. 34, n. 10, p. 829-840, 1979. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/510527>>. Acesso em: 07 de novembro de 2018.

VERPOORTE, R. Secondary metabolism. In: VERPOORTE, R.; ALFERMANN, A. W. (eds.). **Metabolic engineering of plant secondary metabolism**. 1ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 1-29, 2000.

VICENTINI, V. E. P. et al. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* L. Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 593-598, 2001.

VILLAMIZAR, V. E. M. Metabolitos secundarios con actividad biológica (farmacológica), aplicación etnobotánica; y fotoquímica de algunas especies de los géneros: cryptocarya, litsea, caryodaphnopsis, machilus y actinodaphne (Lauraceae). **Duazary**, v. 7, n. 1, p. 152-170, 2010. Disponível em: <<http://revistas.unimagdalena.edu.co/index.php/duazary/article/view/1695>>. Acesso em: 20 de outubro de 2018.

WANGENSTEEN, H.; HO, G.T.T.; TADESSE, M.; MILES, O.C.; MOUSSAVI, N.; MIKOLLO, B.; MALTERUD, K.E. A new benzophenanthridine alkaloid and other bioactive constituents from the stem bark of *Zanthoxylum heitzii*, **Fitoterapia**, v. 109, p. 196-200, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides**. Geneva: World Health Organization; 1981a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Criteria and Meaning of Tests for Determining the Susceptibility or Resistance of Insects to Insecticides**. Geneva: World Health Organization; 1981b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides**. Geneva: World Health Organization; 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Strategy for Dengue Prevention and Control 2012-2020**. Geneva: World Health Organization; 2012.

WOO, S. H. et al. Inhibition of topoisomerase II by liriodenine. **Biochemical Pharmacology**, v. 54, n. 4, p. 467-473, 1997. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295297001986?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 de junho de 2019.

WOO, S. H. et al. Topoisomerase II inhibition by aporphine alkaloids. **Biochemical Pharmacology**, v. 57, n. 10, p. 1141-1145, 1999. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295299000180?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 de junho de 2019.

YAMAGUCHI, K. K. de L.; ALCANTARA, J. M.; VEIGA JUNIOR, V. F. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de 20 espécies da família Lauraceae. **Acta Amazonica**, vol.42, n.4, p. 541-546, 2012.

ZAHARI, A.; ABLAT, A.; SIVASOTHY, Y.; MOHAMAD, J.; CHOUDHARY, M.I.; AWANG, K. *In vitro* antiplasmodial and antioxidant activities of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Alseodaphne corneri* Kosterm. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.9(4), p.328-332, 2016

ZARA, A.L.S.A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

ZANLUCA, C. et al. The first report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v.110, n.4, p.569-72, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762015000400569>. Acesso em: 21 de junho de 2019.

ZANIN, S. M. W.; LORDELLO, A. L. L. Alcalóides aporfinóides do gênero *Ocotea* (Lauraceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 92-98, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000100020>. Acesso em: 06 de junho de 2019.

ZHOU, B. N. et al. Isolation and biochemical characterization of a new topoisomerase I inhibitor from *Ocotea leucosylon*. **Journal of Natural Products**, v.63, p. 217-221, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10691712>>. Acesso em: 15 de julho de 2018.

ZSCHOCKE, S. et al. Stereostructure and anti-inflammatory activity of three diastereomers of ocobullenone from *Ocotea bullata*. **Phytochemistry**, v. 54, n. 6, p. 591-595, 2000. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942200001631>>. Acesso em: 15 de julho de 2018.