

Triterpenos e atividade carrapaticida da espécie *Lecythis usitata* (Lecythidaceae).

Triterpenes and acaricide activity of the species Lecythis usitata (Lecythidaceae).

Sinval Garcia Pereira¹, Giselle Maria Skelding Pinheiro Guilhon²

¹Universidade de Itaúna, Itaúna, MG - Brasil. ¹Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (UFMA-CCAA), Chapadinha, MA – Brasil.

²Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Exatas e Naturais (UFPA/ICEN), Belém do Pará, PA - Brasil.

Resumo

Introdução: A resistência do *Rhipicephalus microplus* (carrapato do gado) aos acaricidas sintéticos deu origem à necessidade de novas investigações científicas sobre formas alternativas de controlá-lo.

Objetivos: Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi realizar a investigação química de folhas de *Lecythis usitata* e avaliar o efeito acaricida sobre larvas e fêmeas de *R. microplus* dos extratos, frações e substâncias identificadas. **Metodologia:** Os extratos foram obtidos das folhas de *L. Usitata*, inicialmente extraiu com hexano e, posteriormente com metanol. O extrato de metanólico (PFQP) foi particionado, obtendo-se fração acetato de etila (PFQO) que foi fracionada por procedimentos cromatográficos produzindo triterpenos. O efeito acaricida foi avaliado contra *R. microplus* usando o teste de pacotes larvais e teste de imersão de fêmeas. **Resultados:** O melhor resultado foi observado para o PFQO que causou 97% de mortalidade quando uma solução de 20% foi usada. Na mesma concentração, o extrato polar PFQP mostrou 91% de mortalidade. **Conclusão:** Os efeitos biológicos variaram de acordo com os extratos e as concentrações das frações. O Friedelanol, como principal composto identificado, e mistura dos triterpenos α -amirina e β -amirina, taraxerol e lupeol foram inativos, considerando os parâmetros e concentrações testados.

Palavras - chaves: Friedelanol; *Rhipicephalus microplus*; Sapucaia.

Autor correspondente:

Sinval Garcia Pereira

Endereço: Rua projetada 2, nº 25, Boa Vista,

CEP: 655000-000 – Chapadinha (MA), Brasil.

E-mail: sinval.garcia@ufma.br

Recebido em: 24/06/2020

Revisado em: 05/08/2020

Aceito em: 17/08/2020

Publicado em: 31/08/2020

Abstract

Introduction: Resistance of *Rhipicephalus microplus* (Cattle tick) to synthetic acaricide has given rise to the need of new scientific investigations on alternative ways to control it. **Objectives:** The objective of this work was to carry out the chemical investigation of *Lecythis usitata* leaves and to evaluate the acaricide effect on *R. microplus* larvae and females of extracts, fractions and identified substances from this species. **Methodology:** The leaves of *L. usitata* were extracted under with hexane and subsequently, with methanol. The methanol extract (PFQP) was partitioned giving an ethyl acetate fraction (PFQO) that was fractionated by chromatographic procedures yielding triterpenes. The acaricidal effect was evaluated against *R. microplus* using the adult immersion tests and larval packet tests. **Results:** The best result was observed for the PFQO that cause 97% of mortality when a 20% solution was used. At the same concentration the polar extract PFQP showed 91% of mortality. **Conclusion:** The biological effects varied according to the extracts and fraction concentrations. Friedelanol, as the major identified compound, and mixture, of the triterpenes α -amyriins and β -amyriins, taraxerol and lupeol were inactive, considering the tested parameters and concentrations.

Keywords: Friedelanol; *Rhipicephalus microplus*; *Sapucaia nut*.

Introdução

Os triterpenos são um dos grupos de metabólitos secundários de plantas mais diversificados, são componentes de ceras de superfície, de membranas especializadas e podem atuar como moléculas sinalizadoras, enquanto os triterpenos glicosilados fornecem proteção contra patógenos e pragas e têm uma ampla aplicação nos setores de alimentos, saúde e biotecnologia industrial¹.

Nas investigações químicas das espécies da família Lecythidaceae, à qual pertence à espécie *Lecythis usitata*, destacam-se exatamente os metabólitos secundários pertencentes à classe dos terpenos^{2,3,4} e nos estudos biológicos, ações antiartrítica, antifúngica, antiprurítica^{5,6,7}, cicatrizante de feridas tóxicas⁸, dor e inflamação⁹ são citadas.

A espécie *L. usitata* conhecida como castanha-sapucaia ou sapucaia caracteriza-se como árvore mediana até grande porte; com flores violáceo-pálidas, esbranquiçadas, quando velhas, odoríferas e sementes comestíveis (FIGURA 1) como em *Lecythis pisonis*¹⁰.

A espécie divide-se em duas variedades cujos habitats são bem diversos; a de maior porte é a variedade

paraensis, explorada comercialmente¹¹. Lecythidaceae tem concentração maior na região neotropical^{12,13} e forma possivelmente um táxon monofilético¹⁴. No Brasil, o gênero *Lecythis* é o mais comum e caracteriza-se pela peculiaridade de seus frutos na forma de urnas, de casca dura e de aparência lenhosa, e que produzem uma boa quantidade de amêndoas comestíveis ou não¹⁵.

Estudos demonstram que as plantas com seus metabólitos secundários podem ser uma alternativa promissora no controle do *Rhipicephalus microplus* e, já com destaque as espécies timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*)^{16,17}, nim (*Azadirachta indica* A. Juss.)^{18,19}, eucalipto (*Eucalyptus* spp.)^{20,21}, sabonete de soldado (*Sapindus saponaria*)²², citronelas (*Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon citratus*)^{23,24} e também as espigas de pimenta-de-macaco (*Piper tuberculatum*) como larvicida²⁵.

Os mais recentes grupos químicos de produtos contra os carrapatos que se encontram disponíveis no mercado são: as formamidinas, as avermectinas, os organofosforados²⁶ e os piretróides, compostos sintéticos que apresentam estruturas semelhantes à piretrina, substância existente nas flores do *Chrysanthemum (Pyrethrum) cinerariaefolium*²⁷. Algumas dessas bases

referidas têm restrição ao uso em animais durante o período de lactação^{28,29,30}, o que é agravado pelo manejo inadequado dos carrapaticidas, acelerando a seleção de carrapatos resistentes aos princípios ativos disponíveis comercialmente aumentando os riscos e os custos econômicos^{31,32,33}.

A perda econômica anual devido aos parasitos internos e externos dos bovinos no Brasil é estimada em dólares e é de pelo menos \$13,96 bilhões. O carrapato bovino (*R. microplus*) causa uma perda de \$3,24 bilhões anuais, considerando-se o número total de animais em risco e os efeitos negativos do parasitismo sobre a produtividade do gado. Essa informação deve ser considerada pelos tomadores de decisão para influenciar programas de investigação e regulação a fim de desenvolver políticas sustentáveis que reduzam o impacto

do parasitismo sobre a rentabilidade dos pecuaristas brasileiros³⁴.

Metodologia

Coleta e identificação da planta

Folhas de *L. usitata* (FIGURA 1) foram coletadas no Cerrado leste do Maranhão, localizado no Município de Chapadinha - MA e, posteriormente, foram secas à temperatura ambiente, em local coberto e arejado e trituradas em moinho tipo faca. A identificação foi por comparação a uma exsicata da planta depositada no Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi em Belém - PA (MPEG): *L. usitata* Miers. N° 200418 (Lecythidaceae).



FIGURA 1 - *Lecythis usitata* em época de inflorescência, ramo florido(a) e fruto(b) aberto mostrando por onde são liberadas as amêndoas (Fotografia tirada no Município de Chapadinha-MA)

Obtenção dos extratos, frações e substâncias

Para o estudo químico e biológico foram utilizados 2.455 g de folhas secas e trituradas de *L. usitata*. Esse material foi submetido à extração sob refluxo, a primeira extração foi realizada com hexano durante duas horas com temperatura máxima de 55°C. Após a filtração a solução hexânica foi concentrada em evaporador rotativo resultando no extrato hexânico (PFQA - 132 g) e o resíduo, que foi extraído com metanol nas mesmas condições, obtendo-se o extrato metanólico (PFQP - 86 g).

O extrato metanólico foi submetido à partição utilizando-se uma parte de água destilada para três de acetato de etila PA, o que resultou, após a concentração em evaporador rotativo, a fração orgânica (PFQO - 57 g), utilizada no estudo químico, a fração aquosa foi descartada. Parte da fração orgânica (PFQO - 31g) foi submetida à cromatografia em coluna (CC) e obtiveram-se 31 subfrações, as quais foram monitoradas por CCD e reunidas (1 a 6, de 7 a 10, de 11 a 17 e de 18 a 23, de 24 a 31) e purificadas por recristalização em misturas de hexano, acetato de etila e metanol.

Procedimentos gerais de obtenção e identificação dos triterpenos

O fracionamento por cromatografia em coluna (CC) foi conduzido em coluna de vidro, utilizando-se sílica gel 0,063-0,2 mm (Vetec) como fase estacionária e, como sistema eluente, hexano 100% seguido de misturas de hexano/acetato de etila com aumento da polaridade em escala de 5%, até chegar ao acetato de etila 100% e, posteriormente a mistura acetato de etila/metanol, também com aumento de polaridade em escala de 5% e por último com metanol 100%. A identificação dos triterpenos puros ou em misturas foram confirmados pelos dados de RMN e, em comparações com os dados da literatura.

Na cromatografia em camada delgada comparativa (CCD) foram empregadas placas de vidro utilizando sílica gel (60G-MERCK) com indicador de fluorescência (30 g) com 60 mL de água destilada como fase estacionária e misturas de hexano, acetato de etila e metanol. As revelações das cromatoplasmas foram feitas em câmara de análise de fluorescência por luz ultravioleta, cabine tipo SPECTROLINE (modelo CM-10. Luz tipo SPECTROLINE modelo ENF-260C) pela exposição destas à radiação ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda 254 e 366 nm e por borrifamento com solução ácida de sulfato cérico (CeSO_4) em ácido sulfúrico (H_2SO_4)-água destilada 1:1 ou solução de H_2SO_4 -MeOH 1:1, seguido de aquecimento em estufa até revelação das mesmas; e o critério de pureza adotado para as substâncias isoladas foi a observação de uma única mancha em CCD.

Os espectros de RMN 1D (^1H , ^{13}C e 1D-DEPT) foram obtidos em espectrômetro VARIAN modelo MERCURY-300 - 300 MHz) (Laboratório de Química-Pesquisa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPA). Os deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C foram expressos em ppm (δ) em relação ao sinal do TMS, como referência interna, e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

Bioensaio sensibilidade larvar em papel impregnado

As larvas e fêmeas de *R. microplus* foram cedidas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, onde também os testes foram realizados. O procedimento de manutenção das cepas de *R. microplus* em bezerros mestiços está registrado na Comissão de Ética de Uso Animal - CEUA/UFMA, sob protocolo, nº 23115 018061/2011 – 01. O teste de sensibilidade larvar foi realizado de acordo com a técnica desenvolvida por Stone e Haydock³⁵ e adaptações da FAO³⁶ e Leite³⁷. Aproximadamente 100 larvas do carrapato foram colocadas entre dois papéis de filtro medindo 2 x 2 cm (4 cm²), impregnados com 0,3 mL de cada concentração dos diferentes extratos, fases e compostos puros, os quais formavam um “sanduíche”. Esse “sanduíche” foi colocado dentro de um envelope de papel filtro não impregnado de 8,5 x 8,5 cm (72,25 cm²), e vedado com pregadores plásticos, segundo FAO Plant Protection Bulletin³⁶. O envelope foi acondicionado em estufa a 27°C e UR ≥ 80%, durante 24 horas. Após esse período, as larvas vivas e mortas foram contadas com a ajuda de um compressor a vácuo adaptado com uma pipeta, não sendo necessária a contagem quando todas as larvas estavam mortas (100,0% de mortalidade) ou vivas (0,0% de mortalidade). Foram utilizadas quatro repetições para cada período observado (24 horas) para cada tratamento, totalizando 12 pacotes. Os controles foram realizados com água destilada e/ou com as soluções (álcool 70%; triton 2%; DMSO 3%; tween 80 3%) utilizados na preparação das diferentes soluções de extratos e frações testados (concentrações de 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; e 20,0%) e dos compostos puros (concentração 0,5%). Os resultados do teste de sensibilidade larvar foram corrigidos de acordo com a fórmula de Abbott³⁸.

Bioensaio sensibilidade das fêmeas ingurgitadas em testes de imersão

O teste de imersão das fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* foi realizado de acordo com a técnica desenvolvida por Drummond e colaboradores³⁹. As fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* coletadas dos bezerros infestados artificialmente foram lavadas em água

corrente, secas em papel toalha, e pesadas em grupos de 10 espécimes, com grupos mais homogêneos possíveis. Foram testadas as concentrações de 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; e 20,0% de extratos e frações. Cada grupo de carrapato foi submerso durante cinco minutos, nas diferentes concentrações dos extratos, fases e compostos puros das plantas. Após esse período, as fêmeas ingurgitadas foram secas em papel toalha, acondicionadas em placas de Petri e levadas a estufa BOD a 27°C e UR ≥ 80%, por 15 dias, quando foram coletadas, pesadas as posturas e acondicionadas em seringas descartáveis modificadas para esse uso. As seringas foram acondicionadas novamente para a estufa, 27°C e UR ≥ 80%, por mais 15 dias, para a eclosão das larvas, quando foi avaliado visualmente o percentual de eclosão. Os dados como Peso (massa) das Teleóginas (PT), Peso (massa) dos Ovos (PO) e Percentual de Eclosão (%E), foram avaliados segundo as fórmulas prescritas por Drummond e colaboradores³⁹, para o cálculo da Eficiência Reprodutiva (ER) e da Eficiência do Produto (EP) em percentual.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, para verificação estatística dos efeitos biológicos, aplicou à técnica estatística Análise de Variância (ANOVA), como os dados satisfizeram as pressuposições, utilizou-se regressão linear simples, utilizando os *softwares* SPSS 15.0 e BIOESTAT 4.0.

Resultados e discussão

Estudo químico

Os triterpenos obtidos e identificados da fração PFQO foram o friedelanol (**S1**), como composto majoritário, a mistura friedelanol e taraxerol (**S2 – MISTURA 1**), a mistura friedelanol, α -amirina (**S3**) e β -amirina (**S4 – MISTURA 2**) e por último a mistura taraxerol, α -amirina, β -amirina e lupeol (**S5 – MISTURA 3**). Suas fórmulas estruturais de **S1-S5** são apresentadas na **FIGURA 2**.

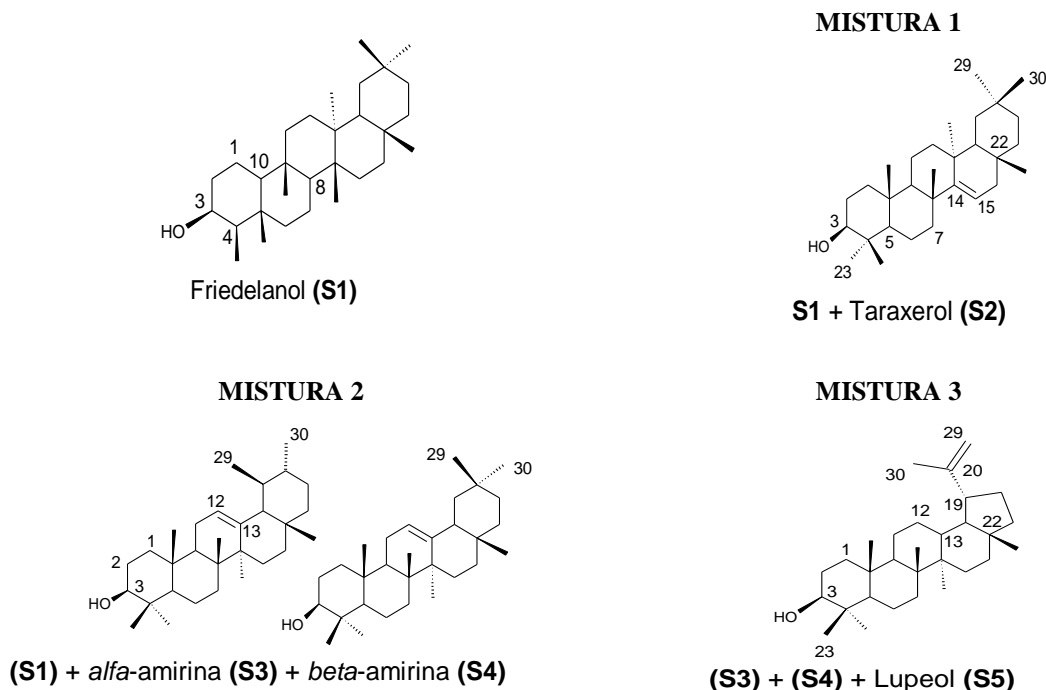


FIGURA 2 - Triterpenos identificados nas folhas espécie *Lecythis usitata*

A substância **S1** apresentou-se como cristais e com base nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C foi identificada como o friedelanol. O espectro de RMN ^1H da **S1** apresentou vários sinais entre δ_{H} 0,8 e 1,7 característicos de sinais de hidrogênio metílicos de triterpeno, além de um simpleto largo em δ_{H} 3,74 de um hidrogênio oximetínico. Esses dados de RMN ^1H da **S1** estão de acordo com os encontrados na literatura para o friedelanol^{40,41}. Os dados de RMN ^{13}C da **S1** também estão de acordo com a literatura para friedelanol, com destaque para os valores de δ_{C} 72,73 atribuídos ao C-3, δ_{C} 61,30 para o C-10, δ_{C} 53,15 para o C-8 e δ_{C} 49,13 para o C-4 (**TABELA 1**)^{40,41}.

A substância **S2** foi identificada como o taraxerol foi obtida em mistura com o friedelanol (**MISTURA 1**). Destacam-se no espectro de RMN ^1H da mistura **S1** e **S2**, sinais já mencionados para o friedelanol e os sinais em δ_{H} 5,53 (*dd*, $J = 3,3$ e $8,1$ Hz, 1H) e em δ_{H} 3,19 (*dd*, $J = 5,1$ e $10,8$ Hz, 1H), característicos dos hidrogênios H-15 e do H-3, respectivamente, do **S2**. Somam-se às informações dos dados dos sinais de RMN ^1H os dados de RMN ^{13}C , além dos sinais já identificados para o friedelanol, os sinais característicos de carbono olefínico δ_{C} 158,02 e δ_{C} 116,83. Todos os sinais do espectro de RMN ^{13}C da substância obtida (**S2**) estão de acordo com a literatura^{42,43} para o taraxerol e são apresentados na **TABELA 1**.

As substâncias **S3** e **S4** foram obtidas em mistura com a substância **S1** (**MISTURA 2**) e identificadas como α -amirina e β -amirina, respectivamente. Os sinais do espectro de RMN ^1H incluem tripletos atribuídos aos

hidrogênios H-12 da α -amirina (**S3**) e β -amirina (**S4**), em δ_{H} 5,17 ($J = 3,4$ Hz, 1H) e δ_{H} 5,12 ($J = 3,8$ Hz, 1H), respectivamente, e em sobreposição δ_{H} 3,31, atribuído aos hidrogênios oximetínico H-3 e os sinais do friedelanol.

Os sinais no espectro de RMN ^{13}C incluem os sinais do friedelanol e os quatro sinais de carbonos olefínicos δ_{C} 145,10 e 121,00 e δ_{C} 139,5 e 124,9 da β -amirina e α -amirina, respectivamente. Todos os sinais atribuídos aos carbonos (^{13}C) da β -amirina e α -amirina foram comparados com os da literatura^{12,43} e estão na **TABELA 1**. A substância **S5** obtida em mistura com **S2**, **S3** e **S4** (**MISTURA 3**) foi identificada como sendo o triterpeno lupeol. No espectro de RMN ^1H destacam-se os sinais em δ_{H} 4,68 (*d*, $J = 2,4$ Hz) e δ_{H} 4,55 (*m*) referentes aos sinais de dois hidrogênios da ligação dupla terminal (H-29) e a sobreposição dos sinais em δ_{H} 3,20, referente ao sinal do H-3, esses e os demais sinais para o hidrogênio do lupeol estão de acordo com a literatura^{38,42}. Segundo Carvalho e colaboradores², os sinais que aparecem como simpleto em aproximadamente δ_{H} 4,50 e 4,65, representam os sinais dos dois hidrogênios geminais olefínicos (H-29a e H-29b), esses sinais somados ao deslocamento de hidrogênios de metila em δ_{H} 1,67, são característicos de sinais de hidrogênio pertencentes a grupamento isopropenil do lupeol. No espectro de RMN ^{13}C , os sinais em δ_{C} 150,9 e 109,3 relativos aos carbonos C-20 e C-29, respectivamente, reforçam as características do grupo olefínico dos triterpenos lupenos. Os dados de ^{13}C obtidos para o lupeol (**S5**) estão relacionados na **TABELA 1** e estão de acordo com a literatura^{41,44}.

TABELA 1- Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) das substâncias obtidas.

C	$\delta^{13}\text{C}$ – Friedelanol (S1)	$\delta^{13}\text{C}$ Taraxerol (S2)	$\delta^{13}\text{C}$ - α -amirina (S3)	$\delta^{13}\text{C}$ - β -amirina (S4)	$\delta^{13}\text{C}$ Lupeol (S5)
1	15,7	37,9	38,7	38,5	38,7
2	36,0	27,0	26,8	27,2	27,4
3	72,7	79,0	79,0	79,0	79,0
4	49,1	39,2	38,7	38,7	38,7
5	37,7	55,5	55,1	55,1	55,1
6	41,6	18,7	18,3	18,3	18,3
7	17,5	41,2	32,6	32,8	34,2
8	53,1	38,7	39,7	39,9	40,8
9	37,0	48,6	47,5	47,6	50,4
10	61,3	37,6	36,9	36,8	37,1
11	35,3	17,4	23,5	23,2	20,9
12	30,6	35,4	121,7	124,3	25,1
13	38,3	38,1	145,1	139,5	38,0
14	39,6	158,0	41,6	41,5	42,8
15	32,2	116,8	26,1	28,7	27,4
16	35,5	36,6	27,1	26,5	35,5
17	29,9	37,7	32,4	33,7	42,9
18	42,7	49,2	47,1	59,0	48,2
19	53,1	35,1	46,7	39,5	47,9
20	28,1	28,7	31,0	39,6	150,9
21	32,7	33,6	34,6	31,2	29,8
22	39,2	33,0	37,1	41,5	39,9
23	11,6	27,9	28,9	28,1	28,0
24	16,3	15,7	15,5	15,6	15,4
25	18,2	15,3	15,4	15,6	16,1
26	20,1	29,8	16,7	16,8	15,9
27	18,6	25,8	25,9	23,3	14,5
28	32,0	29,7	28,3	28,7	18,0
29	35,0	33,3	33,3	17,4	109,2
30	31,7	21,2	23,6	21,3	19,3

C = carbono; $\delta^{13}\text{C}$ = Deslocamento químico do carbono treze; (S1) = friedelanol; (S2) = taraxerol; (S3) = α -amirina ; (S4) = β -amirina; (S5) = lupeol.

Os esqueletos triterpênicos têm 30 átomos carbonos e são estruturalmente muito diversificados e são de grande interesse devido às diversas atividades biológicas apresentadas, servindo como candidatos ou protótipos de novos fármacos, no entanto, o papel biológico de diversos terpenoides ainda não é totalmente conhecido⁴⁶.

No mundo ocidental, uma média de 250 mg de triterpenos são ingeridos por dia, em grande parte presentes em óleos vegetais, cereais, frutas e vegetais presentes na alimentação humana. Durante a última década pelo menos 25 estudos clínicos, 20 patentes foram depositados e, pelo menos, dez princípios ativos à base de triterpenos são comercializados em todo o mundo⁴⁷.

De acordo com trabalhos realizados por Silva; Duarte; Vieira Filho⁴⁶, os triterpenos pentacíclicos são responsáveis pela atividade no tratamento de queratose actínica. As pomadas são constituídas de, aproximadamente, 87% de triterpenos, tais como, a betulina (80%), ácido betulínico (3%) e lupeol (2%).

Ainda, sobre o lupeol que pode ser encontrado no repolho branco, pimenta verde, morango, azeite de oliva verde, mangas e uvas foram relatados possuir efeitos benéficos como um agente terapêutico e preventivo para uma variedade de desordens, entre elas, potencial anti-inflamatório como quimiopreventivo e agente quimioterapêutico e que em sua dose terapêutica eficaz não apresenta toxicidade para as células e tecidos normais⁴⁷.

Em outra pesquisa ficou demonstrado à atividade captadora de radicais livres dos extratos de folhas de *Ficus pseudopalma* usando testes bioquímicos e o triterpeno lupeol foi identificado como um dos os possíveis componentes ativos com base em cromatográfica e análise de espectroscopia de infravermelho. Esses resultados

significativos têm demonstrado a importância da triagem fitoquímica de flora endêmica que, potencialmente, abriga farmacologicamente candidatos promissores de novas drogas⁴⁸ bem como em efeitos sinérgicos associados a antibióticos no combate a listeriose⁴⁹.

Bioensaios carrapaticidas

Neste trabalho, é apresentado o primeiro relato de estudo de atividade biológica da espécie *L. usitata*. Os gráficos de regressão linear da atividade carrapaticida dos extratos e fração das folhas de *L. usitata* ativos sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* estão na **FIGURA 3**. O extrato hexânico PFQA não apresentou eficiência carrapaticida nas concentrações testadas. O extrato metanólico, PFQP apresentou 91 % de mortalidade, na concentração de 20%. A fração PFQO obtida da partição do extrato polar apresentou mortalidade de 94 % e 97 %, nas concentrações de 15% e 20%, respectivamente. O extrato metanólico PFQP e a fração PFQO também foram testados sobre fêmeas ingurgitadas da mesma espécie de carrapato, e os resultados dos dois bioensaios com larvas e fêmeas do PFQP apresentaram resultados próximos, o ajustamento dos dados a um modelo de regressão linear resultou nas equações $Y = 3,9024x - 7,8367$ ($R^2 = 76,96$) e $Y = 4,1654x - 9,5722$ ($R^2 = 77,58$), respectivamente, para larvas e fêmeas (**FIGURA 3**).

A fração PFQO apresentou atividade carrapaticida, contudo, os dados verificados para as fêmeas foram inferiores ao apresentado para as larvas, o ajustamento dos dados a um modelo de regressão linear resultou nas equações $Y = 5,4378x - 11,7213$ ($R^2 = 79,25$) e $Y = 1,6472x - 5,3349$ ($R^2 = 67,57$), respectivamente, para larvas e fêmeas (**FIGURA 3**).

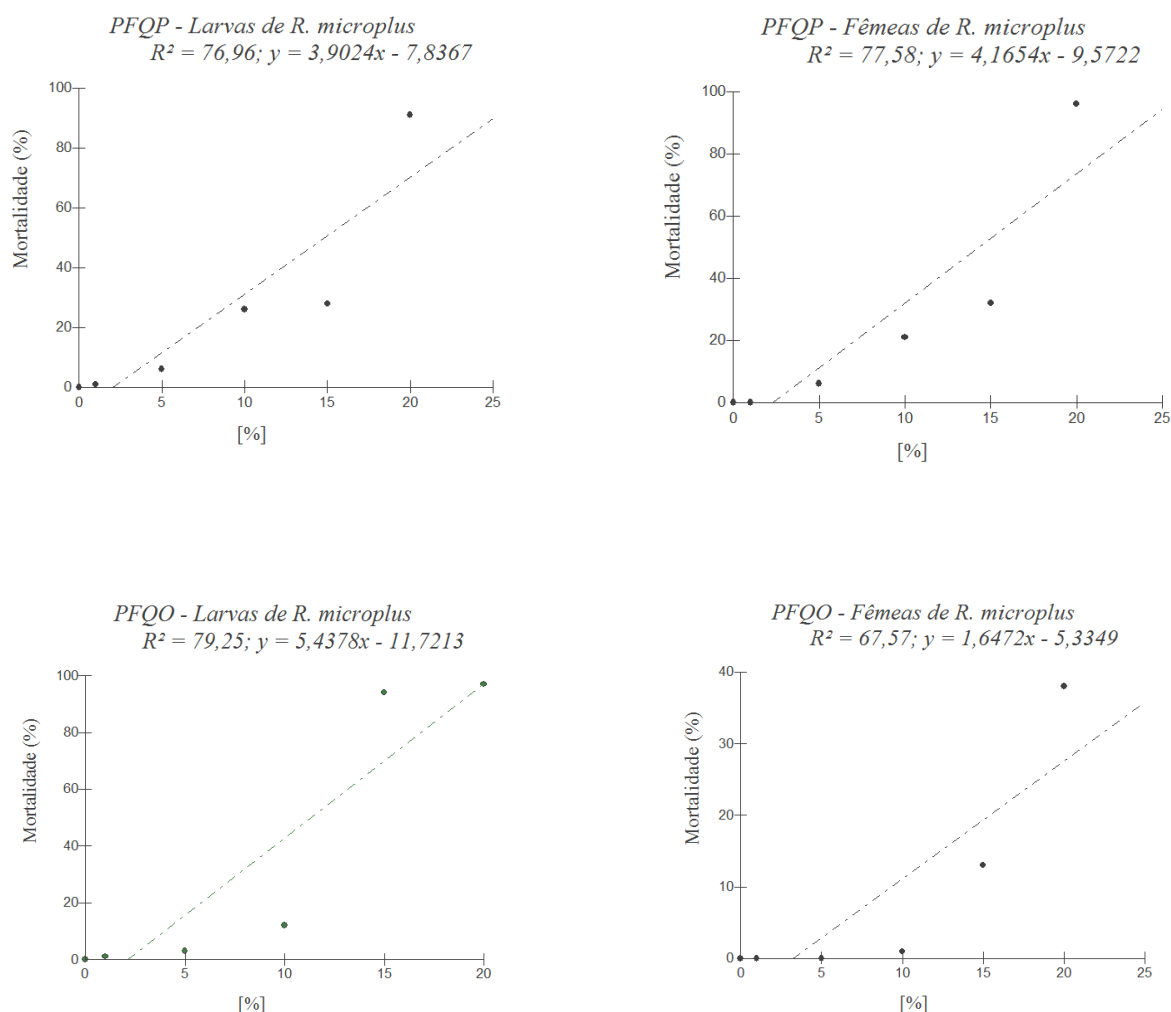


FIGURA 3 - Gráficos de regressão linear da atividade carrapaticida dos extratos e frações de *Lecythis usitata* (PFQP = Extrato polar metanólico; PFQO = fração orgânica acetato de etila ; R^2 = coeficiente de determinação).

Os estudos de atividade biológica com plantas seguem em linhas gerais os testes com extratos brutos e frações de acordo com metodologias variadas, contudo, a etapa seguinte é testar os metabólitos obtidos, isoladamente ou em técnicas que verifiquem um possível efeito sinérgico⁵⁰.

Os triterpenos pentacíclicos obtidos nessa investigação e em mistura foram analisados em bioensaios com larvas e fêmeas de *R. microplus* e nas concentrações avaliadas não apresentaram atividade larvicida.

Contudo, em estudo, o triterpeno pentacíclico taraxerol obtido da espécie *Excoecaria agallocha*, na concentração a 2,0% apresentou 80% de mortalidade das larvas da lagarta *Helicoverpa armigera* com LC_{50} de

0,0001g kg^{-1} de peso corporal. Estudos da espécie citada sugere a possibilidade de formular um potencial pesticida natural de *E. agallocha* contra pragas lepidópteras⁵¹.

O uso de biopesticidas e produtos de gestão alternativa vêm aumentando e esse progresso é ilustrado pelo número de registros de biopesticidas e pesquisas relacionadas ao tema e podem apreenar grandes oportunidades comerciais⁵². Como exemplo de substâncias bioativas, tem-se a rotenona, substância que ocorre naturalmente em certas plantas do gênero *Derris*, *Lonchocarpus* e *Tephrosia*. É usada em todo o mundo como um pesticida de amplo espectro (acaricida, inseticida e piscicida)⁵³.

Importante também são as lactonas macrocíclicas; Wang e colaboradores⁵⁴ isolaram uma lactona macrocíclica a partir do caldo de fermentação de *Streptomyces microflavus* que apresentou atividade nematocida contra *Caenorhabditis elegans* ($LC_{50} = 17,4 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Em outra pesquisa os resultados indicam que as formulações hidroetanólicas de timol têm atividade acaricida sobre larvas de *R. sanguineus* e larvas de *Dermacentor nitens*, provocando mortalidade superior a 90 %, após 24 h na concentração de 10 mg mL^{-1} para as duas espécies de carrapato estudadas⁵⁵.

Estudo sobre as folhas de *Protium spruceanum* apresentado por Figueiredo e colaboradores⁵⁶ identificou catequinas, flavonoides e β -amirina, os quais não foram eficazes contra fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, no entanto os extratos reduziram em 90% a eclosão das larvas na concentração de 100 mg mL^{-1} e mortalidade larval acima de 88% a 100 mg mL^{-1} , representando um agente alternativo para controle integrado de carrapato.

Já a atividade carrapaticida da espécie *Uraria picta*, foi atribuída a diferentes classes de compostos químicos encontrados, como os fenólicos, flavonoide, esterol, e derivados de terpeno⁵⁷. Análise em CG-EM dos extratos metanólicos de caules e de folhas de *Petiveria alliacea* demonstrou que as amostras ativas continham principalmente o dissulfeto de dibenzila e o trissulfeto de dibenzila, a mortalidade de 100% no bioensaio de teste de imersão de larvas de *R. microplus* pode ser atribuída aos dois compostos citados⁵⁸ de acordo com os autores.

O fracionamento do extrato bioativo de *Piper guianacastensis* sobre *Aedes atropalpus* proporcionou a obtenção do 4-hidróxi-3-(3'-metil-2'-butenil)benzoato de metila como o principal constituinte ($LC_{50} 20,5 \mu\text{g mL}^{-1}$)⁵⁹.

Segundo Viegas Jr.⁶⁰, estudos relativos à ação e ao impacto ambiental dessas substâncias que podem ser biodegradáveis e seletivas para parasitos indesejados têm conduzido à avaliação e descoberta de uma série de moléculas, principalmente terpenos e alcaloides, candidatos a biopraguicidas e são uma alternativa eficaz com menor impacto sobre a saúde humana, dos animais domésticos e para o ambiente.

Outro aspecto importante é a divulgação de informações sobre a espécie estudada, possibilitando o conhecimento dessa importante planta do cerrado maranhense, auxiliando a sua conservação, pois, ainda é pouco estudada e a divulgação e busca de extratos e metabólitos secundários de plantas a fim de encontrar potenciais carrapaticidas, fitoterápicos e fármacos de aplicação futura.

Conclusões

O primeiro relato de estudo de atividade biológica das folhas da espécie *Lecythis usitata* sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, mostrou que extrato metanólico, PFQP e a fração PFQO apresentaram ação carrapaticida com mortalidade das larvas superior a 90%, na concentração de 20%. Dados semelhantes foram observados para os bioensaios com fêmeas ingurgitadas, com exceção da fração PFQO, que apresentou atividade carrapaticida inferior ao verificado para as larvas. O extrato hexânico não apresentou atividade carrapaticida.

No estudo químico da fração PFQO obtida das folhas da espécie *Lecythis usitata*, foram identificados triterpenos pentacíclicos, friedelanol, como composto majoritário, a mistura friedelanol e taraxerol, a mistura friedelanol, α -amirina e β -amirina e por último a mistura taraxerol, α -amirina, β -amirina e lupeol. O friedelanol e as misturas de triterpenos também não apresentaram atividade carrapaticida.

Declaração de conflitos de interesses

Os autores do artigo afirmam que não houve nenhuma situação de conflito de interesse, tais como propostas de financiamento, emissão de pareceres, promoções ou participação em comitês consultivos ou diretivos, entre outras, que pudessem influenciar no desenvolvimento do trabalho.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade federal do Pará, ao Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da

Universidade Federal do Maranhão pelo suporte de infraestrutura e a FAPESPA e FAPEMA pelo suporte financeiro.

Referências

- THIMMAPPA, R.; GEISLER, K.; LOUVEAU, T.; O'MAILLE, P.; OSBOURN, A. Triterpene biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 225-257, 2014.
- CARVALHO, M. G. de; VELANDIA, J. R.; OLIVEIRA, L. F. de; BEZERRA, F. B. Triterpenos isolados de *Eschweilera longipes* Miers (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 740-743, 1998.
- CRUBLET, M.-L.; POUNY, I.; DELAUDE, C.; LAVAUD, C. Acylated triterpenoid sapanins from the Stem Bark of *Foetidia Africana*. **Journal of Natural Products**, n. 65, n. 11, p. 1500-1567, 2002.
- ALMEIDA, M. de F. O; MELO, A. C. R. de; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. de A.; SOUZA, A. D. L. de S. Constituintes químicos e atividade leishmanicida de *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1182-1187, 2011.
- FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho d'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 78-88, 2006.
- HUSSIN, N. M.; MUSE, R.; AHMAD, S.; RAMLI, J.; MAHMOOD, M.; SULAIMAN, M. R.; SHUKOR, M.Y.A.; RAHMAN, M. F. A.; AZIZ, K. N. K. Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). **African Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 2835-2842, 2009.
- PATIL, K. R.; PATIL, C. R.; JADHAV, R. B.; MAHAJAN, V. K.; PATIL, P. R.; GAIKWAD, P. S. Anti-Arthritic activity of bartogenic acid Isolated from fruits of *Barringtonia racemosa* Roxb. (Lecythidaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 1, p. 112-117, 2011.
- McRAE, J. M.; YANG, Q.; CRAWFORD, R. J.; PALOMBO, E. A. Antibacterial compounds from *Planchonia careya* leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 3, p. 554-560, 2008.
- PINHEIRO, M. M. G.; BESSA, S. O.; FINGOLO, C. E.; KUSTER, R. M.; MATHEUS, M. E.; MENEZES, F. S.; FERNANDES, P. D. Antinociceptive activity of fractions from *Couropita guianensis* Aubl. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 407-413, 2010.
- DUARTE, E. F.; SANTOS, J. A. dos; ALMEIDA, D. S.; SANTOS, C. H. B.; AZEVEDO NETO, A. D. de; CRUZ, C. R. P.; PEIXOTO, C. P. Maturação de frutos e sementes de inhaíba (*Lecythis lurida* [Miers]). **Revista de Biologia Neotropical**, v. 17, n. 1, p. 15-34, 2020.
- RISSINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira**/Carlos Toledo Rizzini – 2ª Ed. - São Paulo: Edgard Blucher, 1978.
- SOUZA, A. D. L de; ROCHA, A. F. I. da, PINHEIRO, M. L. B., ANDRADE, C. H. de S., GALOTTA, A. L. de A. Q., SANTOS, M. do P. S. Constituintes químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 439-442, 2001.
- HUANG, Y.-Y.; MORI, S. A.; KELLY, L. M. Toward a phylogenetic-based generic classification of neotropical Lecythidaceae-I. Status of *Bertholletia*, *Corythophora*, *Eschweilera* and *Lecythis*. *Bertholletia*. **Phytotaxa**, v. 203, n. 2, p. 085-121, 2015.
- MORI, S. A.; TSOU, C. H.; WU, C. C.; CRONHOLM, B.; ANDERBERG, A. A. Evolution of Lecythidaceae with an emphasis on the circumscription of neotropical genera: Information from combined NDHF and TRNL-F sequence data.

- American Journal of Botany**, v. 94, n. 3, p. 289-301, 2007.
15. SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: Guia ilustrativo para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II, São Paulo, Nova Odessa, SP, 2005.
16. PEREIRA, J. R.; FAMADAS, K. M. Avaliação "in vitro" da eficiência do extrato da raiz do Timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) sobre *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) na Região do Vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**, v.71, n. 4, p.443-450, 2004.
17. PEREIRA, J. R.; FAMADAS, K. M. The efficiency of extracts of *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoidae, and Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in artificially infested bovines. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n. 1-2, p. 192-195, 2006.
18. BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; DIAS, N. da S.; VALENTE, E. C. N.; SOUZA, L. A. de; LOPES, D. O. P.; SANTOS, J. M. dos. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 44-48, 2010.
19. NAWAZ, M.; SAJID, S. M.; AHMED, Z.; WAQAS, M.; AHMED, T.; HUSSAIN, A.; MOHI-UD-DIN, A.; SHAMIM, A.; ZUBAIR, M.; KHAL, I. Anti-Tick Activity of leaves of *Azadirachta indica*, *Dalbergia sisso* and *Morus alba* against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Acta Parasitologica Globalis**, v. 6, n. 1, p. 60-64, 2015.
20. CHAGAS, A. C. de S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de eucalyptus em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 247-253, 2002.
21. CHAGAS, A. C. de S.; BARROS, L. D. de; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; GIGLIOTTI, R.; OLIVEIRA, M. C. de S.; BIZZO, H. R. In vitro efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 295-303, 2012.
22. FERNANDES, F. de F.; FREITAS, E. de P. e S.; COSTA, A. C. Da; SILVA, I. G. Da. Larvicidal potential of *Sapindus saponaria* to control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 1243-1245, 2005.
23. MARTINS, R. M. Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus*) en la garrapata *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 71-78, 2006.
24. HEIMERDINGER, A.; OLIVO, C. J.; MOLENTO, M. B.; AGNOLIM, C. A.; ZIECH, M. F.; SCARAVELLI, L. F. B.; SKONISKI, F. R.; BOTH, J. F.; CHARÃO, P. S. Extrato alcoólico de Capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) no controle do *Boophilus microplus* em bovinos. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 37-39, 2006.
25. LIMA, A. da SILVA; SOUSA FILHO, J. G. do N.; PEREIRA, S. G.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S.; COSTA JUNIOR, L. M. Acaricide activity of different extracts from *Piper tuberculatum* fruits against *Rhipicephalus microplus*. **Parasitol Research**, v. 113, p. 107-113, 2014.
26. AMORIM, A. R. de; BUCHINI, J. L. C.; MARZOLLA, I. P. MARTINS, G. C. G.; GOBETTI, S. T. C.; MARÇAL, W. S. O uso irracional de medicamentos veterinários: uma análise prospectiva. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 14, n. 2, p. 196-205, 2020.
27. GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos-mutações, reprodução e câncer**. Brasília- DF: Editora Universidade de Brasília, 2005.

28. GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA B. G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 125, n. 21, p. 8-10, 2002.
29. SILVA, T. P. P. da; MOREIRA, J. C.; PERES, F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? Implicações na saúde e na percepção de riscos de trabalhadores da pecuária leiteira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 2, p. 311-325, 2012.
30. ESTRADA-PEÑA, A.; SZABÓ, M.; LABRUNA, M.; MOSQUEDA, J.; MERINO, O.; TARRAGONO, E.; VENZAL, J. M.; LA FUENTE, J. de. Towards an effective, rational and sustainable approach for the control of cattle ticks in the Neotropics. **Vaccines**, v. 8, n. 9, p. 2-9, 2020.
31. DOMÍNGUEZ-GARCÍA, D. I.; ROSARIO-CRUZ, R.; ALMAZÁN-GARCÍA, C.; OAXACA, J. A. S.; DE LA FUENTE, J. *Boophilus microplus*: Aspectos Biológicos y moleculares de la resistencia a los acaricidas y su Impacto en la salud animais. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 12, 181-192, 2010.
32. FAZA, A. P.; PINTO, I. S.; FONSECA, I.; ANTUNES, G. R.; MONTEIRO, C. M.; DAEMON, E.; MUNIZ, M. de S.; MARTINS, M. F.; FURLONG, J.; PRATA, M. C. A new approach to characterization of the resistance of populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to organophosphate and pyrethroid in the state of Minas Gerais, Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 134, n. 4, p. 519-23, 2013.
33. LARA, T. I. da C. de; GARCIA, S. D. O impacto do uso dos agrotóxicos na saúde pública: revisão de literatura. **Revista Saúde e Desenvolvimento Humano**, v. 8, n. 1, p. 85-96, 2020.
34. GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. de S.; BARROS, A. T. M. de; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P. de; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.
35. STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *Boophilus microplus* (Can.). **Bulletin of Entomological Research**, v. 53, p. 563-578, 1962.
36. FAO. Plant Protection Bulletin. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus* spp. **FAO method**, v.19, n. 7, p.15-18, 1971.
37. LEITE, R. C. **Boophilus microplus (Canestrini, 1887)**: susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. Belo Horizonte - Minas Gerais – Brasil. 1988. 151 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva), Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 1987.
38. ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
39. DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides, **Journal of Economy Entomology**, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.
40. BEGUM, F.; HAQUE, M. R.; NAHAR, K. S.; RASHID, M. A. Secondary metabolites from different extractives of *Stereospermum suaveolens*. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 31-36, 2014.
41. ISLAM, R.; AHMED, I.; SIKDER, A. A.; HAQUE, M. R.; MANSUR, A. A.; AHMED, M.; RASHEED, M.; RASHID, M. A. Chemical investigation of *Mesua nagassarium* (Burm. f.) Kosterm. **Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 10, p. 124-128, 2014.

42. MUH, L.; AL MUGARRABUN, R.; AHMAT, N.; ARIS, S. R. S.; NORIZAN, N. Phytochemical investigation of the stem bark of *Sapium baccatum* (Roxb.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, n. 8, v. 3, p. 432-438, 2014.
43. CASTORENA, A.-L. P. Triterpenes and other metabolites from *Tibouchina urvilleana*. **Journal of Mexican Chemical Society**, v. 58, n. 2, p. 218-222, 2014.
44. CURSINO, L. M. de C.; MESQUITA, A. S. S.; MESQUITA, D. W. de O.; FERNANDES, C. C.; PEREIRA JUNIOR, O. L.; AMARAL, I. L. do; NUNEZ, C. V. Triterpenos das folhas de *Minquartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). **Acta Amazônica**, v. 39, n. 1, p. 181-186, 2009.
45. ISLAM, R.; AHMED, I.; SIKDER, A. A.; HAQUE, M. R.; MANSUR, A. A.; AHMED, M.; RASHEED, M.; RASHID, M. A. Chemical investigation of *Mesua nagassarium* (Burm. f.) Kosterm. **Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 10, p. 124-128, 2014.
46. SALEEM, M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. **Cancer Letters**, v. 285, n. 2, p. 109-115, 2009.
47. SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A. Celastráceas: fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1205-1220, 2014.
48. SANTIAGO, L.; A.; MAYOR, A. B. R. Lupeol: An antioxidant triterpene in *Ficus pseudopalma* Blanco (Moraceae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 2, p. 109-118, 2014.
49. PENDUKA, D.; MOSA, R.; SIMELANE, M.; BASSON, A.; OKOH, A.; OPOKU, A. Evaluation of the anti-Listeria potentials of some plant-derived triterpenes. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 13, n. 37, p. 2-7, 2014.
50. SANTHANAM, S. R.; SUBRAMANIAN, M.; EGIGU, M. C.; PARIDA, A. Pentacyclic triterpenoids and a linear alkane from the Milky mangrove tree (*Excoecaria agallocha* L.) are toxic to the larva of *Helicoverpa armigera* Hubner. (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 6, p. 1-12, 2014.
51. SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVIC, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. ver. amp., Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003.
52. SEIBER, J. N.; COATS, J.; DUKE, S. O.; GROSS, A. D. Biopesticides: state of the art and future opportunities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 11613-11619, 2014.
53. GUPTA, R. C. Capítulo 52 - Rotenone. **Veterinary Toxicology**, 2ª ed., 2012, p. 620-623.
54. WANG, X. J.; ZHANG, J.; LIU, C. X.; GONG, D. L.; ZHANG, H.; WANG, J. D.; YAN, Y. J.; XIANG, W. S. A novel macrocyclic lactone with insecticidal bioactivity from *Streptomyces microflavus* neu3. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 18, p. 5145-5148, 2011.
55. DAEMON, E.; MATURANO, R.; MONTEIRO, C. M.; GOLDNER, M. S.; MASSONI, T. Acaricidal activity of hydroethanolic formulations of thymol against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3-4, p. 542-545, 2012.
56. FIGUEIREDO, J. C. G.; NUNES, Y. R. F.; VASCONCELOS, V. de O.; ARRUDA, S. R.; MORAIS-COSTA, F.; SANTOS, G. S. C.; ALVEZ, F. S.; DUARTE, E. R. Effects of leaf extracts of *Protium spruceanum* against adult and larval *Rhipicephalus microplus*. **Experimental and applied acarology**, v. 79, p. 447-458, 2019.
57. IGBOECHI, A. C.; OSAZUWA, E. O.; IGWE, U. E. Laboratory evaluation of the acaricidal properties of extracts from *Uraria picta* (Leguminosae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, n. 3, p. 293-298, 1989.

58. ROSADO-AGUILAR, J. A.; AGUILAR-CABALLERO, A.; RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; BORGES-ARGAEZ, R.; GARCIA-VASQUEZ, Z.; MENDEZ-GONZALEZ, M. Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 168, n 3-4, p. 299-303, 2010.
59. PEREDA-MIRANDA, R.; BERNARD, C. B.; DURST, T.; ARNASON, J. T.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; POVEDA, L.; SAN ROMÁN, L. Methyl 4-Hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)benzoate, major insecticidal principle from *Piper guanacastensis*. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 3, p. 282-284, 1997.
60. VIEGAS JR., C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.