


## Potencial da Espécie Vegetal *Mandevilla moricandiana* (Apocynaceae) no Combate às Larvas do Mosquito *Aedes aegypti*

### *Potential of the Vegetable Species Mandevilla moricandiana (Apocynaceae) to Combat Larvae of the Mosquito Aedes aegypti*

Bárbara C. de O. P. Andrade,<sup>a,b</sup> Rafael F. Tritany,<sup>b</sup> Celso E. dos Santos,<sup>c</sup> Michelle F. Muzitano,<sup>d</sup> Sandra Z. Cordeiro,<sup>e</sup> Alice Sato,<sup>e</sup> Ivana C. R. Leal,<sup>b</sup> Maria I. S. dos Santos,<sup>b</sup> Anne C. C. Gomes,<sup>a</sup> Naomi K. Simas<sup>b,\*</sup> 

<sup>a</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Realengo, CEP 21710-240, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Naturais e Alimentos, Laboratório de Produtos Naturais e Ensaios Biológicos, Cidade Universitária – Centro de Ciências da Saúde, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais, Cidade Universitária – Centro de Ciências da Saúde, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>d</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé, CEP 27930-560, Macaé-RJ, Brasil.

<sup>e</sup> Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biociências, Campus Urca, CEP 22290-240, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

\*E-mail: [naomisimas@yahoo.com](mailto:naomisimas@yahoo.com)

Recebido: 28 de Março de 2021

Aceito: 28 de Março de 2021

Publicado online: 17 de Junho de 2021

According to the World Health Organization, 50 to 100 million cases of dengue occur annually worldwide. In parallel, other disease occur through the same *Aedes aegypti* vector, such as yellow fever, chikungunya and zika. Chemical vector control in Brazil has selected populations of resistant mosquitoes, causing environmental pollution and toxicity to non-target organisms. Vegetables, in turn, have developed strategies to ensure their survival against attack by insects, biosynthesizing insecticidal substances that can therefore be an alternative for the development of environmentally safe and biodegradable larvicides. The objectives of the work are based on the phytochemical study and on the evaluation of the larvicidal activity of the ethanol extract and subfractions of the underground system of the vegetable species *Mandevilla moricandiana*. The crude extract showed an interesting larvicidal activity, causing mortality of 100% of the larvae at a concentration of 500 ppm (LC<sub>50</sub> 43.88 ppm). The biofractionation of the *M. moricandiana* extract generated an increase in biological activity for the low-polarity fractions, such as the dichloromethane (LC<sub>50</sub> 9.745 ppm) and hexane (LC<sub>50</sub> 27.42 ppm) fractions, which showed, through GC-MS analysis, terpenoids and steroids as major constituents, and also the presence of cardenolides, confirmed by reactions of identification of the lactonic ring.

**Keywords:** Larvicide; biomonitored study; terpenoids; cardenolide.

### 1. Introdução

O mosquito *Aedes aegypti*, vetor de diversas arboviroses como dengue, febre amarela, zika e chikungunya, foi introduzido no Brasil durante o período colonial, provavelmente na época do tráfico de escravos. Em 1955, diante de inúmeros casos de febre amarela no território brasileiro, o mosquito *A. aegypti* foi intensamente combatido resultando na diminuição de sua densidade populacional. Entretanto, no final da década de 1960, o relaxamento das medidas de controle levou à reintrodução do vetor no país.<sup>1</sup>

Levando-se em consideração que não há vacinas para todas as viroses transmitidas pelo *A. aegypti*, medidas preventivas de controle do vetor são de grande valia. Desde 2001, o Ministério da Saúde vem preconizando estratégias para o controle vetorial do *A. aegypti*, como ações de controle mecânico, biológico e químico. Dentre estas estratégias, destaca-se a parceria entre agentes comunitários de saúde e a população nas medidas de controle mecânico e químico, além de ações educativas que garantam a eliminação dos criadouros, como tentativa de romper a cadeia de transmissão da doença.<sup>2,3</sup>

O controle mecânico consiste em práticas capazes de eliminar o vetor e os criadouros ou diminuir o contato do mosquito com o homem através de drenagem de reservatórios e instalação de telas em portas e janelas. O controle biológico utiliza predadores, como por exemplo peixes, ou patógenos que liberam toxinas para reduzir a população vetorial. Já o controle químico consiste no uso de produtos sintéticos inibidores da síntese de quitina, ou ainda, com ação neurotóxica, capazes de matar larvas e mosquitos adultos<sup>2</sup>. Entretanto, o controle químico deve ser realizado de forma cautelosa e de maneira racional, visto que tais produtos geram danos ao meio ambiente, são tóxicos a organismos não alvos e, ainda, possibilitam a seleção de vetores resistentes, como vem sendo observado com o uso extensivo de organofosforados, como temefós, e piretroides, como cipermetrina e deltametrina.<sup>4,5</sup>

Sendo assim, novas alternativas de manejo, no que diz respeito a um controle químico mais eficiente, isento de desenvolvimento de resistência pelos vetores e efeitos tóxicos, são imprescindíveis. Neste cenário, substâncias de origem natural figuram como opções interessantes. Os óleos essenciais destacam-se em muitos trabalhos dado ao seu potencial larvicida e/ou inseticida<sup>6,7</sup>. Segundo Simas e colaboradores (2004), o sesquiterpeno *E*-nerolidol, isolado da espécie *Myroxylon balsamum* (bálsamo-de-tolu), mostrou-se ativo contra as larvas de *A. aegypti*, com concentração letal para 99% das larvas ( $CL_{99}$ ) no valor de 49,7 ppm<sup>6</sup>. O extrato das flores de *Dendranthema grandiflorum* (crisântemo) obtido em diclorometano apresentou potencial larvicida bastante pronunciado com concentração letal para 50% das larvas de *A. aegypti* ( $CL_{50}$ ) no valor de 5,93 ppm. Dentre seus constituintes principais destacam-se o fitoesteroide sitosterol, e os triterpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina<sup>8</sup>. Espécies vegetais ricas em sesquiterpenos, como por exemplo nerolidol e farnesol, monoterpênicos como  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno, carvona e geraniol, triterpenos, fenilpropanóides como safrol, eugenol e aldeído cinâmico são alternativas promissoras para o controle de larvas de *A. aegypti*.<sup>6,7</sup>

*Mandevilla moricandiana* (A.DC.) Woodson é uma trepadeira pertencente à família Apocynaceae, uma das maiores e importantes famílias das angiospermas com propriedades medicinais descritas na literatura.<sup>9</sup> Nativa do Brasil, *M. moricandiana* é encontrada em alguns estados do Nordeste, e na região Sudeste (Rio de Janeiro e Espírito Santo), sendo seu tipo de vegetação característico de caatinga e restingas.<sup>10</sup> Quanto aos metabólitos secundários presentes em *M. moricandiana*, estudos revelaram a ocorrência de  $\eta$ -alcanos, como nonacosano (C29) e hentriacontano (C31), triterpenos lupeol e a mistura  $\alpha/\beta$ -amirina,<sup>11</sup> além de flavonoides glicosilados derivados de luteolina e quercetina<sup>12</sup>. Exceto pelo trabalho de Ferreira e colaboradores (2017) acerca do efeito vasodilatador do extrato hidroalcolólico das folhas de *M. moricandiana*, são escassos os relatos na literatura sobre o potencial biológico desta espécie, o que despertou nosso interesse em conduzir um estudo fitoquímico biomonitorado a fim de avaliar o potencial larvicida dessa espécie ainda pouca explorada.

## 2. Metodologia

### 2.1. Extração

A espécie vegetal *Mandevilla moricandiana* foi coletada no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, localizado entre 22° e 22° 23' S e 41° 15' e 41° 45' O nos municípios de Macaé, Carapebus e Quissamã, no Rio de Janeiro. A identificação do material vegetal foi confirmada pela Dra. Tatiana Ungaretti Paleo Konno e depositada no herbário da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob o número de exsicata RFA38748. O material vegetal foi submetido à secagem a 40 °C, em estufa com renovação e circulação de ar.

O material seco foi moído em triturador, pesado e conduzido à extração com etanol: água (7:3, v/v) por maceração estática a frio durante quinze dias. Após este tempo, o extrato foi filtrado e o solvente evaporado em evaporador rotatório a pressão reduzida. Parte desse extrato seco de *M. moricandiana* foi submetido à partição líquido/líquido, em funil de separação, com solventes em graus de polaridade crescente: hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol, restando o resíduo aquoso.

### 2.2. Bioensaios larvicida

Os ovos de *Aedes aegypti* foram previamente obtidos no Instituto de Biologia do Exército Brasileiro. Para os ensaios, os ovos foram mantidos em bandejas contendo água nas condições ótimas (28±1 °C). Após 48 horas de incubação, os ovos foram usados e o estudo realizado com as larvas do mosquito no terceiro estágio de crescimento, em que é possível a visualização das mesmas a olho nu.

Os bioensaios de atividade larvicida foram realizados de acordo com o protocolo da Organização Mundial da Saúde<sup>13</sup> adaptado: em recipientes (béquer) foram adicionados 15 mL de água filtrada e 100  $\mu$ L das amostras a serem testadas em concentrações que variaram de 500 a 15,62 ppm a depender da amostra-teste. Após 30 minutos de homogeneização foram adicionados 4,9 mL de água filtrada e cinco larvas de *A. aegypti*. Para a solubilização das amostras utilizou-se água e solventes etanol ou acetona, de acordo com a solubilidade da amostra-teste.

As concentrações de cada amostra ensaiada foram repetidas no mínimo três vezes, com três réplicas em cada ensaio. A leitura foi realizada após 24 horas, verificando-se o número de larvas vivas e mortas. Em todos os ensaios foram utilizados controles negativos dos solventes e da água utilizada, assim como o larvicida temefós (1 ppm) utilizado como controle positivo em todas os ensaios.

### 2.3. Análise estatística

Os resultados foram analisados através da análise de variância (ANOVA) segundo o teste de Tukey, ao nível de significância de 5% com o uso do software Graph Pad Prism®. A concentração letal equivalente a 50% de efeito em relação ao controle negativo ( $CL_{50}$ ) foi calculada através do mesmo software.

### 2.4. Fracionamento cromatográfico biomonitorado

O fracionamento das amostras ativas foi realizado utilizando funil sinterizado de 8,4 cm de largura preenchido com 5,5 cm de fase estacionária sílica gel 60 (MERCK, Darmstadt, Alemanha) e vácuo. Para fase móvel foram utilizadas misturas de hexano/acetato de etila e diclorometano/metanol em ordem crescente de polaridade para cada amostra, a saber:

Para a amostra H1 (Partição em Hexano) utilizou-se os eluentes hexano/acetato de etila nas proporções 8:2, 7:3, 1:1 e 3:7; diclorometano/metanol nas proporções 8:2, 1:1

e metanol 100%, obtendo-se respectivamente as amostras H2 (313 g), H3 (40 g), H4 (160 g), H5 (150 g), H6 (120 g), H7 (8 g) e H8 (10 g).

Para a amostra D1 (Partição em Diclorometano) utilizou-se os eluentes hexano/acetato de etila nas proporções 7:3, 1:1 e 3:7; diclorometano/metanol nas proporções 8:2, 1:1 e metanol 100%, obtendo-se respectivamente as amostras D2 (60 g), D3 (169 g), D4 (158 g), D5 (512 g), D6 (65 g) e D7 (18 g).

Desta forma, foram recolhidas um total de 13 frações de aproximadamente 15mL cada. Após evaporação dos solventes, as frações obtidas foram conduzidas ao ensaio larvicida.

## 2.5. Perfil fitoquímico

A caracterização das amostras ativas foi realizada com diferentes técnicas cromatográficas para determinação de um perfil químico:

Cromatografia em Camada Delgada (CCD) em gel de sílica F254 (MERCK, Darmstadt, Alemanha) utilizando-se os eluentes hexano/acetato de etila nas proporções 1:1 e 6:4. Observação sob luz ultravioleta (UV) nos comprimentos 254 e 365 nm e revelação com solução etanólica de vanilina sulfúrica;

A análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) foi realizada em aparelho Shimadzu com interface GCMS-QP2010SE. As condições de análise foram: coluna DB-5MS de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro; hélio como gás de arraste, fluxo de 1,03 mL/min; temperatura do injetor de 250 °C; modo de injeção split de 1:5; temperatura da interface de 270 °C; análises realizadas no modo SCAN em uma faixa de 40 a 500 m/z, programação em rampa de temperatura de 60 °C a 280 °C. O espectrômetro de massas operou com ionização por impacto eletrônico (energia de 70 eV). A base de dados

usada para comparação de espectros de massas foi a NIST (“National Institute of Standards and Technology”). Além disso, as amostras analisadas foram previamente metiladas com o reagente diazometano ( $\text{CH}_2\text{N}_2$ ).

A identificação dos cardenólidos presentes em algumas das amostras foi realizada através da Reação de Baljet, a qual identifica a presença do anel lactônico pentagonal insaturado, característico dos heterosídeos cardiotônicos. O anel é dissociado em meio alcalino, gerando um ânion do cardenólido que age como um nucleófilo, atacando a posição *orto* entre os dois grupos nitro do ácido pícrico<sup>14</sup> formando um par iônico de coloração alaranjada (Figura 1). Foram realizadas análises qualitativas em tubos de ensaios, seguindo protocolos definidos pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia<sup>15</sup>: adicionando-se às amostras 2 mL de solução de etanol a 50%, 2 mL de água destilada, 2 mL do reativo de Baljet (ácido pícrico) e 2 mL de solução de hidróxido de potássio 1N.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Obtenção do extrato bruto e fracionamento

O extrato bruto de *Mandevilla moricandiana* contendo 24,25 g foi submetido à partição líquido/líquido com solventes em graus de polaridade crescente: hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol, restando o resíduo aquoso. As quantidades assim como os respectivos rendimentos das amostras obtidas foram apresentadas na Figura 2.

O extrato etanólico e as partições foram conduzidos a bioensaios para avaliação da atividade larvicida sobre larvas de *Aedes aegypti* e obtiveram resultados conforme apresentado na Figura 3.

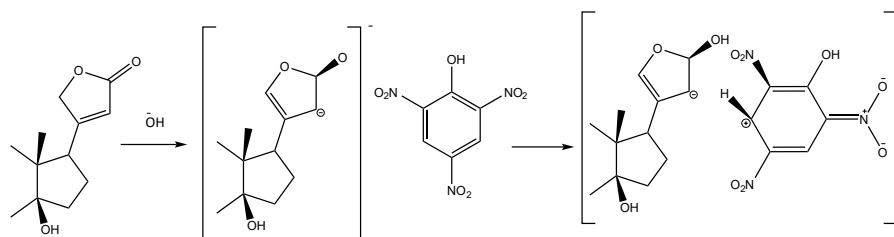


Figura 1. Reação de Baljet

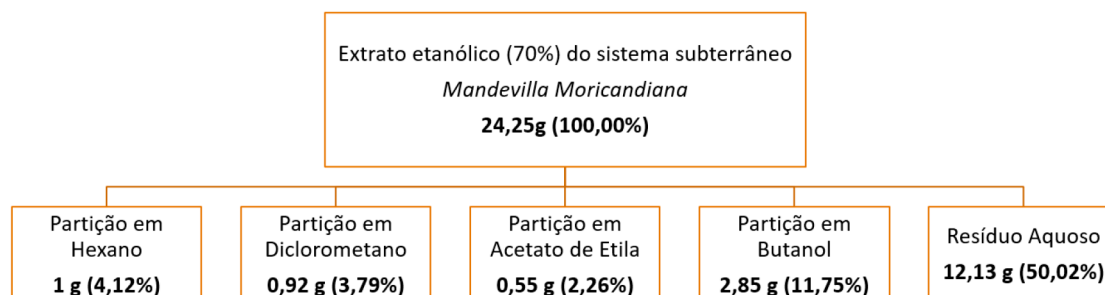
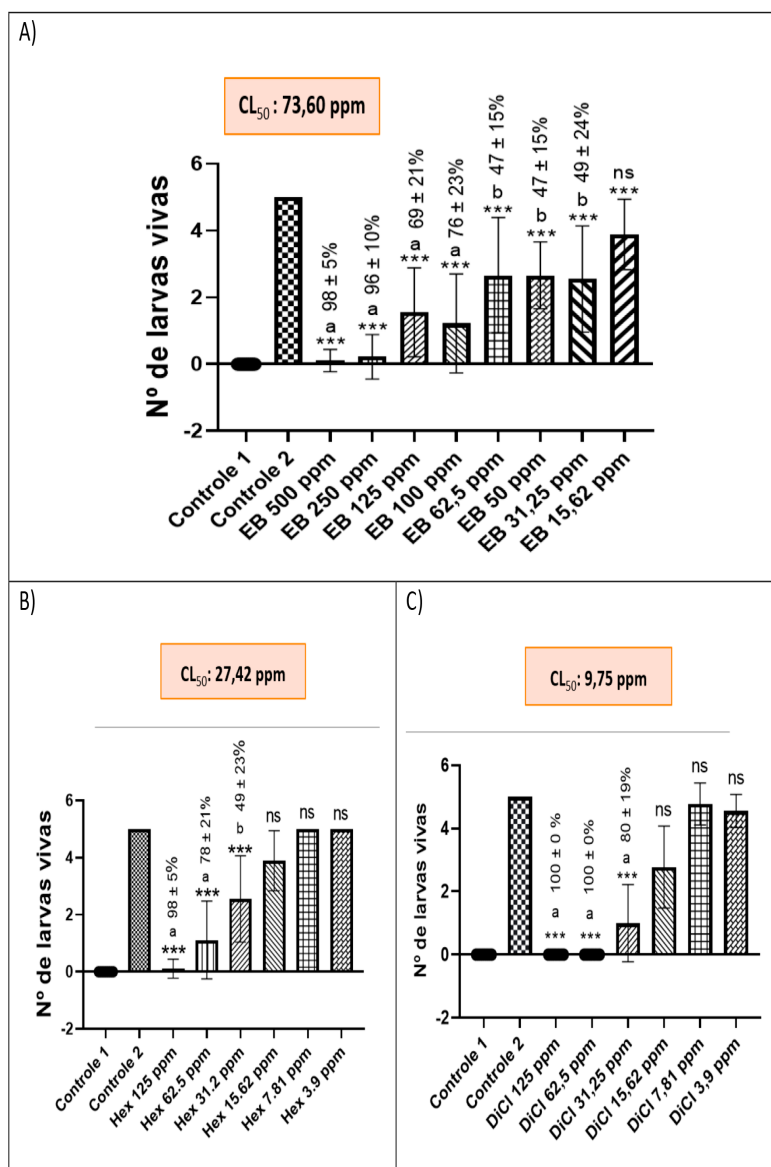


Figura 2. Amostras obtidas pela partição líquido/líquido do extrato bruto (7:3 v/v) de *M. moricandiana*



**Figura 3.** Efeito larvicida do extrato bruto (A), da partição em hexano (B) e da partição em diclorometano (C) de *M. moricandiana*. Controle 1= temefós (1 ppm); Controle 2 = solvente (100 µL) EB= extrato bruto; Hex = partição em hexano; DCM= partição em diclorometano. Resultados expressos como média com 95% IC. Significância determinada pela análise *One-way ANOVA* seguida do Teste de Múltipla comparação de Tukey. Sumário dos valores de p: \*\*\* altamente significativa ( $p < 0.001$ ), \*\* muito significativa ( $0.001 < p < 0.01$ ), \* significativa ( $0.01 < p < 0.05$ ), ns (não significativa) em comparação com o controle 2. Letras sobrescritas iguais indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos de acordo com o Teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). Percentual do efeito larvicida em comparação com o controle 2 está expresso sobre cada barra

As partições representadas na figura acima apresentaram um aumento da atividade larvicida quando comparado ao extrato bruto, enquanto as partições em butanol e resíduo aquoso não apresentaram atividade. Além disso é possível verificar que o sistema subterrâneo de *M. moricandiana*, embora possua uma característica mais polar, concentrando a atividade larvicida nas amostras mais apolares, ou seja, nas partições em hexano e diclorometano.

Para fins comparativos, foi realizado um levantamento na literatura de outras espécies vegetais com atividade larvicida. Os resultados encontram-se na Tabela 1 e corroboram para confirmar o potencial larvicida da espécie vegetal *M. moricandiana*, ao comparar os respectivos resultados de CL<sub>50</sub>.

### 3.2. Perfil fitoquímico das partições mais ativas

Por CCD foi possível identificar a presença de terpenoides, devido à coloração arroxeada em revelação em vanilina sulfúrica<sup>17</sup>, assim como a presença de algumas bandas azuis, tanto na partição hexânica e, principalmente, na diclorometânica. Também é possível evidenciar a presença compostos cromóforos em ambas as partições ativas (revelação em luz UV).

Os resultados obtidos por CG-EM evidenciaram a presença majoritária de esteroides, como o  $\gamma$ -sitosterol (ver Material Suplementar), em aproximadamente 30 min de retenção, assim como a presença de ácidos graxos entre 10 e 20 minutos, conforme evidenciam as Tabelas 2 e 3.

**Tabela 1.** Potencial larvicida de outras espécies vegetais descritas na literatura

Espécie vegetal (Família)	Partição	CL <sub>50</sub>
<i>Kielmeyera coriácea</i> (Clusiaceae)	Diclorometânica	112 ppm <sup>16</sup>
<i>Talauma ovata</i> (Magnoliácea)	Hexânica	53,3 ppm <sup>16</sup>
<i>Myroxylon balsamum</i> (Fabaceae)	Hexânica	13 ppm <sup>6</sup>
<i>Dendranthema grandiflorum</i> (Asteraceae)	Diclorometânica	5,9 ppm <sup>8</sup>

**Tabela 2.** Principais compostos encontrados na partição em hexano por CG-EM

Compostos	Tempo de Retenção (min)	% Área	Método de Identificação
γ-sitosterol	29.077	31.08	EM (NIST 11)
Palmitato de etila	17.084	9.60	EM (NIST 11)
Campesterol	27.915	3.74	EM (NIST 11)

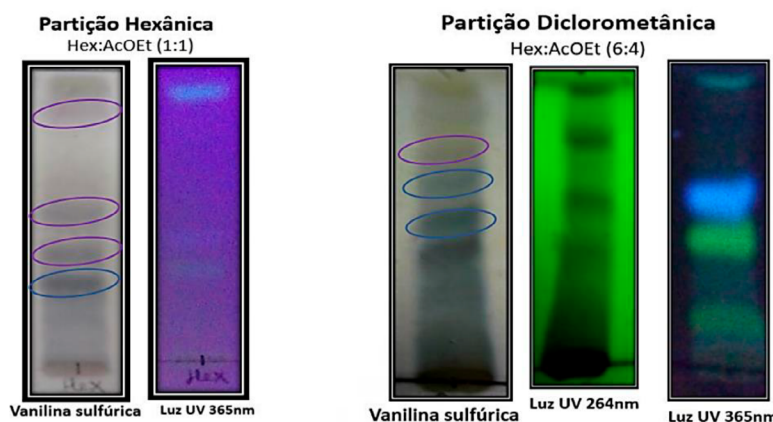
**Tabela 3.** Principais compostos encontrados na partição em diclorometano por CG-EM

Compostos	Tempo de Retenção (min)	% Área	Método de Identificação
Palmitato de metila	39.562	15.04	EM (NISTI 11)
Palmitato de etila	41.679	9.42	EM (NISTI 11)
E- Elaidato de metila	44.837	4.88	EM (NISTI 11)

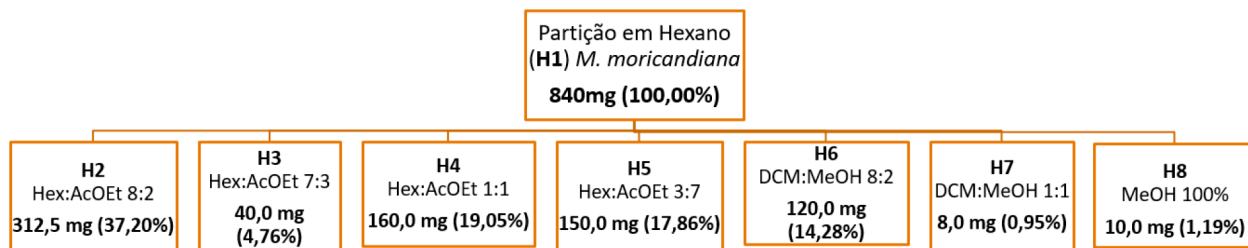
### 3.3. Fracionamento biomonitorado das partições mais ativas

As amostras mais ativas, partições em hexano (920mg) e diclorometano (840mg), foram submetidas a fracionamento cromatográfico em funil sinterizado utilizando vácuo e sílica gel 60 como adsorvente. Os eluentes utilizados no fracionamento, assim como as quantidades obtidas e seus respectivos rendimentos são apresentados nas Figuras 5 e 6.

As frações obtidas a partir do fracionamento cromatográfico das partições mais ativas foram conduzidos a bioensaios larvicida, conforme evidenciam os resultados apresentados na Figura 7. As frações que se mostraram inativas frente as larvas de *Aedes aegypti* (H2, H3, H5, H7, D2 e D3) não tiveram seus resultados apresentados nesta figura, enquanto as frações ativas demonstraram um aumento da atividade quando comparado às partições que as originaram.



**Figura 4.** CCD das partições mais ativas: hexano e diclorometano



**Figura 5.** Frações obtidas a partir do fracionamento cromatográfico da partição em hexano



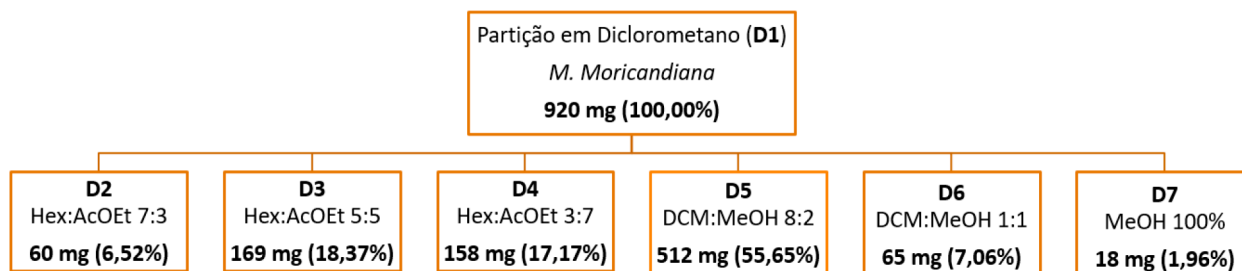


Figura 6. Frações obtidas a partir do fracionamento cromatográfico da partição em diclorometano

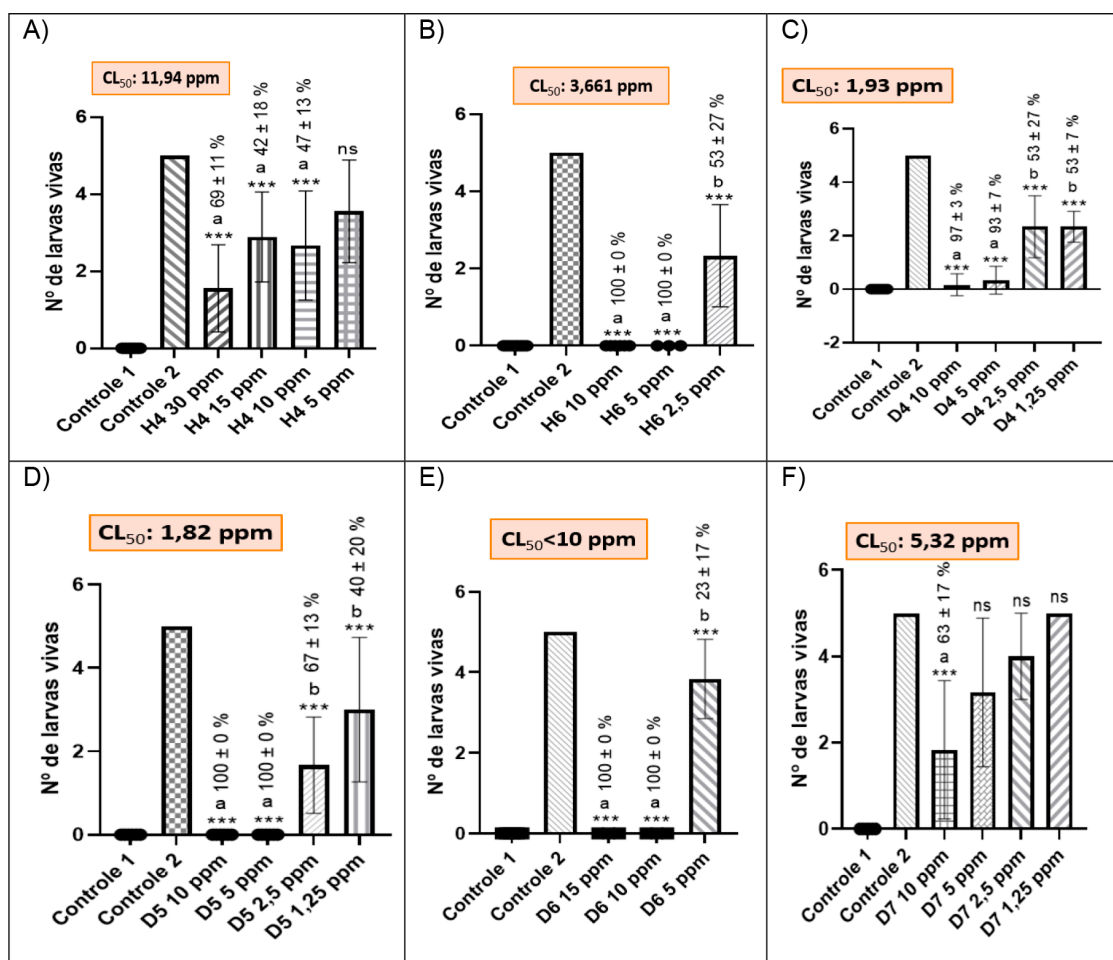


Figura 7. Efeito larvicida das frações ativas oriundas das partições em hexano e diclorometano (A-F) de *M. moricandiana*, assim como das frações inativas (G). Controle 1 = temefós (1 ppm); Controle 2 = solvente (100 µL). Resultados expressos como média com 95% IC. Significância determinada pela análise *One-way* ANOVA seguida do Teste de Múltipla comparação de Tukey. Sumário dos valores de p: \*\*\* altamente significativa ( $p < 0.001$ ), \*\* muito significativa ( $0.001 < p < 0.01$ ), \* significativa ( $0.01 < p < 0.05$ ), ns (não significativa) em comparação com o controle 2. Letras sobscritas iguais indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos de acordo com o Teste de Tukey ( $p < 0.05$ ). Percentual do efeito larvicida em comparação com o controle 2 está expresso sobre cada barra

#### 3.4. Perfil fitoquímico da fração mais ativa

Diante do potencial promissor da amostra D5 (CL<sub>50</sub>: 1,82ppm) inibindo larvas de *A. aegypti* em concentrações semelhantes a larvicidas sintéticos conhecidos, como por exemplo, o organofosforado temefós (1 ppm) e, considerando que seu rendimento foi superior ao de outras frações ativas, esta amostra foi selecionada para continuação da investigação fitoquímica por CG-EM (ver Material Suplementar), onde foi identificado a presença

de cardenólidos, confirmados pela reação de Baljet. Além da fração D5, o teste de Baljet também foi realizado para avaliação de outras frações (H4- ativa e H2- inativa), além do branco. Os resultados encontram-se na Figura 8 e confirmam a presença do anel lactônico pentagonal insaturado, característico dos heterosídeos cardiotônicos nas frações mais ativas de *M. moricandiana*, através do aparecimento da coloração alaranjada<sup>18</sup>.

Dentre as substâncias com atividade larvicida descritas na literatura, há forte presença de algumas classes de

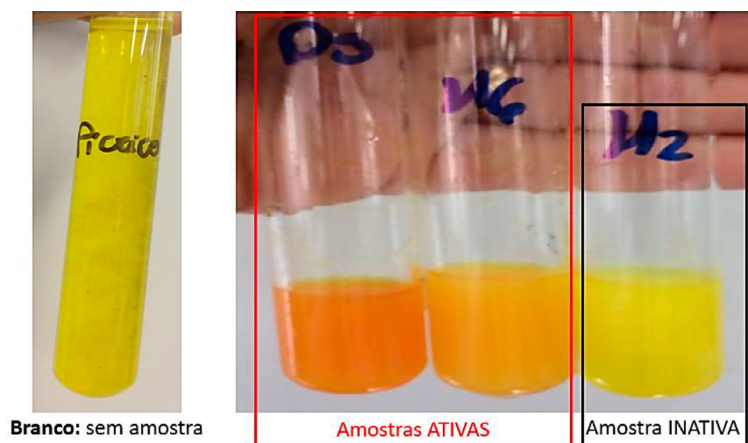


Figura 8. Reação de Baljet em frações de *M. moricandiana*

metabólitos secundários, com diferentes estruturas, tais como quinonas, amidas, limonoides, estilbenos, cumarinas e sesquiterpenos, sendo a classe das quinonas a que possui o maior número de compostos bioativos. Destaca-se também os baixos valores de  $CL_{50}$  observados para as classes das amidas, lactonas, flavonoides e rotenoides, o que caracteriza maior atividade larvicida<sup>19</sup>. Enquanto para esteroides do tipo cardenolido, presente nas amostras mais ativas de *M. moricandiana*, não há relatos de atividade contra às larvas de *A. aegypti*.

Dessa forma, considerando o levantamento realizado na Tabela 1 assim como os resultados apresentados no presente artigo, os quais evidenciam um potencial larvicida significativo da espécie vegetal *Mandevilla moricandiana* quando comparado com a literatura, é possível relacionar uma possível participação dos metabólitos secundários da classe dos cardenolidos em potencializar a atividade larvicida na espécie vegetal em questão.

#### 4. Conclusão

O presente trabalho evidencia um potencial larvicida significativo da espécie vegetal *Mandevilla moricandiana* frente às larvas do mosquito *Aedes aegypti*, descrito pela primeira vez para esta espécie vegetal. Além disso, é possível correlacionar o biofracionamento com o aumento da atividade biológica para as partições mais apolares, as quais apresentam percentuais de inibição em concentrações inferiores a outras espécies vegetais já descritas na literatura e próximas a de inibidores comumente utilizados, como temefós a 1 ppm<sup>20</sup>.

No aspecto fitoquímico, foram evidenciados metabólitos secundários da classe de esteróides, os quais possuem atividade larvicida descrita na literatura<sup>8</sup>; ácidos graxos e cardenolidos, sendo esta última classe inédita para a espécie vegetal em estudo e presente em suas frações mais ativas, podendo, dessa forma, ter relação com sua atividade larvicida.

Portanto, esses resultados favorecem o prosseguimento dos estudos desta espécie vegetal nativa da flora brasileira,

para que seja possível confirmar a relação da presença dos cardenolidos com a potencialização da atividade larvicida de *Mandevilla moricandiana*, assim como determinar a elucidação estrutural dessas moléculas através de outras técnicas espectroscópicas e espectrométricas.

#### Referências Bibliográficas

1. Instituto Oswaldo Cruz. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/longatraje.html>>. Acesso em: 10 dezembro 2020.
2. Zara, A. L. S. A.; dos Santos, S. M.; Oliveira, E. S. F.; Carvalho, R. G.; Coelho, G. E.; Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviço de Saúde* **2016**, *25*, 391. [CrossRef] [PubMed]
3. McGregor, B. L.; Connelly, C. R.; A Review of the Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Continental United States. *Journal of Medical Entomology* **2021**, *1*, 10. [CrossRef] [PubMed]
4. Lima, E. P.; Paiva M. H. S.; de Araújo, A. P.; da Silva, E. V. G.; da Silva, U. M.; de Oliveira, L. N.; Santana, A. E. G.; Barbosa, C. N.; Neto, C. C. P.; Goulart, M. O. F.; Wilding, C. S.; Ayres, C. F. J.; Santos, M. A. V. M.; Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasit Vectors* **2011**, *4*, 1. [CrossRef] [PubMed]
5. de Sá, E. L. R.; Rodvalho, C. M.; de Sousa, N. L. R.; Bellinato, D. F.; Dias, L. S.; da Silva, L. C.; Martins, A. J.; Lima, J. B. P.; Avaliação da resistência a inseticidas em populações de *Aedes aegypti* interligadas por estradas e rios: o caso do estado do Tocantins no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2019**, *114*, 1678. [CrossRef] [PubMed]
6. Simas, N. K.; Lima, E. C.; Conceição, S. R.; Kuster, R. M.; Filho, A. M. O.; Lage, C. L. S.; Produtos Naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (Óleo vermelho) e de terpenoides e fenilpropanoides. *Química Nova* **2004**, *27*, 46. [CrossRef]
7. Santos, S. R. L.; Silva V. B.; Melo, M. A.; Barbosa, J. D. F.; Santos R. L. C.; de Sousa, D. P.; Cavalcanti, S. C. H.; Toxic effects on and structure-toxicity relationships of phenylpropanoids, terpenes and related compounds in *Aedes aegypti* larvae. *Vectorborne and Zoonotic Diseases*, **2010**, *10*, 1049. [CrossRef] [PubMed]

8. Spindola, K. C. V. W.; Simas, N. K.; dos Santos, C. E.; da Silva, A. G.; Romão, W.; Vanini, G.; da Silva, S. R. C.; Borges, G. R.; de Souza, F. G.; Kuster, R. M.; *Dendranthema grandiflorum*, a hybrid ornamental plant, is a source of larvicidal compounds against *Aedes aegypti* larvae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2016**, *26*, 342. [CrossRef]
9. Bhadane B. S.; Patil, M. P.; Maheshwari, V. L.; Patil, R. H.; Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: A review. *Phytotherapy Research* **2018**, *32*, 1181. [CrossRef] [PubMed]
10. Koch, I.; Rapini, A.; Simões, A. O.; Kinoshita, L. S.; Spina, A. P.; Castello, A. C. D., *Apocynaceae*. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB4667>>. Acesso em: 9 janeiro 2021.
11. Cordeiro, S. Z.; Simas, N. K.; Arruda, R. C. O.; Sato, A.; Composition of epicuticular wax layer of two species of *Mandevilla* (Apocynoideae, Apocynaceae) from Rio de Janeiro, Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology* **2011**, *39*, 198. [CrossRef]
12. Ferreira, L.L.; Gomes, M. V.; Paes, B. M.; do Carmo, P. L.; Konno, T. U. P.; Esteves, F. A.; Lopes, N. P.; Tomaz, J. C.; Leal, I. C. R.; Guimarães, D. O.; Muzitano, M. F.; Raimundo, J. M.; The Hydroalcoholic Extract of Leaves of *Mandevilla moricandiana* induces NO-Mediated Vascular Relaxation. *Planta Médica* **2017**, *83*, 63. [CrossRef] [PubMed]
13. World Health Organization; Insective Resistance and Vector Control. *World Health Organization Technical Reports Series* **1970**, *443*, 47. [Link]
14. Hellmut J.; Werner F.; Walter F.; Hans W.; *Thin-Layer Chromatography Reagents and Detection Methods*, 1a. vol.; Weinheira: Berlim, 1990.
15. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Disponível em: <[http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/drogas\\_cardioativas.html](http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/drogas_cardioativas.html)>. Acesso em: 10 janeiro 2021.
16. Coelho, A. A. M.; De Paula, J.; Espindola, L. S. Atividade larvicida de extratos vegetais sobre *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório. *Bioassay* **2009**, *4*, 1. [CrossRef]
17. Wagner H.; Blatt S.; *Plant Drug Analysis*, 2nd ed.; Springer publishing: Berlim, 1996.
18. Bhat S. V.; Nagasampagi B. A.; Meenakshi A.; *Chemistry of Natural Product*, Springer publishing: New York, 2013.
19. Garcez, W. S.; Garcez, F. R.; Silva, L. M. G. E.; Sarmiento, U. C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra o *Aedes aegypti*. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 363. [CrossRef]
20. Lima, E. P.; Filho, A. M. O.; Lima, J. W. O.; Júnior, A. N. R.; Cavalcanti, L. P. G.; Pontes, R. J. S.; Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em Municípios do Estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **2006**, *3*, 1678. [CrossRef]