



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS URUTAÍ
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



Werley de Souza Silva

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO LAPACHOL CONTRA O CARRAPATO BOVINO (*Rhipicephalus boophilus*)



Urutaí – GO

Maio/2022

WERLEY DE SOUZA SILVA

Trabalho de Curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Miquéias Ferreira Gomes

Coorientadora: Profa. Dra. Carla Cristina Braz Louly

Urutaí – GO

Maio/2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

S586a Silva, Werley de Souza
Avaliação da atividade carrapaticida do lapachol
contra o carrapato bovino (*Rhipicephalus boophilus*)
/ Werley de Souza Silva; orientador Miquéias
Ferreira Gomes; co-orientadora Carla Cristina Braz
Louly. -- Urutaí, 2022.

30 p.

TCC (Graduação em Licenciatura em Química) --
Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2022.

1. Lapachol. 2. Carrapato bovino. 3. Ipê roxo. 4.
Produtos naturais. I. Gomes, Miquéias Ferreira,
orient. II. Louly, Carla Cristina Braz, co-orient.
III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:
Werley de Souza Silva
Título do trabalho:

Matrícula:
2018101221510077

Avaliação da atividade carrapaticida do Iapachol contra o carrapato bovino (*Rhipicephalus boophilus*)

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 22 / 06 / 2022

- O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

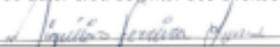
Urutai

22 / 06 / 2022



Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)

**Avaliação da atividade carrapaticida do Lapachol contra o
carrapato bovino (*Rhipicephalus Boophilus*)**

Werley de Souza Silva

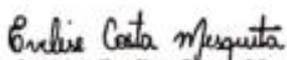
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Licenciado em Química.

Defendido e aprovado em 03/06/2022.

Banca Examinadora


Prof. Dr. Miquelias Ferreira Gomes (IF Goiano/Urutaí)

Presidente da Banca


Profa. Me. Evelise Costa Mesquita

Examinadora


Profa. Me. Yasmim Rafaella Caixeta Pinto Bernardes

Examinadora

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por sempre me dar forças para superar os desafios e dificuldades que me deparo no dia-a-dia.

À minha mãe que sempre acreditou em mim e confiou em meu potencial, me dando suporte dia após dia, pois sem ela nada disso seria realizado.

À minha noiva que foi a pessoa que caminhou lado á lado comigo durante essa jornada, sempre me incentivando e me motivando, não medindo esforços para superarmos todas as dificuldades juntos.

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí pela oportunidade de estudo e formação profissional, além da participação em programas de pesquisa, ensino e extensão.

Ao corpo docente do curso de Licenciatura em Química, responsável pela minha formação, onde o mesmo possui uma excelente capacitação profissional e humana. Sou grato pela oportunidade de tê-los como meus professores.

À todos e todas, que de forma direta ou indiretamente contribuíram para minha formação profissional e evolução pessoal.

E finalizando, gostaria de agradecer a mim, por sempre acreditar na minha capacidade, superando meus limites e seguindo firme e forte a cada dia, sempre fazendo meu melhor dentro das minhas condições!!

RESUMO

O *Rhipicephalus (boophilus) microplus* conhecido popularmente como carrapato bovino, é um grande problema da pecuária brasileira, acarretando diversos prejuízos econômicos nesse ramo. Existem algumas maneiras de combate, como por exemplo, a rotação de pasto, a aplicação de acaricidas por contato, vacinas, tratamento com homeopatas. Entretanto, essas estratégias possuem algumas desvantagens, tais como alto custo, necessidade de um profissional específico, e a eficácia do produto. Dessa maneira, a pesquisa por novas maneiras de controlar o carrapato-do-boi é de extrema importância, visto que, os principais meios de combate não são tão eficazes ou agridem os animais ou até mesmo o ambiente em que se encontram, já que possuem em sua composição princípios ativos que podem ser ofensivos quando aplicados de maneira inadequada. Com base nesse problema, as moléculas de origem natural e óleos essenciais têm ganhado destaque em pesquisas, pois, encontrar uma molécula de origem natural que tenha atividade acaricida e que possa combater o carrapato sem efeitos colaterais no animal e no meio ambiente, é de suma importância para o ecossistema. No presente trabalho realizamos ensaios utilizando o lapachol, que é um naftoquinona, encontrado em algumas plantas da família do Ipê. A metodologia utilizada, utilizou essa substância como possível carrapaticida em larvas do carrapato bovino. Após extrairmos o lapachol da serragem do cerne do ipê roxo, foram realizados testes com as concentrações de 1, 20, 40, 60, 80, 100, 250, 500, 1000, 10000, 100000 ppm, e as leituras eram feitas em 24, 48, e 72 horas. Os resultados indicaram variações entre a mortalidade das larvas nas concentrações utilizadas. Além disso, é interessante ressaltar que a presença do grupo controle, otimizações nos métodos utilizados, como variações entre as concentrações e a utilização de análogos do lapachol podem proporcionar resultados diferentes.

Palavras-chave: carrapato bovino, ipê roxo, lapachol, produtos naturais, *Rhipicephalus (boophilus) microplus*.

ABSTRACT

Rhipicephalus (boophilus) microplus, popularly known as the bovine tick, is a major problem in Brazilian livestock farming, causing several economic losses in this branch. There are some ways to combat it, such as, for example, rotation of pasture, application of acaricides by contact, vaccines, treatment with homeopaths. However, these strategies have some disadvantages, such as high cost, the need for a specific professional, and the effectiveness of the product. Thus, the search for new ways to control the cattle tick is extremely important, since the main means of combat are not as effective or harm the animals or even the environment where they are, since they have in their composition active ingredients that can be offensive when applied inappropriately. Based on this problem, the molecules of natural origin and essential oils have gained prominence in research, because finding a molecule of natural origin that has acaricidal activity and can combat the tick without side effects on the animal and the environment, is of paramount importance for the ecosystem. In the present work we conducted tests using lapachol, which is a naphthoquinone found in some plants of the Ipê family. The methodology used this substance as a possible tick killer on bovine tick larvae. After extracting lapachol from purple ipê heartwood sawdust, tests were performed with concentrations of 1, 20, 40, 60, 80, 100, 250, 500, 1000, 10000, and 100000 ppm, and readings were taken in 24, 48, and 72 hours. The results indicated variations between the mortality of the larvae at the concentrations used. Furthermore, it is interesting to note that the presence of the control group, optimizations in the methods used, such as variations between concentrations, and the use of lapachol analogues may provide different results.

Keywords: bovine tick, purple ipe, lapachol, natural products, *Rhipicephalus (boophilus) microplus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida do carrapato bovino	2
Figura 2. Principais princípios ativos presentes em carrapaticidas comerciais (Cipermetrina e Fipronil) construídos no software Molview.	4
Figura 3. Fórmulas estruturais da Naftoquinona (A), Lapachol (B), β -lapachona (C) e Hidroxi-hidrolapachol (D) construídos no software Molview.	6
Figura 4. Cronograma da metodologia utilizada.	8
Figura 5. Fases da obtenção do cerne do ipê e processamento do mesmo.	10
Figura 6. Registros das fases da extração do lapachol.	11
Figura 7. Larvas armazenadas em seringa de 50mL	13
Figura 8. Teleóginas juntamente com seus ovos, e larvas já separadas/rotuladas para o ensaio.	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Percentuais de mortalidade de larvas de <i>Rhipicephalus boophilus</i> , no teste de imersão utilizando lapachol em diferentes concentrações.	15
Tabela 2. Mortalidade de alguns princípios ativos utilizados em carrapaticidas comerciais.	18

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Carrapato Bovino	2
2.2 Carrapaticidas ou acaricidas	3
2.3 Lapachol	5
3. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3.1 Obtenção do Cerne do Ipê	9
3.2 Extração do lapachol	9
3.3 Obtenção e Armazenamento das Larvas	9
3.4 Teste de Imersão de Larvas	9
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1 Obtenção do cerne do ipê	10
4.2 Extração do lapachol	11
4.3 Obtenção e Armazenamento das Larvas	12
4.4 Teste de Imersão de Larvas	14
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
6. REFERÊNCIAS.....	19

1. INTRODUÇÃO

O carrapato bovino (*Rhipicephalus boophilus*), é um ectoparasita hematófago¹ que causa importantes perdas econômicas e produtivas na bovinocultura extensiva (CAMPOS, *et al.*, 2012). O bovino contrai esse parasita, a partir de pastagens contaminadas com larvas do carrapato que após, subir no animal se desenvolve, acasala e reinicia o ciclo (BRITO *et al.*, 2010). A fêmea da espécie chega à ingerir de 2,0 mL a 3,0mL de sangue em sua fase adulta, e isso pode representar uma perda de até 1,0 g de seu peso e uma redução de até 8,9 mL na produção de leite, além de poder contrair a tristeza parasitária bovina (CARVALHO, BORALLI e PICCININ, 2008).

Atualmente existem várias estratégias, utilizadas para conter esse ectoparasita, dentre elas o desenvolvimento de vacinas e medicamentos como homeopatas, pastejo rotacionado e cruzamento de raças bovinas que possuem uma certa resistência ao parasita (CUNHA *et al.*, 2019). Nesse contexto, é importante destacar estudos para o controle do carrapato utilizando produtos naturais, tais que visam solucionar o problema com o mínimo de efeitos colaterais (GONÇALVES, HUERTA e FRETAG, 2016).

Dessa forma, podemos citar o lapachol, uma molécula natural promissora, possui diversos potenciais bioativos. Segundo Silva (2018), o lapachol e seus derivados possuem atividade antifúngica em alguns fungos. Em outros trabalhos temos relatos de atividades farmacológicas, biológicas, antileishmanial² a partir do lapachol e seus derivados. Assim, é de suma importância o estudo dessas moléculas mais a fundo, já que podem ter capacidade para solucionar problemáticas patológicas com técnicas inofensivas.

Desse modo, o objetivo desse trabalho é avaliar o potencial carrapaticida do lapachol em combate ao carrapato bovino (*Rhipicephalus boophilus*), por meio de ensaios laboratoriais realizados no Laboratório de Orgânica e Eletroanalítica (LOE) em parceria com Laboratório de Parasitologia do curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, visando sua capacidade no controle do parasita que prejudica a pecuária bovina.

¹ Animais que se alimentam de sangue.

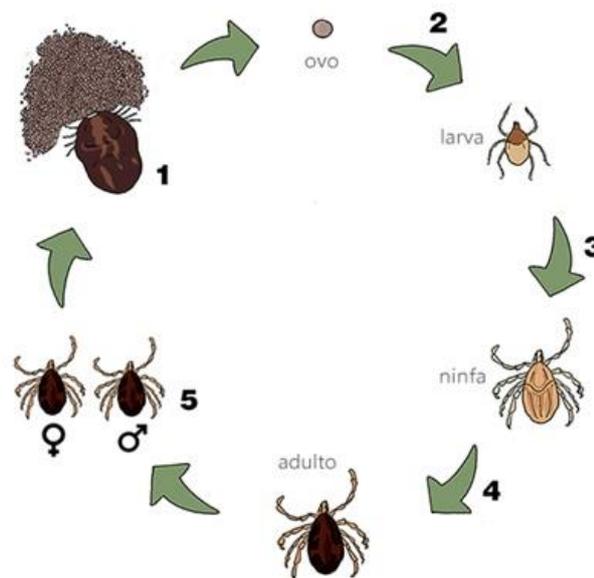
² Propriedade que cura ou trata a leishmaniose.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Carrapato Bovino

O carrapato bovino, o *Rhipicephalus boophilus*, é um parasita hematófago encontrado em diversas partes do mundo. No Brasil é comum em quase todas as regiões, principalmente em localidades de clima tropical e subtropical. Sua anatomia proporciona uma certa resistência, possuindo camadas que o protegem de possíveis eventos e garantem sua permanência no hospedeiro, pois uma vez que o parasita consegue se alocar no animal é pouco provável que o mesmo se retire, apenas para ovipor (TURETA, et al. 2020).

Figura 1. Ciclo de vida do carrapato bovino



Fonte: Google

O ciclo do carrapato-de-boi é bem simples, mas existe uma certa dificuldade em combatê-lo. O ciclo se inicia no solo onde a fêmea realiza a oviposição que pode chegar a 2000 ovos e, após eclodirem as larvas vão em busca do hospedeiro utilizando um “sensor” no par de patas dianteiro. Dessa forma, as larvas se aglomeram no capim em locais que o hospedeiro passa ou fica com frequência, para que quando ocorrer o contato das larvas com o animal elas conseguem se alocar no mesmo. Em seguida, as larvas se desenvolvem para ninfa e logo depois para fase adulta, onde se acasalam, e para fechar o ciclo, a fêmea adulta desce do animal para ovipor no solo (GARCIA, et al. 2019).

Os prejuízos causados pelo carrapato bovino são grandes, os danos são econômicos e também à saúde do animal, pois uma fêmea adulta pode sugar até 3,0 mL de sangue em sua fase adulta em um único parasita. E em grandes infestações o animal pode sofrer com perda de muito sangue, causando anemia, infecções, perda de peso e ausência de fome, além de problemas econômicos como a redução na produção de leite, carne e couro (TURETA, et al. 2020).

Outro problema causado pelo parasita em questão é a Tristeza Parasitária Bovina (TPB). A TPB é um agrupamento de doenças parasitárias na qual carrapato bovino está inserido, e os principais sintomas dessa enfermidade é aparente tristeza que o animal fica, como também os diversos danos em relação à produção pecuária que ela causa, onde os prejuízos na produção bovina no Brasil podem superar mais de 3 milhões de dólares (SILVA, et al. 2021).

Diversas estratégias são utilizadas para combater o problema em questão, o mais comum são os carrapaticidas por contato, contendo cipermetrina, fipronil, dentre outros compostos, além das vacinas e tratamento com homeopatia³ (FILHO, GOÇALVES e MARINO, 2017).

O manejo de pastagens ou pastagens rotacionadas, aliado com outro método pode ser interessante, onde o ambiente de pastagem é dividido e os animais ficam uma quantidade estabelecida de dias em cada uma das divisões. Essa distribuição diminui a quantidade de controle químico usado, necessariamente polui menos o ambiente e os carrapatos são eliminados por ficarem muito tempo sem ter contato com o hospedeiro e assim não conseguem completar seu ciclo de vida (CARNEIRO et al., 2015).

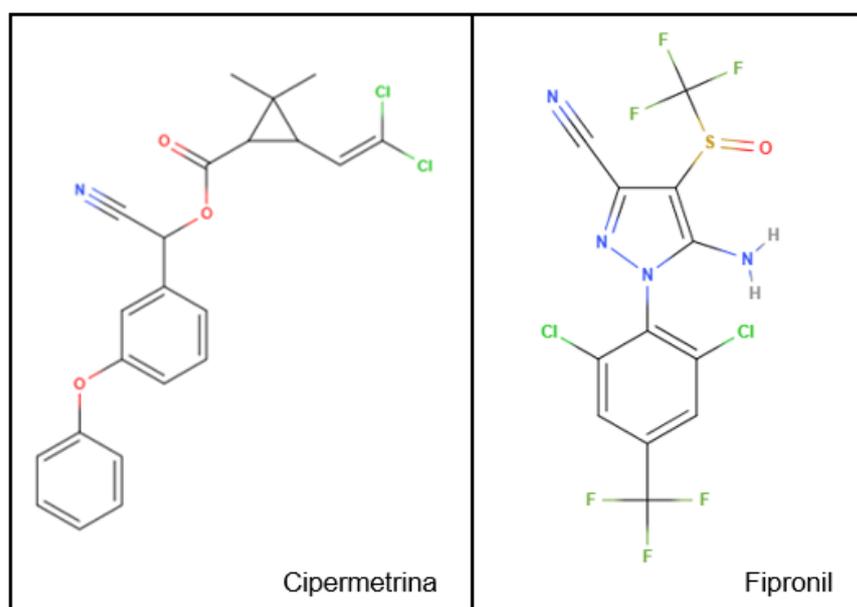
2.2 Carrapaticidas ou acaricidas

Carrapaticidas são agentes que atuam no controle de carrapatos, agindo no organismo do carrapato fazendo com que o parasita seja eliminado, a maioria dos produtos afeta o sistema nervoso do ácaro. Dessa maneira, existem diversos tipos de controle ao carrapato e os mais comuns são os carrapaticidas por contato (ou controle químico) e os carrapaticidas sistêmicos (FURLONG e PRATA, 2006).

³ Terapia quando aplicada aos bovinos aumenta a imunidade, deixando-o mais saudável.

Os carrapaticidas por contato ou controle químico como é popularmente chamado, é necessário que o produto entre em contato com os carrapatos para cumprir seu objetivo. Dessa forma, diversos princípios ativos são utilizados nesse tipo de carrapaticida, como: organofosforados, amidinas, piretroides, fipronil, dentre outros. Além disso, há um grande leque de possibilidades quando se trata de carrapaticidas por contato (FILHO, GOÇALVES e MARINO, 2017).

Figura 2. Principais princípios ativos presentes em carrapaticidas comerciais (Cipermetrina e Fipronil) construídos no software Molview.



Fonte: Autor

Entretanto, esse tipo de controle necessita de atenção, e é de suma importância fazer a escolha com a orientação de um profissional, pois a má aplicação gera uma resistência nos carrapatos, obrigando aumentar a dose do produto ou a frequência de aplicação, e isso, pode não ser interessante para o animal. Dependendo do produto utilizado, a matéria residual fica no animal por um determinado tempo, e agregando à aplicação imprudente, pode trazer grandes riscos de intoxicação (FILHO, GOÇALVES e MARINO, 2017).

As vacinas também são um método bastante utilizado no combate ao carrapato. Em sua composição são algumas proteínas que fazem com que os parasitas não completem seu ciclo de vida, e os que conseguem tem sua fertilidade prejudicada, fazendo com que a quantidade de parasitas no animal seja desprezível,

mas a baixa efetividade em larga escala à deixa inviável, por conta do alto custo e outros fatores (SIQUEIRA, BLECHA e CARDOSO, 2018).

O controle do *Rhipicephalus boophilus* através da homeopatia está sendo cada vez mais comum, diminuindo a quantidade do controle químico utilizado, reduzindo significativamente a quantidade de teleóginas⁴ presentes no animal e impedindo o ciclo de continuar. A homeopatia ainda pode agregar no ganho de peso do animal, seu bem estar, melhorando sua qualidade de vida, diminuindo o estress e diminuindo seu tempo de cura em certas ocasiões (PAIXÃO, 2018).

Atualmente outro tipo de controle que vem ganhando destaque é o controle biológico, a utilização de fungos no combate tem sido um método promissor, onde o fungo atua como inimigo biológico do parasita em questão, os fungos utilizados são os artropodopatogênicos⁵ (TURETA, et al. 2020).

Outra estratégia que vem ganhando visibilidade é o uso de extratos/óleos naturais no combate ao carrapato. Esses materiais são extraídos de plantas e possuem princípios ativos que podem ser cruciais para conter o carrapato. Suas vantagens são a não poluição do ambiente, ser mais seguros para realizar a aplicação, além de conter o carrapato e aumentar a vida útil dos controles químicos (PAIXÃO, 2018).

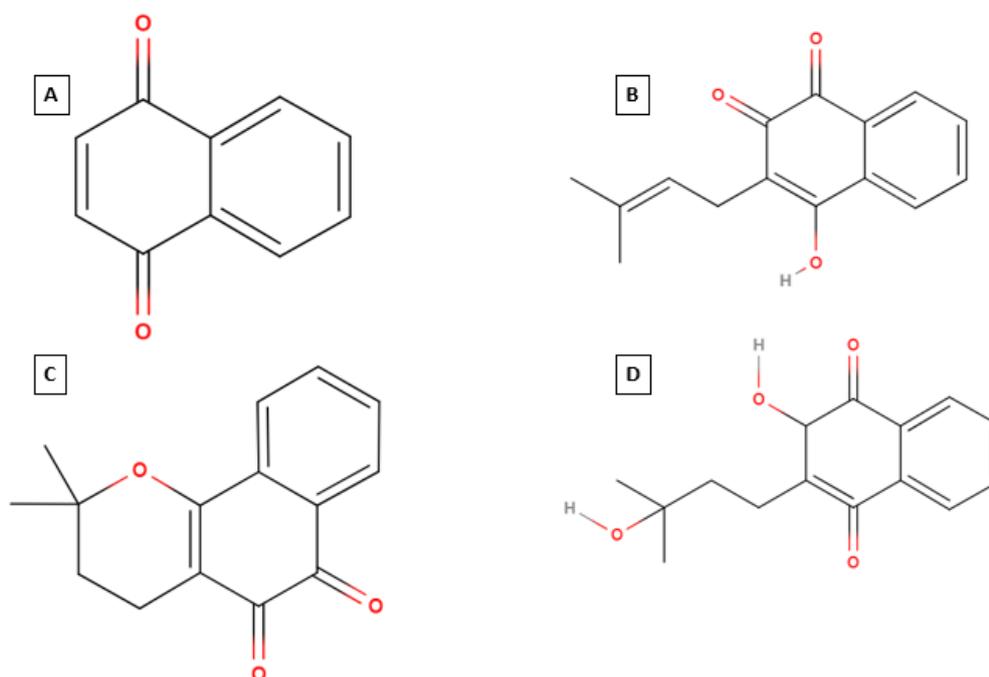
2.3 Lapachol

O lapachol é considerado uma naftoquinona e pode ser extraído de várias plantas, com destaque para plantas da família Ipê (*Bigmoniaceas*). As naftoquinonas são metabólicos secundários produzidos por seres vivos, como fungos, algas, plantas e animais, que apresentam diversas atividades biológicas, tais como antimicrobiana, antifúngica, antibacteriana, anticancerígena, antilamalárica, dentre outras (ARAÚJO et al., 2002).

⁴ Fêmeas adultas do carrapato bovino.

⁵ São fungos responsáveis pelas doenças causadas em insetos.

Figura 3. Fórmulas estruturais da Naftoquinona (A), Lapachol (B), β -lapachona (C) e Hidroxi-hidrolapachol (D) construídos no software Molview.



Fonte: Autor

Segundo o estudo de De Santis e colaboradores (2009), o lapachol em combinação com algumas proteínas específicas contidas em veneno de cobra podem apresentar atividade antiinflamatória,

O lapachol e alguns de seus derivados possuem atividade esquistossomicida⁶. Dessa forma, tais moléculas são promissoras para conter essa infecção parasitária, que na maioria das vezes é contraída por algumas espécies de caramujos contaminados com o verme transmissor (COSTA, 2018).

Em seu estudo de revisão, Fonseca e colaboradores (2003), compararam a atividade bactericida e fungicida do lapachol e β -lapachona, após realizar os experimentos, chegaram na conclusão que a β -lapachona tem mais potencial antimicrobiana, mas ambos atingiram a taxa inibitória mínima, dessa forma, na

⁶ Atividade que combate a doença parasitária esquistossomose.

pesquisa em questão os fungos foram mais vulneráveis que as bactérias, ou seja, as moléculas estudadas tiveram uma eficácia maior contra os fungos

No estudo de Fernandes e colaboradores (2017), realizaram ensaios utilizando a β -lapachona e outros derivados, em combate à algumas bactérias. A β -lapachona demonstrou um certo potencial antimicrobiano, assim, estimulando mais estudos utilizando as moléculas citadas, devido seu potencial em questão.

Já no estudo de Souza e colaboradores (2008a), demonstraram que o lapachol e seus derivados apresentam atividade antifúngica. As substâncias foram testadas em sementes em processo de germinação, onde em cada semente foi aplicada uma substância. Todas as substâncias inibiram fungos, mas o lapachol se mostrou com melhores características agrônômicas, pois não altera o percentual de germinação das sementes e inibi o crescimento fúngico.

Novamente no estudo de Fonseca e colaboradores (2003), é possível destacar o teste antiulcerogênica⁷, onde ratos foram usados como cobaias, usando lapachol como tratamento da úlcera por 3 dias. Nesse estudo, foi notado uma redução de mais de 50% e o lapachol não afetou nenhuma outra parte estomacal das cobaias.

Araújo e colaboradores (2019), realizaram testes com o lapachol experimentando atividade antileishmanial, tanto a visceral como a tegumentar. O lapachol mostrou uma certa eficácia contra os agentes causadores da leishmaniose, onde a molécula estudada reduziu significativamente as lesões parasitárias na pele, fígado e baço dos camundongos utilizados.

Estrada e colaboradores (2012), desenvolveram um estudo sobre o extrato de tronco da casca da *Tabebuia*, para demonstrar a atividade antimalárica dos componentes bioativos presentes, dentre eles o lapachol. Dessa forma, os autores chegaram no resultado que esses compostos presentes no extrato apresentam efeito antiplamodial⁸.

Ahmad e colaboradores (2020), realizaram ensaios para testar a atividade cicatrizante de dois derivados do lapachol, a α -lapachona e β -lapachona, onde concluíram que ambos têm uma certa eficácia em cicatrização de feridas cutâneas e regeneração da pele. Apesar das duas moléculas apresentarem atividade

⁷ Termo utilizado para caracterizar substâncias que podem tratar ulcerações.

⁸ Atividade contra o vírus da malária.

cicatrizante, as condições são bem diferentes, a α se mostra eficaz em quase todas as concentrações utilizadas, já a β se mostra eficiente em baixas concentrações.

A partir das pesquisas mencionadas é perceptível que o lapachol é utilizado em diversas linhas de pesquisas diferentes, tendo bons resultados e podendo ser muito promissor em algumas delas, sendo assim, não foi encontrado trabalhos que envolvem lapachol e/ou seus derivados em combate à qualquer espécie de carrapatos, em específico o carrapato bovino.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa realizada é do tipo pesquisa de laboratório, pois criou um ambiente controlado para reproduzir um fenômeno e avaliar o objetivo. Dessa maneira, a sequência metodológica seguiu o fluxograma apresentado a seguir.

Figura 4. Cronograma da metodologia utilizada.



Fonte: Autor

3.1 Obtenção do Cerne do Ipê

A obtenção do cerne do ipê se dá pela coleta da madeira do ipê, já que segundo a literatura, o ipê roxo proporciona um maior rendimento na extração, e é escolhido o cerne pois é a região que tem a maior quantidade de lapachol (BARBOSA & NETO, 2013; FONSECA, 2003). Dessa forma, após coletar o tronco, com a utilização de um motosserra foi retirado a parte externa da madeira deixando apenas o cerne, em seguida, para obtenção da serragem como produto final, o cerne foi processado em um triturador.

3.2 Extração do lapachol

A extração do lapachol foi realizada com base na metodologia proposta por FERREIRA, (1996). Foram colocados aproximadamente 30 g de serragem em erlenmeyer, em seguida, foi adicionado uma solução 1% de carbonato de sódio Na_2CO_3 , até completar a marca de 250 mL. Essa mistura foi colocada em agitação numa mesa agitadora durante período 5 horas. Após esse período, a solução foi filtrada em gaze. Ao filtrado foi adicionado lentamente uma solução de HCl 6 mol L^{-1} até que a solução de cor avermelhada se tornasse amarelada com formação de precipitado, que é o lapachol. O lapachol foi recolhido por filtração e seco. Após isso, foi diluído em diclorometano, filtrado novamente, e recristalizado a temperatura ambiente. Por fim, calculou-se o rendimento da extração.

3.3 Obtenção e Armazenamento das Larvas

Para processo de obtenção das larvas é necessário realizar a coleta de teleóginas (fêmeas adultas), essa coleta foi realizada em bovinos com o parasita. Em seguida as teleóginas foram inseridas em uma estufa em temperatura de 27 °C e 80% URA (Umidade Relativa do Ar). Após esse período esperou que as mesmas oviporem, considerando que cada fêmea ovipõe mais de 2000 ovos. Dessa maneira, após esse processo é necessário aguardar 15 dias em média para os ovos eclodirem e após a eclosão, as larvas já estão aptas para os ensaios.

3.4 Teste de Imersão de Larvas

Segundo a metodologia de SOUZA et al., (2008b) essa análise consiste em coletar teleóginas de bovinos e obter os ovos a partir das mesmas, em seguida,

esperar os ovos eclodirem. Para isso é necessário colocá-los em uma seringa de 10 mL e deixados em uma estufa em temperatura controlada até a eclosão (cerca de 10 a 15 dias). Em seguida, é pesado cerca de 10 mg de larvas do ácaro, onde são colocadas em seringas de 3 mL para submeter à imersão. No período de 30 segundos na diluição do composto estudado, juntamente com o grupo controle, após a imersão na solução, é retirada e as larvas são levadas novamente à estufa. A leitura é feita em 24, 48 e 72 horas após a imersão, realizada através da contagem das larvas vivas e mortas utilizando o microscópio ou até mesmo a olho nu se for possível. Dessa maneira, larvas sem movimento são consideradas mortas e larvas com movimento são consideradas vivas, assim, podendo avaliar a mortalidade da solução testada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção do cerne do ipê

Para obtenção do cerne, foi serrado uma árvore de ipê do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, onde a mesma já seria cortada de toda forma, já que iria ser realizado a poda por diversos motivos, como por exemplo, as raízes estavam quebrando a calçada. Após realizarem a poda, foi levado os troncos ao serralheiro para que a madeira fosse processada e retirou a casca para obter o cerne, o qual foi levado ao triturador para obter a serragem como produto final. Na figura 5, é apresentado a madeira do ipê já podada (A), a casca da madeira retirada parcialmente possibilitando a visualização do cerne (B) e a serragem como produto final (C).

Figura 5. Fases da obtenção do cerne do ipê e processamento do mesmo.

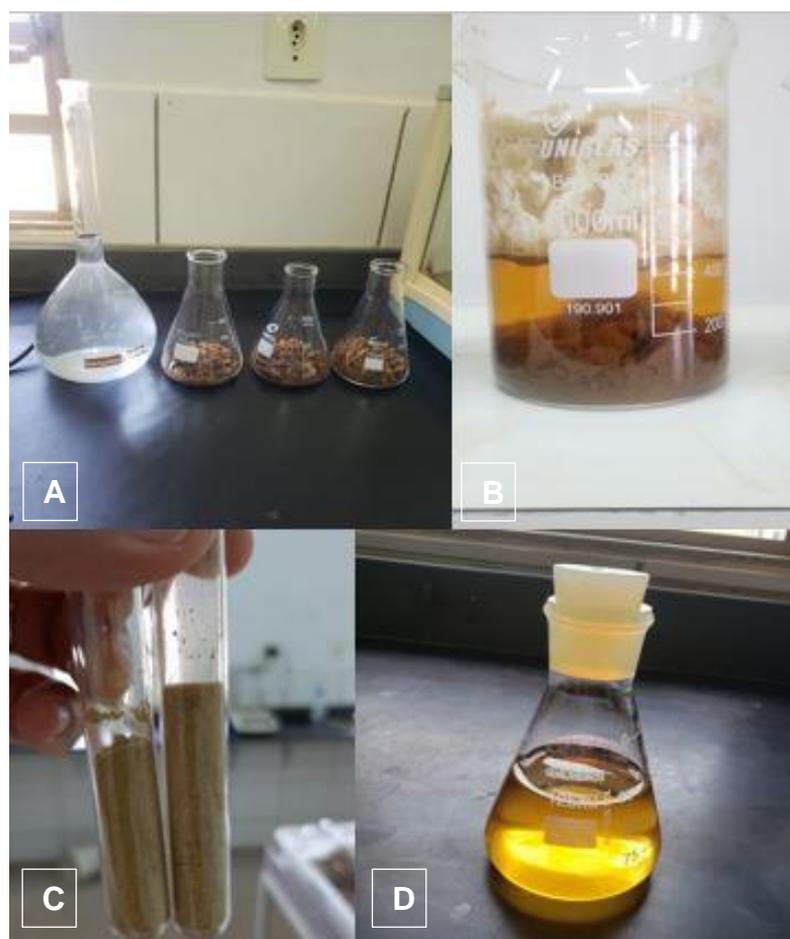


4.2 Extração do lapachol

Na extração do lapachol, pesou-se 200 g de serragem para cada Erlenmeyer, que no total foram 20 erlenmeyers, e obtendo 0,36 g, cerca de 0,72% de Lapachol. O rendimento não foi como o esperado ou como previsto na literatura que é entre 1 e 7% (dependendo da espécie de ipê, idade, região, clima e método utilizado) (Hooker, 1892). Esse resultado pode ser consequência de alguns fatores, tais como: o método utilizado, concentrações utilizadas, fatores climáticos, condições da espécie utilizada. Outro fator importante é o fato da serragem ter ficado guardada por um longo período de tempo, pois existe a possibilidade de perdas na composição química (naftoquinona, metabólito secundário esperado no lapachol) da serragem.

É interessante ressaltar que foi verificado a pureza do lapachol através do teste de ponto de fusão, alcançando próximo a 150 °C próximo ao ponto de fusão do lapachol (140 °C). Dessa maneira, pode-se afirmar que o produto obtido se encontra próximo ao desejado, mas com algumas impurezas. Logo abaixo, na Figura 6, é apresentado o Erlenmeyer com serragem do ipê e a solução de Carbonato de sódio (Na_2CO_3) (A), o lapachol precipitado em meio ácido na solução mencionada (B), o lapachol extraído já em estado sólido (C) e a solução “mãe” formada por lapachol e álcool (D).

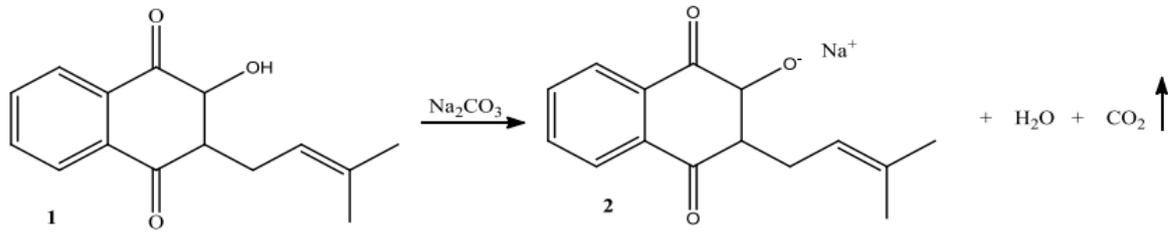
Figura 6. Registros das fases da extração do lapachol.



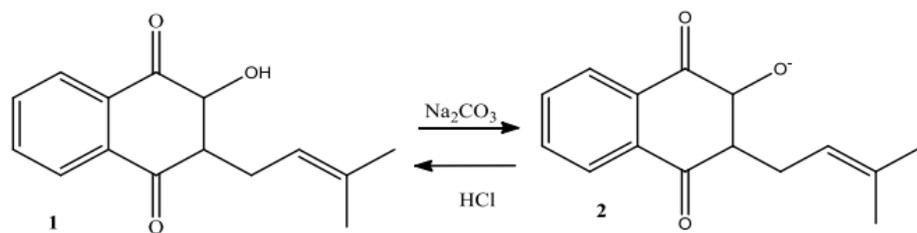
Fonte: Autor

O carbonato de sódio é um sal básico, logo, capaz de desprotonar a hidroxila do lapachol (1) originando a espécie iônica (2) que é solúvel em água e possui coloração avermelhada (Reação 1). Quando a solução extratora é acidificada pela solução de HCl, a hidroxila do lapachol é novamente protonada. O lapachol protonado é insolúvel em água e apresenta coloração amarelada (Reação 2) (SILVA, 2009).

Reação 1: Ionização do lapachol (1) em solução de carbonato de sódio.



Reação 2: Protonação e desprotonação do lapachol.



Fonte: Autor.

4.3 Obtenção e Armazenamento das Larvas

Após a coleta das teleóginas, elas foram colocadas em condições propícias para que ocorra as oviposições, o que dura mais ou menos 15 dias. Assim que todas as fêmeas depositaram seus ovos, foi necessário aguardar o mesmo período para que os ovos eclodissem, e foi observado que, os ovos também estavam em condições favoráveis para que ocorresse seu desenvolvimento. A última etapa dessa fase foi separar as larvas dos ovos e em seguida já estavam prontas para os ensaios.

Figura 7. Larvas armazenadas em seringa de 50mL



Fonte: Google

4.4 Teste de Imersão de Larvas

O teste de imersão de teleóginas ou biocarrapaticidograma, não foi realizado, devido à falta de teleóginas disponíveis para essa etapa, a quantidade necessária de carrapatos é alta, e devido a alguns fatores, como: não haviam teleóginas suficientes nos animais do instituto pois são tratados com homeopatia e nas propriedades que tínhamos acesso haviam poucas populações de carrapatos. Sendo assim, a quantidade obtida foi insuficiente.

Dessa forma, foi decidido realizar o teste de imersão em larvas, utilizando poucas teleóginas adultas. É necessário proporcionar condições para elas oviporem e depois aguardar esses ovos eclodirem. Feito isso, temos as larvas, em seguida foi realizado um estudo para decidir quais concentrações de lapachol usar, decidindo: 1, 20, 40, 60, 80, 100, 250, 500, 1000, 10000 e 100000 ppm. Parte do processo pode ser observado na imagem 3.

É importante ressaltar a presença do grupo controle na imersão, que foi o álcool etílico, o qual foi utilizado para solubilizar o lapachol sólido, dessa forma, o grupo controle é composto apenas pelo solvente escolhido, para assim, ter um parâmetro de mortalidade das concentrações utilizadas.

Logo abaixo na Figura 8, pode ser observado as teleóginas em marrom com detalhes amarelados (A), várias seringas de 5 ml com aproximadamente 10 mg de larvas e uma seringa de 10 ml que é o armazenamento das larvas (B).

Figura 8. Teleóginas juntamente com seus ovos, e larvas já separadas/rotuladas para o ensaio.



Fonte: Autor

Na Tabela 1, é mostrado a mortalidade das larvas nas variadas concentrações de lapachol diluído em etanol. É necessário destacar que o etanol não afeta as larvas no período de tempo em que dura a imersão, somente após 5 minutos.

Tabela 1. Percentuais de mortalidade de larvas de *Rhipicephalus boophilus*, no teste de imersão utilizando lapachol em diferentes concentrações.

Amostras	Concentração de Lapachol(ppm)	24 horas		48 horas		72 horas	
		Vivas	Mortalidade em %	Vivas	Mortalidade em %	Vivas	Mortalidade em %
1	controle	156	3,21	194	0,51	219	3,20
2	1	215	2,79	140	2,26	211	6,03
3	20	189	2,12	194	2,58	196	1,53
4	40	190	1,58	206	2,46	235	2,55

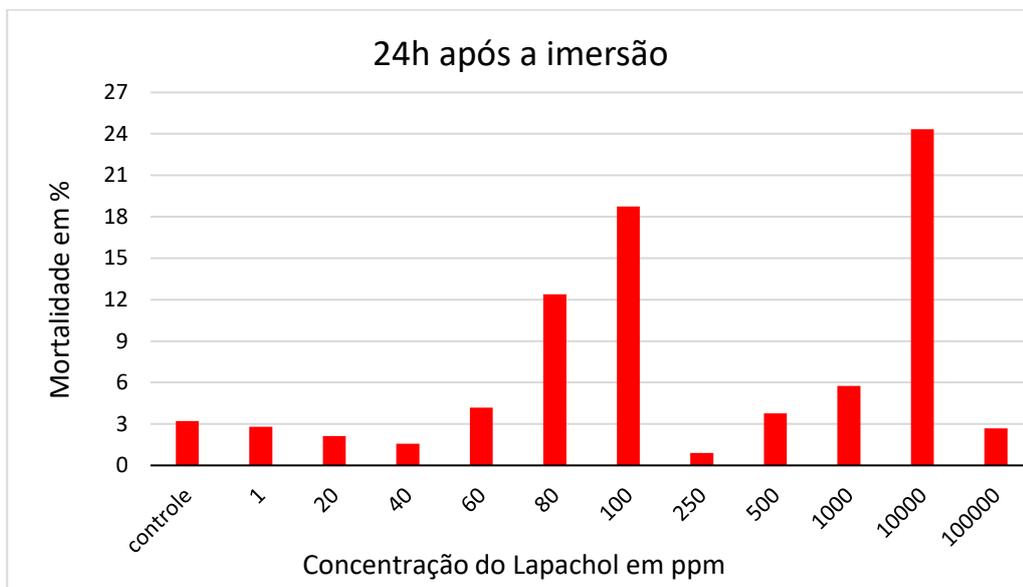
5	60	191	4,19	215	1,86	221	5,43
6	80	210	12,38	211	0,47	219	4,57
7	100	224	18,75	204	4,41	188	4,79
8	250	221	0,90	194	4,12	237	7,17
9	500	239	3,77	227	7,93	264	10,61
10	1000	229	5,76	226	2,97	277	2,46
11	10000	199	24,33	114	14,28	293	4,71
12	100000	362	2,68	279	0,71	283	1,04

Fonte: Autor.

A partir dos dados apresentados na Tabela 1, é necessário avaliar duas vertentes nos resultados obtidos. Em uma primeira, temos em 10000 ppm de lapachol, alta capacidade inibitória das larvas em 24 horas, assim como, a maior capacidade em 48 horas foi na mesma concentração e em 72 horas a maior capacidade que favoreceu maior mortalidade das larvas foi em 500 ppm. A concentração de 100000 apresenta que não são necessários concentrações maiores que as apresentadas. Na segunda vertente, menciona como referência o controle e amostra 2 que utilizou baixa concentração e apresentou resultados próximos. Essa avaliação permite partir como pressuposto para otimização em futuras análises, reduzindo custos no experimento e podendo chegar ao resultado esperado.

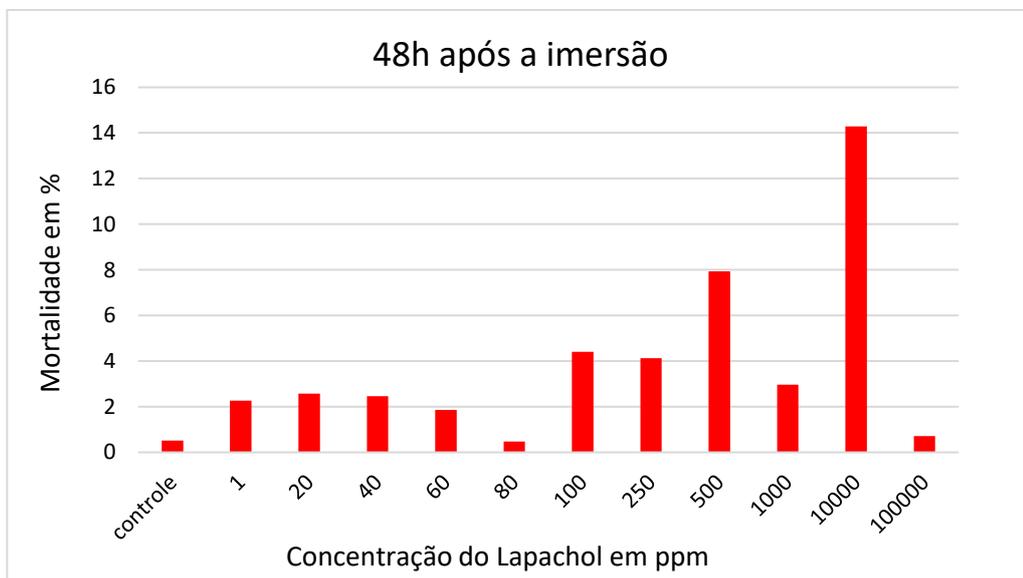
Para proporcionar uma melhor visualização da mortalidade das larvas após o teste, a seguir temos o Gráfico 1, 2 e 3, sendo o Gráfico 1 representando a mortalidade de 24 horas após a imersão, o gráfico 2 representa 48 horas após a imersão e o gráfico 3 retrata 72 horas após a imersão das larvas.

Gráfico 1. Mortalidade das larvas em 24 horas.



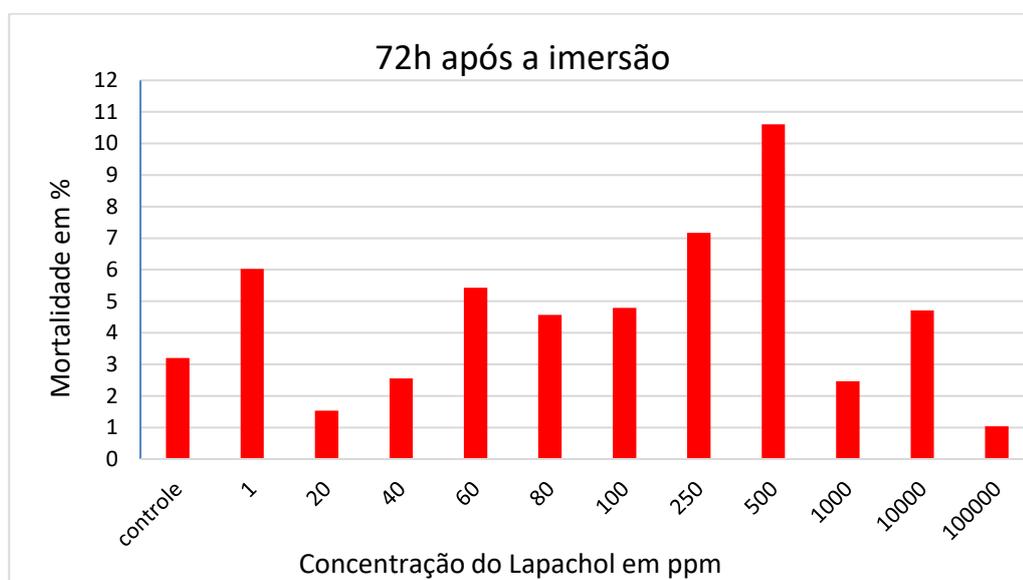
Fonte: Autor

Gráfico 2. Mortalidade das larvas em 48 horas.



Fonte: Autor

Gráfico 3. Mortalidade das larvas em 72 horas.



Fonte: Autor

Baseado nos resultados apresentados na Tabela 1 e nos gráficos acima, podemos perceber que a concentração que causou uma maior mortalidade foi a de 10000 ppm, resultado não foi satisfatório quando comparado com ativos industrializados que apresentam uma mortalidade superior, porém satisfatório pelo fato de ser uma molécula nova quando se trata de atividade carrapaticida, justamente pelas baixas concentrações utilizadas. Dessa forma, os resultados apontados pela pesquisa se mostram importantes para novos trabalhos, pois carrapaticidas por contato, para serem considerados eficientes necessitam proporcionar mais de 50% de mortalidade, segundo Neto e colaboradores (2017), carrapaticidas que contenham fipronil, cipermetrina, clorpirifós e citronelal como princípios ativos (havendo a possibilidades de serem usados isolados ou combinados) tem uma eficácia considerada ideal, ultrapassando 90% de mortalidade do carrapato.

Tabela 2. Mortalidade de alguns princípios ativos utilizados em carrapaticidas comerciais.

Princípios Ativos	Mortalidade	Referência Bibliográfica
Fipronil	±100%	FILHO et al., 2019
Cipermetrina	±86%	SILVA, SANTOS e FIGUEIREDO, 2020.
Clorpirifós + Cipermetrina	±100%	BOGO et al., 2021
Citronelal	±94%	SANTOS et al., 2015

É importante ressaltar que a falta de experiência nos ensaios faz diferença, a aprimoração nesse processo de experimentação é essencial para pesquisa, explorar concentrações diferentes também pode ser um bom passo, até pelo fato que os princípios ativos citados anteriormente são utilizados em uma quantidade muito superior se comparado com a pesquisa em questão.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do estudo realizado é possível concluir que o estudo pode proporcionar conhecimentos além dos esperados, desde a parte de obtenção do lapachol até os ensaios com as larvas do carrapato. Embora o rendimento não foi como o previsto na literatura, foi possível realizar uma reflexão a respeito dos fatores que podem ter interferido na análise e serão considerados em futuros estudos e análises no grupo de pesquisa.

Em relação ao material orgânico utilizado, alguns ajustes podem ser realizados na extração, como variações na concentração utilizada e/ou alterações no ensaio proposto, para que seja realizado de forma mais sustentável.

Contudo, ressaltando esses fatores mencionados é importante destacar que foi possível utilizar o lapachol para atingir o objetivo do estudo. Vale mencionar que uma pesquisa dessa natureza apresenta alternativas futuras para o problema, visto que, a grande parte dos compostos utilizados no mercado são sintéticos e causam efeitos negativos no ecossistema sob mal uso e uso a longo prazo. Assim, encontrar uma molécula natural que resolva a problemática realmente é um desafio.

6. REFERÊNCIAS

AHMAD, F.; BIBI, S.; KANG, M.; ANEES, M.; ANSAR, M.; ALAM, M. R.; KIM, S. Y.; WAHEDI, H. M.. Naphthoquinones from *Handroanthus impetiginosus* promote skin wound healing through Sirt3 regulation. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 23, n. 9, pág 1139-1145, 2020.

ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; NETO, P. J. R.. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. *Revista brasileira de farmacognosia*, v. 12, pág 57-59, 2002.

ARAÚJO, I. A. C.; PAULA, R. C.; ALVES, C. L.; FARIA, K. F.; OLIVEIRA, M. M.; MENDES, G. G.; DIAS, E. M. F. A.; RIBEIRO, R. R.; OLIVEIRA, A. B.; SILVA, S. M.. Efficacy of lapachol on treatment of cutaneous and visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology*, v. 199, pág. 67-73, 2019.

BOGO, M. C.; ALVES, C. S.; SILVA, M. H. D.; NASCIMENTO, M. P.; PEREIRA, V.; MARTINEZ, A. C.; SAKAMOTO, C. A. M.. Avaliação in vitro de diferentes formulações acaricidas sobre o parâmetro reprodutivo de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 9, pág 87922-87935, 2021.

BRITO, L. G.; ROCHA, R. B.; NETTO, F. G. S.; BARBIERI, F. S.; OLIVEIRA, M. C. S.; GONÇALES, M. A. R.; CARVALHO, G. L. O.. Eficácia de carrapaticidas em rebanhos leiteiros de Rondônia. *Circular técnica*, n. 113, 2010.

CAMPOS, R. N. S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SANTOS, G. R. A.; RONER, M. N. N.. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. *Archivos de zootecnia*, v. 61, pág. 67-68, 2012.

CARNEIRO, J. C.; COSTA, E. G. L.; VASCONCELOS, V. O.; OLIVEIRA, N. J. F.; DUARTE, E. R.. Diagnóstico do controle e eficácia de acaricidas para o carrapato bovino no semiárido do norte de Minas Gerais. *Acta Scientiae Veterinae*, v. 43, pág 1-10, 2015.

CARVALHO, T. D.; BORALLI, I. C.; PICCININ, A.. Controle de carrapatos em bovinos. *revista científica eletrônica em medicina veterinária*. n. 10. 2008.

COSTA, E. V. S.. Avaliação da atividade esquistossomicida do lapachol e análogos. 2018.

CUNHA, R. C.; CABRAL, B. G. C.; LEITE, F. P. L.; ANDREOTTI, R.. Vacinas contra o carrapato-do-boi no Brasil. *Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos*. v. 1, n. 1, Cap. 15, pág 193-206, 2019

DE SANTIS, L. H.; FAGUNDES, F. H.; SOARES, V. C.; PAULA, V. L.; MARANGONI, S.; TOYAMA, M. H.. modificação na atividade farmacológica da proteína bthtx-i induzida pelo lapachol. *Revista multidisciplinar da Saúde*, n.1, pág 51-62, 2009.

ESTRADA, H. G.; IBARRA, R. G.; CASTILLO, F.D.; PEREZ, H. A.; MEDINA, C. J. D.. Atividade antimalárica in vitro de frações e constituintes isolados da *Tabebuia*. *Revista Cubana de Plantas Mediciniais*, v. 17, n. 2, pág 172-180, 2012.

FERNANDES, A. W. C.; SANTOS, V. L. A.; ARAÚJO, C. R. M.; ARAÚJO, E. C. C.; OLIVEIRA, H. P.; COSTA, M. M.. Antibacterial activity and FTIR characterization of lapachol derivatives Against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Microbiology Research*, v.11, pág. 915-919, 2017.

FERREIRA, V. F.. Aprendendo sobre os Conceitos de Ácidos e Bases. *Experimentação no Ensino de Química. QUÍMICA NOVA NA ESCOLA* Conceitos de Ácido e Base n. 4, Novembro, 1996.

FILHO, A. V. S.; OLIVEIRA, L. M.; LUCCHESI, A. M.; BOTURA, M. B.. Atividade de óleos essenciais das espécies *Lippia Insignis* Moldenke e *Lippia Origanooides* Kunth. No controle de carrapatos de bovinos *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. 2019

FILHO, M. R. C.; GONÇALVES, G. R.; MARINO, P. C.. Eficácia do controle químico de carrapatos *Rhipicephalus (boophilus) microplus* em bovinos leiteiros com uso de fluazuron: relato de caso. Revista uninga, v. 53, n. 2, pág 113-115, 2017.

FONSECA, S.; G.; C.; BRAGA, R.; M.; C.; SANTAN, D.; P.. Lapachol – química, farmacologia e métodos de dosagem. Revista brasileira de farmacologia, n 84 pág. 9-16, 2003.

FURLONG, J.; PRATA, M.. Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. Embrapa: gado de leite. 2006.

GARCIA, M. V.; RODRIGUES, V. S.; KOLLER, W. W.; ANDREOTTI, R.. Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. v. 1, n. 1, Cap. 1, pág 17-27, 2019

GONÇALVES, V. M.; HUERTA, M. M.; FREITAG, R. A.. Potencial de plantas acaricidas no controle de carrapatos *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. Revista de ciência veterinária e saúde pública, v. 3, n. 1, pág 14-22, 2016.

NETO, O. J. S.; TAVEIRA, R. Z.; AMARAL, A. G.; MARTINS, T. R.; OLIVEIRA, B. C.. Avaliação da sustentabilidade de *Rhipicephalus (boophilus) microplus* a carrapaticidas em bovinos leiteiros na região do Oeste Goiano, Brasil. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 11, n. 1, pág 54-59, 2017.

PAIXÃO, J. L. F.. Novas estratégias para o controle de *Rhipicephalus microplus* e a influência de fatores climáticos na infestação natural de bovinos leiteiros na região Sul Fluminense, RJ. 2018.

SANTOS, T. R. B.; CASTRO, N. A.; BRETANHA, L. C.; SHUCH, L. F. D.; FREITAG, R. A.; NIZOLI, L. Q., Estudo in vitro da eficácia de citronela (*Cymbopogon wynterianus*) sobre carrapato *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. Science and animal health, v. 3, n. 1, pág 135-149, 2015.

SILVA, R. P. B.; PACHECO, L. R.; LIMA, T. S.; OLIVEIRA, R. M.; SOUZA, M. S.; BARBOSA, C. J.; RIBAS, J. R. L.; BARBOSA, L. V.. Diagnóstico parasitológico da tristeza parasitária bovina na Bahia – estudo retrospectivo de 2017 a 2021. Research, Society and Development, v. 11, n. 2, pág 1-7, 2021.

HOOVER, S. C.. J. Chem. Soc. 1892

SILVA, ANDREA ROSANE da. Obtenção de derivados do lapachol e de compostos relacionados. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química, 2009.

SILVA, R. S.. Perfil químico e potencial antimicrobiano de plantas medicinais comercializadas no município de Recife/PE com indicação popular para tratamentos de infecções. 2018

SILVA, R.; SANTOS, M. P. A.; FIGUEIREDO, M. A. P.. Avaliação Comparativa *in vitro* da sensibilidade de *Rhipicephalus (boophilus) microplus* a acaricidas comercializados no município de Rolim de Moura, Rondônia, Brasil. ARS Veterinária, v. 36, n. 3, pág 163-168, 2020.

SIQUEIRA, F.; BLECHA, I. M. Z.; CARDOSO, F. F.. Variabilidade genética da resistência bovina ao carrapato. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. v. 1, n. 1, pág 225-240, 2019.

SOUZA, A. P.; VEIGA, A, L.P.H.N.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; CARDOSO, C.P.; NUNES, A.P.O.. Proposta para teste carrapaticida por imersão de larvas de *Rhipicephalus (boophilus) microplus*: avaliação em cipermetrina e amitraz, Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 17, n. 4, pág 242-245, 2008b.

SOUZA, M. A. A.; SILVA, A. R.; FERREIRA, M. A.; LEMOS, L. J.; RAMOS, R. G.; FERREIRA, A. A. B.; SOUZA, S. R.. Atividade biológica do lapachol e de alguns derivados sobre o desenvolvimento fúngico e em germinação de sementes. Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ. Quim. Nova, v. 31, n. 7, pág. 1670-1671, 2008a.

TURETA, E. F.; VARGAS, G. P.; FIORIO, M. S.; WORTMANN, B. B.; OLIVEIRA, L. R. S.; ROSA, R. L.; SOUZA, E. M.; SANTI, L.; BEYS-DA-SILVA, W. O.. métodos alternativos e sustentáveis de controle ao carrapato bovino *Rhipicephalus microplus*. Revista Liberato, v. 21, n. 35, pág 1-100, 2020.