



ALINE MEDEIRO FERREIRA

**CONSTITUINTES QUÍMICOS, TOXICIDADE, POTENCIAL
ANTIOXIDANTE E ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE A
LARVAS DE *Aedes aegypti* DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba
rosaeodora* Ducke**

ALINE MEDEIRO FERREIRA

**CONSTITUINTES QUÍMICOS, TOXICIDADE, POTENCIAL
ANTIOXIDANTE E ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE A
LARVAS DE *Aedes aegypti* DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba
rosaeodora* Ducke**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Colegiado de Curso da Engenharia Química
do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da
Universidade Federal do Maranhão, como parte
dos requisitos para obtenção do diploma de
Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho

São Luís
2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Medeiro Ferreira, Aline.

CONSTITUINTES QUÍMICOS, TOXICIDADE, POTENCIAL
ANTIOXIDANTE E ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE A LARVAS DE
aedes aegypti DO ÓLEO ESSENCIAL DE Aniba rosaeodora ducke
/ Aline Medeiro Ferreira. - 2020.

70 f.

Orientador(a): Victor Elias Mouchrek Filho.

Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia Química,
Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2020.

1. Aedes. 2. Aniba. 3. Toxicidade. I. Mouchrek
Filho, Victor Elias. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. VICTOR ELIAS MOUCHREK FILHO
Orientador – DETEQ/CCET/UFMA

Prof. Dr. HARVEY ALEXANDER VILLA VELEZ
DEEQ/CCET/UFMA

Prof^ª. Dr^ª. MARIA DA GLÓRIA ALMEIDA BANDEIRA
DETEQ/CCET/UFMA

17 de julho de 2020

DADOS CURRICULARES

Aline Medeiro Ferreira

NASCIMENTO	16/02/1996 – SANTA RITA / MA
FILIAÇÃO	Arnaldo Ferreira Maria do Socorro de Lima Medeiro
2015/2020	Curso de Graduação Engenharia Química - Universidade Federal do Maranhão

Dedico este trabalho a minha eterna tia Maria Raimunda, que sempre acreditou no poder transformador da educação.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e em primeiro lugar agradeço a Deus, pelo dom da vida, pelo seu infinito amor, por ser meu porto seguro e razão de tudo e de todos nós.

Aos meus tios e segundos pais, Abmael Aguiar e Maria Raimunda, por terem acreditado em mim e nos meus sonhos e terem me dado condições para alcançá-los. Serei eternamente grata.

À toda a minha família, principalmente à minha amada mãezinha, Maria do Socorro, pelo apoio incondicional, amor, carinho e por ter aberto mão de muito para me dar tudo. Você é a razão que me faz acordar todos os dias e ir atrás dos meus sonhos. Eu te amo.

À Lilia Raquel, minha prima, amiga e irmã, por todo amor, carinho e por sempre me fazer rir em meio as lágrimas que derramei durante todo esse processo de me tornar engenheira.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho, pela orientação e auxílio.

Ao Gustavo Oliveira Everton, supervisor e amigo do Laboratório de Óleos Essenciais do Pavilhão Tecnológico, que cedeu seu laboratório para que análises pudessem ser realizadas e sempre se mostrou disponível para esclarecer as dúvidas que teimavam em existir e além de tudo por ser uma inspiração para mim, dentro do âmbito UFMA.

À equipe docente de Engenharia Química, em especial ao Prof. Dr. Harvey Velez, pelos conselhos, amizade, apoio, por ter acreditado no meu potencial e ter me dado a oportunidade desenvolver minhas habilidades como pesquisadora.

Ao Prof. Dr. Odair Monteiro, por ter despertado em mim o amor pelos Óleos Essenciais e por ter me aceitado em seu laboratório de pesquisa de Produtos Naturais.

Ao meu eterno amigo, Germano, pela disponibilidade em me ajudar sempre que precisava.

À Ana Carolina e Daniella Capistrano, minhas amigas de longa data, por estarem presente em minha vida mesmo estando longe, pelos abraços e palavras de conforto nos momentos mais difíceis e pelas risadas em todos os momentos.

Aos meus amigos Nilton Mafra, Kelle Jéssica, Fernanda Hellen, Everton Holanda, Paulo Sérgio, Nielson Brito e Felipe Muniz, que estiveram ao meu lado ao longo dessa caminhada, agradeço por toda ajuda, amizade, companheirismo e por terem sido minha válvula de escape durante esses cinco anos. Com vocês a vida fica mais divertida.

“Deleita-te também no Senhor e Ele te concederá o que deseja o teu coração. Entrega teu caminho ao Senhor; confia nele e Ele tudo fará.”

Salmos 37: 4-5

FERREIRA, A. M. Constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke. 2020. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2020.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo determinar os constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke frente a larvas de *Aedes aegypti*. O óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação a 100 ° C por 3h. Os parâmetros físico-químicos foram determinados e a composição química foi obtida por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC / MS). A toxicidade foi realizada através do bioensaio de *Artemia salina* Leach. Os ensaios 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico (ABTS) e 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH) foram utilizados para avaliar a atividade antioxidante e para atividade larvicida submeteu-se larvas de *Aedes aegypti* a soluções do OE em concentrações de 10-100 mg L⁻¹, para avaliar a mortalidade das larvas e determinar a CL₅₀ a partir do método de Probit. O principal constituinte químico encontrado no EO de *A. rosaeodora* foi o β-linalool, representando 63,16% da composição, sendo considerado promissor para síntese farmacêutica. No ensaio de toxicidade, o LC₅₀ variou de 582 mg L⁻¹ a 282 mg L⁻¹, sendo classificado como não tóxico. O OE apresentou atividade larvicida com CL₅₀ de 41,07 mg L⁻¹ e atividade antioxidante relevante. De acordo com os resultados encontrados, é possível afirmar que o OE analisado é composto por substâncias que possuem boa atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti*, o que ressalta seu potencial para possível aplicação futura.

Palavras-chave: *Aniba*. *Aedes*. Toxicidade.

FERREIRA, A. M. **Chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of *Aniba rosaeodora* Ducke essential oil.** 2020. 49f. Completion work of Chemical Engineering course of the Center for Exact Sciences and Technology of the Federal University of, Maranhão, São Luís, 2020.

ABSTRACT

This study aimed to determine the chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity of the essential oil of *Aniba rosaeodora* Ducke against larvae of *Aedes aegypti*. The essential oil (EO) was extracted by hydrodistillation at 100 °C for 3h. The physicochemical parameters were determined and the chemical composition was obtained by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC / MS). Toxicity was performed through the bioassay of *Artemia salina* Leach. The ABTS and DPPH assays were used to evaluate antioxidant activity and larvicidal activity was submitted to larvae of *Aedes aegypti* to EO solutions at concentrations of 10-100 mgL⁻¹ to evaluate mortality of larvae and to determine LC₅₀ using the Probit method. The main chemical constituent found in the EO of *A. rosaeodora* was β-linalool 63.16%, being considered great promising for pharmaceutical synthesis. In the toxicity assay, LC₅₀ ranged from 582 mg L⁻¹ to 282 mgL⁻¹ and was classified as non-toxic. The EO showed larvicidal activity with LC₅₀ of 41.07 mgL⁻¹ and relevant antioxidant activity. According to the results found, it was possible to evaluate that the OE analyzed is composed of substances that have a good larvicidal effect compared to *Aedes aegypti*, thus encouraging its application potential.

Keywords: *Aniba*. *Aedes*. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	05
Figura 2 – Ciclo de vida do Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	08
Figura 3 – <i>Artemia Salina Leach</i>	10
Figura 4 – Árvore <i>Aniba rosaeodora Ducke</i>	14
Figura 5 – Óleo Essencial extraído das cascas de <i>A. rosaeodora</i>	15
Figura 6 – Linalol	16
Figura 7 – Técnica de hidrodestilação	18
Figura 8 – Ovitrapas.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE	Óleo Essencial
OE's	Óleos Essenciais
OMS	Organização Mundial da Saúde
CL ₅₀	Concentração Letal de 50%
CL ₉₀	Concentração Letal de 90%
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
ABTS	2,2-azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sulfônico)
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
LOEPAV	Laboratório de Óleos Essenciais do Pavilhão Tecnológico
CG/MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
DMSO	Dimetilsulfóxido
nD	Índice de Refração

SUMÁRIO

	FOLHA DE APROVAÇÃO.....	ii
	DADOS CURRICULARES.....	ii
	DEDICATÓRIA.....	iv
	AGRADECIMENTOS.....	v
	EPÍGRAFE.....	vi
	RESUMO.....	vii
	ABSTRACT.....	viii
	LISTA DE FIGURAS.....	ix
	LISTA DE TABELAS.....	x
	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xi
	SUMÁRIO.....	xiii
1	INTRODUÇÃO.....	01
2	OBJETIVOS.....	03
2.1	Objetivos gerais.....	03
2.2	Objetivos específicos.....	03
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
3.1	Aspectos gerais sobre o <i>Aedes aegypti</i>	04
3.2	Inseticidas e Mecanismos de resistência.....	06
3.3	Etiologia e Ciclo de Vida do <i>Aedes Aegypti</i>	07
3.4	Plantas medicinais.....	09
3.5	Considerações sobre Óleos Essenciais (OE's).....	11
3.6	Extração de Óleos Essenciais (OE's)	13
3.7	Aspectos sobre o <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke.....	13
4	METODOLOGIA.....	17
4.1	Material Vegetal.....	17
4.2	Local de pesquisa.....	17
4.3	Obtenção do óleo essencial (OE).....	17
4.4	Caracterização físico-química do (OE).....	18
4.5	Análises Químicas.....	19
4.6	Toxicidade.....	19
4.7	Atividade Antioxidante pelo método ABTS.....	20
4.8	Atividade Antioxidante pelo método DPPH.....	20

4.9	Coleta dos Ovos.....	21
4.10	Atividade Larvicida.....	22
	ARTIGO PUBLICADO.....	24
5	CONCLUSÃO.....	24
	REFERÊNCIAS.....	25
	APÊNDICE A.....	32

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* é o nome científico do mosquito transmissor de doenças comumente nomeadas por arboviroses como a dengue, febre amarela urbana, além da zika e da Chikungunya (SRITABUTRA; SOONWERA, 2013). A espécie possui origem africana, em 1955 foi erradicado da história do Brasil, porém devidos a falhas de cobertura e ações de controle, teve seu retorno em 1976, provavelmente por meio de fronteiras e portos. É importante salientar que a dengue está fortemente relacionada com variáveis meteorológicas. A variação sazonal da temperatura e da pluviosidade influenciam a dinâmica do vetor e a incidência da doença em todo o país (VIANA; IGNOTTI, 2013). Nota-se maior ocorrência de casos dessa doença em regiões tropicais e subtropicais (OOTANI *et al.*, 2011; VELOSO *et al.*, 2015).

Nas últimas décadas, verificou-se que as doenças transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, principalmente a dengue, tem crescido de forma elevada no mundo inteiro. Há 12 anos a Organização Mundial de Saúde (OMS) já estimava que aproximadamente 1,3 milhões de indivíduos estariam em risco de serem contaminadas pelo vírus da dengue (WHO, 2012). Atualmente, estima-se que dois quintos da população mundial, isto é, mais de 2,5 bilhões de pessoas estão sujeitas a serem infectadas pelo vírus da dengue e a OMS calcula que pode haver cerca de 50 milhões de infecções de dengue por ano mundialmente (ZARA *et al.*, 2016).

Segundo o Ministério Da Saúde (2019), foi declarado que em 2019, até a 12ª Semana Epidemiológica (30/12/2018 a 23/03/2019), foram registrados 273.193 casos prováveis de dengue no país, o qual teve um crescimento de aproximadamente 382% em relação ao mesmo período do ano de 2018 (71,525 mil).

Notificou-se também o crescimento acelerado nos casos de outras doenças advindas do *Aedes aegypti*, tais como a Zika e a Chikungunya (SILVA *et al.*, 2018). Vale ressaltar que mesmo com os avanços tecnológicos em busca por vacinas para essas doenças, apenas para a febre amarela existe uma vacina de longo prazo, aproximadamente 10 anos (ROTHMAN, 2004). Sendo assim, o melhor método de controle é a prevenção, atacando seu vetor urbano (GOVINDARANJA, 2013). O controle vetorial é realizado através da eliminação de locais para oviposição ou a eliminação das larvas (COLLER, 2011).

Dentre os métodos empregados para controle das larvas, tem-se que o uso de inseticida organofosforado temefós constitui a principal medida adotada pelo Programa Nacional de Prevenção à Dengue no Brasil e pela Organização Mundial da Saúde (CARVALHO *et al.*, 2004; CRIVELENTI *et al.*, 2011; PROPHIRO *et al.*, 2011).

Todavia, segundo estudos realizados foram identificadas populações de mosquitos resistentes ao inseticida na Colômbia e também em diversos estados do Brasil, tais como Minas Gerais, Paraíba, Ceará e no Distrito Federal (CARVALHO *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2006; BESERRA *et al.*, 2007; MAESTRES *et al.*, 2009, HORTA *et al.*, 2011). Diante desse contexto surge então a necessidade de métodos alternativos, principalmente aqueles baseados em recursos naturais, sendo o inseticida devendo ser sustentável, ecologicamente correto, eficaz, possuir baixa toxicidade aos mamíferos e não devendo modificar de forma significativa as características da água (DIAS; MORAES, 2014).

Como forma de proteção as plantas produzem metabólitos secundários como os flavonoides, alcaloides e terpenóides que coevoluem com os insetos e micro-organismos, tornando-se fontes naturais de substâncias inseticidas (SIMÕES *et al.*, 2010). Essas substâncias são conhecidas como óleos essenciais (OE's), produzidos no metabolismo secundário das plantas, sendo uma boa fonte de materiais com ação inseticida, larvicida e repelente (COSTA *et al.*, 2005).

Entre as plantas com potenciais medicinais no Brasil e com estudos limitados destaca-se a *Aniba rosaeodora* Ducke, conhecido como pau rosa, pertence à família Lauraceae, descoberta no Brasil em 1925. A espécie é nativa da Amazônia e sua exploração para a extração de OE está em andamento desde 1911 (AZEREDO, 1958). Possui como composto majoritário o linalol, que é um monoterpene alcoólico e uma das substâncias mais importantes para a indústria de fragrâncias (VATANPARAST *et al.*, 2017). A espécie de *A. rosaeodora* também é conhecida pelo seu potencial antimicrobiano, devido ao alto teor de linalol, o qual é possível atribuir sua atividade antimicrobiana (CANSIAN *et al.*, 2010) porém possui poucos estudos com relação a atividade larvicida.

Tendo em vista a importância dos OE's e sua ampla aplicação o presente estudo visa determinar os constituintes químicos, toxicidade, atividade antioxidante e o potencial larvicida do óleo essencial de *A. rosaeodora* frente as larvas de *Aedes aegypti*, visando uma alternativa segura, ecologicamente viável e eficiente no combate e controle da população de *Aedes aegypti* no país.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar o perfil químico, toxicidade e atividade larvicida do óleo essencial de *Aniba rosaeodora*.

2.1 Objetivos específicos

- Determinar os constituintes químicos do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke;
- Verificar a toxicidade do óleo essencial frente a *Artemia salina* Leach;
- Analisar a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH;
- Determinar a atividade larvicida do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke frente a larvas de *Aedes aegypti*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Atualmente, pesquisas relacionadas ao combate e controle de vetores de doenças, por meio de metodologias que interrompem o ciclo de reprodução, e que sejam menos agressivas para o ser humano e para o meio ambiente, vem se tornando cada vez mais frequente. Além disso, o estudo baseado em plantas medicinais tem se tornado um fator primordial, pois tem-se o uso destas desde a antiguidade (BRUNING et al., 2012). A seguir será abordado uma revisão bibliográfica sobre o *Aedes aegypti* (*A. aegypti*), plantas medicinais, óleos essenciais e a espécie *Aniba rosaeodora* Ducke (*A. rosaeodora*).

3.1 Aspectos gerais sobre o *Aedes aegypti*

O *Aedes aegypti*, representado na Figura 1, é o nome científico do mosquito transmissor de doenças comumente nomeadas por arboviroses como a dengue, febre amarela urbana, além da zika e da Chikungunya (SRITABUTRA; SOONWERA 2013). A espécie possui origem africana, em 1955 foi erradicada da história do Brasil, porém devidos a falhas de cobertura e ações de controle, teve seu retorno em 1976, provavelmente por meio de fronteiras e portos (TEIXEIRA, 1996).

Figura 1- Mosquito *Aedes aegypti*



Fonte – BRASIL (2016)

O mosquito *A. aegypti* tem transmitido diversas doenças em nível mundial, especialmente, em países em desenvolvimento. As espécies desse vetor possuem comportamento estritamente urbano e holometábolo, ou seja, sofrem modificações tão grandes que são capazes de mudar até mesmo o local onde vivem. Durante a fase larval é aquático já na fase adulta é o mosquito que transmite doenças. É possível notar as seguintes fases: inicialmente tem-se o ovo, em seguida a fase larval, sendo caracterizada por 4 estágios, posteriormente tem-se o estágio de pupa e então a fase adulta. É encontrado no mundo inteiro e destaca-se em climas tropicais e subtropicais, pois as condições climáticas contínuas favorecem sua sobrevivência e proliferação (FORATTINI, 1995).

Dentre as arboviroses transmitidas pelo *A. aegypti*, nota-se que a dengue é a que mais se destaca, tendo como agente causador um arbovírus do gênero *Flavivirus* pertencente à família *Flaviviridae*. Atualmente, existem apenas cinco sorotipos virais bem caracterizados, dos quais os DENV-1, DENV-2 e DENV-3 são encontrados com facilidade no Brasil, já o DENV-4 é mais frequente na Costa Rica e na Venezuela. Vale ressaltar que não há evidências do sorotipo DENV-5 no Brasil, porém em 2007 foi encontrado na Malásia (MAMANI, 2014).

A dengue é considerada um dos maiores problemas de saúde pública mundialmente, pois tem-se cerca de 390 milhões de infecções por dengue por ano, dentre os quais 96 milhões com manifestação clínica (BRAHTT, 2013). Salienta-se que as pessoas que residem em áreas urbanas, suburbanas e rurais, especialmente nos países tropicais, estão mais sujeitas, pois a temperatura e a umidade favorecem a proliferação do *A. aegypti*. Desse modo, existe grande necessidade de estudos em relação ao combate e controle desse vetor. Estudos têm provado que o clima está relacionado diretamente com a proliferação do mosquito, tendo forte impacto em períodos chuvosos, aumentando em períodos de maior precipitação e em climas quentes, pois tem-se que a fêmea adulta alimenta-se com maior frequência e digere o sangue mais rapidamente, elevando o índice de transmissão. Sendo assim, a região norte do Brasil, precisa de maior atenção, pois vem sendo registrado alto índice de doenças causadas pelo mosquito *A. aegypti* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

De acordo com o Ministério Da Saúde, dos 61 municípios do estado do Amazonas, 11 estão em alerta para dengue, zika e chikungunya. Segundo a pesquisa realizada, destaca-se a capital e as cidades de Humaitá e Itacoatiara como sendo os principais pontos de alerta. No Amazonas, dentre os principais criadouros do mosquito, é possível notar que a maior parte foi encontrada em depósito de água e lixo domiciliar (AMAZONAS, 2018).

Diante desse contexto, torna-se preocupante, o fato da predominância dessa doença no mundo inteiro, ressalta-se que o crescimento populacional brusco, acarretou em sérios

problemas nas cidades como por exemplo: saneamento básico precário e falta de tratamento de água, resultando na necessidade de se utilizar tonéis e caixa d'água pra reserva de água, os quais são susceptíveis em se tornar criadouros, tem-se ainda que o saneamento básico precário, trouxe problemas em relação a coleta de lixo, ou seja, facilitou o acúmulo de reservatórios. O aumento na produção de veículos, trouxe acúmulo de pneus, os quais facilmente podem ser locais de reprodução e transportadores passivos de ovos, larvas. A intensa produção industrial, trouxe diversos materiais descartáveis, os quais geralmente não são descartados corretamente e acabam poluindo, facilitando a proliferação desse mosquito (TAUIL, 2002).

Dentre os métodos de controle mais utilizados para combater o *A. aegypti*, nota-se que uso de inseticidas (controle químico) tem sido utilizado por anos e que devido ao uso desordenado e frequente, foi possível encontrar população de mosquitos resistentes aos inseticidas mais comuns, tornando-se de suma importância a busca por novas metodologias, tecnologias e formas alternativas de combate e controle desses vetores (TAUIL, 2002).

3.2 Inseticidas e Mecanismos de Resistência

É importante salientar que o desenvolvimento de resistência é um procedimento frequente quando uma população é submetida a uma grande quantidade de inseticidas. Os indivíduos que desenvolvem esse mecanismo de resistência, sobrevivem e propagam seus genes. Geralmente o mecanismo de resistência pode ser adquirido por modificações, adaptações biológicas e até mesmo comportamental, onde o mosquito tem a capacidade de evitar parcialmente ou totalmente o contato que seria letal. Com o intuito de bloquear essa resistência são utilizados outros tipos de inseticidas ou outros métodos de controle como biológicos e físicos por exemplo. A resistência aos inseticidas pode ser monitorada através de ensaios biológicos, moleculares e bioquímicos, essa supervisão do avanço da resistência é uma das propostas feitas pela OMS (Organização Mundial da Saúde) para o controle vetorial (DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

O uso de inseticidas como forma de controle químico tem sido utilizado em larga escala tanto na produção agrícola quanto na proteção da saúde humana, seja na forma orgânica ou inorgânica. O primeiro inseticida químico sintético produzido foi o DDT (diclorodifeniltricloroetano), o qual foi desenvolvido durante a segunda guerra mundial. Depois disso, outras classes de inseticidas foram desenvolvidas, como: organofosforados, carbamatos e piretróides (BRAGA; VALLE, 2007).

Diversos tipos de inseticidas foram analisados e foi possível evidenciar resistência

em todos, este é um sério problema de saúde pública, pois influencia diretamente o reaparecimento de doenças que já tinham sido controladas (BRAGA; VALLE, 2007).

Inúmeras pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de encontrar métodos alternativos de combate e controle contra o *A. aegypti*, pois não existe vacina para a doença, sendo que a melhor forma de combate atualmente é atacando o próprio vetor, isto é, eliminando os locais onde ocorre a oviposição e o desenvolvimento das larvas. Dentre os métodos mais estudados, destacam-se as plantas, as quais possuem atividade inseticida, larvicida e repelente. Conforme os estudos, esse método de controle tem se mostrado uma alternativa segura, ecologicamente viável e eficiente no combate e controle da população de *Aedes aegypti* (OLIVEIRA, 2008).

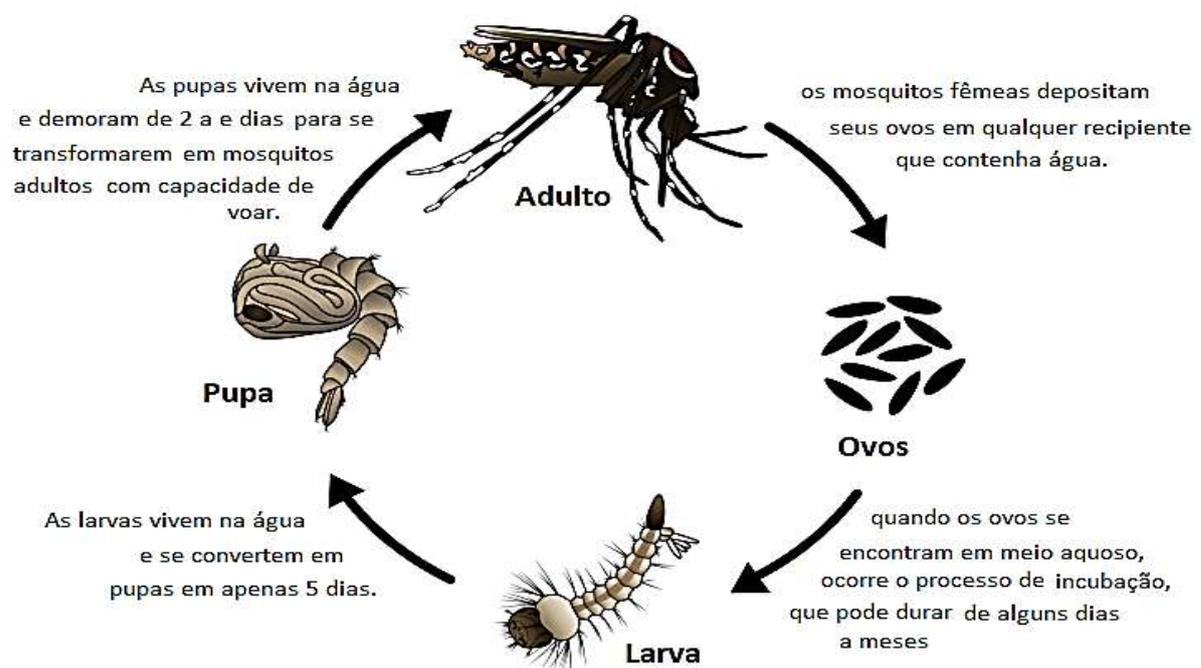
3.3 Etiologia e Ciclo de Vida do *Aedes Aegypti*

O *A. aegypti* é um Artrópode da família dos Culicídeos, se alimenta principalmente de líquidos açucarados como néctares, entretanto as fêmeas possuem hábitos hematófagos para maturação dos ovos, dessa maneira acabam tornando-se vetores de diversas arboviroses (GUARIDO, 2009). Possui como hábitat natural as áreas tropicais e subtropicais e se localiza preferencialmente até 1000 metros do solo, é caracterizado pela presença de manchas branco prateado em seu dorso, possui hábitos diurnos e é facilmente adaptável ao meio, sendo assim, precisa somente de uma recipiente com água parada para se procriar, geralmente é encontrado tanto no meio natural quanto no meio urbano, como por exemplo: plantas como as bromélias, folhas secas, tocos de árvores, latas, garrafas, pneus, tambores, caixas d'água entre outros (MARCONDES, 2011). A postura dos ovos é realizada frequentemente em locais úmidos, pode ser nas paredes do recipiente ou até mesmo diretamente na água, tem-se que o número de ovos está relacionado diretamente com a quantidade adquirida durante os repastos sanguíneos, isto é, se a quantidade necessária de sangue for atingida, serão postos por volta de 120 ovos. Os ovos são elípticos, alongados e fusiformes, tem aproximadamente 1 mm de comprimento. Após a postura, apresentam coloração branca e passando-se algumas horas, atingem uma coloração negra de aspecto brilhante. Vale ressaltar que se a temperatura e a umidade forem ajustadas os ovos normalmente podem eclodir por volta de 4 a 7 dias, no entanto, caso não haja condições favoráveis os ovos do *A. aegypti* não irão eclodir e podem passar meses e até anos resistindo, isso ocorre devido a uma membrana formada por quitina e lipídeos que confere aos ovos impermeabilização. De acordo com o processo de evolução, os ovos foram adquirindo um mecanismo de resistência (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

O mosquito *A. aegypti* em seu desenvolvimento pós embrionário possui as seguintes fases: ovo, fase larval, pupa e a fase adulta, como apresentando na Figura 2, na fase larval, seu corpo é alongado e vermiforme com coloração esbranquiçada. É formado por: abdômen, cabeça, tórax, antenas, olhos, sifão respiratório e aparelho respirador-mastigador. Alimentam-se por meio de partículas orgânicas presentes no reservatório todo o processo leva em torno de 8 a 10 dias a partir da eclosão dos ovos, sofrendo influência de questões ambientais (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009). Quando atingem o estágio de pupa, deixam de alimentar-se e inicia-se a mudança de coloração, modificações tissulares e a formação de cefalotórax, porém ainda permanecem em fase móvel e na maior parte do tempo se localizam próximo a superfície, este procedimento permanece por aproximadamente dois dias (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

Figura 2 - Ciclo de vida do Mosquito *Aedes aegypti*

Um ovo demora entre 7 e 10 dias para virar um mosquito adulto



Fonte – Portal.fiocruz.br (2020)

O mosquito *A. aegypti* se diferencia dos outros mosquitos principalmente por apresentar manchas brancas em formato de “lira” e a coloração escura. Ressalta-se também as

diferenças entre as fêmeas e os machos dentro da própria espécie (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

3.4 Plantas Medicinais

Há milênios de anos, os produtos naturais são utilizados como fonte de medicamentos para prevenção e cuidados com a saúde. As civilizações antigas, chinesa, norte africanas e indiana revelaram evidências para o uso de produtos de origem natural na ocorrência de vários tipos de doenças (NEWMAN e CRAGG, 2007).

As plantas, em particular, são utilizadas para a cura de doenças, controle de insetos e para a conservação de corpos, descobertas que ocorreram de forma empírica e atualmente, estão sendo comprovadas pela ciência. As plantas são ricas em princípios ativos, os quais podem ser encontrados em toda a parte da planta e sintetizados pelo metabolismo secundário, que dão origem a uma série de substâncias conhecidas como alcalóides, flavonóides, cumarinas, saponinas, óleos essenciais, entre outras. Uma das classes mais importante é a dos óleos essenciais, que são compostos voláteis e, quando liberados pelas plantas, agem como sinais químicos para a comunicação entre espécies, na proteção contra microrganismos, herbívoros e condições ambientais (LIMA, 2006; FREIRE, 2008).

De acordo com MORESCHI et al. (2005) nos países em desenvolvimento as doenças estão relacionadas principalmente com a falta de saneamento básico, desnutrição e falta de acesso aos medicamentos. A dificuldade do acesso da população à saúde primária, resulta em busca de métodos alternativos, isto é, a utilização de produtos de origem natural, tem-se que aproximadamente 80% da população mundial, principalmente de países em desenvolvimento, depende da medicina tradicional para suas necessidades básicas de saúde. E aproximadamente 85% destes fazem uso de plantas, suas preparações e seus constituintes (WHO, 2011). Entre as plantas medicinais com maior índice de uso pela população poucas têm ação cientificamente comprovada. Apesar disso, o uso popular tradicionalmente consolidado tem sido utilizado como guia para pesquisas farmacológicas (MORESCHI et al., 2005).

Conforme Soares et. al. (2008), a aumento na procura pelos antioxidantes naturais de extratos de plantas é devido à sua baixa toxicidade em relação aos antioxidantes sintéticos. Vegetais, cereais, extratos de frutas e seus subprodutos industriais são ricos em antioxidantes,

em carotenóides, tocoferóis, ácido ascórbico e em compostos fenólicos e têm demonstrado eficaz atividade antioxidante em sistemas modelos.

É de grande importância o conhecimento relacionado a toxicidade das plantas, pois apesar de serem de origem natural não significa que estão isentas de causar malefícios a saúde humana. Estudos em relação a toxicidade das plantas tem como objetivo averiguar a segurança do uso de plantas na medicina popular, assim como extratos e outros insumos obtidos por meio de produtos naturais. (MERINO et al., 2015)

Dentre os ensaios de toxicidade existentes, o bioensaio de *Artemia Salina Leach*, um microcrustáceo de água salgada o qual é representado na Figura 3, tem sido utilizado em larga escala em pesquisas preliminares de atividade biológica de extratos e frações obtidos a partir de produtos naturais, pois é estabelecido como um método sensível, simples, prático e econômico, cujas aplicações englobam a investigação de fontes de toxicidade de amostras ambientais, misturas químicas, detecção de toxinas naturais em alimentos e produtos farmacêuticos, além de parâmetros de citotoxicidade (MEYER et al., 1982).

Figura 3 – *Artemia Salina Leach*



Fonte – TEIXEIRA (2019)

É interessante salientar que o valor intrínseco de uma planta medicinal está no seu efeito terapêutico. Elas possuem substâncias que são ponto de partida para a síntese de produtos

químicos e farmacêuticos, sendo responsáveis pelo efeito terapêutico; a estas substâncias é dado o nome de princípio ativo (MONTANARI, 2002).

Atualmente, observa-se uma crescente redescoberta do valor das plantas medicinais em decorrência não só de certos efeitos colaterais imprevistos de muitos remédios sintéticos (alopatos), embora o uso incorreto dos remédios naturais também possa causá-los, como também do seu elevado preço, visto que está atrelado a poderosos interesses capitalistas internacionais (BRUNING et al., 2012).

3.5 Considerações sobre Óleos Essenciais

O óleo essencial, é um dos principais produtos obtidos das plantas, são substâncias produzidas no metabolismo secundário das plantas, sendo uma boa fonte de materiais com ação inseticida, larvicida e repelente (COSTA et al., 2005). A Organização internacional de padronização (ISO) define óleos essenciais como sendo os produtos obtidos a partir de partes de plantas, por meio de técnicas de destilação por arraste de vapor d'água, bem como os produtos adquiridos por expressão dos polícarpos de frutos cítricos (Rutacaceae). De modo geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, líquidas, geralmente possuem aroma agradável, solúveis em solventes apolares, como o éter. Em água, eles apresentam solubilidade limitada, mas o suficiente para aromatizar suas soluções aquosas, que nesse caso são denominadas hidrolatos. São conhecidos também como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências (DI STASI, 1996; LEMOS, 1990).

É interessante notar que os óleos essenciais podem estar armazenados em certos órgãos vegetais, nas flores (laranjeira, bergamoteira), folhas (capim-limão, eucalipto, louro) ou ainda nas cascas dos ramos (canela), madeiras (sândalo, pau-rosa), raízes (vetiver), rizomas (gingibre), frutos (anis-estrelado, funcho, erva-doce) ou sementes (noz moscada) (SIMÕES et al., 2003).

Normalmente os óleos essenciais são constituídos por terpenos, hidrocarbonetos terpenicos, álcoois simples e terpênicos, ésteres, fenóis, aldeídos e cetonas. A predominância está entre os compostos terpênicos como monoterpênicos (por exemplo, tujona, cânfora, linalol e limoneno) e sesquiterpênicos (exemplo: bisaboleno, farnesol e nerolidol). A maioria destes compostos são utilizados desde a antiguidade pela medicina popular e atualmente tem sido

eficaz perante comprovação científica como perfumes, condimentos, analgésicos, laxantes, antiespasmódicos, anti-inflamatórios, larvicidas e repelentes de insetos (CAMARGO, 2008).

Por séculos, os óleos essenciais têm sido utilizados na medicina tradicional, perfumaria, indústria de cosméticos e também adicionados aos alimentos como temperos e ervas. Inicialmente era utilizado na medicina tradicional, porém no século XIX, notou-se seu uso frequente como ingredientes de aroma e sabor. Posteriormente, este veio a se tornar seu principal emprego. No entanto, a alta variabilidade de compostos químicos presentes em plantas aromáticas tem se tornado um problema potencialmente grave para a indústria de perfumes. Por esse motivo tem-se intensificado pesquisas em relação aos fatores que acarretam a essa variabilidade, que não sejam os estritamente genéticos, como raças distintas da mesma espécie, clima, precipitação ou fatores de origem geográfica da espécie (EVANS, 2009; PREEDY, 2015).

É importante salientar que os óleos essenciais são constituídos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanóides, metabólitos secundários que lhes conferem as características organolépticas (SILVA-SANTOS et al. 2006). Os metabólitos secundários são compostos que não exercem influência direta no desenvolvimento ou crescimento. Entretanto, desempenham funções ecológicas preponderantes para as plantas principalmente em ambientes estressantes, promovendo a defesa contra herbivoria, proteção contra fungos, vírus ou bactérias patogênicas e atração de polinizadores e organismos simbiontes (ANSANTE, 2014). Diversos fatores podem interferir no processo de produção dos metabólitos secundários, como: sazonalidade, temperatura, índice pluviométrico, exposição ao sol, poluição, altitude, nutrientes, competição, desenvolvimento e crescimento da planta, ritmo circadiano e estímulos patogênicos ou mecânicos (ESTEVES-PEDRO, 2013).

Os componentes majoritários presentes nos óleos essenciais podem ser derivados de hidrocarbonetos ou compostos oxigenados. Em um número menor de espécie, os mesmos podem ser derivados de compostos alifáticos ou acíclicos e em alguns casos, podem ter estruturas aromáticas (PREEDY, 2015). Espécies da Amazônia, produtoras de óleos essenciais, são utilizadas na medicina tradicional, entre outras propriedades, por seus efeitos sedativo, anticonvulsivante e antidepressivo. Dentre elas estão a *Aniba rosaeodora* Ducke (pau-rosa), a *Aniba parviflora* (Meisn.) Mez (macacaporanga) e a *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng (catinga-de-mulata) (ELISABETSKY et al. 1995; ELISABETSKY et al. 1999; PRICE e PRICE, 1999; LAWLESS, 2002).

3.6 Extração de Óleos Essenciais

A determinação das condições e métodos de extração de óleos voláteis é uma etapa muito importante, por ser um fator determinante na relação entre a composição química e a qualidade do óleo extraído, embora todas as partes de uma planta possam acumular óleo essencial, sua composição pode variar de acordo com a localização na planta (SIMÕES, 2001).

Conforme Mouchrek Filho (2000), o tempo de extração do óleo essencial é um fator primordial dos parâmetros físico-químicos da indústria de essências, no que se refere à qualidade e à natureza econômica. Salienta-se que uma destilação rápida pode conduzir a um produto contendo predominantemente constituintes mais voláteis, porém destituído das melhores características; ao contrário, uma extração prolongada encarece o produto e também pode sobrecarregá-lo de compostos de aromas indesejáveis (CHAAR, 2000).

Existem vários métodos de extração dos óleos essenciais, variando de acordo com a região da planta em que ele se encontra, e com a proposta de utilização do mesmo. Os mais comuns são: enfloração, prensagem, extração com solventes orgânicos, extração por fluido supercrítico, destilação de arraste por vapor d'água e hidrodestilação em aparelho de Clevenger (MOUCHREK FILHO, 2000).

A hidrodestilação em aparelho de Clevenger, é uma técnica na qual ocorre o aquecimento da amostra submersa em água, que atinge uma temperatura superior ao ponto de ebulição dos compostos do OE, cerca de 100°C, volatilizando-os. Após a volatilização o vapor d'água e os compostos do OE passam por um condensador, como a água é miscível com o OE formam-se duas fases (óleo e água), sendo uma mistura recebida no frasco separador (ABDELLATIF; HASSANI, 2015) Esse processo utiliza o mesmo princípio da extração por destilação por arraste de vapor d'água, sendo que a diferença está na maneira na qual o material vegetal é preparado, ou seja, na hidrodestilação o material vegetal fica submerso na água já na arraste a vapor, o vapor passa pela matéria-prima (CHAVEZ, 2007).

3.7 Aspectos sobre o *Aniba Rosaeodora* Ducke

O pau-rosa, representado na Figura 4, conhecido cientificamente como *Aniba rosaeodora* Duckei pertence à família Lauraceae. A família botânica Lauraceae possui uma distribuição pantropical sendo bem representada na América, Ásia Tropical, Austrália, Madagascar e África sub-saariana. Esta família apresenta cerca de 50 gêneros e 2.500 espécies, contendo cerca de 29 gêneros e 900 espécies nas Américas. No Brasil podem ser encontradas

cerca de 400 espécies (corresponde a 16% do total de espécies), distribuídas em 25 gêneros. (ROHWER, 1993; BARROSO et al., 2002).

Figura 4- Árvore *Aniba rosaeodora* Ducke



Fonte – ALKHEMYLAB (2017)

Os 25 gêneros de Lauraceae relatados como nativos do Brasil são: *Aiouea*, *Anaueria*, *Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cassytha*, *Cinnamomum*, *Cryptocaria*, *Dicypellium*, *Endlicheria*, *Kubitzkia*, *Licaria*, *Mezilaurus*, *Misanteca*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Paraia*, *Persea*, *Phoebe*, *Phyllostemonodaphne*, *Pleurothyrium*, *Rhodostemonodaphne*, *Sextonia*, *Systemonodaphne*, *Urbanodendron* e *Williamdendron*. Os gêneros *Laurus* e *Litsea*, que não são nativos, foram cultivados no Brasil devido à sua importância econômica (SOUZA e LORENZI, 2005).

Na Reserva Florestal Ducke, que está localizada a 25 km de Manaus-AM, foram encontradas 99 espécies, pertencentes a 13 gêneros, como: *Ocotea* (41 espécies), *Licaria* (15 espécies), *Aniba* (13 espécies), *Endlicheria* (11 espécies), *Rhodostemonodaphne* (8 espécies), *Aiouea* (3 espécies) e *Mezilaurus* (3 espécies). Os demais gêneros são representados por apenas uma espécie. (RIBEIRO et al., 1999).

Lauraceae é considerada uma das famílias botânicas mais representativas, que tem se destacado por sua importância econômica, quando comparada com as outras famílias. Algumas espécies possuem uso industrial, porém, a maior parte da sua utilização está restrita ao conhecimento empírico. As espécies de Lauraceae apresentam grandes diversidade de usos,

como por exemplo, na culinária, em marcenaria, na construção civil, na fábrica de papel, nas indústrias de perfumaria e química, e na medicina popular, assim destacando as espécies correspondentes aos gêneros: *Ocotea*, *Aniba* e *Nectandra*, que possuem as maiores quantidades de espécies utilizadas (MARQUES, 2001).

As espécies do gênero *Aniba* destacam-se pelo alto valor econômico que possuem, devido ao óleo essencial, sendo importante destacar as espécies do gênero *Aniba* usadas na perfumaria, como: *A. roseadora* Ducke, *A. canellila* (H.B.K.) Mez e *A. parviflora* (Meissn) Mez. Outras espécies dessa família que são importantes produtoras de óleos são: *Cinnamomum camphora* (L.) Presl., usada na medicina popular, e *Sassafras albidum* Nutt., muito utilizada na indústria farmacêutica, em perfumaria e também na indústria química (MARQUES, 2001).

O potencial econômico das espécies da família Lauraceae é descrito há muito tempo, e pode ser evidenciado pela exploração da espécie *Aniba roseadora* Ducke, conhecida por ser produtora de um óleo essencial com componente majoritário correspondente ao álcool terpênico linalol, que é utilizado na indústria de perfumes. O óleo essencial de pau-rosa, conforme representada na Figura 5, já foi relatado em terceiro lugar na pauta de exportação da Região Amazônica, com a borracha em primeiro e a castanha-do-Brasil em segundo lugar. Esta exploração demasiada para produção de óleo essencial fez com que essa espécie fosse levada próxima a extinção (MARQUES, 2001).⁷

Figura 5 – Óleo Essencial extraído das cascas de *A. rosaeodora*



O *Aniba roseadora* Ducke é uma árvore perene que ocorre predominantemente em áreas de terra firme, possui uma distribuição geográfica ampla, sendo encontrado em toda a bacia amazônica, nos estados brasileiros do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Roraima, e nas porções amazônicas da Guiana, Venezuela, Peru e Colômbia (DUCKE, 1938; SUDAM, 1972). Caracteriza-se por ser de grande porte, podendo atingir 30 metros de altura por 2 metros de diâmetro, possui tronco reto e cilíndrico e uma casca pardo-amarelada ou avermelhada, que se desprende facilmente em grandes placas. Ocupa o dossel intermediário ou superior da floresta, com sua copa estreita ou ovalada (KUBITZKI e RENNER, 1982). A floração ocorre de outubro a 23 fevereiro e a frutificação de novembro a março, período em que muda suas folhas (MAGALHÃES e ALENCAR, 1979).

A espécie de *Aniba rosaeodora* Ducke, possui como composto majoritário o linalol, podendo ser visualizada sua estrutura química na Figura 6, que é um monoterpene alcoólico e uma das substâncias mais importantes para a indústria de fragrâncias (VATANPARAST et al., 2017). A espécie de *A. rosaeodora* também é conhecida pelo seu potencial antimicrobiano, devido ao alto teor de linalol, o qual é possível atribuir sua atividade antimicrobiana (CANSIAN et al., 2010).

Figura 6- Linalol



Fonte – ALKHEMYLAB (2017)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

As amostras do caule de *A. rosaeodora* foram coletados na Reserva Florestal de Ducke do Parque Nacional Instituto de Pesquisas da Amazônia, localizado no Km 26 da Rodovia AM-010 (Manaus-Itacoatiara), no município de Manaus, Amazonas.

4.2 Local da pesquisa

Os materiais vegetais foram transportados ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais do Pavilhão Tecnológico (LOEPAV / UFMA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secos a temperatura de 29 °C dentro de um período máximo de sete dias. Posteriormente, sendo triturados e sua massa medida para cálculos de rendimento subsequentes.

4.3 Obtenção do óleo essencial (OE)

Para extração do OE, utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor conforme mostra a Figura 7.

Foram utilizadas 30g do caule seco de *A. rosaeodora*, adicionando-se água destilada (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o OE extraído. O OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicata e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetido as análises.

Figura 7 - Técnica de hidrodestilação.



Fonte – AUTOR (2020)

4.4 Caracterização físico-química do OE

As propriedades físico-químicas do OE foram determinadas em função dos parâmetros: densidade, solubilidade em etanol 70% (v/v), índice de refração, cor e aparência do óleo, utilizando as metodologias para óleos essenciais da Farmacopeia Brasileira (2019). A densidade do OE foi realizada utilizando-se um picnômetro de 1,0 mL, previamente seco, tarado e aferido, onde foram adicionados as amostras a 25°C, pesando-as em seguida. O rendimento do óleo essencial foi expresso na pela razão massa/volume, utilizando-se a formula descrita na quarta edição da Farmacopeia Brasileira (1996).

4.5 Análises Químicas

Os constituintes do OE foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 µL de diclorometano (pureza 99,9%). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3 µL; Coluna : Capilar HP-5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0 mL.min⁻¹; Injetor: 280 °C, modo Split (1:10); Forno : 40 °C (5,0 min.) até 240 °C numa taxa de 4 °C min⁻¹, de 240 °C até 300 °C (7,5 min) numa taxa de 8 °C.min⁻¹); t_T = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg scan⁻¹); Faixa de massas: 40 – 500 daltons (uma); Linha transferência: 280 °C.; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

4.6 Toxicidade

Este ensaio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque do OE na concentração de 10.000 mg L⁻¹ e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 µL desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente. O ensaio foi realizado em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio.

Para o controle do branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo K₂Cr₂O₇ e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade do OE, sendo considerado altamente tóxico quando CL₅₀ ≤ 80 mg L⁻¹, moderadamente tóxico para 80 mg L⁻¹ ≤ CL₅₀ ≤ 250 mg L⁻¹ e levemente tóxico ou atóxico quando CL₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹.

A análise estatística dos dados para o ensaio de toxicidade foi realizada de acordo com o método de Reed&Muench (1938), a partir da tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada, é construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de

animais mortos em cada log da concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL₅₀), pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos (COLEGATE; MOLYNEUX, 2007).

4.7 Atividade Antioxidante pelo Método ABTS

Determinou-se a atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)], de acordo com a metodologia sugerida por RE et al. (1999). O radical ABTS•⁺ foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução de 3840 µg mL⁻¹ de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio de 37.840 µg mL⁻¹, a mistura foi deixada em um ambiente escuro por 16 horas. Após formação radical, a mistura foi diluída em etanol até a absorção de 0,7±0,01 a 734 nm.

Tomando-se as concentrações do OE (5 a 150 µg mL⁻¹) preparou-se a mistura de reação com o cátion radical ABTS. Em um ambiente escuro, retirou-se uma alíquota de 30 µL de cada concentração do OE e transferiu-se para tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e posteriormente homogeneizou-se em um agitador de tubos e após 6 minutos, realizou-se a absorção da mistura de reação em espectrofotômetro de 734 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical ABTS de acordo com a Equação 1 (BABILI et al., 2011), onde Abs_{ABTS} representa a absorção da solução radical ABTS e Abs_{AM} representa a absorção de a amostra.

$$\% \text{Inhibition ABTS} = \frac{\text{Abs}_{\text{ABTS}} - \text{Abs}_{\text{AM}}}{\text{Abs}_{\text{ABTS}}} * 100 \quad (01)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE₅₀ e CE₉₀, definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais abts. O OE é considerado ativo quando apresenta CE₅₀ < 500 µg mL⁻¹ (Campos et al., 2003).

4.8 Atividade Antioxidante pelo Método DPPH

A atividade antioxidante total foi analisada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em sequestrar o radical estável DPPH•(2,2-difenil-1-picril-hidrazina), de acordo com Brand-Williams (1995). A quantificação da Atividade Antioxidante foi expressa

como média \pm desvio-padrão em $\mu\text{MTrolox.g}^{-1}$ extrato (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Com o intuito de determinar a capacidade antioxidante pelo método DPPH do OE utilizou-se a metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). O radical foi preparado pela dissolução de 3,94 mg de DPPH•(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) em 100 mL de etanol. A partir das concentrações dos OE's (5 a 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. 50 μL de EO foi misturado a 950 μL de etanol, 2 mL de solução radical DPPH, e completado até 4 mL com etanol, e novamente homogeneizado. A mistura foi deixada para reagir no escuro por 30 minutos e a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 517 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical DPPH de acordo com a Equação 2 adaptada de Babili et al. (2011), onde AbsDPPH representa a absorção da solução radical DPPH e ABSDPPH representa a absorção da amostra.

$$\% \text{InhibitionDPPH} = \frac{\text{ABS}_{\text{DPPH}} - \text{ABS}_{\text{AM}}}{\text{ABS}_{\text{DPPH}}} * 100 \quad (02)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE50 e CE90, definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. O OE é considerado ativo quando apresenta CE50% $<$ 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Campos et al., 2003).

4.9 Coleta dos ovos

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/ MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas de acordo com a Figura 8. Estas consistem de baldes marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com

ração de gato conforme a metodologia de Silva et al., (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

Figura 8 – Ovitampas.



Fonte – AUTOR (2020)

4.10 Atividade larvicida

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L^{-1} do OE sendo diluídas em solução de DMSO 2%. Desta solução, foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 90 mg L^{-1} . A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temefós (O,O,O',O'- tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno bis (fosforotioato) a 100 ppm, equivalente a concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle larvicida do vetor, além do Novaluron (\pm -1-[3-cloro-4-(1-1-3-trifluro-2-trifluoromethoxyethoxy) phenyl-3-(2,6-diflurobenzoyl) urea a $0,02 \text{ mg L}^{-1}$, dose adotada pelo ministério da Saúde, que indica pelo OMS no intervalo de 0,01 a $0,05 \text{ mg L}^{-1}$.

Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo que foram consideradas mortas, as larvas que não reagiram ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência do OE foi aplicado o teste estatístico de Probit (FINNEY, 1952).

(ARTIGO PUBLICADO)

Constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke

Chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of *Aniba rosaeodora* Ducke essential oil

Componentes químicos, toxicidad, potencial antioxidante y actividad larvicida contra las larvas de *Aedes aegypti* del aceite esencial *Aniba rosaeodora* Ducke

Recebido: 00/06/2020 | Revisado: 00/06/2020 | Aceito: 00/06/2020 | Publicado: 30/06/2020

Aline Medeiro Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6227-4566>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: alliny_ferreira@hotmail.com

Victor Elias Mouchrek Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-7292>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: victor.mouchrek@ufma.br

Nilton Silva Costa Mafra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5353-0596>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: nilton.mafra@hotmail.com

Everton Holanda Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-9103>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: everhs16@gmail.com

Paulo Sérgio Santos Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9628-5594>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: psjr08@gmail.com

Gustavo Oliveira Everton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: gustavooliveiraeverton@gmail.com

Resumo

Este estudo teve por objetivo determinar os constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke frente a larvas de *Aedes aegypti*. O óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação a 100 ° C por 3h. Os parâmetros físico-químicos foram determinados e a composição química foi obtida por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC / MS). A toxicidade foi realizada através do bioensaio de *Artemia salina* Leach. O ensaio ABTS e DPPH foram utilizados para avaliar a atividade antioxidante e para atividade larvicida submeteu-se larvas de *Aedes aegypti* a soluções do OE em concentrações de 10-100 mg L⁻¹, onde avaliou-se a mortalidade das larvas e determinou-se a CL₅₀ a partir do método de Reed Muech. O principal constituinte químico encontrado no EO de *A. rosaeodora* foi o β-linalool 63,16%, sendo considerado grande promissor para síntese farmacêutica. No ensaio de toxicidade, o LC₅₀ variou de 582 mg L⁻¹ a 282 mg L⁻¹, sendo classificado como não tóxico. O OE apresentou atividade larvicida com CL₅₀ de 41,07 mg L⁻¹ e atividade antioxidante relevante. De acordo com os resultados encontrados, foi possível avaliar que o OE analisado é composto por substâncias que possuem um bom efeito larvicida frente ao *Aedes aegypti*, incentivado assim seu potencial de aplicação.

Palavras-chave: *Aniba*; *Aedes*; Toxicidade.

Abstract

This study aimed to determine the chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity of the essential oil of *Aniba rosaeodora* Ducke against larvae of *Aedes aegypti*. The essential oil (EO) was extracted by hydrodistillation at 100 ° C for 3h. The physicochemical parameters were determined and the chemical composition was obtained by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC / MS). Toxicity was performed through the bioassay of *Artemia salina* Leach. The ABTS and DPPH assays were used to evaluate antioxidant activity and larvicidal activity was submitted to larvae of *Aedes aegypti* to EO solutions at concentrations of 10-100 mgL⁻¹, where the mortality of larvae was evaluated and LC₅₀ was determined using the Reed Muech method. The main chemical constituent found in the EO of *A. rosaeodora* was β-linalool 63.16%, being considered great promising for pharmaceutical synthesis. In the toxicity assay, LC₅₀ ranged from 582 mg L⁻¹ to 282 mgL⁻¹.

¹and was classified as non-toxic. The EO showed larvicidal activity with LC₅₀ of 41.07 mg L⁻¹ and relevant antioxidant activity. According to the results found, it was possible to evaluate that the OE analyzed is composed of substances that have a good larvicidal effect compared to *Aedes aegypti*, thus encouraging its application potential.

Keywords: *Aniba*; *Aedes*; Toxicity.

Resumen

Este estudio tenía como objetivo determinar los componentes químicos, toxicidad, potencial antioxidante y actividad larvicida del aceite esencial *Aniba rosaeodora* Ducke contra las larvas de *Aedes aegypti*. El aceite esencial (AE) fue extraído por hidrodestilación a 100oC durante 3h. Se determinaron los parámetros fisicoquímicos y la composición química se obtuvo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC / EM). La toxicidad se realizó a través del bioensayo de *Artemia salina* Leach. The ABTS and DPPH assays were used to evaluate antioxidant activity and larvicidal activity was submitted to Larvae of *Aedes aegypti* to EO solutions at concentrations of 10-100 mg L⁻¹, where the mortality of larvae was evaluated and CL₅₀ was determined from the Reed Muech method. The main chemical constituent found in the AE of *A. rosaeodora* was β-linalool 63.16%, being considered great promising for pharmaceutical synthesis. In the toxicity assay, CL₅₀ ranged from 582 mg L⁻¹ to 282 mg L⁻¹ and was classified as non-toxic. The AE showed larvicidal activity with LC₅₀ of 41.07 mg L⁻¹ and relevant antioxidant activity. According to the results found, it was possible to evaluate that the OE analyzed is composed of substances that have a good larvicidal effect against *Aedes aegypti*, thus encouraging its application potential.

Palabras clave: *Aniba*; *Aedes*, Toxicidad.

1. Introdução

O *Aedes aegypti* é o nome científico do mosquito transmissor de doenças comumente nomeadas por arboviroses como a dengue, febre amarela urbana, além da zika e da Chikungunya (Sritabutra; Soonwera 2013). A espécie possui origem africana, em 1955 foi erradicado da história do Brasil, porém devidos a falhas de cobertura e ações de controle, teve seu retorno em 1976, provavelmente por meio de fronteiras e portos. É importante salientar que a dengue está fortemente relacionada com variáveis meteorológicas. A variação sazonal da temperatura e da pluviosidade influenciam a dinâmica do vetor e a incidência da doença em todo o país (Viana; Ignotti, 2013). Nota-se maior ocorrência de casos dessa doença em regiões tropicais e subtropicais (Ootani et al., 2011; Veloso et al., 2015).

Nas últimas décadas, verificou-se que as doenças transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, principalmente a dengue, tem crescido de forma elevada no mundo inteiro. Há 12 anos a Organização Mundial de Saúde (OMS) já estimava que aproximadamente 1,3 milhões de indivíduos estariam em risco de serem contaminadas pelo vírus da dengue (Who, 2012). Atualmente, estima-se que dois quintos da população mundial, isto é, mais de 2,5 bilhões de pessoas estão sujeitas a serem infectadas pelo vírus da dengue e a OMS calcula que pode haver cerca de 50 milhões de infecções de dengue por ano mundialmente (Zara et al., 2016).

Segundo o Ministério Da Saúde (2019), foi declarado que em 2019, até a 12ª Semana Epidemiológica (30/12/2018 a 23/03/2019), foram registrados 273.193 casos prováveis de dengue no país, o qual teve um crescimento de aproximadamente 382% em relação ao mesmo período do ano de 2018 (71,525 mil).

Notificou-se também o crescimento acelerado nos casos de outras doenças advindas do *Aedes aegypti*, tais como a Zika e a Chikungunya (Silva et al., 2018). Vale ressaltar que mesmo com os avanços tecnológicos em busca por vacinas para essas doenças, apenas para a febre amarela existe uma vacina de longo prazo, aproximadamente 10 anos (Rothman, 2004). Sendo assim, o melhor método de controle é a prevenção, atacando seu vetor urbano (Govindaranja, 2013). O controle vetorial é realizado através da eliminação de locais para oviposição ou a eliminação das larvas (Coller, 2011).

Dentre os métodos empregados para controle das larvas, tem-se que o uso de inseticida organofosforado temefós constitui a principal medida adotada pelo Programa Nacional de Prevenção à Dengue no Brasil e pela Organização Mundial da Saúde (Carvalho et al., 2004; Crivelenti et al., 2011; Prophiro et al., 2011).

Todavia, segundo estudos realizados foram identificadas populações de mosquitos resistentes ao inseticida na Colômbia e também em diversos estados do Brasil, tais como Minas Gerais, Paraíba, Ceará e no Distrito Federal (Carvalho et al., 2004; Lima et al., 2006; Beserra et al., 2007; Maestres et al., 2009, Horta et al., 2011). Diante desse contexto surge então a necessidade de métodos alternativos, principalmente aqueles baseados em recursos naturais, sendo o inseticida devendo ser sustentável, ecologicamente correto, eficaz, possuir baixa toxicidade aos mamíferos e não devendo modificar de forma significativa as características da água (Dias; Moraes, 2014).

Como forma de proteção as plantas produzem metabólitos secundários como os flavonoides, alcaloides e terpenóides que coevoluem com os insetos e micro-organismos, tornando-se fontes naturais de substâncias inseticidas (Simões et al., 2010). Essas substâncias são conhecidas como óleos essenciais (OE's), produzidos no metabolismo secundário das

plantas, sendo uma boa fonte de materiais com ação inseticida, larvicida e repelente (Costa et al., 2005).

Entre as plantas com potenciais medicinais no Brasil e com estudos limitados destaca-se a *Aniba rosaeodora* Ducke, conhecido como pau rosa, pertence à família Lauraceae, descoberta no Brasil em 1925. A espécie é nativa da Amazônia e sua exploração para a extração de OE está em andamento desde 1911 (Azeredo, 1958). Possui como composto majoritário o linalol, que é um monoterpene alcoólico e uma das substâncias mais importantes para a indústria de fragrâncias (Vatanparast et al., 2017). A espécie de *A. rosaeodora* também é conhecida pelo seu potencial antimicrobiano, devido ao alto teor de linalol, o qual é possível atribuir sua atividade antimicrobiana (Cansian et al., 2010) porém possui poucos estudos com relação a atividade larvicida.

Tendo em vista a importância dos OE's e sua ampla aplicação o presente estudo visa determinar os constituintes químicos, toxicidade, atividade antioxidante e o potencial larvicida do óleo essencial de *A. rosaeodora* frente as larvas de *Aedes aegypti*, visando uma alternativa segura, ecologicamente viável e eficiente no combate e controle da população de *Aedes aegypti* no país.

2. Metodologia

2.1. Material vegetal

As amostras do caule de *A. rosaeodora* foram coletados na Reserva Florestal de Ducke do Parque Nacional Instituto de Pesquisas da Amazônia, localizado no Km 26 da Rodovia AM-010 (Manaus-Itacoatiara), no município de Manaus, Amazonas. Os materiais vegetais foram transportados ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV / UFMA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secos a temperatura ambiente dentro de um período máximo de sete dias. Posteriormente, sendo triturados e sua massa medida para cálculos de rendimento subsequentes.

2.2. Obtenção dos óleos essenciais (OE's)

Para extração dos OE's, utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor.

Foram utilizadas 30g do caule seco de *A. rosaeodora*, adicionando-se água destilada (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o OE extraído. Cada OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. Essas operações

foram realizadas em triplicata e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetido as análises.

2.3. Análises Químicas

Os constituintes dos OE's foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 µL de diclorometano (pureza 99,9%). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3 µL; Coluna : Capilar HP-5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0 mL.min⁻¹; Injetor: 280 °C, modo Split (1:10); Forno : 40 °C (5,0 min.) até 240 °C numa taxa de 4 °C min⁻¹, de 240 °C até 300 °C (7,5 min) numa taxa de 8 °C.min⁻¹); t_T = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg scan⁻¹); Faixa de massas: 40 – 500 daltons (uma); Linha transferência: 280 °C.; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

2.4. Toxicidade

Este ensaio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque de cada OE na concentração de 10.000 mg L⁻¹ e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 µL desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio.

Para o controle do branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo K₂Cr₂O₇ e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade dos OE's, sendo considerado altamente tóxico quando CL₅₀ ≤ 80 mg L⁻¹, moderadamente tóxico para 80 mg L⁻¹ ≤ CL₅₀ ≤ 250 mg L⁻¹ e levemente tóxico ou atóxico quando CL₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹. A análise estatística dos dados para o ensaio de toxicidade foi realizada de acordo com o método de Reed&Muench (1938), a partir da tabela contendo os dados de mortalidade para cada

concentração testada, é construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada log da concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL₅₀), pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos (Colegate; Molyneux, 2007).

2.5. Atividade Antioxidante pelo Método ABTS

Determinou-se a atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)], de acordo com a metodologia sugerida por RE et al. (1999). O radical ABTS•+ foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução de 3840 µg mL⁻¹ de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio de 37.840 µg mL⁻¹, a mistura foi deixada em um ambiente escuro por 16 horas. Após formação radical, a mistura foi diluída em etanol até a absorção de 0,7±0,01 a 734 nm.

Tomando-se as concentrações do OE (5 a 150 µg mL⁻¹) preparou-se a mistura de reação com o cátion radical ABTS. Em um ambiente escuro, retirou-se uma alíquota de 30 µL de cada concentração do OE e transferiu-se para tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e posteriormente homogeneizou-se em um agitador de tubos e após 6 minutos, realizou-se a absorção da mistura de reação em espectrofotômetro de 734 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical ABTS de acordo com a Equação 1 (Babili et al., 2011), onde Abs_{ABTS} representa a absorção da solução radical ABTS e Abs_{AM} representa a absorção de a amostra.

$$\% \text{Inhibition ABTS} = \frac{\text{ABS}_{\text{ABTS}} - \text{ABS}_{\text{AM}}}{\text{ABS}_{\text{ABTS}}} * 100 \quad (01)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE₅₀ e CE₉₀, definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais abts. O OE é considerado ativo quando apresenta CE₅₀ < 500 µg mL⁻¹ (Campos et al., 2003).

2.6. Atividade Antioxidante pelo Método DPPH

A atividade antioxidante total foi analisada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em sequestrar o radical estável DPPH•(2,2-difenil-1-picril-hidrazina), de acordo com Brand-Williams (1995). A quantificação da Atividade Antioxidante foi expressa

como média \pm desvio-padrão em $\mu\text{MTrolox.g}^{-1}$ extrato (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Com o intuito de determinar a capacidade antioxidante pelo método DPPH do OE utilizou-se a metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). O radical foi preparado pela dissolução de 3,94 mg de DPPH•(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) em 100 mL de etanol. A partir das concentrações dos OE's (5 a 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. 50 μL de EO foi misturado a 950 μL de etanol, 2 mL de solução radical DPPH, e completado até 4 mL com etanol, e novamente homogeneizado. A mistura foi deixada para reagir no escuro por 30 minutos e a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 517 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical DPPH de acordo com a Equação 2 adaptada de Babili et al. (2011), onde AbsDPPH representa a absorção da solução radical DPPH e ABSDPPH representa a absorção da amostra.

$$\% \text{InhibitionDPPH} = \frac{\text{ABS}_{\text{DPPH}} - \text{ABS}_{\text{AM}}}{\text{ABS}_{\text{DPPH}}} * 100 \quad (02)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE50 e CE90, definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. O OE é considerado ativo quando apresenta CE50% < 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Campos et al., 2003).

2.7. Coleta dos ovos

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/ MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem de baldes marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva et al., (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

2.8. Atividade larvicida

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L⁻¹ de cada um dos OE's sendo diluídas em solução de DMSO 2%. Desta solução, foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 90 mg L⁻¹. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temefós (O,O,O',O'- tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno bis (fosforotioato) a 100 ppm, equivalente a concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle larvicida do vetor, além do Novaluron (\pm -1-[3-cloro-4-(1-1-3-trifluro-2-trifluoromethoxyethoxy) phenyl-3-(2,6-diflurobenzoyl) urea a 0,02 mg L⁻¹, dose adotada pelo ministério da Saúde, que indica pelo OMS no intervalo de 0,01 a 0,05mg L⁻¹.

Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo que foram consideradas mortas, as larvas que não reagiram ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência dos OE's foi aplicado o teste estatístico de Probit (Finney, 1952).

3. Resultados e Discussão

3.1. Perfil químico

Os parâmetros físico-químicos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do OE de *A. rosaeodora*.

Parâmetros físico-químicos	OE de <i>A. rosaeodora</i>
Densidade (g mL ⁻¹)	0,8660
Solubilidade (EtOH 70%)	1:2
Cor	Amarelo
Índice de refração (nD 25°C)	1,4660
Rendimento (%)	1,87

Fonte: Autores, 2020

Na Tabela 1 foi observado um rendimento de 1,87% no OE de *A. rosaeodora*. Este valor mostrou-se superior ao resultado encontrado por May et al. (2004) e Lara (2012) onde relatam que o rendimento do OE de *A. rosaeodora* pode variar de 1 a 1,2%. Contudo, segundo Takeda (2008) o rendimento do OE *A. rosaeodora* varia de 2,24% para os galhos e 3,37% para as folhas em plantio de cinco anos, tornando-os potenciais para produção industrial. Vale salientar que

no presente estudo, o OE foi extraído do caule e apresentou rendimento satisfatório, o que incentiva sua extração e aplicação.

A Tabela 2 apresenta os constituintes identificados no OE de *A. rosaeodora*.

Tabela 2: Constituintes químicos identificados no OE de *A. rosaeodora*

Pico	¹ tr (min)	COMPOSTO (NIST 08)	%
2	8,797	α -pinene	2,50
6	9,671	2,2,6-trimethyl-6-vinyltetrahydropyran	4,52
11	10,896	d-limonene	4,00
12	10,960	Eucalyptol	2,80
16	11,698	trans-furan linalool oxide	9,73
17	11,988	cis-furan linalool oxide	7,69
18	12,268	β -linalool	63,16
Outros			5,6

Nota: ¹tr: Tempo de retenção dos compostos na coluna em minutos; **Fonte:** Autores, 2020

As substâncias identificadas na CG/EM estão contidas na Tabela 2, é possível destacar o β -linalool como sendo o composto majoritário (63,15%), seguido por trans-furan linalool oxide (9,73%) e cis-furan linalool oxide (7,69%).

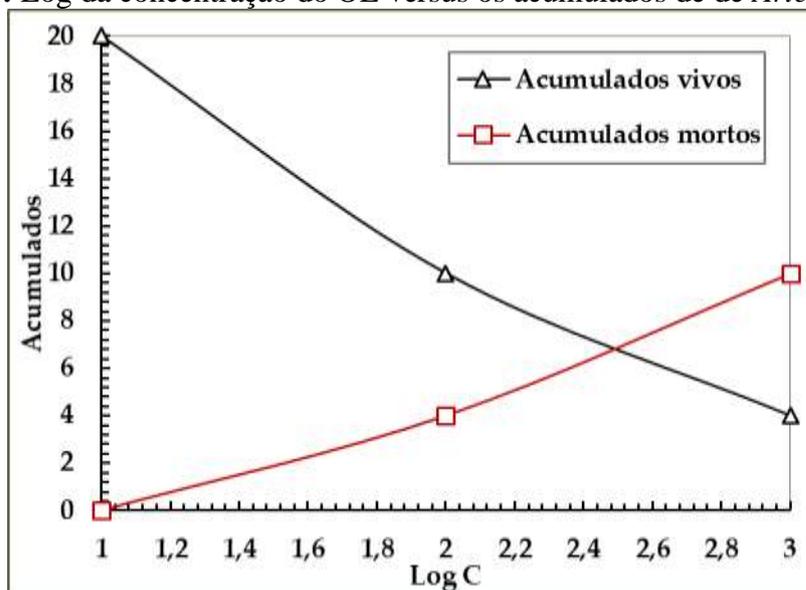
Essas informações estão de acordo com as encontradas na literatura destacada por Teles et al., (2015) e Cunha et al. (2011), que encontraram também um elevado teor de linalol (89,34%). Cunha et al. (2011) ressaltam que a influência sazonal pode interferir no teor de linalol presente nas folhas e galhos do EO de *A. rosaeodora*.

A influência sazonal pode ser comprovada pelo estudo realizado por Pimentel et al., (2018), onde analisaram o OE extraído de folhas e galhos de *A. rosaeodora* coletados nas estações chuvosa e seca, os quais apresentaram quantificação e diferenças qualitativas nas composições químicas. A quantificação por padrão externo mostrou maior concentração de linalol no período chuvoso ($74,4 \pm 3,9\%$ nas folhas e $81,8 \pm 5,7\%$ nos galhos) do que no período seco ($47,5 \pm 2,2$ nas folhas e $49,2 \pm 1,6\%$ nos ramos), encontrou-se ainda a presença de 15 compostos no OE das folhas durante a estação chuvosa, enquanto o OE dos galhos continha 11 compostos. Confirmando a presença de um número satisfatório de constituintes químicos presente neste OE. No presente trabalho, foi possível encontrar 28 compostos, sendo condizente com a literatura.

3.2.Toxicidade

A Figura 1 apresenta a curva acumulada de mortos e vivos de *Artemia salina* versus logaritmo da concentração diante da ação do OE.

Figura 1: Log da concentração do OE versus os acumulados de de *Artemia salina*



Fonte: Autores, 2020

De acordo com a Figura 1, é possível observar a interseção das curvas em 2,45 e CL_{50} em $282 \text{ mg L}^{-1} \pm 2,95 \text{ mg L}^{-1}$ e segundo Dolabela (1997) é classificado como não tóxico. Os estudos na literatura referentes a toxicidade pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach frente ao OE de *A. rosaeodora* ainda se encontram escassos e pouco divulgados.

Logo, os resultados referentes à toxicidade foram comparados a estudos que apresentam o linalol como componente majoritário. Ramos et al. (2017) utilizaram a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) e identificaram o linalol (51,8%) como componente majoritário do OE de *Mentha piperita* e na avaliação da toxicidade pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach obtiveram a CL_{50} $414,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ classificando o OE como atóxico.

A composição química correlaciona o composto majoritário linalol como atóxico sendo empregado na área médica, justificando o resultado encontrado da classificação do mesmo. Fujiwara et al. (2017) verificaram a toxicidade do linalol pelo bioensaio de toxicidade preliminar in vitro de *Artemia salina* obtendo a CL_{50} $275,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ classificando o composto linalol como atóxico.

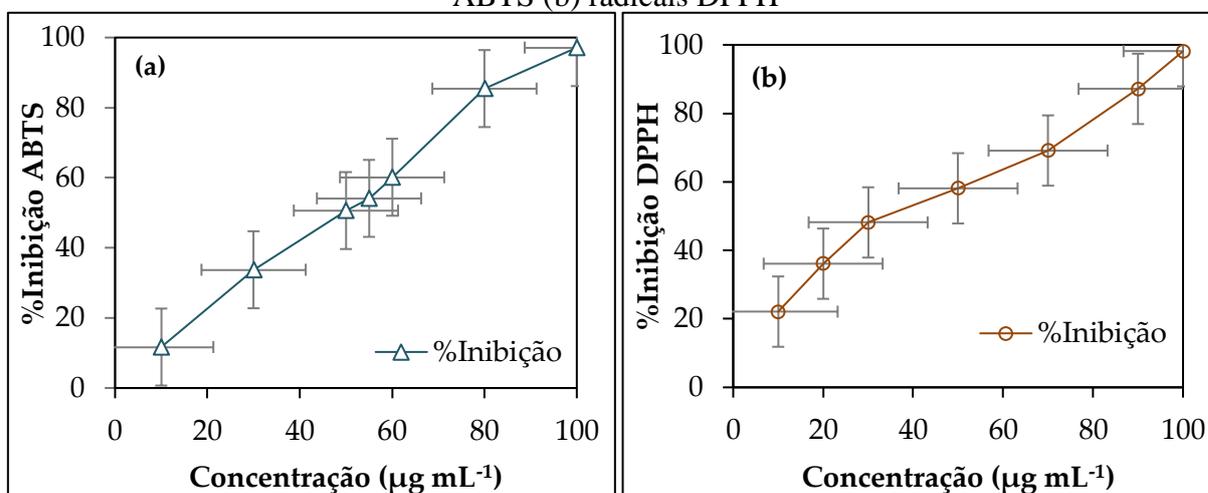
Resultados semelhantes também foram observados por Brasil et al. (2009) ao analisarem o OE da casca de tronco de *Croton palanostigma*, cujo o linalol era o componente majoritário

e através do bioensaio de *Artemia salina* verificaram uma CL_{50} $371 \mu\text{g mL}^{-1}$, confirmando atoxicidade do OE utilizado. Goel et al. (2019) afirmam que o linalol é atóxico, confirmando assim a aplicabilidade como ferramenta para manipulação em células cancerígenas, por apresentar um efeito citostático (Rodenak-Kladiniew et al., 2018). Assim pode-se afirmar que os OE's atóxicos também podem ter uma relativa eficiência em propriedades antimicrobianas em contraste ao que foi afirmado por Macbae et al. (1988), onde os autores afirmam que quanto maior a toxicidade melhores serão as propriedades antimicrobianas do OE.

3.3. Atividade Antioxidante

A Figura 2 mostra a representação gráfica que relaciona a concentração de OE em $\mu\text{g L}^{-1}$ e a porcentagem de inibição do radical ABTS e DPPH. As equações das retas obtidas pelo teste ABTS (Figura 1a) foram $y = 0,9692x + 2,8203$ ($R^2 = 0,9917$) e para o teste DPPH (Figura 2b), as equações das linhas foram $y = 0,7693x + 19,184$ ($R^2 = 0,9817$). A partir dessas equações, calculou-se os respectivos valores da concentração efetiva (CE_{50} e CE_{90}).

Figura 2: Concentração do OE de *A. rosaeodora* versus a inibição percentual de (a) radicais ABTS (b) radicais DPPH



Fonte: Autores, 2020

Os resultados dos cálculos dos potenciais antioxidantes de OE de *A. rosaeodora* descritos na Tabela 3, foram interpretados com base na concentração eficiente CE_{50} e CE_{90} , em mg L^{-1} . A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a capacidade antioxidante dos OE.

Tabela 3: Capacidade antioxidante do OE quantificada em CE₅₀ e CE₉₀

EO	Metodo	IC ₅₀ mg L ⁻¹	IC ₉₀ mg L ⁻¹
<i>A. rosaeodora</i>	ABTS	48,67	89,94
	DPPH	40,06	92,05

Fonte: Autores, 2020

Segundo Sousa et al. (2007), quanto menor o valor de CE₅₀, maior a atividade antioxidante do composto vegetal, pois é necessária uma menor concentração de óleo para reduzir o radical DPPH e ABTS em 50%. Assim, ao analisar a Tabela 4, verificou-se que o OE de *A. rosaeodora* apresentou melhor atividade antioxidante pelo método DPPH no CE₅₀.

Em busca de literatura, não foi possível encontrar estudos sobre a atividade antioxidante do OE de *A. rosaeodora* o que ressalta a importância deste trabalho. Entretanto, foi possível encontrar estudos que relatam o composto majoritário do OE *A. rosaeodora* (linalol) como agente antioxidante. Segundo estudos realizados por Sepahvand et al., (2014), encontraram no OE de *Salvia sclareoides* os compostos majoritários Linalol (27,6%) e β-cariofileno (16,6%), os quais apresentaram boa atividade antioxidante no Teste de DPPH e propriedades antibacterianas.

Posteriormente, Jabir et al. (2018) estudaram de forma isolada o monoterpeno linalol, principal constituinte do OE de *A. rosaeodora*, quanto a atividade antioxidante, pelos métodos DPPH e Peróxido de Hidrogênio, e obtiveram bons resultados quando comparados ao antioxidante padrão. A atividade antioxidante dos terpenos pode ser atribuída à presença de ligações duplas conjugadas, por um mecanismo de quebra de cadeia, para a remoção de radicais livres (Wojtunik, et al., 2014), sendo definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo atuar em alimentos ou sistemas biológicos (Sousa et al., 2007; Alves et al., 2010).

3.4. Atividade Larvicida

De acordo com vários estudos realizados mundialmente pode-se destacar que alguns OE's de plantas não têm apenas a capacidade de repelir insetos, mas apresentam também ação inseticida através do contato direto ou pelas vias respiratórias dos insetos (Corrêa; Salgado, 2011) e a atividade larvicida no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti* do OE de *A. rosaeodora* e os dados obtidos por meio do ensaio de concentrações estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4: Atividade larvicida do OE de *A. rosaeodora*

Log da concentração	n	Mortos	CL ₅₀	Σ	χ ²	R ²
1,48	20	6				
1,60	20	10				
1,70	20	12	41,07			
1,85	20	16	(33,37-50,56)	0,2480	0,9980*	0,9840
1,90	20	18				
2,00	20	20				

Onde:*= não significativo, indica bom ajuste de curva; n= números de indivíduos por solução; σ= desvio padrão; χ²= chi quadrado; R²= coeficiente de linearidade;

Fonte: Autores, 2020

Segundo Dias&Moraes (2014), o potencial larvicida é classificado de acordo com os critérios baseados na concentração letal (CL), os OE's que obtém CL₅₀ >100mg L⁻¹, são considerados não ativos, os que obtém CL₅₀ <100 mg L⁻¹ são considerados ativos e os que obtém CL₅₀ <50mg/L são altamente ativos. Desta forma, o OE de *A. rosaeodora* mostrou ação larvicida altamente eficiente, por manter a CL₅₀ abaixo dos 50 mg L⁻¹, incentivando seu potencial e uso.

De acordo com os resultados obtidos, é possível observar o potencial larvicida presente no OE de *A. rosaeodora*. O bioensaio não apresentou a formação de pupa ou até mesmo qualquer intermediário, apenas resultou na eliminação total das larvas. Tem-se ainda que os ensaios de controle não resultaram em mortalidade, o qual pode-se indicar os efeitos inócuos do solvente. O OE de *A. rosaeodora* é conhecido pelo seu alto teor de linalol, o qual possui diversas atividades biológicas, dentre elas a ação larvicida. O linalol é um exemplo de um terpenóide que opera em conjunto com outros compostos no sistema colinérgico de insetos, promovendo a rápida quebra do sistema nervoso. (Pandey et al., 2013).

Em estudos realizados por Knio et al., (2008), esses autores ao estudarem os compostos majoritários das principais ervas usadas no Líbano contra *Ochelerotatus caspius* que foram: timol, sabineno, carvacol, anetol e linalol, determinaram que todos os compostos estudados mostraram fortes propriedades larvicidas. Mais recente, estudos realizados por Tabari et al., (2017) sobre a toxicidade do OE de *Pelargonium roseum* e dos compostos isolados: β-citronelol, geraniol e linalol em adultos, larvas e ovos de *C. pipens*, concluíram que os compostos possuem boa ação larvicida e ovicida, uma atividade mais branda contra adultos, apresentando ao final, maior toxidade para o geraniol e menor para o linalol.

Estudo químico de uma das espécies do gênero *Aniba*, mostraram que os compostos isolados exibiram elevada atividade larvicida sobre a espécie de mosquito *Aedes aegypti*. Segundo Teles et al., (2017) ao analisarem a atividade larvicida do OE de *Aniba duckei* Kostermans, para os padrões de linalol (dl-linalol e l-linalol), componente principal do óleo essencial de *Aniba duckei* Kostermans, tem-se que o l-linalol matou 100% das larvas em concentrações mais baixas, de 350 µg mL⁻¹, onde o óleo sozinho atingiu apenas 100% a 400 µg mL⁻¹ e o dl-linalol não atingiu esse nível na faixa de concentração analisada. Assim, concluíram que o linalol responsável pela atividade larvicida deve ser o l-linalol.

Vale ressaltar que o potencial tóxico de OE's e os seus componentes contra o *Aedes aegypti* pode variar significativamente de acordo com os fatores intrínsecos e extrínsecos, espécies de plantas, partes de plantas, idade de fabricação, quimiotipos e as condições geográficas (tal como temporada de ocorrência, precipitação, porcentagem de umidade, temperatura, luz solar, e altitude), em que a planta foi recolhida, a fonte de larvas, e os métodos utilizados, em geral, para induzir diferentes respostas larvais (Dias&Moraes, 2014).

4. Considerações Finais

Portanto, através dos resultados obtidos, foi possível classificar o OE de *A. rosaeodora* como não tóxico, pois obteve-se a variação da LC₅₀ em torno de 582 mg L⁻¹ e 282 mg L⁻¹, determinou-se o linalol (63,16%) como sendo o composto majoritário e grande promissor nos resultados da ação antioxidante e ainda apresentou-se ação larvicida altamente eficiente, por manter a CL₅₀ abaixo dos 50 mg L⁻¹, o valor da CL₅₀ encontrado foi de 41,07 mg L⁻¹. Com base nesses resultados, conclui-se que o OE de *A. rosaeodora* é composto por substâncias que propiciam e incentivam sua aplicação em virtude de seus potenciais para atividade biológica larvicida.

Referências

Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., & Aguiar, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, 33(10), 2202-2210.

Azeredo, O. B. (1958). Instituto de Óleos, Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas. Ministério da Agricultura, 15, 137.

Beserra, E. B., Fernandes, C. R., de Queiroga, M. D. F., & Castro Jr, F. P. D. (2007). Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology*, 36(2), 303-307.

Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & Myers, M. F. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504-507.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brasil, D. D. S. B., Muller, A. H., Guilhon, G. M. S., Alves, C. N., Andrade, E. H. A., Silva, J. K. R. D., & Maia, J. G. (2009). Essential oil composition of *Croton palanostigma* Klotzsch from north Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(6), 1188-1192.

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.

Cansian, R. L., Mossi, A. J., Oliveira, D. D., Toniazzo, G., Treichel, H., Paroul, N., & Serafini, L. A. (2010). Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). *Food Science and Technology*, 30(2), 378-384.

Carvalho, M. D. S. L. D., Caldas, E. D., Degallier, N., Vilarinhos, P. D. T. R., Souza, L. C. K. R. D., Yoshizawa, M. A. C., & Oliveira, C. D. (2004). Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. *Revista de Saúde Pública*, 38, 623-629.

Coller, B. A. G., & Clements, D. E. (2011). Dengue vaccines: progress and challenges. *Current opinion in immunology*, 23(3), 391-398.

Corrêa, J. C. R., & Salgado, H. R. N. (2011). Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(4), 500-506

Costa, J. G. M., Rodrigues, F. F. G., Angélico, E. C., Silva, M. R., Mota, M. L., Santos, N. K. A., & Lemos, T. L. G. (2005). Chemical-biological study of the essential oils of *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* and *Syzigium aromaticum* against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Rev Bras Farmacogn*, 15(4), 304-9.

Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2007). *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. CRC press.

Crivelenti, L. Z., Guilherme, L. C., Morelli, S., & Borin, S. (2010). Toxicidade do inseticida Organofosforado Abate® em alevinos de *Poecilia reticulata*. *Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

Cunha, L.C. N. (2011). Influência sazonal no teor de linalol do óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans cultivada em ambiente natural na reserva florestal Ducke. *Ciência e Natura*, 33(1), 7-15.

Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides. *Parasitology research*, 113(2), 565-592.

Dolabela, M. F. (1997). Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti *Trypanossoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Master's Degree dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

Forattini, O. P. (1962). *Entomologia medica vol. I* Faculdade de Higiene e Saude Publica. Sao Paulo, Brazil. pp.

Fujiwara, G. M., Annies, V., de Oliveira, C. F., Lara, R. A., Gabriel, M. M., Betim, F. C., & Miguel, M. D. (2017). Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 139, 238-244.

Goel, T., Wang, R., Martin, S., Lanphear, E., & Collins, E. M. S. (2019). Linalool acts as a fast and reversible anesthetic in *Hydra*. *PloS one*, 14(10).

- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M., & Yogalakshmi, K. (2013). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology*, 134(1), 7-11.
- Horta, M. A. P., Castro, F. I., Rosa, C. S., Daniel, M. C., & Melo, A. L. (2011). Resistance of *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae) to temephos in Brazil: a revision and new data for Minas Gerais state. *BioAssay*, 6.
- Jabir, M. S., Taha, A. A., & Sahib, U. I. (2018). Antioxidant activity of Linalool. *Engineering and Technology Journal*, 36(1 Part (B) Scientific), 64-67.
- Knio, K. M., Usta, J., Dagher, S., Zournajian, H., & Kreydiyyeh, S. (2008). Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresource technology*, 99(4), 763-768.
- Lara, C. S. (2012). Produção e variabilidade química do óleo essencial de folhas e galhos finos de pau-rosa (*Aniba roseadora* Ducke.) em duas populações naturais localizadas na Amazônia Central.
- Lima, E. P., Oliveira Filho, A. M. D., Lima, J. W. D. O., Ramos Júnior, A. N., Cavalcanti, L. P. D. G., & Pontes, R. J. S. (2006). Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39(3), 259-263.
- MacBae, W. D., Hudson, J. B., & Towers, G. H. N. (1988). Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(2), 143-172.
- Maestres, R., Rey, G., de las Salas, J., Vergara, C., Santacoloma, L., & Goenaga, S. (2009). Susceptibility of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to temephos in Atlántico-Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(2), 202-205.
- May, P. H., & Barata, L. E. (2004). Rosewood exploitation in the Brazilian Amazon: options for sustainable production. *Economic Botany*, 58(2), 257-265.

Mesquita Teles, R.D., Filho, V. E. M., & de Souza, A. G. (2017). Chemical Characterization and Larvicidal Activity of Essential Oil from *Aniba duckei* Kostermans against *Aedes aegypti*. *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res*, 3(6), 1495-1499.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.

Ministério Da Saúde, B. (2019). boletim epidemiológico ministério da saúde. Acesso em 14 Junho de 2020, em <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/abril/30/2019-013-Monitoramento-dos-casos-de-arboviroses-urbanas-transmitidas-pelo-Aedes-publicacao.pdf>

Ootani, M. A., Ramos, A. C. C., de Azevedo, E. B., de Oliveira Garcia, B., dos Santos, S. F., & de Sousa Aguiar, R. W. (2011). Avaliação da toxicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para *Aedes aegypti* Linneus,(Díptera: Culicidae). *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 37-43.

Pandey, S. K., Tandon, S., Ahmad, A., Singh, A. K., & Tripathi, A. K. (2013). Structure activity relationships of monoterpenes and acetyl derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Pest management science*, 69(11), 1235-1238.

Pimentel, R. B., Souza, D. P., Albuquerque, P. M., Fernandes, A. V., Santos, A. S., Duvoisin Jr, S., & Gonçalves, J. F. (2018). Variability and antifungal activity of volatile compounds from *Aniba rosaeodora* Ducke, harvested from Central Amazonia in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 123, 1-9.

Prophiro, J. S., Silva, O. S., Luna, J. E. D., Piccoli, C. F., Kanis, L. A., & Silva, M. A. N. da. (2011). *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(3), 300-305.

Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American journal of epidemiology*, 27(3), 493-497.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Rodenak-Kladniew, B., Castro, A., Stärkel, P., De Saeger, C., de Bravo, M. G., & Crespo, R. (2018). Linalool induces cell cycle arrest and apoptosis in HepG2 cells through oxidative stress generation and modulation of Ras/MAPK and Akt/mTOR pathways. *Life sciences*, 199, 48-59.

Rothman, A. L. (2004). Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *The Journal of clinical investigation*, 113(7), 946-951.

Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Veiskarami, G. H., & Ghasemian-Yadegari, J. (2014). Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S491-S496.

Silva, H. H. G. D., Silva, I. G. D., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae).

Silva, W. J. D. (2006). Atividade larvívica do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.

Silva, N. M. D., Teixeira, R. A. G., Cardoso, C. G., Siqueira Junior, J. B., Coelho, G. E., & Oliveira, E. S. F. D. (2018). Vigilância de chikungunya no Brasil: desafios no contexto da Saúde Pública. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 27, e2017127.

Silva Ramos, R., Rodrigues, A. B., Farias, A. L., Simões, R. C., Pinheiro, M. T., Ferreira, R. M., Costa Barbosa, L. M., Picanço Souto, R. N., Fernandes, J. B., Santos, L. D., & de Almeida, S. S. (2017). Chemical Composition and *In Vitro* Antioxidant, Cytotoxic, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). *TheScientificWorldJournal*, 2017,4927214.

Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., & Pedrovick, P. R. (2010). Farmacognosia: da planta ao medicamento [Pharmacognosy: from the Plant to the Drug]. UFRGS: Porto Alegre, Barzil.

Sritabutra, D., & Soonwera, M. (2013). Repellent activity of herbal essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(4), 271–276. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60069-9](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60069-9)

Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. D., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., ... & Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química nova*, 30(2), 351-355.

Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Maggi, F., & Benelli, G. (2017). Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary parasitology*, 245, 86-91

Takeda, P. S. (2008). Avaliação de biomassa e óleo de rebrotas de galhos e folhas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em plantios comerciais submetidos à poda e adubação. Dissertação de Mestrado, INPA/UFAM.

Tamm, L., Thürig, B., Fliessbach, A., Goltlieb, A. E., Karavani, S., & Cohen, Y. (2011). Elicitors and soil management to induce resistance against fungal plant diseases. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 58(3-4), 131-137.

Teixeira, M. D. G., & Barreto, M. L. (1996). Porque devemos, de novo, erradicar o *Aedes aegypti*. *Ciência & Saúde Coletiva*, 1, 122-136.

Teles, R. D. M., Filho, V. E. M., & Mouchrek, A. N. (2015). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Aniba duckei* Kosterman.

Vatanparast, J., Bazleh, S., & Janahmadi, M. (2017). The effects of linalool on the excitability of central neurons of snail *Caucasotachea atrolabiata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 192, 33-39

Veloso, R. A., de Castro, H. G., Cardoso, D. P., Chagas, L. F. B., Freitas, A., & Júnior, C. (2015). Óleos essenciais de manjeriço e capim citronela no controle de larvas de *Aedes aegypti*. Essential oils of basil and citronella grass in the control of larvae of *Aedes aegypti*. *Revista Verde (Pombal-PB-Brasil)* v, 10(2), 101-105.

Viana, D. V.; Ignotti, E. (2013). A ocorrência da dengue e variações meteorológicas no Brasil: revisão sistemática. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 16(2), 240-256. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2013000200002>

Wojtunik, K. A., Ciesla, L. M., & Waksmundzka-Hajnos, M. (2014). Model studies on the antioxidant activity of common terpenoid constituents of essential oils by means of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(37), 9088-9094.

World Health Organization. (2012). Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020.

Zara, A. L. D. S. A., Santos, S. M. D., Fernandes-Oliveira, E. S., Carvalho, R. G., & Coelho, G. E. (2016). Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25, 391-404.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Aline Medeiro Ferreira– 20%

Victor Elias Mouchrek Filho – 20%

Nilton Silva Costa Mafra– 13,3%

Everton Holanda Sales– 13,3%

Paulo Sérgio Santos Júnior – 13,3%

Gustavo Oliveira Everton– 20%

5 CONCLUSÃO

Portanto, através dos resultados obtidos e o critério utilizado, foi possível classificar o OE de *A. rosaeodora* como não tóxico, pois obteve-se a variação da CL_{50} em torno de 582 mg L^{-1} e 282 mg L^{-1} . É necessário que se conheça os potenciais tóxicos dos produtos naturais, para que se possa aplicá-los de forma segura.

Determinou-se o linalol (63,16%) como sendo o composto majoritário e grande promissor nos resultados da ação antioxidante e ainda apresentou ação larvicida altamente eficiente, pois o critério utilizado considera bons agentes larvicidas as substâncias que mantêm a CL_{50} abaixo dos 50 mg L^{-1} e o valor da CL_{50} encontrado foi de 41,07 mg L^{-1} .

Com base nesses resultados, conclui-se que o OE de *A. rosaeodora* é composto por substâncias que propiciam e incentivam sua aplicação em virtude de seus potenciais para atividade biológica larvicida.

REFERÊNCIAS

ABDELLATIF, F.; HASSANI, A. Chemical composition of the essential oils from leaves of *Melissa officinalis* extracted by hydrodistillation, steam distillation, organic solvent and microwave hydrodistillation. **Journal of Materials and Environmental Science**, v. 6, n. 1, p. 207-213, 2015.

AMAZONAS, G. **Amazonas tem 12 cidades em alerta ou risco para surto de dengue, zika e chikungunya**. Disponível em: <<https://g1.globo.com/am/amazonas/noticia/2018/12/12/amazonas-tem-12-cidades-em-alerta-ou-risco-para-surto-de-dengue-zika-e-chikungunya.ghtml>>. Acesso em: 28 jun. 2020.

ANSANTE, T. F. **Metabólitos secundários de Annonaceae: triagem, fracionamento biomonitorado e bioatividade frente a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Universidade de São Paulo, 2014.

AZEREDO, O. B. Instituto de Óleos, Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agrônomicas. Ministério da Agricultura, v. 15, p. 137, 1958.

BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L.; *Sistemática de Angiosperma do Brasil*. V. 1, 2^o Edição, EDUSP, p. 255, São Paulo, 2002.

BESERRA, E. B., FERNANDES, C. R., DE QUEIROGA, M. D. F., CASTRO JR, F. P. D. Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology*, v. 36, n. 2, p. 303-307, 2007.

BHATT, S., GETHING, P. W., BRADY, O. J., MESSINA, J. P., FARLOW, A. W., MOYES, C. L., MYERS, M. F. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504-507, 2013.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113–118, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. de M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do

Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciênc. Saúde coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.

CAMARGO, M. F. P. D. **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá ('Passiflora edulis') e óleo essencial de lavanda ('Lavandula officinalis') e avaliação da atividade antiinflamatória tópica**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2008.

CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J.; OLIVEIRA, D. D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; SERAFINI, L. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). **Food Science and Technology**, v. 30, n. 2, p. 378-384, 2010.

CARVALHO, M. D. S. L. D.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. D. T. R.; SOUZA, L. C. K. R. D.; YOSHIKAWA, M. A. C.; OLIVEIRA, C. D. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 623-629, 2004.

CHAAR, J. S. **Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie Aniba Duckei Kostermans**. 2000. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

COLLER, B. A. G.; CLEMENTS, D. E. Dengue vaccines: progress and challenges. **Current opinion in immunology**, v. 23, n. 3, p. 391-398, 2011.

COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. J. (EDS.). **Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination**. CRC press, 2007.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; SILVA, M. R.; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; LEMOS, T. L. G. Chemical-biological study of the essential oils of *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* and *Syzygium aromaticum* against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, n. 4, p. 304-9, 2005.

CRAGG G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013.

CRIVELENTI, L. Z.; GUILHERME, L. C.; MORELLI, S.; BORIN, S. Toxicidade do inseticida Organofosforado Abate® em alevinos de *Poecilia reticulata*. **Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.

DI STASI, L.C. Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. **São Paulo: UNESP**, 1996.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides. **Parasitology research**, v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014.

DOLABELA, M. F. Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti *Trypanosoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. **Master's Degree dissertation**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, 1997.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Entomological Surveillance and Control of Dengue Fever Vectors. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259–272, 2002.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259-279, 2002.

DUCKE, A. **lauráceas aromáticas da Amazônia brasileira**. In: Anais da Reunião Sul-Americana de Botânica. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, v. 1, p. 55–65, 1938

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G.P.C.; SANTOS, M.A.C.; SIQUEIRA, I.R.; AMADOR, T.A. Sedative properties of linalool. **Fitoterapia**, v. 66, p. 407–414, 1995.

ELISABETSKY, E.; BRUM, L. F. S.; SOUZA, D.O. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. **Phytomedicine**, v. 6, n. 2, p. 107-113, 1999.

ESTEVES-PEDRO, N. M. **Avaliação in vitro da toxicidade de óleos essenciais da flora Latino-americana candidatos ao uso em cosméticos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2013.

EVANS, W.C. **Trease and Evans' Pharmacognosy**. Edinburgh: Saunders – Elsevier, v. 1, p. 106–116, 2009.

FARMACOPÉIA, ANDVS, 2010. Farmacopeia Brasileira. **Farmacopeia Brasileira**, v. 6, 2010.

FORATTINI, O. P. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, n. 1, p. 157–158, 1995.

FORATTINI, O. P. Entomologia medica vol. I Faculdade de Higiene e Saude Publica. **São Paulo, Brazil. pp**, 1962.

FORATTINI, O. P. Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia, v. 2, p. 860-860, 2002.

FREIRE, J. M. Oleos essenciais de canela, manjerona e anis-estrelado: caracterização química e atividade biológica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, Larvas, Universidade Federal de Lavras, 2008. Dissertação (Mestrado), 2009.

GUARIDO, M. M. Atividade inseticida de extratos de *Annona foetida* Mart. (Annonaceae) sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), 2009.

GOVINDARAJAN, M.; SIVAKUMAR, R.; RAJESWARY, M.; YOGALAKSHMI, K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology*, v. 134, n. 1, p. 7-11, 2013.

HORTA, M. A. P.; CASTRO, F. I.; ROSA, C. S.; DANIEL, M. C.; MELO, A. L. Resistance of *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae) to temephos in Brazil: a revision and new data for Minas Gerais state. *BioAssay*, v. 6, 2011.

LAWLESS, J. **The encyclopedia of essential oils**. London: Thorsons, 2002.

LIMA, R. K., Caracterização química e bioatividade do óleo essencial de folhas de goiabeira sobre a lagarta-do-cartucho do milho. Lavras, Universidade Federal de Lavras, Tese (Mestrado em Agronomia), 2006.

LIMA, E. P.; OLIVEIRA FILHO, A. M. D.; LIMA, J. W. D. O.; RAMOS JÚNIOR, A. N.; CAVALCANTI, L. P. D. G.; PONTES, R. J. S. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, p. 259-263, 2006.

KUBITZKI, K.; RENNER, S. Lauraceae 1 (Aniba and Aiouea). **Flora Neotropica**, v. 31, p. 1-124, 1982.

MAESTRES, R.; REY, G.; DE LAS SALAS, J.; VERGARA, C.; SANTACOLOMA, L.; GOENAGA, S. Susceptibility of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to temephos in Atlántico-Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 35, n. 2, p. 202-205, 2009.

MAGALHÃES, L.M.S; ALENCAR, J.C. **Fenologia do pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans), Lauraceae, em Floresta Primária na Amazônia Central.** *Acta Amazonica*, v. 9, p. 227–232, 1979.

MAMANI, E. Nuevo serotipo 5 del virus dengue: necesidad de fortalecer la vigilancia molecular en Perú. **Revista peruana de medicina experimental y salud pública**, v. 31, n. 1, p. 169–180, 2014.

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária.** 2a ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

MARQUES, C. A. Importância Econômica da Família *Lauraceae*. *Floresta e Ambiente*, Universidade Federal de Viçosa, v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MERINO, F. J. Z. et al. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 34 de 2018. v. 49, 2018.

Ministério Da Saúde, B. (2019). boletim epidemiológico ministério da saúde. Acesso em 14 Junho de 2020, em <http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/abril/30/2019-013-Monitoramento-dos-casos-de-arboviroses-urbanas-transmitidas-pelo-Aedes-publicacao.pdf>

MOUCHREK FILHO, V. E. **Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie *Pimenta dioica* Lindl.** 2000. Tese de Doutorado.

MORESCHI, P.E.; MICHELIN, D.C.; A.C. LIMA, G. G. F.; NASCIMENTO, M.O. PAGANELLI, M.V.; CHAUD, M.V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005.

MONTANARI, J. I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais:** CPQBA - UNICAMP (Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas), 2002.

OLIVEIRA, B. R. D. **Desenvolvimento e avaliação de nanoemulsões com óleos de *Carapa guianensis* e *Copaifera* sp. e estudo da ação repelente frente a *Aedes aegypti***. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2008.

OOTANI, M. A.; RAMOS, A. C. C.; DE AZEVEDO, E. B.; DE OLIVEIRA GARCIA, B.; DOS SANTOS, S. F.; DE SOUSA AGUIAR, R. W. Avaliação da toxicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para *Aedes aegypti* Linneus, (Díptera: Culicidae). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 2, p. 37-43, 2011.

PREEDY, V. R. (Edit.). **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. London: Academic Press, 2015.

PRICE, S., PRICE, L. **Aromatherapy for health professionals**. London: Churchill Livingstone, 1999

ROHWER, J.G.; LAURACEAE. IN: KUBITZKI, K.; ROHWER, J.G.; BITTRICH, V. The families and genera of vascular plants. **Springer-Verlag, Berlim**, v. 2, p. 366-391, 1993.

PROPHIRO, J. S.; SILVA, O. S.; LUNA, J. E. D.; PICCOLI, C. F.; KANIS, L. A.; SILVA, M. A. N. DA. *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 300-305, 2011.

REED, L. J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. **American journal of epidemiology**, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. DA S.; BRITO, J. M.; MARTINS, L. H., P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PRÓSCÓPIO, L. C.; Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. P. 151, Manaus, INPA, 1999.

ROTHMAN, A. L. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. **The Journal of clinical investigation**, v. 113, n. 7, p. 946-951, 2004.

SILVA, H. H. G. D.; SILVA, I. G. D.; ELIAS, C. N.; LEMOS, S. P. S.; ROCHA, A. P. Idade fisiológica dos ovos de aedes (stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) (diptera, culicidae), 1995.

SILVA, N. M. D.; TEIXEIRA, R. A. G.; CARDOSO, C. G.; SIQUEIRA JUNIOR, J. B.; COELHO, G. E.; OLIVEIRA, E. S. F. D. Vigilância de chikungunya no Brasil: desafios no contexto da Saúde Pública. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, p. 201- 127, 2018.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S.; BIZZO, H. R.; D'AVILA, L. A. Análise técnica, econômica e de tendências da indústria brasileira de óleos essenciais. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 8, n. 14, 2006.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PEDROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento [Pharmacognosy: from the Plant to the Drug]. **UFRGS: Porto Alegre, Barzil**, 2010.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005.

SRITABUTRA, D.; SOONWEREA, M. Repellent activity of herbal essential oils against Aedes aegypti (Linn.) and Culex quinquefasciatus (Say.). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 4, p. 271–276, 2013.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 867–871, 2002.

TEIXEIRA, M. D. G.; BARRETO, M. L. Porque devemos, de novo, erradicar o Aedes aegypti. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 1, p. 122-136, 1996.

VATANPARAST, J.; BAZLEH, S.; JANAHMADI, M. The effects of linalool on the excitability of central neurons of snail *Caucasotachea atrolabiata*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 192, p. 33-39, 2017.

VELOSO, R. A.; DE CASTRO, H. G.; CARDOSO, D. P.; CHAGAS, L. F. B.; FREITAS, A., JÚNIOR, C. Óleos essenciais de manjeriçao e capim citronela no controle de larvas de Aedes aegypti Essential oils of basil and citronella grass in the control of larvae of Aedes aegypti. **Revista Verde (Pombal-PB-Brasil)**, v. 10, n. 2, p. 101-105, 2015.

VIANA, D. V.; IGNOTTI, E. (2013). A ocorrência da dengue e variações meteorológicas no Brasil: revisão sistemática. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 16, n. 2, p. 240-256, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020, 2012.

ZARA, A. L. D. S. A.; SANTOS, S. M. D.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 25, p. 391-404, 2016.

APÊNDICE A – NORMAS DA REVISTA RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

Estrutura do texto:

Título em português, inglês e espanhol.

Resumo e Palavras-chave em português, inglês e espanhol. Deve ter entre 150 a 250 palavras);

Corpo do texto (deve conter: introdução, objetivo, a metodologia, resultados, discussão e considerações finais ou conclusão);

Referências: Tanto a citação no texto, quanto no item de Referências, o estilo de formatação da APA - American Psychological Association. Em ordem alfabética crescente, pelo sobrenome do primeiro autor da referência. Não devem ser numeradas. Devem ser colocadas em tamanho 12 e espaçamento 1,5, separadas uma das outras por um espaço em branco).

Layout:

Escrito em espaço 1,5 cm, utilizando Times New Roman fonte 12, em formato A4 e as margens do texto deverão ser inferior, superior, direita e esquerda de 2,5 cm.;

Recuos são feitos na régua do editor de texto (não pela tecla TAB);

Os artigos científicos devem ter mais de 5 páginas.

Figuras:

Os títulos das tabelas, figuras ou quadros devem ser colocados na parte superior e as fontes na parte inferior.