



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

ANA PATRÍCIA MATOS PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE UMA NANOFORMULAÇÃO
LARVICIDA INCORPORADA AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia officinalis* L.**

São Luís -MA

2022



ANA PATRÍCIA MATOS PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE UMA NANOFORMULAÇÃO
LARVICIDA INCORPORADA AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia officinalis* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho.

Área de concentração: Saúde das Populações.

São Luís-MA

2022

ANA PATRÍCIA MATOS PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE UMA NANOFORMULAÇÃO
LARVICIDA INCORPORADA AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia officinalis* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Aprovada em 19/09/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho (Orientador)
Doutorado em Química (USP)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dra. Maria da Glória Almeida Bandeira
Doutorado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior (INPA)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dra. Kiany Sirley Brandão Cavalcante
Doutorado em Química (UFPB)
Instituto Federal do Maranhão

Prof. Dr. Leonardo Silva Soares
Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente (UFPI)
Universidade Federal do Maranhão

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Maria da Graça Pereira e Evandro Pereira por sempre serem minha base de apoio e incentivo em todas as minhas realizações e por todo o amor e carinho incondicional. Ao meu irmão Evandro Júnior por todas as vezes que eu precisei de ajuda, não mediu esforços para me auxiliar nessa etapa.

À minha família. Minhas primas: Mariana Matos e Maria Eliza. Minha tia: Maria da Penha. Minha cunhada: Vanessa Bezerra. Por todo carinho, pela compreensão da ausência em momentos familiares, por serem minha base e sempre estarem à disposição quando preciso.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho pelo acolhimento, por ter acreditado no meu potencial para realizar esta pesquisa, tendo me concedido a oportunidade de ampliar o meu conhecimento científico. Meu respeito e admiração contínuos.

Ao Prof. Gustavo Oliveira Everton, um agradecimento muito especial, por contribuir de maneira inestimável neste trabalho, por todo acolhimento no laboratório, conhecimento, incentivo, sugestões e colaborações essenciais para realização desta pesquisa. Muito obrigada!

A todos do Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais da Universidade Federal do Maranhão (LOEPAV), por todo acolhimento, apoio, contribuições e convívio durante toda a realização desta pesquisa.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente (PPGSA), pelo incentivo e construção do conhecimento.

Aos amigos e familiares, que contribuíram, direta ou indiretamente, nesta caminhada, com empenho, entusiasmo e bondade. Muito Obrigada!

*“O que se parece com um fim muitas vezes é
um novo começo.”*

(Lela Brandão)

RESUMO

Este estudo tem como objetivo avaliar o perfil químico e o potencial biotecnológico larvicida de uma nanoemulsão (O/A) incorporada ao óleo essencial de *Salvia officinalis* L. O material vegetal foi obtido em São Luís (MA) entre janeiro e maio. 2021. O perfil fitoquímico foi realizado de acordo com Matos. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação a 100 °C por 3 h. Os parâmetros físico-químicos foram determinados e a caracterização química obtida por CG-EM. A nanoemulsão O/A foi formulada pelo método de inversão de fase de baixa energia, sendo submetida a testes de estabilidade termodinâmica e caracterização do tamanho de gota e índice de polidispersidade (PDI). A quantificação dos fenólicos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu. Atividade antioxidante realizada pelo método espectrofotométrico de sequestro de radicais hidroxila do ácido salicílico. Para a atividade larvicida, larvas de *Aedes aegypti* foram submetidas a soluções de OE e nanoemulsões em concentrações (10-100 mg L⁻¹), a mortalidade larval foi avaliada e a CL₅₀ determinada pelo método Probit. Os principais metabólitos secundários do OE foram: eucaliptol com 65,14%, cânfora (30,63%) e α-Terpineol (1,53%). O OE foi atóxico, com CL₅₀ <1000 mg L⁻¹. As formulações foram caracterizadas como nanoemulsões com tamanho de gota <200 nm. O PDI foi <0,200, indicando uma distribuição de tamanho estreita. O conteúdo fenólico total foi de 8,53 mg EAT g⁻¹ e 12,12 mg EAT g⁻¹. A atividade antioxidante exibiu CE₅₀ de 136,29 mg L⁻¹ e 51,59 mg L⁻¹. A nanoemulsão com potencial larvicida apresentou CL₅₀ de 71,17 mg L⁻¹. A nanoemulsão do OE estudada apresentou atividade larvicida ativa inédita, sendo incentivada como uma nova alternativa para o controle e combate dos casos de *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; nanotecnologia; *Salvia officinalis*.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the chemical profile and biotechnological larvicidal potential of (O/W) nanoemulsion incorporated with the essential oil of *Salvia officinalis* L. The plant material was obtained in São Luís (MA) between January and May, 2021. The Phytochemical profile was performed according to Matos. The essential oil was extracted by hydrodistillation at 100 °C for 3 h. The physical-chemical parameters were determined and the chemical characterization obtained by GC-MS. The O/W nanoemulsion was formulated by the low-energy phase inversion method, being subjected to thermodynamic stability tests and characterization of droplet size and polydispersity index (PDI). The quantification of phenolics was performed by the Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity performed by the spectrophotometric method of scavenging hydroxyl radicals from salicylic acid. For larvicidal activity, *Aedes aegypti* larvae were subjected to EO solutions and nanoemulsions in concentrations (10-100 mg L⁻¹), larval mortality was evaluated and the LC₅₀ was determined by the Probit method. The major secondary metabolites of EO were: eucalyptol with 65.14%, camphor (30.63%) and α-Terpineol (1.53%). The EO was non-toxic, with LC₅₀ <1000 mg L⁻¹. The formulations were droplets as nanoemulsions with volume <200 nm. The PDI was <0.200, indicating a narrow size distribution. The total phenolic content was 8.53 mg EAT g⁻¹ and 12.12 mg EAT g⁻¹. The antioxidant activity exhibited EC₅₀ of 136.29 mg L⁻¹ and 51.59 mg L⁻¹. The nanoemulsion with larvicidal potential showed an LC₅₀ of 71.17 mg L⁻¹. The studied EO nanoemulsion showed active larvicidal activity, being encouraged as a new alternative for the control and combat of *Aedes aegypti* cases.

Keywords: *Aedes aegypti*; nanotechnology; *Salvia officinalis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida de mosquitos do <i>Aedes aegypti</i>	8
Figura 2 - Flores e folhas de <i>Salvia officinalis</i> L.	29

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Óleos essenciais de plantas medicinais coletadas no Brasil com potencial larvícida relatado	24
Tabela 2 - Potenciais biológicos da <i>Salvia officinalis</i>	31
Tabela 3 - Potenciais biológicos dos metabólitos secundários da <i>Salvia officinalis</i> . 33	
Tabela 4 - Formulações de nanoemulsões para óleo essencial de <i>Salvia officinalis</i>	38

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	2
2.	OBJETIVOS.....	4
2.1.	Objetivo geral.....	4
2.2.	Objetivos específicos	4
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1.	Arboviroses.....	5
3.1.1.	Prevenção, controle e eficiência	6
3.2.	<i>Aedes aegypti</i>	7
3.2.1.	Dengue	9
3.2.2.	Chikungunya.....	11
3.2.3.	Zika	12
3.3.	Controle dos Vetores	14
3.3.1.	Inseticidas químicos	14
3.3.2.	Bioinseticidas	15
3.3.3.	Larvicidas Naturais.....	16
3.4.	Plantas Medicinais.....	18
3.5.	Óleos essenciais	20
3.5.1.	Conceitos	21
3.5.2.	Constituintes químicos	21
3.5.3.	Aplicações	22
3.6.	Nanotecnologia.....	26
3.7.	<i>Salvia officinalis</i> L.	28
4.	METODOLOGIA	33
4.1.	Obtenção do material vegetal	35
4.2.	Perfil Fitoquímico	35
4.3.	Extração dos óleos essenciais.....	35
4.4.	Análises físico-químicas.....	35
4.5.	Caracterização química dos óleos essenciais	36
4.6.	Toxicidade.....	36
4.7.	Conteúdo fenólico total (CFT).....	37
4.8.	Atividade antioxidante	37
4.9.	Preparo das nanoemulsões (O/A)	37

4.10. Caracterização das nanoemulsões	38
4.11. Atividade larvica.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. CAPÍTULO 1 – LIVROS CIENTÍFICOS – Arboviruses and essential oils: Larvicidal control of the vector <i>Aedes aegypti</i>	40
1. Introduction.....	41
2. Methodology	43
3. Results and discussion	44
3.1. Prevention, control and efficiency	44
3.2. Problems and Global Approach to Arboviruses	46
3.3. <i>Aedes aegypti</i>	48
3.4. Vector Control	51
3.4.1. Chemical insecticides	51
3.4.2. Bioinsecticides	53
3.4.3. Natural Larvicides	55
3.4.4. Medicinal plants	57
3.5. Essential oils	61
References.....	68
5.2. CAPÍTULO 2 – CAPÍTULO DE LIVRO – PERFIL FITOQUÍMICO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Salvia officinalis</i> L.....	84
RESUMO	85
ABSTRACT	85
1. INTRODUÇÃO	86
2. METODOLOGIA	87
2.1. Obtenção do material vegetal	87
2.2. Perfil Fitoquímico	87
2.3. Extração dos óleos essenciais	88
2.4. Toxicidade.....	88
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
3.1. Propriedades físico-químicas	88
3.2. Perfil Fitoquímico	90
3.3. Toxicidade frente a <i>Artemia salina</i> Leach	91
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
REFERÊNCIAS	92

4.1. CAPÍTULO 3 – CAPÍTULO DE LIVRO – PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO LARVICIDA DE UMA NANOEMULSÃO (O/A) DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Salvia officinalis</i> L.....	96
RESUMO	97
ABSTRACT	97
1. INTRODUÇÃO	98
2. METODOLOGIA	99
2.1. Obtenção do material vegetal	99
2.2. Perfil Fitoquímico	99
2.3. Extração dos óleos essenciais	99
2.4. Caracterização química dos óleos essenciais	100
2.5. Preparo das nanoemulsões (O/A)	100
2.6. Caracterização das nanoemulsões	101
2.7. Atividade larvívica.....	101
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
3.1. Perfil químico.....	102
3.2. Estabilidade termodinâmica	103
3.3. Caracterização das nanoemulsões	104
3.4. Atividade larvívica.....	106
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
REFERÊNCIAS	107
4.1. CAPÍTULO 4 – ARTIGO CIENTÍFICO - DEVELOPMENT OF A NANOEMULSION (O/A) LARVICIDE OF <i>Salvia officinalis</i> L. FOR LARVICIDAL CONTROL <i>Aedes Aegypti</i>	111
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	126
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127
NORMAS DOS PERIÓDICOS	152

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, são frequentes infecções ocasionados ao ser humano pelo mosquito *Aedes aegypti*, como a febre amarela, dengue, febre Zika, Chikungunya, dentre outras. Baseado nas taxas de morbidade e mortalidade, a dengue é apontada como a mais grave das infecções, do ponto de vista epidemiológico (STANAWAY et al., 2016; CASTRILLÓN, CASTAÑO & URCUQUI, 2015).

Essas doenças são um grande desafio para o sistema de saúde pública, tornando-se um problema para a população, em razão da alta incidência de mortes por doenças causadas pelo vírus no Brasil e no Maranhão. Estes altos índices estão associados ao sucesso adaptativo do mosquito, relacionado a condições domésticas favoráveis como a presença de criadouros aquáticos e o desenvolvimento rápido dos ovos resistentes a dessecação (ZARA et al., 2016; CARVALHO & MOREIRA, 2017; BASSANI et al., 2019).

No que se refere ao controle dos casos, as estratégias estão baseadas no combate de larvas e mosquitos. A abordagem mais comum é a aplicação de inseticidas químicos, como os organofosforados e piretroides (BRANDLER et al., 2013). No entanto, a aplicação inadequada dessas substâncias químicas favoreceu a resistência da população de *Ae. aegypti* dificultando a eficácia dessa estratégia, além de efeitos prejudiciais induzidos ao meio ambiente (APONTE et al., 2019). Novas alternativas estão sendo estudadas através do uso em potencial de plantas medicinais.

Assim, a produção de produtos farmacêuticos à base de plantas vem aumentando, devido ao grande interesse na fisiologia e bioquímica do metabolismo de produtos secundários das plantas. A produção fitoquímica mediada por meios biotecnológicos convencionais e não convencionais é crescente (SRIVASTAVA; MEHROTRA; VERMA, 2017).

Nesse contexto, os óleos essenciais (OE's) destacam-se, pois, são substâncias voláteis, naturais e complexas, de odor forte extraídos de plantas e que apresentam uma rica fonte ativa de compostos biológicos (MENDES et al., 2012). Os OE's possuem propriedades biológicas como ação antifúngica, antibacteriana, larvicida, ação analgésica e anti-inflamatória, além de atividade antitumoral (MACHADO & JUNIOR, 2011).

No entanto, devido algumas características, como a instabilidade dos OE's, evidencia-se as nanoemulsões. Estas são sistemas mediados em escala nanométrica, sendo uma alternativa para a inovação de fármacos, pois permite melhor estabilidade cinética, além de proporcionar a liberação controlada do fármaco, maior poder de penetração e/ou absorção e maior biodisponibilidade (IRACHE et al., 2011; SIDÔNIO et al., 2017).

Pesquisas apontaram atividade biológica da planta *Salvia officinalis* L., que é uma planta pertencente à família das Lamiaceae, originária da região do Mediterrâneo Oriental e é cultivada em diversos países de clima temperado e com muita luz. No Brasil, é popularmente conhecida como sálvia, salvia-comum ou erva santa (GARCIA et al., 2012). Apesar de seu uso ser difundido e de sua caracterização química e potencial antimicrobiano apresentados em alguns estudos (KHEDHER et al., 2017), ainda há necessidade de estudos científicos que demonstrem o uso desta planta com potencial larvicida.

Portanto, este estudo tem por objetivo avaliar o perfil químico e potencial biotecnológico larvicida de uma nanoemulsão (O/A) incorporada com o óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar o perfil químico e potencial biotecnológico larvicida de uma nanoemulsão (O/A) incorporada com o óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar os constituintes químicos dos óleos essenciais de *Salvia officinalis* L. por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM);
- Determinar a toxicidade frente *Artemia salina* Leach para ação do óleo essencial de *Salvia officinalis* L.;
- Formular nanoemulsões (O/A) do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. através de método de baixa energia.
- Quantificar a ação antioxidante por descoloração de radicais hidroxilas das nanoemulsões (O/A) formuladas de *Salvia officinalis* L.;
- Caracterizar físico-quimicamente os aspectos microscópicos das nanoemulsões (O/A) formuladas de *Salvia officinalis* L.;
- Determinar a ação larvicida frente *Aedes aegypti* da nanoemulsão (O/A) do óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Arboviroses

As arboviroses tem como agentes etiológicos os arbovírus, sendo esses arbovírus (Arthropod-borne vírus) os vírus que têm parte de seu ciclo de replicação ocorrendo nos insetos. Eles são transmitidos e espalham-se para outras espécies de mamíferos, répteis, pássaros e anfíbios através dos vetores artrópodes que compreendem os insetos e aracnídeos como mosquitos, sandflies (mosquito pólvora), carrapatos, lêndeas e ácaros (RUST, 2012; SEGONDY, 2016; CAMPOS et al., 2018).

Essa transferência ocorre quando o vírus passa para o artrópode a partir do consumo de sangue em um hospedeiro contaminado vindo a ser introduzido em outro da mesma forma através da picada, devido a capacidade dos vírus de se replicarem nos vetores, denominado de transmissão horizontal ou a partir da transmissão vertical que consiste na proliferação e contaminação do restante da prole a partir de um vetor feminino infectado (RUST,2012; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; WEAVER & REISEN,2010; CAMPOS et al.,2018). Há uma grande variedade de espécies de arbovírus que vêm conquistando cada vez mais países e continentes e estima-se a existência de aproximadamente 545 a 600 espécies identificadas (SEGONDY, 2016; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; FAILLOUX,2019).

Os arbovírus são membros de cinco famílias virais, tais como: Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae, sendo as principais causadoras das mais diversas doenças em humanos e entre outros animais com sangue quente. Dentre elas têm-se: Dengue, Zika, Chikungunya, Febre amarela, Meningite, Encefalites, entre outras, com um amplo espectro de sintomas (RUST,2012; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014).

Devido à gravidade e agressividade de algumas dessas doenças, a literatura aponta que dentre um percentual de 25% das mortes por doenças infecciosas que ocorrem em todo o mundo as arboviroses se destacam como sendo as responsáveis por um percentual de 23% das mortes e doenças considerados antes com sintomas leves, inconsequentes ou sem sequelas são suspeitas de causarem defeitos

neurológicos e até mesmo a síndrome de Guillain – Barré (FAILLOUX,2019; ROSENBERG,2016).

3.1.1. Prevenção, controle e eficiência

As arboviroses tem-se apresentado como um sério problema de saúde pública, pois enfrenta dificuldades de diagnóstico tanto baseado em exame clínico-epidemiológico quanto os de análises sorológica devido a apresentação de reações cruzadas, mas as melhores medidas de prevenção das doenças vêm a serem o controle dos vetores e controle ambiental (GRANDADAM, 2007; LIMA-CAMARA, 2016; KURIZKY et al., 2020). O controle vetorial diminui o risco de muitos vírus, mas necessita de um entendimento sobre a patogenicidade, que visa identificar os arbovírus com potencial de emergência, e dinâmica de transmissão de cada arbovírus para a escolha de métodos de controle adequados, mesmo em países desenvolvidos se torna um desafio, pois precisa estar alinhado à uma boa infraestrutura e saneamento para se ter efetividade (ROSENBERG,2016; ZARA et al., 2016).

Segundo Campos et al., (2018), no ano de 2017 houve uma diminuição significativa de algumas arboviroses em relação a anos anteriores, ligando essa diminuição as ações desenvolvidas por programas de combate aos vetores, associação de políticas públicas, a proteção imunológica adquirida através de exposições anteriores ou através de vacinas e a conscientização e participação da população, mas voltou a ter amplitude nos anos seguintes. As vacinas, embora sejam a profilaxia ideal para a prevenção e proteção contra essas doenças, requerem o seu desenvolvimento separado para as doenças arbovirais, se tornando um processo dispendioso e custoso, além de não ser aplicável as doenças de baixa ocorrência, tem-se a vacina contra a febre amarela, desenvolvida a mais de 80 anos, como exemplo de estratégia eficaz e segura (ROCHA et al., 2018).

Os métodos de controle existentes atualmente para vetores, principalmente para os do gênero *Aedes*, podem ser classificados em: mecânico, biológico e químico. Sendo métodos que trabalham com ações voltados para a eliminação de locais usados para procriação de vetores, a partir da usabilidade de produtos

larvicidas, inseticidas/pesticidas e de predadores ou patógenos para a redução dos vetores (ZARA et al., 2016; DENGUE,2021). A necessidade de integração das vigilâncias entomológica e epidemiológica tem sido imprescindível no alinhamento com a combinação de métodos aplicáveis para o controle dos vetores, no intuito de combatê-los sem a seleção dos vetores resistentes. Inseticidas usados de forma exacerbada podem causar uma seleção entre os vetores, pois ocorre a eliminação dos indivíduos biologicamente mais suscetíveis deixando apenas os resistentes, tendo-se uma ação ineficaz (LIMA-CAMARA,2016; ZARA et al., 2016).

O desenvolvimento de ações continuadas para o mundo todo nos últimos anos tem seguido uma linha de inovações tecnológicas e vem apresentando resultados relevantes e favoráveis para a preservação do meio ambiente e eficácia no combate de arboviroses, como as abordagens eco-bio-sociais, desenvolvimento de larvicidas a partir de plantas e agentes biológicos para controle químico e biológico em substituição de larvicidas artificiais, dispositivos e mosquitos transgênicos, mapeamento e uso de técnicas combinadas (Wolbachia e SIT por irradiação) (SILVA et al.,2012; SANTOS et al., 2010). Esse desenvolvimento vem em sintonia com as linhas de ações estratégicas descritas pela OMS para um desenvolvimento de controle a nível global e assim diminuição de casos de arbovirose (OPAS,2020).

3.2. *Aedes aegypti*

Aedes aegypti são os mosquitos vetores de muitas doenças importantes, isso significa que podem levar os agentes etiológicos de um hospedeiro para outro. Geralmente, as enfermidades causadas têm ampla distribuição global, altas taxas de mortalidade e elevada incidência.

O mosquito *Aedes aegypti* mede menos de 1 centímetro e possui uma aparência inofensiva, é de cor preta com listras brancas no corpo e nas pernas. Sua picada não dói e nem coça. O *Aedes aegypti* adulto vive em média 45 dias, costuma picar nas primeiras horas da manhã e nas últimas da tarde. Estudos da FIOCRUZ comprovaram que a fêmea voa até mil metros de distância de seus ovos (SILVA,

2008). O *Aedes aegypti* mantém características urbanas e alimenta-se de seivas das plantas. Porém, as fêmeas desta espécie são hematófagas, ou seja, alimenta-se de sangue também. Isto faz com que ao ingerir o sangue do hospedeiro infectado, ela ingira junto, o microrganismo que produz a doença. As fêmeas chegam a depositar entre 150 a 200 ovos.

O ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti* compreende quatro fases: ovo, larva, pupa e adultos (Figura 1). Os ovos do mosquito transmissor são depositados em condições adequadas, ou seja, em lugares quentes e úmidos, depositados em lugares próximos a linha d'água, e os embriões que estão dentro dos ovos levam de 2 a 3 dias para se desenvolverem e eclodirem se as condições de umidade forem adequadas. Os embriões podem enfraquecer ou morrer se, neste período, os ovos secarem, mas, se durante um determinado período for lhes assegurado um perfeito desenvolvimento, os ovos do mosquito se tornam resistente a dissecação e, assim poderão sobreviver por períodos que vão de vários meses a um ano. Isso representa uma grande barreira para a eliminação do mosquito (COSTA, 2001).

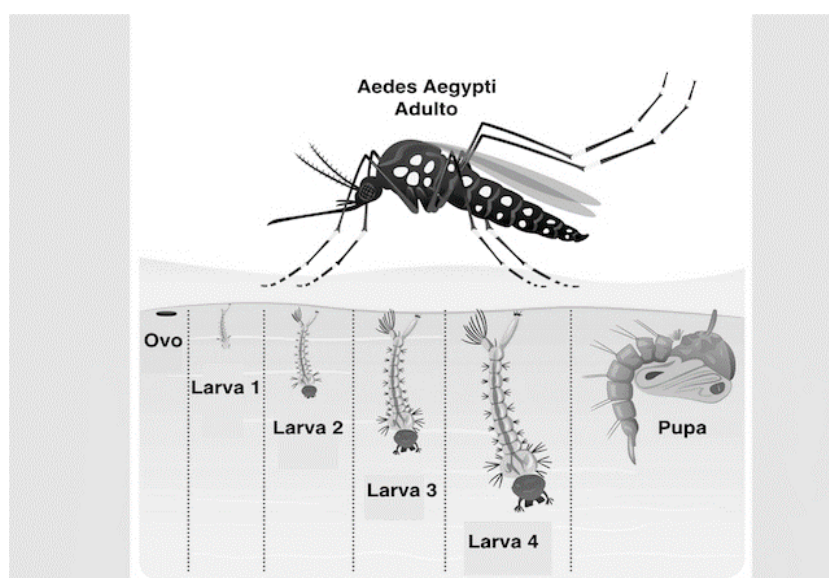


Figura 1 - Ciclo de vida de mosquitos do *Aedes aegypti*.

Fonte: Tua Saúde (2020)

O período larvário, em ótimas condições não ultrapassa a 5(cinco) dias. Esta é a fase de alimentação e crescimento e depende da temperatura, densidade das larvas no criatório e disponibilidade de alimentos. A larva é dividida em tórax, cabeça e abdome. Quando em baixa temperatura e falta de alimentos, esta fase pode se

prolongar por semanas, até se tornarem pupas. A pupa é uma fase sem alimentos e, além disso, é a fase onde ocorre a transformação para o estágio adulto (COSTA, 2001). Para passar da fase do embrião até a fase adulta (ovo, larva e pupa), o *Aedes aegypti* demora em média dez dias. Os mosquitos acasalam no primeiro ou no segundo dia após se tornarem adultos. Depois deste acasalamento, as fêmeas passam a se alimentar de sangue, que possui as proteínas necessárias para o desenvolvimento dos ovos. Costa (2001), afirma que, 24 horas depois de emergir, o mosquito pode acasalar, tanto a fêmea quanto o macho. O período de transmissão da dengue ocorre em dois ciclos: primeiro o ciclo intrínseco no homem, e o extrínseco no vetor.

As doenças transmitidas pelo vetor *Aedes aegypti* representam um dos maiores desafios para o bem-estar humano atual e futuro. Nas últimas décadas essas doenças estão se tornando uma séria preocupação de saúde para os países mais desenvolvidos (HOTEZ, 2008), devido à migração dos vetores para áreas antes não habitadas em resposta às mudanças climáticas e ao desmatamento. Assim, insetos que tinham como hábitat as florestas migraram e adaptaram-se às cidades (GONZÁLEZ et al., 2010). Além disso, o aumento da migração humana internacional e das trocas comerciais promoveram a introdução acidental de vetores e/ou patógenos entre os continentes (ALTIZER et al., 2011).

Existem cerca de 30 vírus de maior importância para a saúde pública que são transmitidos por mosquitos, sendo a Febre amarela, Chikungunya, dengue e Zika as principais doenças transmitidas pelos mosquitos do gênero *Aedes*, essas últimas merecem destaque devido à ausência de vacinas aprovadas para sua prevenção, bem como o número de recentes surtos virais que acomete a população (SARWAR, 2015).

3.2.1. Dengue

A dengue é uma doença flaviviral, que ocorre principalmente em áreas tropicais e subtropicais. Seus vetores predominantes são os mosquitos do gênero *Aedes*, capazes de carrear qualquer um dos sorotipos desse vírus e transmitir a doença através do repasto sanguíneo em seres humanos (SHEPARD et al., 2011).

Mesmo não contendo tratamento específico, o mais recomendado é que ocorra um diagnóstico médico, já que a arbovirose possui quatro tipos de sorotipos, e apenas com um profissional o tipo será identificado, pois quando uma pessoa é infectada por um sorotipo (a DEN-1, DEN-2, DEN-3 E DEN-4), a mesma adquire imunidade não podendo ser infectado com a mesma cepa viral (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

A incidência da dengue cresceu dramaticamente em todo o mundo nas últimas décadas. Esse aumento pode ser atribuído a vários fatores, que incluem o crescimento da população aliado à urbanização não planejada (e consequente sobrecarga dos sistemas de água e saneamento), aumento das movimentações nacionais e internacionais, o transporte de mercadorias, tais como pneus, além de recursos financeiros limitados para implementação de medidas eficazes de controle dos vetores (SIMMONS et al., 2012).

Estudos recentes indicam que ocorrem cerca de 400 milhões de infecções por dengue/ano e que 3,9 bilhões de pessoas vivem em áreas de risco à infecção. Tais dados fazem desta arbovirose transmitida por mosquitos, a mais difundida, afetando 128 países em todo o mundo (WHO, 2016; BHATT et al., 2013).

Contudo, esses números podem aumentar nos próximos anos, pois os mosquitos vetores que antes habitavam as regiões em países de latitudes tropicais e subtropicais passaram a ocorrer em regiões de latitudes temperadas devido ao aumento da temperatura mundial (BOWMAN, DONEGAN, MCCALL, 2016).

As infecções pelos sorotipos da dengue levam os indivíduos a quadros clínicos tanto sintomáticos quanto assintomáticos. O período de incubação pode variar de 3 -15 dias, iniciando com um quadro de febre aguda e repentina que pode ser seguida por dor de cabeça, dor retroorbital, dores musculares e articulares e leucopenia (BACK; LUNDKVIST, 2013).

Diferente das infecções provocadas por vírus Chikungunya e vírus Zika, as infecções por DENV são categorizadas em 3 tipos dependentes da sua severidade. Na dengue clássica (DF), dos sintomas anteriormente mencionados, estão presentes e exacerbados a dor muscular e articular, fazendo com que esta seja também conhecida com febre quebra ossos. Já a dengue hemorrágica (DHF) é

caracterizada por um aumento da permeabilidade vascular levando à redução do volume plasmático e elevação do hematócrito (aumento de 20%), podendo causar ascite, derrame pleural e trombocitopenia.

3.2.2. Chikungunya

A febre Chikungunya é uma arbovirose causada pelo CHIKV (vírus Chikungunya) pertencente à família *Togaviridae*, transmitido através da picada de fêmeas de mosquitos do gênero *Aedes* infectadas. Esse vírus é tipicamente encontrado na África e Sudeste Asiático, desde sua descoberta em 1952, tendo causado várias epidemias nesses locais. (GALÁN-HUERTA et al., 2015).

Os sintomas mais frequentes durante a infecção humana são febre, dor de cabeça, dor muscular, erupções cutâneas e artralgia incapacitante (DUPUIS-MAGUIRAGA et al., 2012). Tanto que a palavra Chikungunya significa "aqueles que se dobram" no dialeto africano Makonde, fazendo referência ao efeito da artralgia incapacitante vista nos pacientes afetados (ENSERINK, 2006).

O vírus CHIKV possui dois ciclos de transmissão distintos: enzoótico e urbano. Na África, o primeiro ocorre em habitats florestais onde mosquitos arbóreos, principalmente *Aedes* spp, servem como vetores. As evidências apontam os primatas não humanos como os reservatórios principais e os hospedeiros de amplificação no ciclo enzoótico. CHIKV é, por sua vez, capaz de iniciar um ciclo de transmissão urbano a partir de pessoas que moram próximo a áreas enzoóticas, sendo esse dependente apenas de mosquitos *Ae. aegypti* e/ou *Ae. albopictus* e hospedeiros de amplificação humana (WEAVER & REISEN, 2010).

Estudos realizados em pacientes infectados durante o surto na ilha La Réunion (ilha situada no Oceano Índico, a leste de Madagascar) indicaram que a artralgia era bilateral e simétrica em 78,4% dos pacientes, sendo capaz de afetar principalmente tornozelos, joelhos, mãos, pulsos, pés, ombros e cotovelos. A erupção cutânea estava presente em 54% dos pacientes, predominantemente no tronco e nos braços. O edema periarticular foi relatado em 45% dos pacientes, afetando os tornozelos em maior proporção. Mialgia e cefaleia ocorreram em 72 e 63% dos pacientes, respectivamente. Sinais hemorrágicos como gengivorragia e

epistaxe manifestaram-se em apenas 10,6% dos pacientes (STAIKOWSKY et al., 2009; THIBERVILLE et al., 2013).

Para essa doença ainda não há tratamento antiviral específico. Em virtude disso, as recomendações terapêuticas são para alívio sintomático e de suporte, sendo compostas de repouso e uso de agentes anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) em fase aguda e corticoides para aliviar o componente artrítico crônico da doença. Todavia, este é indicado após a exclusão de diagnóstico para doenças mais graves, como a malária, dengue e infecções bacterianas (CAGLIOTI et al., 2013). Na pendência do desenvolvimento da vacina, o controle dos mosquitos vetores é, ainda, o melhor método disponível para prevenir a infecção por CHIKV aliado à individual contra picadas de mosquitos.

3.2.3. Zika

O vírus Zika (ZIKV) é um arbovírus pertencente aos Flavivírus e o responsável por causar a arbovirose que leva o mesmo nome. Foi isolado pela primeira vez em 1947 a partir do soro de macacos Rhesus utilizados como sentinelas na Floresta Zika (Uganda) durante um estudo sobre a transmissão da febre amarela. O segundo isolamento foi feito a partir de um pool de mosquitos *Ae. africanus* da mesma floresta em 1948 (WEAVER et al., 2016). A ocorrência da infecção em humanos foi inicialmente evidenciada pela presença de anticorpos neutralizantes nos soros de residentes da África Oriental nas décadas seguintes (ZANLUCA; DOS SANTOS, 2016).

Desde então, ZIKV tem sido descrito como causador de infecções humanas esporádicas na África e na Ásia. Contudo, em 2007, um surto dessa doença foi notificado em Yap Island, Micronésia. Este foi o primeiro surto registrado fora dos continentes africano e asiático. No início de 2015, o Ministério da Saúde do Brasil confirmou um novo surto junto à transmissão autóctone de ZIKV no país. Os primeiros casos foram identificados na região Nordeste do país, onde foram relatados casos de doença exantemática associada a febre, conjuntivite e artralgia. Em 2016, foram notificados casos de zika em mais de 40 países das América e Caribe e, em 2017, foi registrado o primeiro caso na Flórida, Estados Unidos,

retratando a dispersão da doença por toda América continental (ZANLUCA et al., 2015; CAMPOS, BANDEIRA, SARDI, 2015; BAUD et al., 2017).

Assim como ocorre na Chikungunya, a transmissão do vírus Zika se dá pela picada de mosquitos, principalmente do gênero *Aedes*, durante o repasto sanguíneo realizado pelas fêmeas. Apesar do primeiro vetor documentado para ZIKV ser *Ae. africanus*, outras espécies de mosquitos como o *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* já foram capazes de transmitir esse vírus, mostrando que os surtos podem não estar relacionados apenas aos mosquitos do gênero *Aedes* (GUO et al., 2016).

Um ponto de extrema preocupação em saúde pública é a associação desse vírus à ocorrência de casos de microcefalia em neonatos. Isso se deve à capacidade do ZIKV em atravessar a barreira transplacentária e se alojar no sistema nervoso dos fetos, acarretando não apenas microcefalia, como também, problemas de visão, surdez, artrogripose e disfagias (DUARTE et al., 2017).

Outro ponto alarmante sobre a transmissão do vírus Zika diz respeito à sua habilidade de se instalar em tecidos imunoprivilegiados, como os tecidos germinativos presente nos testículos. Tal fato foi corroborado pela presença desse vírus no sêmen de um paciente várias semanas após a fase aguda da doença, tornando a Zika um potencial infecção sexualmente transmissível (MUSSO et al., 2015).

A infecção pelo vírus Zika é caracterizada por manifestações clínicas leves e autolimitadas. Os sintomas variam de assintomáticos a uma doença semelhante a dengue, compreendendo erupção cutânea maculopapular (regularmente pruriginosa), febre, artrite ou artralgia, dores de cabeça e conjuntivite não purulenta. Outros sintomas relatados incluem calafrios, astenia, mal-estar, edema das extremidades, dor retro orbital, vertigem, mialgia, distúrbios digestivos, linfadenopatia cervical, hematúria e hematospermia (ZANLUCA; DOS SANTOS, 2016).

Até o presente momento, a vacina para esse vírus está em fase clínica I. Outras estratégias de prevenção para ZIKV incluem as medidas de controle e

eliminação de focos de reprodução de mosquitos, bem como o uso de repelentes para proteção pessoal.

3.3. Controle dos Vetores

Os pesticidas ou inseticidas utilizados, atualmente, podem ser classificados em 2 grupos: convencionais e alternativos (seletivos). Os inseticidas convencionais são substâncias químicas que pertencem às classes dos organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides. Já os alternativos ou biopesticidas são produtos de origem natural que podem ser microrganismos (ex: *Bacillus thuringiensis* var. israelenses) ou compostos bioquímicos capazes de induzir a morte ou retardar o desenvolvimento dos insetos (ex: lectinas, inibidores de proteases) (TANGTRAKULWANICH; REDDY, 2014).

3.3.1. Inseticidas químicos

O controle químico, com inseticidas sintéticos de origem orgânica ou inorgânica, é uma das metodologias mais adotadas como parte do manejo sustentável e integrado para o controle de vetores em Saúde Pública. Os inseticidas pertencentes aos organoclorados, organofosforados e piretroides são os mais utilizados e agem sobre o sistema nervoso dos insetos (BALDACCHINO et al., 2015).

Os organoclorados são inseticidas que contêm carbono, hidrogênio e cloro. São classificados em quatro grupos: difenil-alifáticos; hexaclorociclohexanos; ciclodienos; e policloroterpenos. Esses são os mais antigos pesticidas químicos utilizados. Dentre esses encontra-se o DDT (diclorodifeniltricloroetano), o inseticida mais notório do século passado. Esse composto atua sobre os canais de sódio, causando um desequilíbrio no balanço entre os íons sódio e potássio dos axônios impedindo a propagação dos impulsos nervosos em insetos e mamíferos (BRAGA; VALLE, 2007).

Embora esses tenham sido largamente adotados pelos programas de controle de mosquitos vetores, tiveram seu uso descontinuado e chegaram, inclusive, a ser

proibidos em vários países devido a sua persistência no ambiente e ao acúmulo em tecidos do organismo de animais e de humanos (VENIER; HITES, 2014).

Os organofosforados, por sua vez, surgiram para substituir os organoclorados. Nesse grupo, os compostos possuem fósforo na sua composição e podem ser classificados em três subgrupos: os alifáticos (ex: malation, vapon e vidrin), os derivados de fenil (ex: fenitrothion,) e os heterocíclicos (ex: clorpirifós, clorpirifós-metil) (WARE; WHITACRE, 2004).

Esses inseticidas são amplamente utilizados em saúde pública por apresentarem muitas vantagens sobre os organoclorados, como serem biodegradáveis e não se acumularem nos tecidos. Apresentam, porém, como principal desvantagem, a instabilidade química, o que torna obrigatória a renovação periódica de sua aplicação. Além disso, são mais tóxicos para os vertebrados que os organoclorados, mesmo em doses relativamente baixas (WARE; WHITACRE, 2004).

Os organofosforados têm como mecanismo de ação a ligação irreversível com a acetilcolinesterase, enzima responsável pela quebra do neurotransmissor acetilcolina. O acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica impede a interrupção do impulso nervoso causando paralisia seguida de morte (PAILAN et al., 2015). O Temefós é um organofosforado, registrado nos EUA em 1965 para utilização em agricultura e controle de mosquitos, é o único larvicida desse grupo com uso generalizado no controle de larvas de mosquitos, recomendado pela OMS.

3.3.2. Bioinseticidas

Os bioinseticidas são desenvolvidos a partir de organismos vivos que ocorrem naturalmente, como animais, plantas e microrganismos. Podem controlar insetos-praga prejudiciais por meio de seu modo de ação *eco-friendly*, ou seja, baixa toxicidade ao ambiente. Os bioinseticidas e os seus produtos são utilizados, principalmente, para o manejo de pragas prejudiciais às plantas, todavia, podem também ser empregados no combate de insetos vetores de doenças (MAZID; KALIDA; RAJKHOWA et al. 2011).

Eles são frequentemente alvo específicos, inócuos para insetos não-alvo e não causam problemas na qualidade do ar e água no ambiente. Além disso, o uso desses produtos tem outras vantagens, por exemplo, baixa capacidade de indução à resistência das pragas alvo (SENTHIL-NATHAN, 2015).

Esses compostos foram usados nas indústrias comerciais, agrícolas e hortícolas para reduzir o risco gerado pelos pesticidas químicos sobre organismos não-alvo, por possuírem baixa atividade residual para trabalhadores/aplicadores e para os inimigos naturais (ex: parasitoides e predadores) (KHATER, 2012).

Quando utilizados como constituintes no manejo de insetos e pragas, sua eficácia pode ser igual àquela dos inseticidas convencionais (químicos), particularmente, para culturas como frutas, vegetais, nozes e flores. Ao ponderar o desempenho de inseticidas sintéticos e a segurança ambiental, os bioinseticidas executam de modo eficaz o controle e o surgimento de pragas resistentes (SENTHIL-NATHAN, 2013).

Ainda, os inseticidas botânicos, resultantes do metabolismo primário ou secundário das plantas, podem apresentar mecanismos de ação diversos para também causar a morte dos insetos, pois podem atuar sobre o sistema nervoso central, dificultando o crescimento e o desenvolvimento e/ou interferindo no metabolismo celular (CORRÊA; SALGADO, 2011).

Dentre as moléculas do metabolismo primário de plantas, as proteínas relacionadas à patogenicidade constituem um arsenal de moléculas capazes de atuar contra diversos tipos de agentes patogênicos e são potenciais inseticidas (LANNOO; VAN DAMME, 2014).

Entre essas proteínas estão as lectinas, as proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs) e os inibidores de enzimas proteolíticas ou glucosidases. Essas classes de proteínas estão frequentemente relacionadas à proteção de órgãos e tecidos reprodutivos contra herbivoria (CARLINI; GROSSIDE-SA, 2002; DANG; VAN DAMME, 2015).

3.3.3. Larvicidas Naturais

A ação larvícida é a capacidade de uma substância/produto de eliminar larvas, podendo ser através de microrganismos (origem biológica) ou sintetizadas e extraídas de plantas (origem química), sendo que, esta última tem apresentado grande potencial e objeto de diversos estudos. A diminuição nos movimentos das larvas é um dos primeiros sinais de um produto com potencial larvícida (TORRES et al., 2014). É mais interessante a eliminação larval, principalmente no bloqueio de transmissão e em pontos estratégicos (BOTTI, 2010).

Nesse contexto, entre os produtos biocidas viáveis para o controle de insetos e larvas, destacam-se os óleos essenciais extraídos de plantas medicinais e/aromáticas para o controle e combate de diversos insetos dípteros, como o *Ae. aegypti* (PAVELA, 2015).

Esses produtos sintetizam substâncias, como metabólicos secundários responsáveis em sua maioria por atividades biológicas, tais como antimicrobiana, antitumoral, antioxidante e inseticida (BEZERRA, 2016). Segundo a literatura, os extratos vegetais, óleos essenciais e derivados semissintéticos tem potencial tóxico frente a larvas dessa espécie (GOVINDARAJAN, 2011; WARIKOO et al.; FENECH et al., 2011; DOMINGOS et al., 2014; MEIRELES et al., 2016), pois alteram seu desenvolvimento, ocasionam repelência, provocam infertilidade, deformações, mortalidade, oviposição, dentre outras (DELETRE et al., 2013; KAMIABI et al., 2013; PONTUAL et al., 2014; GUERRERO et al., 2020).

Além disso, a resistência do mosquito a esses compostos é reduzida, uma vez que a combinação de substâncias químicas obtidas de produtos vegetais pode acometer mais de um processo fisiológico e comportamental, quando comparado com os inseticidas convencionais (NIROUMAND et al., 2016). Ainda mais, já que são obtidos de fontes naturais, biodegradáveis, reduzem os impactos ao ambiente (água, ar e solo), o uso dessas substâncias para o controle de pragas e insetos torna-se vantajoso (PERON; FERREIRA, 2012).

Assim, considerando a grande flora brasileira, estudos já comprovam a ação repelente e larvícida de espécies vegetais incluindo os óleos essenciais. Chaves et al (2019) constatou que os óleos essenciais e extratos obtidos das folhas de *O. vulgare* L. e *O. majorana* L. apresentam um bom potencial para o desenvolvimento

de larvicidas naturais. Assim como, Lima et al (2018), que observou forte ação larvívica e repelente do óleo essencial de *Siparuna guianensis*.

3.4. Plantas Medicinais

A origem do conhecimento do homem sobre as virtudes das plantas confunde-se com sua própria história. Certamente surgiu, à medida que tentava suprir suas necessidades básicas, através das casualidades, tentativas e observações, conjunto de fatores que constituem o empirismo. O homem primitivo dependia fundamentalmente da natureza para a sua sobrevivência e utilizou-se principalmente das plantas medicinais para curar-se. No decorrer de sua evolução surgiram novas terapias. Acredita-se que o registro mais antigo de todos é o Pen Ts'ao, de 2800 a.C., escrito pelo herborista chinês Shen Nung, que descreve o uso de centenas de plantas medicinais na cura de várias moléstias (ALMEIDA,2011).

São utilizadas as diversas partes da planta, variando de acordo com o tipo de uso, sendo as mais utilizadas: folhas, frutos, cascas, leite (látex) e sementes (FENNER et al., 2006). Desse modo, planta medicinal é definida como qualquer substância vegetal, que dispõe de compostos presentes em seus órgãos, os quais podem ser empregados como precursores de drogas semissintéticas ou usados para fins terapêuticos (OMS,1998).

As plantas representam uma excelente fonte para a busca de novos compostos, visto que a flora brasileira é altamente diversificada em espécies e há uma grande diversidade química e estrutural de substâncias produzidas. Uma grande parcela dos fármacos atuais tem ligação com plantas medicinais, seja essa ligação direta através do isolamento de moléculas da fonte natural ou indiretamente como resultado de síntese a partir de moléculas protótipos observados em plantas (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001; DEVIENNE; RADDI; POZETTI, 2004).

As substâncias que estão presentes nas plantas são produzidas pelo seu metabolismo, os quais podem ser classificados em dois grupos: metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são os essenciais para desenvolvimento, crescimento e reprodução das plantas, sendo utilizados

geralmente na respiração ou fotossíntese, estão diretamente envolvidos no desenvolvimento, crescimento e/ou reprodução da planta. Já os metabólitos secundários apresentam importante papel na defesa e proteção, como também na comunicação entre as espécies. Sendo estes, geralmente, os responsáveis pelas propriedades medicinais e tóxicas encontradas nas plantas (DOURADO, 2006; PICOLI et al., 2010).

O estudo científico de plantas medicinais constitui um dos programas prioritários da OMS, desde seu programa Saúde para Todos no Ano 2000. Segundo estimativa da OMS, 80% da população mundial usa principalmente plantas medicinais tradicionais (populares) para suprir suas necessidades de assistência médica primária (OMS, 1978). Nos países desenvolvidos, as drogas de origem vegetal também desempenham importante papel. Nos Estados Unidos, por exemplo, 25 % de todas as receitas médicas prescritas entre 1959 e 1980 continham extratos vegetais ou princípios ativos obtidos de plantas superiores (Divisão Angiospermae). O Brasil possui competência em todas as áreas da ciência relacionadas com o estudo de plantas medicinais. As bases legais para a regulamentação da fitoterapia têm sido objeto de diversas resoluções e portarias (ALMEIDA, 2011).

Em suma o conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais. (RADÜNZ et al., 2010)

Na região Amazônica foram catalogadas em duas comunidades que vivem nas margens da Baía de Marajó-PA, 260 plantas entre nativas e cultivadas; 1200 são comercializadas no mercado Ver-o-peso, em Belém-PA; outras 242 espécies são cultivadas em quintais residenciais, em Belém. As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Assim, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantém em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações

terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial (RADÜNZ et al., 2010).

Segundo a regulamentação, para a utilização de plantas para fins medicinais há necessidade do conhecimento completo da planta afim de comprovar seu potencial, bem como a determinação de sua toxicidade, através de testes de toxicidade. O uso exagerado e inconsciente dessas plantas pode gerar danos ao organismo, assim, é indispensável estudos farmacológicos para certificar as propriedades dessas espécies (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

No Brasil várias pesquisas etnofarmacológicas e etnobotânicas têm revelado grandes potenciais medicinais de plantas, e que o uso não é tóxico ao organismo. Plantas das famílias Lamiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae e Myrtaceae. Sendo identificadas substâncias com propriedade antimicrobiana (PIMENTA et al., 2019), repelente (SILVA, et al., 2019), antitumoral (NÚÑEZ et al., 2018), antiparasitária (PEREIRA et al., 2019), antioxidante (SILVA et al., 2017), antidiarreica (SILVA et al., 2016), leishmanicida (DA SILVA et al., 2018), entre outras.

No que se refere ao potencial larvicida e inseticida de substâncias botânicas, há as piretrinas, nicotina, cevadina, veratridina, rianodina, bioinseticidas voláteis, dentre outros. Sendo esses últimos, representados geralmente, pelos óleos essenciais presentes em plantas aromáticas (CORRÊA; SALGADO, 2011). Esses óleos são seletivos, não-tóxicos, biodegradáveis e alguns produzem efeito sobre o organismo alvo, tornando-os importante recurso natural inseticida (SRITABUTRA; SOONWERA, 2013).

Assim, segundo Silva et al (2008), inseticidas à base de plantas normalmente não são tóxicos ao organismo não-alvo, atuam nas diferentes fases do ciclo evolutivo do mosquito, interferindo seu crescimento e reprodução, além de ser disponível na grande parte do mundo que é endêmica por doenças causadas por mosquitos.

3.5. Óleos essenciais

3.5.1. Conceitos

Os óleos essenciais também chamados de óleos etéreos, essências ou óleos voláteis, são uma mistura complexa de substâncias químicas, provenientes de compostos aromáticos, que conferem aroma forte e características oleosas, encontrados nas plantas (MENEZES et al., 2017). Por meio da filogenética, afirma-se que os óleos essenciais são encontrados em sua maioria nas angiospermas eudicotiledôneas, ocorrendo principalmente nas famílias Asteraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Lamiaceae, dentre outras. São detectados também nas monocotiledôneas, mas, de forma menos abundante e limitadas às famílias Poaceae e Zingiberaceae (SIMÕES et al., 2016).

Possuem estruturas secretoras, como as células parenquimáticas, bolsas especializadas ou canais oleíferos, localizadas em toda a planta ou em áreas específicas. Assim, os OEs podem ser extraídos de diferentes partes das plantas, como folhas, flores, caules, frutos, raízes e cascas. Conforme a parte da planta o OE for extraído, a composição química, características odoríferas e físico-químicas podem variar, sendo totalmente diferentes para cada parte do mesmo vegetal. Isso pode ocorrer por conta da variabilidade genética, fatores ambientais, idade das folhas, modo de extração e análise do óleo (SOUSA et al., 2015).

A extração dos OEs de plantas pode ser por meio de destilação, prensagem do pericarpo de frutos, hidrodestilação, por arraste a vapor, extração por enfloração, destilação seco ou por processo mecânico, extração por CO₂ supercrítico e por solventes orgânicos apolares (MORAIS, 2009; SOUSA et al., 2015; NIETO, 2017). O rendimento de extração pode variar conforme o tipo de planta, a temperatura, horário de colheita, composição da planta, método de extração, inclusive a interação do óleo essencial com o solvente (RÍOS & RECIO, 2005; YUSOFF et al., 2011; BARROS, ASSIS, MENDES, 2014).

3.5.2. Constituintes químicos

A composição química dos OE's é bem complexa, pois apresenta grande variedade de substâncias que podem ser identificadas como hidrocarbonetos terpênicos, cetonas, alcoóis simples e terpênicos, ésteres, aldeídos, ácidos

orgânicos, fenóis, óxidos, cumarinas, peróxidos, furanos, lactonas, entre outros. Os compostos majoritários são encontrados em maior quantidade, já os componentes traços são identificados em menor quantidade (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017).

Determinados óleos exibem mais de 60 substâncias químicas diferentes, sendo que os compostos majoritários representam cerca de 80% da composição total, responsáveis pelas propriedades biológicas dos óleos essenciais (BARBOSA, 2010). Em estudo de Souza et al. (2016), por exemplo, foram encontrados três compostos majoritários na canela (*Cinnamomum cassia*), dos quais 84,52% de *E*-cinamaldeído, seguido de 8,79% de (*E*)-*o*-metoxycinamaldeído e 1,44% de acetato de *E*-cinamila.

Apesar disso, segundo a literatura, grandes concentrações de uma substância química não apontam de modo proporcional a amplitude de seu potencial (GALINDO et al., 2010). Essa declaração corrobora com Milezzi et al. (2014), ao afirmar que a ação dos OEs pode ocorrer em razão da ação sinérgica com diversos outros compostos, sendo que seus constituintes químicos podem ser encontrados em menores concentrações.

A cromatografia é a técnica analítica disponível mais utilizada para a determinação e separação de compostos voláteis ou volatizáveis, com características físico-químicas muito semelhantes em substâncias complexas, como os OEs. Essa técnica consiste em aquecimento da amostra em um cromatógrafo, sendo os compostos da amostra eluídos, enviando um sinal elétrico registrados sob a forma de gráficos, através de picos (PENTEADO et al., 2008).

3.5.3. Aplicações

O uso de óleos essenciais é muito expandido, sendo utilizados desde o século XVI pelas antigas civilizações por meio de ervas como modo terapêutico e de proteção alimentar. Algumas especiarias eram empregadas em muitos países para fins medicinais ou para manter as características de alimentos durante seu armazenamento, em regiões de clima quente. No Egito, por exemplo, utilizavam as especiarias para conservação de corpos após a morte (BUSATTA, 2006; MENDONÇA, 2004; TRAJANO et al., 2009).

Já no século XXI, são utilizados nas indústrias alimentícia, cosmética, perfumaria e principalmente farmacêutica, para produção de fármacos. São aplicados especialmente como aromas, fixadores de fragrâncias, fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais, gerando compostos puros como o limoneno, citral, eugenol, safrol e mentol (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Os óleos essenciais configuram uma alternativa viável em diversas pesquisas relacionadas a substâncias vegetais. Suas aplicações incluem usos como antimicrobiano, larvicida, analgésico, anti-inflamatória, anticâncer, antioxidante, antiasmático, além ser utilizado para o tratamento de parasitoses (GAUTAM, MANTHA, MITTAL, 2014).

Uma enorme quantidade de espécies vegetais são produtoras de óleos essenciais e são várias as que apresentam propriedades biológicas (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017). Dessa forma, de acordo com esta pesquisa, a Tabela 1 apresenta diversos estudos relacionados ao potencial larvicida de óleos essenciais. Devido a esse potencial o uso de OE é uma alternativa para produção e uso de fitoterápicos no combate a mosquitos patogênicos.

Tabela 1 - Óleos essenciais de plantas medicinais coletadas no Brasil com potencial larvicida relatado

Espécie	Compostos majoritários	Referência
<i>Vanillosmopsis arborea</i> B.	Alfa-bisabolol	(FURTADO et al., 2005)
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	α -zingibereno, geranial, nerolidol	(GOMES et al., 2016)
<i>Lippia alba</i>	Carvona, Limoneno	(SILVA et al., 2019)
<i>Myrcia sylvatica</i> (G. Mey) D.C.	(E)-cariofileno	(ROSA et al., 2016)
<i>Piper hispidum</i>	γ -terpineno, α -terpineno, terpinoleno	(GOMES et al., 2020)
<i>Eugenia calycina</i>	Biciclogermacreno, espatulenol, β -cariofileno	(SILVA et al., 2018)
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Germacreno-D, (Z)- β -cariofileno, Óxido de cariofileno, α -copaeno	(EVERTON et al., 2020)
<i>Alpinia zerumbet</i>	----	(JÚNIOR et al., 2020)
<i>Piper capitarianum</i> Yunck	β -cariofileno, β -mirceno, α -humuleno	(FRANÇA et al., 2015)

Tabela 1 (cont.)-Óleos essenciais de plantas medicinais coletadas no Brasil com potencial larvicida relatado

Espécie	Compostos majoritários	Referência
<i>Pimenta dioica</i> Lindl	Eugenol, chavicol, mirceno	(MARTINS et al., 2020)
<i>Ruta graveolens</i> L.	2-nonona, 2-decanona, 2-undecanona, 2-dodecanona	(ORLANDA, 2021)
<i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit	1,8 – cineol	(SILVA et al., 2017)
<i>Cedrus atlantica</i>	α -himachalene, β -cariofileno, α -cidrene	(PORTO et al., 2016)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	terpinen-4-ol	(PIRES et al., 2019)
<i>Origanum majorana</i> L. e <i>Origanum vulgare</i> L.	Pulegona, γ -terpinene	(CHAVES et al., 2019)
<i>Peumus boldus</i>	Ascaridol, 1,8-cineol, γ -terpineno, isoascaridol	(LOPES et al., 2020)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	terpinen-4-ol	(GRANDO et al., 2015)

Apesar da grande diversidade e vantagens sobre o uso de OE's, esses bioprodutos podem ser instáveis a ações externas, como a oxidação, alteração de pH, volatilidade e exposição solar, interferindo diretamente no seu potencial biológico (CARVALHO, ESTEVINHO e SANTOS, 2016). Dessa forma, diversos pesquisadores tem aplicado as diferentes técnicas da nanotecnologia de compostos naturais com o intuito de aumentar o tempo de ação desses óleos, melhorar a estabilidade química e reduzir a volatilização, potencializando as propriedades biológicas dessas substâncias (SILVA et al., 2019).

3.6. Nanotecnologia

A nanotecnologia fundamenta-se em uma área multidisciplinar com estruturas com tamanhos entre 1 a 1000 nanômetros, com capacidade de manipular, caracterizar e ordenar materiais em escala atômica, molecular e supramolecular. Essa nova ciência se aplica a diversos setores da pesquisa, de mercado e da engenharia de materiais, além de poder exibir potenciais químicos, físico-químicos e comportamentais diferenciados daqueles com estruturas maiores (CAMPOS, et al., 2015). Segundo Zanetti-Ramos e Creczynski-Pasa (2008) a nanotecnologia é um dos setores da ciência que mais crescem atualmente, por gerar interesse de grandes países industrializados e desenvolvidos como os Estados Unidos, Alemanha e Japão.

Os sistemas nanoestruturados, como os nanoprodutos ou nanomateriais exibem inúmeras vantagens relacionadas à maior poder de penetração e/ou absorção, obtenção da estabilidade cinética, maior biodisponibilidade, características organolépticas favoráveis, liberação controlada de fármacos e o aumento da solubilidade em água para substâncias pouco solúveis (IRACHE et al., 2011; SIDÔNIO, 2017).

Diante da necessidade de fármacos que apresentem mais vantagens, como menor toxicidade, efeitos colaterais e doses menores, além de baixo impacto ambiental, a nanotecnologia se aplica como uma boa alternativa para o desenvolvimento de medicamentos, sobretudo quanto a liberação controlada da droga. A proteção do fármaco no sistema terapêutico frente possíveis instabilidades no organismo, mantendo seus níveis plasmáticos em concentrações constantes, são

uma das vantagens que os nanossistemas proporcionam (SANCHES & STULZER, 2010).

O desenvolvimento de produtos farmacêuticos em escala nanométrica compreende a utilização de técnicas e estruturas com tamanhos e formas controladas (ASSUNÇÃO, 2016). Dessa forma, as nanoemulsões (NE's), por exemplo, são muito empregadas como veículos nas indústrias de fármacos, cosméticos e alimentos. Dentre seus benefícios, utilizam substâncias tanto hidrofílicas quanto lipofílicas na mesma formulação, permitindo o controle dessas substâncias para as vias a que se destinam (ZIBETTI, 2016).

As nanoemulsões são constituídas por duas fases imiscíveis, constituindo um sistema coloidal, sendo uma dispersa na outra, em escala nanométrica. São sistemas compostos por água (fase aquosa) e tensoativo (surfactante), além de óleos essenciais, óleos vegetais, extratos vegetais (fase oleosa), sendo necessária a estabilidade dessas fases para a obtenção de formulações homogêneas e estáveis (OSTERTAG et al., 2012).

Os compostos tensoativos ou surfactantes, são moléculas que apresentam comportamento anfifílico, ou seja, tem afinidade tanto com substâncias polares quanto apolares, são adsorvidas na interface ar-água, e podem durante o processo de emulsificação, prevenir casos de instabilidade e, portanto, uma possível separação de fases (LOCHHEAD, 1994).

As emulsões simples são dispersões coloidais que podem ser classificadas em O/A, quando as gotículas da fase oleosa estão dissipadas em uma fase contínua aquosa; ou em A/O, quando as gotículas da fase aquosa estão dissipadas na fase oleosa (SHAH, BHALODIA e SHELAT, 2010).

Quanto ao tamanho das NE's, encontram-se em uma escala de variação entre 20 a 500nm, embora alguns autores também citam uma variação até 1000nm. A granulometria tem influência na aparência desses sistemas, podendo ser translúcidos quando exibem tamanho menor que 200nm e de aparência leitosa com granulometria acima de 200nm. As nanoemulsões são estáveis, por um longo período de tempo, ou seja, possuem características cinéticas. O tamanho pequeno das gotículas impossibilita a deformação, reduzindo ainda mais a instabilidade por

coalescência (FORGIARINI et al., 2001; FERNANDEZ et al., 2004; TADROS et al., 2004; CAPEK, 2004).

Para a obtenção das nanoemulsões são utilizados métodos de alta energia (aparelhos mecânicos) ou baixa energia (potencial químico dos componentes), pois não podem ser formatadas espontaneamente. Em relação ao uso das técnicas de alta energia, utilizam geradores de ultrassom ou homogeneizadores de alta pressão, para promover taxa de cisalhamento capaz de alterar a partícula. Já para as técnicas de baixa energia geralmente utilizam o método da temperatura por inversão de fases e de emulsificação espontânea, o que torna o método mais vantajoso e de fácil manuseio (KOURNIATIS; SPINELLI; MANSUR, 2010; HOLKEM et al., 2015).

Em relação as emulsões convencionais, as nanoemulsões permitem utilizar doses menores de compostos ativos, em razão do aumento da superfície de contato. Dessa forma, essa tecnologia está cada vez mais sendo utilizada na encapsulação, proteção e liberação de ingredientes lipofílicos minimamente processados. Além disso, outros autores verificaram um potencial biológico alto em nanoemulsões com óleos essenciais (ACEVEDO-FANI et al., 2015).

Duarte et al. (2015) avaliaram o potencial larvicida do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.(alecrim) em nanoemulsão frente as larvas de *Aedes aegypti*, demonstrando que a aplicação do óleo essencial de alecrim desta forma é estratégia promissora e eficaz no controle larvicida. Balasubramani et al. (2017) avaliaram os potenciais antioxidantes, antimicrobiano e larvicida das folhas de *Vitex negundo* L. usando Polissorbato80, comprovando a eficácia do óleo essencial em formulações de nanoemulsão, nas diferentes atividades biológicas. Logo, estes estudos indicam que as nanoemulsões de óleos essenciais são adequadas para serem incorporadas em formulações biológicas, incluindo a administração de fármacos, bem como o controle de vetores de mosquitos transmissores de doenças.

3.7. *Salvia officinalis* L.

A *Salvia officinalis* (Figura 2), popularmente conhecida por Sálvia, Erva-sagrada, Chá-da-frança, Chá-da-grécia, salva-de-boticas entre outras, é uma das

plantas aromáticas pertencente à família Lamiaceae, sendo uma planta subarborescente muito ramificada atingindo entre 50 e 80 cm de altura (LORENZI; MATOS, 2002).



Figura 2 - Flores e folhas de *Salvia officinalis* L.

Fonte: Tua Saúde (2020)

Possui folhas verde-acinzentadas, oval-lanceoladas e largas, e flores vermelhas agrupadas em espiga. Trata-se de uma erva perene que se adapta melhor aos solos argilo-arenosos ricos e úmidos, necessitando de iluminação plena. Tem preferência por clima subtropical seco, seu plantio é feito diretamente no campo por sementes, estacas ou divisão de touceiras com espaçamento 0,4 x 0,7 m. São utilizadas as folhas e sumidades floridas (CORRÊA; BATISTA; QUINTAS, 2003).

A *Salvia officinalis* é uma planta com propriedades condimentares e medicinais, encontrada em vários lugares do mundo. É bastante utilizada em tratamento medicinal devido às suas propriedades dermatológicas (HASANEIN; FELEHGARI; EMAMJOMED, 2016). Além de tratamento por sua propriedade antiinflamatória, cicatrizante e digestiva. É usada normalmente a parte das folhagens e das flores para a extração do óleo essencial, na utilização de inúmeras funções (TABELA 2).

O OE de sálvia (*Salvia officinalis* L.), conforme relatos presentes na literatura, possui composição química conhecida determinada por cromatografia gasosa

acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) e mostra ação ativa para o controle alternativo de organismos patogênicos (TABELA 3). No entanto, há carência de estudos relacionados a composição química e o potencial de ação, apesar de várias pesquisas sobre as propriedades de OE's. Assim, esse caso reforça a importância de estudos sobre a ação de substâncias extraídas de plantas (MIRANDA et al., 2015).

Nesse contexto, as folhas são utilizadas na maioria dos estudos relacionados a essa planta, pois quando colhidas pouco antes da floração, encontra-se a maior concentração do óleo essencial. Seu rendimento por destilação por arraste a vapor está em torno de 0,3%. O óleo essencial é composto por α e β tuyonas (35 – 60%), α -terpineol (0,1 – 9%), linalol (0,5 – 12%), óxido de cariofileno (1,1%), δ -tyerpineol, 1,8-cineol, α -pineno, mirceno, canfeno, limoneno, ocimento, alo-ocimento, p-canfeno, aromadendreno, β -cariofileno, α humuleno, α -maalieno, α -carocaleno, β -copaeno, isovalerianto de metila, alcanfor, acetato de sabinol e acetato de linalol. Encontra-se ainda nesta planta flavonóides, taninos, proteínas entre outras (ALONSO, 2004).

A *Salvia officinalis* investigada neste estudo, é explorada por apresentar diversos compostos ativos eficazes frente a uma variedade de vetores de mosquitos (RAMOS et al., 2017; GIATROPOULOS et al., 2018; GOVINDARAJAN et al., 2016). Entretanto, há poucos estudos sobre o potencial larvicida dessa espécie, e além disso, ainda não foram feitas investigações sobre os efeitos larvicidas de nanoemulsões (O/A) dessa planta, ressaltando a importância deste estudo.

Tabela 2 - Potenciais biológicos da *Salvia officinalis*

Potencial biológico	Bioproduto	Referência
Antiinflamatório	Extrato etanoico	(MELO, 2016)
Antiinflamatório	Extrato hidroetanólico	(KARIMZADEH& FARAHPOUR, 2017)
Antiinflamatório	Extrato	(KOLAC et al., 2017)
Antifúngico	Óleo essencial e Extrato	(PANSERA et al., 2013)
Antifúngico	Óleo essencial	(DE SOUZA et al., 2020)
Antiangiogênico	Extrato etanoico	(KESHAVARZ et al., 2010)
Antioxidante	Extrato hidroalcólico	(ALMEIDA et a., 2014)
Antioxidante	Extratos	(SILVA et al., 2016)
Antioxidante	Extratos	(MARTINS et al., 2015)

Tabela 2 (cont.) - Potenciais biológicos da *Salvia officinalis*

Potencial biológico	Bioproduto	Referência
Antioxidante	Extrato metanoico	(HARE et al., 2021)
Antimicrobiano	Óleo essencial	(CORDEIRO, 2013)
Antimicrobiano	Óleo essencial	(NETO&BORTOLANZA, 2016)
Antimicrobiano	Extrato etanoico	(ALMEIDA et al., 2019)
Antitumoral	Extrato hidroalcolólico e aquoso	(GARCIA, 2015)
Citotóxico	Óleo essencial	(LOIZZO et al., 2007)
Fitotóxico	Extratos	(SILVA et al., 2016)
Hipoglicemiante	Óleo essencial	(MORADABADI, KOUHSARI&SANI,2013)
Hipoglicemiante	Extrato metanólico	(BEN KHEDHER et al., 2018)
Inseticida e repelente	Óleo essencial	(SCARIOT et al., 2016)

Tabela 3 - Potenciais biológicos dos metabólicos secundários da *Salvia officinalis*.

Metabólico secundário	Potencial biológico	Referência
Esteroides	• Antimicrobiano	(SILVA, 2019)
	• Antioxidante	(AGUIAR et al., 2022)
Glicosídeos	• Antimicrobiano	
	• Inseticida	(CAIANA et al., 2019)
	• Antialérgico	(EL MALAH et al., 2020)
	• Antifúngico	
Glicosídeos cardíacos	• Anti-inflamatório	(SOUZA E SOUZA et al., 2021)
	• Antiviral	(CAOHUY et al., 2021)
	• Insuficiência cardíaca	(KLOSS et al., 2016)
Flavonóides	• Antioxidante	(CCANA-CCAPATINTA et al., 2020)
	• Antimicrobiano	(JÚNIOR et al., 2022)
	• Anti-inflamatório	(DUQUE, 2021)
	• Inseticida	(DE MELO BURGER et al., 2021)
Saponinas	• Antimicrobiano	(SÁ FILHO, 2022)
	• Hemolítica	(DONG et al., 2020)
	• Antiparasitário	(CASTRO et al., 2020)
		(DE AMORIM et al., 2020)

Fénols	• Antioxidante	(BARROS et al., 2021)
	• Anti-inflamatório	(RONDÓN MEDINA et al., 2022)
	• Antitumoral	(FERREIRA et al., 2021)
	• Antifúngico	(DURÁN & MANCHENO, 2021)
	• Antimicrobiano	(RODRÍGUEZ CEPEDA & ALVAREZ SUAREZ, 2021)
Taninos	• Antibacteriano	(MAIA,2021)
	• Antioxidante	(SILUPU et al., 2021)
	• Antifúngico	(LIMA,2021)

4. METODOLOGIA

4.1. Obtenção do material vegetal

A obtenção das folhas secas de *Salvia officinalis* utilizadas nesta pesquisa foi realizada em janeiro a maio de 2021. A espécie vegetal foi transportada para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde as folhas foram pesadas, trituradas e armazenadas para a extração do óleo essencial do vegetal.

4.2. Perfil Fitoquímico

Para análise do perfil fitoquímico do material vegetal *in natura*, foram preparados extratos hidroalcóolicos, empregando-se o processo de maceração (HARBORNE, 1998). Os extratos hidroalcoólicos obtidos foram submetidos a testes químicos na metodologia apresentada por Matos (2009) para identificação das classes orgânicas de metabólitos secundários: esteroides, alcaloides, flavonoides, glicosídeos, saponinas, fenóis, taninos e glicosídeos cardíacos.

4.3. Extração dos óleos essenciais

Para extração dos óleos essenciais foi utilizada 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, utilizando-se água destilada como solvente (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o óleo essencial extraído, sendo seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. As amostras foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração a 4°C.

4.4. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas seguiram os padrões da Farmacopeia Brasileira (2019). Posteriormente sendo submetido as análises.

4.5. Caracterização química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *Salvia officinalis* foram caracterizados quimicamente por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). As análises dos óleos essenciais foram realizadas em um Cromatógrafo a Gás (CG-2010) acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM QP2010 Plus), ambos da Shimadzu, utilizando coluna capilar DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). O fluxo do gás de arraste, Hélio numa velocidade linear de 39.5 cm/sec e fluxo da coluna 1,0 mL/min, razão de Split 1/100. A programação do forno foi de 45 °C por 4 min com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 180 °C, permanecendo por 7 min, aquecendo a 250 °C, com rampa de 8 °C/min, permanecendo 3 min até o final da corrida. A temperatura do injetor e da fonte de íons de 250 °C e 200 °C, respectivamente. Tempo de Corrida 36.25 min. MS - Modo de Aquisição: Full Scan, Intervalo de Scan 0,30seg, Faixa de Massa: 35 – 500 a.m.u, Tempo de Aquisição: 3.5 a 36,25 min.

A identificação foi realizada por normalização das áreas dos picos, e a identificação através da Biblioteca do Equipamento NIST08 (National Institute of Standards and Technology).

4.6. Toxicidade

Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach foi utilizada a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Inicialmente, preparou-se uma solução salina estoque de cada óleo essencial na concentração de 10.000 mg L⁻¹ de Tween 80 (tensoativo). 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 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, foi realizada a contagem das larvas vivas,

considerando-se mortas aquelas que não se movimentam durante a observação e nem com a leve agitação do frasco. A Concentração Letal 50% (CL₅₀) para cada óleos essenciais foi calculada com base no método de Reed&Muench (1938), com classificação da toxicidade pelo critério de Dolabela (1997).

4.7. Conteúdo fenólico total (CFT)

A determinação dos compostos fenólicos totais do óleo essencial foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2002). Utilizou-se 5 mg do óleo essencial diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 7 mL de água destilada, 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. Após duas horas foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS em comprimento de 760 nm. A curva padrão foi expressa em mg L⁻¹ de ácido tânico.

4.8. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi feita pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxila do ácido salicílico conforme os métodos descritos por Smirnoff & Cumbes (1989) e Sundarajan & Koduru (2016).

A nanoemulsão e os óleos essenciais em diferentes concentrações de 10-500 mg L⁻¹ foram dissolvidos em DMSO 0,2% e água destilada, respectivamente. Foram adicionadas a essas concentrações 1 mL de ácido salicílico (9 mM), 1 mL de sulfato ferroso (9 mM) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (9 mM). Utilizou-se ácido ascórbico como padrão positivo. A mistura reacional foi incubada durante 60 min a 37 °C em banho-maria; após a incubação, a absorbância das misturas foi medida a 510 nm usando um espectrofotômetro UV/VIS e a CE₅₀ calculada.

4.9. Preparo das nanoemulsões (O/A)

O preparo das nanoemulsões (O/A) foi realizado após a extração dos óleos essenciais, de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al., (2020) e Sugumar et al., (2014), através do método de baixa energia de inversão de fases. As nanoemulsões foram formuladas com óleo essencial, surfactante não

iônico e água (Tabela 3). A homogeneização final foi finalizada mantendo a formulação em agitação constante a 6000 rpm, até atingir a redução da temperatura para $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para comprovar a estabilidade, as formulações foram submetidas a diferentes testes de estresse: centrifugação, ciclo de aquecimento-resfriamento e estresse de congelamento-descongelamento, de acordo com a metodologia descrita por Shafiq et al. (2007).

Tabela 5 - Formulações de nanoemulsões para óleo essencial de *Salvia officinalis*

Identificação	Óleo essencial (<i>S. officinalis</i>)	Tween 20	H ₂ O
N O/E1	5%	5%	90%
N O/E 2	5%	10%	85%
N O/E 3	5%	15%	80%

4.10. Caracterização das nanoemulsões

A distribuição do tamanho das gotículas (análise por volume) e índice de polidispersidade (PDI) das formulações das nanoemulsões foram determinadas usando um analisador de tamanho de partícula 90 Plus (SUGUMAR et al., 2014, p. 395).

4.11. Atividade larvicida

Os ovos foram coletados 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, colocou-se os ovos do *Aedes aegypti* 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), após uma série de coletas de ovos, para obtenção da espécie em estudo. As larvas obtidas são 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.

Os ensaios para atividade larvívora foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva et al., (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L⁻¹ de cada um dos óleos essenciais sendo diluídas em solução de DMSO 2% e nanoemulsões (isenta de diluição). Desta solução, preparou-se cinco diluições nas concentrações 1,0-90,0 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 etanol (P.A) 70% v/v. Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo consideradas mortas, as larvas que não reagem ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência dos óleos essenciais e nanoemulsões foi aplicado o teste estatístico de Probit (FINNEY, 1952) e classificação da ação por Cheng et al., (2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CAPÍTULO 1 – LIVROS CIENTÍFICOS – Arboviruses and essential oils: Larvicidal control of the vector *Aedes aegypti*

Editora Científica:

Lambert Academic Publishing

Idioma: Inglês



Editora Científica: Editorial Académica
Española

Idioma: Espanhol

ISBN: 978-3-639-53392-7



Editora Científica: Globe Edit

Idioma: Russo



Editora Científica: Éditions
Universitaires Européennes

Idioma: Frânces

ISBN: 978-620-2-27425-8



Editora Científica: Akademiker Verlag

Idioma: Alemão

ISBN: 978-3-639-46845-8



Editora Científica: Edizioni
Accademiche Italiane

Idioma: Italiano

ISBN:



ARBOVIROSES AND ESSENTIAL OILS IN THE LARVICIDAL CONTROL OF *Aedes aegypti*: A LITERATURE REVIEW

1. Introduction

Arboviruses have arboviruses as etiological agents, and these arboviruses (Arthropod-borne viruses) are viruses that have part of their replication cycle occurring in insects. They are transmitted and spread to other species of mammals, reptiles, birds and amphibians through arthropod vectors that include insects and arachnids such as mosquitoes, sandflies (gunpowder), ticks, nits and mites (RUST, 2012; SEGONDY, 2016). ; CAMPOS et al., 2018).

This transfer occurs when the virus passes to the arthropod from the consumption of blood in a contaminated host, being introduced in another in the same way through the bite, due to the ability of the viruses to replicate in the vectors, called horizontal transmission or the from vertical transmission, which consists of the proliferation and contamination of the rest of the offspring from an infected female vector (RUST,2012; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; WEAVER & REISEN,2010; CAMPOS et al.,2018). There is a wide variety of arbovirus species that have been conquering more and

more countries and continents and it is estimated that there are approximately 545 to 600 identified species (SEGONDY, 2016; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; FAILLOUX, 2019).

Arboviruses are members of five viral families, such as: *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Reoviridae* and *Rhabdoviridae*, being the main causes of the most diverse diseases in humans and among other warm-blooded animals. Among them are: Dengue, Zika, Chikungunya, Yellow Fever, Meningitis, Encephalitis, among others, with a wide spectrum of symptoms (RUST, 2012; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014).

Due to the severity and aggressiveness of some of these diseases, the literature points out that among a percentage of 25% of deaths from infectious diseases that occur worldwide, arboviruses stand out as being responsible for a percentage of 23% of deaths and diseases considered before with mild, inconsequential symptoms or without sequelae are suspected of causing neurological defects and even Guillain-Barré syndrome (FAILLOUX, 2019; ROSENBERG, 2016).

2. Methodology

This is an integrative review with the guiding research question: “What are the main problems in the context of arboviruses and what alternative do essential oils represent?”.

The bibliographic research was carried out from January to March 2021, through an electronic search in the following databases: Google Scholar, Scientific Electronic Library Online (SCIELO) and Virtual Health Library (BVS). The online search in the databases was carried out by consulting the terms/descriptors in Portuguese and English: Arboviruses, *Aedes aegypti*, Larvicidal activity, Essential oils and Essential oils and larvicidal activity.

Original articles, dissertations and editorial books were included in this study, which answered the guiding question, in the languages: Portuguese or English, published in scientific journals and available in full from 2011 to 2020. Editorials (letters, comments, notes brief), letters to the editor, reviews, course conclusion works and abstracts published in annals of events. Duplicate articles were considered only once, respecting the searched order of the databases. The publications were analyzed and interpreted and at the end of the analysis and description of the studies, the discussion of the results found and the synthesis of the knowledge produced through this study took place.

3. Results and discussion

3.1. Prevention, control and efficiency

Arboviruses have been presented as an important public health problem, as they face diagnostic difficulties based on both clinical-epidemiological examination and serological analysis due to the presentation of cross-reactions, but the best disease prevention measures come to be the vector prevention and environmental control (GRANDADAM, 2007; LIMA-CAMARA, 2016; KURIZKY et al., 2020). Vector control reduces the risk of many viruses, but requires an understanding of pathogenicity, which aims to identify arboviruses with potential for emergence, and transmission dynamics of each arbovirus to choose appropriate control methods, even in developed countries it becomes a challenge, as it needs to be aligned with good infrastructure and sanitation to be effective (ROSENBERG, 2016; ZARA et al., 2016).

In 2017, there was a significant decrease in some arboviruses compared to previous years, linking this decrease to actions developed by programs to combat vectors, association of public policies, immune protection acquired through previous exposures or through vaccines and the awareness and participation of the population, but it regained amplitude in the following years (CAMPOS et al., 2018, OPS/WHO, 2020). Vaccines, although they are the ideal prophylaxis for the prevention and protection against

these diseases, require their separate development for arboviral diseases, becoming an expensive and costly process, in addition to not being applicable to low-occurrence diseases, there is the need to vaccine against yellow fever, developed more than 80 years ago, as an example of an effective and safe strategy (ROCHA et al., 2018).

The control methods currently available for vectors, mainly for the *Aedes* genus, can be classified as: mechanical, biological and chemical. As methods that work with actions aimed at eliminating places used for breeding vectors, from the usability of larvicides, insecticides/pesticides and predators or pathogens products to reduce vectors (ZARA et al., 2016; DENGUE, 2021).). The need to integrate entomological and epidemiological surveillance has been essential in aligning with the combination of methods applicable to vector control, in order to combat them without selecting resistant vectors. Insecticides used in an exacerbated way can cause a selection among vectors, as the biologically more susceptible individuals are eliminated, leaving only the resistant ones,

The development of continued actions for the whole world in recent years has followed a line of technological innovations and has been presenting relevant and favorable results for the preservation of the environment and effectiveness in combating arboviruses, such as eco-bio-social approaches, development of larvicides from plants and biological agents for chemical and biological control in

substitution of artificial larvicides, devices and transgenic mosquitoes, mapping and use of combined techniques (Wolbachia and SIT by irradiation) (SILVA et al.,2012; SANTOS et al., 2010). This development is in line with the lines of strategic actions described by the WHO for the development of control at a global level and thus reduction of arbovirus cases (PAHO, 2020).

3.2. Problems and Global Approach to Arboviruses

The most recent epidemics in the world due to arboviruses are those related to Dengue (Flaviviridae), Chikungunya (Togaviridae) and Zika (Flaviviridae). The pathogens responsible for these diseases and others, previously considered restricted to subhuman primates, have been transmitted by vectors such as those of the genus *Aedes*, where the disseminating mosquito vector is the *Aedes aegypti*, which has almost the same ecological niche as humans, and *Aedes albopictus*, which, despite being native to Asia, due to its rapid adaptation to various habitats, is currently present on all continents because it also has greater resistance to cold and, therefore, a broader adaptation to the places where it is found. (SEGONDY, 2016; TAKEUTI et al., 2020; FAILLOUX, 2019).

Studies on mapping have demonstrated the probability of possible occurrences of vectors and their potential distributions at a global

level related to the influence of climatic conditions. Arbovirus-related diseases have not been limited only to tropical and subtropical regions, such as in Brazil, a country considered endemic for dengue, but have now also been found in other regions and countries on other continents such as Africa, Europe and Asia, being considered as non-endemic in some arboviruses only on the continent of Antarctica, due to the wide distribution of vectors such as *Aedes* (RUST, 2012; LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; VIANA et al., 2018; KAMAL et al., 2018; KUNA; GAJEWSKI; BIERNAT, 2019).

The countries belonging to America have observed vectors that have become synanthropic and emerging diseases transmitted by vectors, a percentage of 30% is related to arboviral infections in recent years, due to human actions and changes. The increase in urbanization and changes in ecosystems, demographic changes, the process of globalization and environmental degradation, as well as global warming, climate change and its effects, have significantly increased the emergence of arboviruses with their migration to the urban environment and the establishment of epidemic cycles (KUNA; GAJEWSKI; BIERNAT, 2019; LIMA-CAMARA, 2016; WHITEHORN & YACOUN, 2019).

Vectors such as *Aedes aegypti* mosquitoes need a receptacle with water for their development to the winged stage, and the activities

developed by humans during changes involving the climate, rainy and dry seasons, contribute to the population development of mosquitoes/vectors that together with transport has favored the emergence of new pathogens not yet identified or poorly characterized and the incidence of diseases involving arboviruses, also increasing the rate of mutations (ROSENBERG, 2016; KAMAL et al., 2018).

3.3. *Aedes aegypti*

Aedes aegypti are the vectors of many important diseases, which means they can carry the etiological agents from one host to another. Generally, the diseases caused have a wide global distribution, high mortality rates and high incidence.

The *Aedes aegypti* mosquito measures less than 1 centimeter and has a harmless appearance, it is black in color with white stripes on the body and legs. Its bite doesn't hurt or itch. The adult *Aedes aegypti* lives for an average of 45 days, usually biting in the early morning and late afternoon. Studies by FIOCRUZ proved that the female flies up to a thousand meters away from her eggs (BRASIL, 2006). *Aedes aegypti* maintains urban characteristics and feeds on plant saps. However, females of this species are hematophagous, that is, they also feed on blood. This means that when ingesting the

blood of the infected host, it ingests the microorganism that produces the disease. Females can lay between 150 and 200 eggs.

The life cycle of the *Aedes aegypti* mosquito comprises four stages: egg, larva, pupa and adults. The eggs of the transmitting mosquito are deposited under suitable conditions, that is, in hot and humid places, deposited in places close to the waterline, and the embryos that are inside the eggs take 2 to 3 days to develop and hatch if humidity conditions are adequate. Embryos can weaken or die if the eggs dry up during this period, but if they are assured of perfect development during a certain period, the mosquito eggs become resistant to dissection and thus can survive for periods ranging from several months. to a year. This represents a major barrier to mosquito elimination (COSTA, 2001).

The larval period, under optimal conditions, does not exceed 5 (five) days. This is the feeding and growing phase and depends on temperature, density of larvae in the hatchery and food availability. The larva is divided into thorax, head and abdomen. When in low temperature and lack of food, this phase can last for weeks, until they become pupae. The pupa is a phase without food and, in addition, it is the phase where the transformation to the adult stage occurs (COSTA, 2001). To pass from the embryo stage to the adult stage (egg, larva and pupa), the *Aedes aegypti* takes an average of ten days. Mosquitoes mate on the first or second day after becoming

adults. After this mating, the females start to feed on blood, which has the proteins necessary for the development of eggs. Costa (2001) states that, 24 hours after emerging, the mosquito can mate, both female and male. The period of dengue transmission occurs in two cycles: first, the intrinsic cycle in man, and the extrinsic cycle in the vector.

Diseases transmitted by the *Aedes aegypti* vector represent one of the greatest challenges for current and future human well-being. In recent decades these diseases have become a serious health concern for the most developed countries (HOTEZ, 2008), due to the migration of vectors to previously uninhabited areas in response to climate change and deforestation. Thus, insects that used to live in forests migrated and adapted to cities (GONZÁLEZ et al., 2010). In addition, the increase in international human migration and commercial exchanges promoted the accidental introduction of vectors and/or pathogens between continents (ALTIZER et al., 2011).

There are about 30 viruses of major importance for public health that are transmitted by mosquitoes, with yellow fever, Chikungunya, dengue and Zika being the main diseases transmitted by mosquitoes of the *Aedes* genus, these last ones deserve to be highlighted due to the absence of approved vaccines for their prevention, as well as the number of recent viral outbreaks affecting the population (SAWAR, 2015).

3.4. Vector Control

The pesticides or insecticides currently used can be classified into 2 groups: conventional and alternative (selective). Conventional insecticides are chemical substances that belong to the classes of organochlorines, organophosphates, carbamates and pyrethroids. Alternatives or biopesticides are products of natural origin that can be microorganisms (eg *Bacillus thuringiensis* var. *Israelis*) or biochemical compounds capable of inducing death or delaying the development of insects (eg lectins, protease inhibitors) (REDDY; TANGTRAKULWANICH) , 2014).

3.4.1. Chemical insecticides

Chemical control, with synthetic insecticides of organic or inorganic origin, is one of the most adopted methodologies as part of sustainable and integrated management for vector control in Public Health. Insecticides belonging to organochlorines, organophosphates and pyrethroids are the most used and act on the nervous system of insects (BALDACCHINO et al., 2015).

Organochlorines are insecticides that contain carbon, hydrogen and chlorine. They are classified into four groups: diphenyl-aliphatics; hexachlorocyclohexanes; cyclodienes; and polychloroterpenes. These are the oldest chemical pesticides used. Among these is DDT

(dichlorodiphenyltrichloroethane), the most notorious insecticide of the last century. This compound acts on sodium channels, causing an imbalance in the balance between sodium and potassium ions in the axons, preventing the propagation of nerve impulses in insects and mammals (BRAGA; VALLE, 2007).

Although these have been widely adopted by mosquito vector control programs, their use has been discontinued and has even been banned in several countries due to their persistence in the environment and their accumulation in animal and human body tissues (VENIER; HITES, 2014).

Organophosphates, in turn, emerged to replace organochlorines. In this group, the compounds have phosphorus in their composition and can be classified into three subgroups: aliphatic (eg: malathion, vapone and vidrin), phenyl derivatives (eg: fenitrothion,) and heterocyclic (eg: chlorpyrifos, chlorpyrifos- methyl) (WARE; WHITACRE, 2004).

These insecticides are widely used in public health because they have many advantages over organochlorines, such as being biodegradable and not accumulating in tissues. However, their main disadvantage is chemical instability, which makes periodic renewal of their application mandatory. In addition, they are more toxic to vertebrates than organochlorines, even at relatively low doses (WARE; WHITACRE, 2004).

The mechanism of action of organophosphates is the irreversible binding with acetylcholinesterase, the enzyme responsible for the breakdown of the neurotransmitter acetylcholine. The accumulation of acetylcholine in the synaptic cleft prevents the interruption of the nerve impulse causing paralysis followed by death (PAILAN et al., 2015). Temephos is an organophosphate, registered in the USA in 1965 for use in agriculture and mosquito control, it is the only larvicide of this group with widespread use in the control of mosquito larvae, recommended by the WHO.

3.4.2. Bioinsecticides

Bioinsecticides are developed from naturally occurring living organisms such as animals, plants and microorganisms. They can control harmful insect pests through their eco-friendly mode of action, that is, low toxicity to the environment. Bioinsecticides and their products are mainly used to manage pests that are harmful to plants, however, they can also be used to combat disease-carrying insects (MAZID; KALIDA; RAJKHOWA et al. 2011).

They are often specific targets, harmless to non-target insects, and do not cause air and water quality problems in the environment. In addition, the use of these products has other advantages, for

example, low ability to induce resistance in target pests (SENTHIL-NATHAN, 2015).

These compounds have been used in the commercial, agricultural and horticultural industries to reduce the risk generated by chemical pesticides on non-target organisms, as they have low residual activity for workers/applicators and natural enemies (eg, parasitoids and predators) (KHATER, 2012).

When used as a constituent in insect and pest management, their effectiveness can be equal to that of conventional (chemical) insecticides, particularly for crops such as fruits, vegetables, nuts and flowers. When considering the performance of synthetic insecticides and environmental safety, bioinsecticides effectively perform the control and emergence of resistant pests (SENTHIL-NATHAN, 2013).

Also, botanical insecticides, resulting from the primary or secondary metabolism of plants, may have different mechanisms of action to also cause the death of insects, as they can act on the central nervous system, hindering growth and development and/or interfering with metabolism. cell phone (CORRÊA; SALGADO, 2011).

Among the molecules of primary plant metabolism, proteins related to pathogenicity constitute an arsenal of molecules capable of acting

against different types of pathogens and are potential insecticides (LANNO; VAN DAMME, 2014).

Among these proteins are lectins, ribosome inactivating proteins (RIPs) and inhibitors of proteolytic enzymes or glucosidases. These classes of proteins are often related to the protection of reproductive organs and tissues against herbivory (CARLINI; GROSSIDE-SA, 2002; VAN DAMME; LIUYI DANG, 2015).

3.4.3. Natural Larvicides

Larvicidal action is the ability of a substance/product to eliminate larvae, which can be through microorganisms (biological origin) or synthesized and extracted from plants (chemical origin), the latter of which has shown great potential and is the object of several studies. The decrease in larval movements is one of the first signs of a product with larvicidal potential (TORRES et al., 2014). Larval elimination is more interesting, especially when blocking transmission and at strategic points (BOTTI, 2010).

In this context, among the viable biocidal products for the control of insects and larvae, essential oils extracted from medicinal and/aromatic plants stand out for the control and combat of several dipterous insects, such as *Ae. aegypti* (PAVELA, 2015).

These products synthesize substances such as secondary metabolites responsible mostly for biological activities, such as antimicrobial, antitumor, antioxidant and insecticide (BEZERRA, 2016). According to the literature, plant extracts, essential oils and semi-synthetic derivatives have toxic potential against larvae of this species (GOVINDARAJAN, 2011; WARIKOO et al.; FENECH et al., 2011; DOMINGOS et al., 2014; MEIRELES et al., 2014; MEIRELES et al., 2016), as they change its development, cause repellency, infertility, deformations, mortality, oviposition, among others (DELETRE et al., 2013; KAMIABI et al., 2013; PONTUAL et al., 2014; GUERRERO et al., 2020; GUERRERO et al., 2020).

In addition, mosquito resistance to these compounds is reduced, since the combination of chemical substances obtained from plant products can affect more than one physiological and behavioral process, when compared to conventional insecticides (NIROUMAND et al., 2016). Even more, since they are obtained from natural, biodegradable sources, reduce impacts on the environment (water, air and soil), the use of these substances to control pests and insects becomes advantageous (PERON; FERREIRA, 2012).

Thus, considering the great Brazilian flora, studies have already proven the repellent and larvicidal action of plant species, including essential oils. Chaves et al (2019) found that essential oils and

extracts obtained from the leaves of *O. vulgare* L. and *O. majorana* L. have good potential for the development of natural larvicides. As well as Lima et al (2018), who observed a strong larvicidal and repellent action of the essential oil of *Siparuna guianensis*.

3.4.4. Medicinal plants

The origin of man's knowledge of the virtues of plants is intertwined with his own history. It certainly emerged, as he tried to meet his basic needs, through chance, attempts and observations, a set of factors that constitute empiricism. Primitive man depended fundamentally on nature for his survival and used mainly medicinal plants to cure himself. In the course of its evolution, new therapies emerged. It is believed that the oldest record of all is the *Pen Ts'ao*, from 2800 BC, written by the Chinese herbalist Shen Nung, which describes the use of hundreds of medicinal plants in the cure of various diseases (ALMEIDA, 2011).

Different parts of the plant are used, varying according to the type of use, the most used being: leaves, fruits, bark, milk (latex) and seeds (FENNER et al., 2006). Thus, medicinal plant is defined as any plant substance, which has compounds present in its organs, which can be used as precursors of semi-synthetic drugs or used for therapeutic purposes (WHO, 1998).

Plants represent an excellent source for the search for new compounds, since the Brazilian flora is highly diverse in species and there is a great chemical and structural diversity of substances produced. A large portion of current drugs are linked to medicinal plants, whether this link is directly through the isolation of molecules from the natural source or indirectly as a result of synthesis from prototype molecules observed in plants (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001; DEVIENNE; RADDI; POZETTI, 2004).

Substances that are present in plants are produced by their metabolism, which can be classified into two groups: primary metabolites and secondary metabolites. Primary metabolites are essential for the development, growth and reproduction of plants, being generally used in respiration or photosynthesis, they are directly involved in the development, growth and/or reproduction of the plant. Secondary metabolites play an important role in defense and protection, as well as in communication between species. These are generally responsible for the medicinal and toxic properties found in plants (DOURADO, 2006; PICOLI et al., 2010).

The scientific study of medicinal plants has been one of the WHO's priority programs since its Health for All program in the Year 2000. According to WHO estimates, 80% of the world's population mainly uses traditional (popular) medicinal plants to meet their primary

health care needs (WHO, 1978). In developed countries, drugs of plant origin also play an important role. In the United States, for example, 25% of all medical prescriptions prescribed between 1959 and 1980 contained plant extracts or active principles obtained from higher plants (Division Angiospermae). Brazil has competence in all areas of science related to the study of medicinal plants. The legal bases for the regulation of phytotherapy have been the subject of several resolutions and ordinances (ALMEIDA , 2011).

In short, knowledge about medicinal plants often symbolizes the only therapeutic resource of many communities and ethnic groups. The use of plants in the treatment and cure of diseases is as old as the human species. Even today in the poorest regions of the country and even in large Brazilian cities, medicinal plants are sold in street markets, popular markets and found in residential backyards. (RADÜNZ et al., 2010)

In the Amazon region, 260 plants, between native and cultivated, were cataloged in two communities that live on the shores of the Bay of Marajó-PA; 1200 are sold at the Ver-o-peso market, in Belém-PA; another 242 species are grown in residential backyards in Belém. Popular observations on the use and effectiveness of medicinal plants contribute in a relevant way to the dissemination of the therapeutic virtues of plants, frequently prescribed, for the medicinal effects they produce, despite not having their known

chemical constituents. Thus, users of medicinal plants around the world, keep in vogue the practice of consumption of herbal medicines, making therapeutic information that has been accumulated for centuries valid. In an indirect way,

According to the regulation, for the use of plants for medicinal purposes, there is a need for complete knowledge of the plant in order to prove its potential, as well as the determination of its toxicity, through toxicity tests. The exaggerated and unconscious use of these plants can cause damage to the body, thus, pharmacological studies are essential to certify the properties of these species (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

In Brazil, several ethnopharmacological and ethnobotanical researches have revealed great medicinal potential of plants, and that their use is not toxic to the organism. Plants of the Lamiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae and Myrtaceae families. Substances with antimicrobial (PIMENTA et al., 2019), repellent (SILVA, et al., 2019), antitumor (NÚÑEZ et al., 2018), antiparasitic (PEREIRA et al., 2019), antioxidant (SILVA et al., 2019) properties have been identified. al., 2017), antidiarrheal (SILVA et al., 2016), leishmanicidal (DA SILVA et al., 2018), among others.

Regarding the larvicidal and insecticidal potential of botanical substances, there are pyrethrins, nicotine, cevadine, veratridine, ryanodine, volatile bioinsecticides, and others. The latter are

generally represented by the essential oils present in aromatic plants (CORRÊA; SALGADO, 2011). These oils are selective, non-toxic, biodegradable and some have an effect on the target organism, making them an important natural insecticide resource (SRITABUTRA; SOONWERA, 2013).

Thus, according to Silva et al (2008), plant-based insecticides are normally not toxic to the non-target organism, acting in different phases of the mosquito's evolutionary cycle, interfering with its growth and reproduction, in addition to being available in most parts of the world. which is endemic for diseases caused by mosquitoes.

3.5. Essential oils

Essential oils, also called ethereal oils, essences or volatile oils, are a complex mixture of chemical substances, from aromatic compounds, which give a strong aroma and oily characteristics, found in plants (MENEZES et al., 2017). Through phylogenetics, it is stated that essential oils are found mostly in eudicot angiosperms, occurring mainly in the families Asteraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Lamiaceae, among others. They are also detected in monocots, but less abundantly and limited to the Poaceae and Zingiberaceae families (SIMÕES et al., 2016).

They have secretory structures, such as parenchyma cells, specialized pockets or oil channels, located throughout the plant or in specific areas. Thus, EO's can be extracted from different parts of plants, such as leaves, flowers, stems, fruits, roots and bark. As the part of the plant the EO is extracted, the chemical composition, odoriferous and physicochemical characteristics can vary, being totally different for each part of the same plant. This may be due to genetic variability, environmental factors, leaf age, extraction method and oil analysis (SOUSA et al., 2015).

The extraction of EO's from plants can be by means of distillation, pressing of the fruit pericarp, hydrodistillation, by steam dragging, extraction by flowering, dry distillation or by mechanical process, extraction by supercritical CO₂ and by non-polar organic solvents (MORAIS, 2009; SOUSA et al., 2015; NIETO, 2017). The extraction yield may vary depending on the type of plant, temperature, harvest time, plant composition, extraction method, including the interaction of the essential oil with the solvent (RÍOS & RECIO, 2005; YUSOFF et al., 2011; BARROS, ASSIS, MENDES, 2014).

The chemical composition of EO's is quite complex, as it presents a wide variety of substances that can be identified as terpenic hydrocarbons, ketones, simple and terpenic alcohols, esters, aldehydes, organic acids, phenols, oxides, coumarins, peroxides, furans, lactones, among others. others. Major compounds are found

in greater amounts, while trace components are identified in smaller amounts (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017).

Certain oils exhibit more than 60 different chemical substances, with the major compounds representing about 80% of the total composition, responsible for the biological properties of essential oils (BARBOSA, 2010). In a study by Souza et al. (2016), for example, three major compounds were found in cinnamon (*Cinnamomum cassia*), of which 84.52% E-cinnamaldehyde, followed by 8.79% (E)-o-methoxycinnamaldehyde and 1.44% E-cinnamaldehyde. E-cinnamyl acetate.

Despite this, according to the literature, large concentrations of a chemical substance do not proportionally indicate the amplitude of its potential (GALINDO et al., 2010). This statement corroborates with Milezzi et al. (2014), when stating that the action of EO's can occur due to the synergistic action with several other compounds, and their chemical constituents can be found in lower concentrations.

Chromatography is the most widely used analytical technique available for the determination and separation of volatile or volatile compounds, with very similar physicochemical characteristics in complex substances, such as EO's. This technique consists of heating the sample in a chromatograph, and the sample compounds eluted,

sending an electrical signal recorded in the form of graphs, through peaks (PENTEADO et al., 2008).

The use of essential oils is very expanded, being used since the 16th century by ancient civilizations using herbs as a therapeutic and food protection method. Some spices were used in many countries for medicinal purposes or to maintain the characteristics of food during storage, in regions with a hot climate. In Egypt, for example, spices were used to preserve bodies after death (BUSATTA, 2006; MENDONÇA, 2004; TRAJANO et al., 2009).

In the 21st century, they are used in the food, cosmetics, perfumery and mainly pharmaceutical industries, for the production of drugs. They are applied especially as aromas, fragrance fixers, fragrances, in pharmaceutical and oral compositions, generating pure compounds such as limonene, citral, eugenol, safrole and menthol (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Essential oils are a viable alternative in several researches related to plant substances. Its applications include uses as antimicrobial, larvicidal, analgesic, anti-inflammatory, anti-cancer, antioxidant, anti-asthmatic, in addition to being used for the treatment of parasitic diseases (GAUTAM, MANTHA, MITTAL, 2014).

A huge amount of plant species are producers of essential oils and there are several that have biological properties. (CHOUHAN;

SHARMA; GULERIA, 2017). Thus, according to this research, Table 1 presents several studies related to the larvicidal potential of essential oils. Due to this potential, the use of EO is an alternative for the production and use of herbal medicines in the fight against pathogenic mosquitoes.

Table 1- Essential oils from plants obtained in Brazil with reported larvicidal potential.

Species	Major compounds	Reference
<i>Vanillosmopsis arborea</i> B.	alpha-bisabolol	(FURTADO et al., 2005)
<i>Zingiber officinale</i> <i>Roscoe</i>	α -zingiberene geraniale nerolidol	(GOMES et al., 2016)
<i>lippia alba</i>	carvone limonene	(SILVA et al., 2019)
<i>Myrcia sylvatica</i> (G. Mey) DC	(E)-caryophyllene	(ROSA et al., 2016)
<i>piper hispidum</i>	γ -terpinene α -terpinene terpinolene	(GOMES et al., 2020)
<i>eugenia calycina</i>	Bicyclogermacrene spathulenol β -caryophyllene	(SILVA et al., 2018)
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	D-germacrene (Z)- β -caryophyllene caryophyllene oxide α -copaene	(EVERTON et al., 2020)
<i>Alpinia zerumbet</i>	----	(JUNIOR et al., 2020)

<i>piper capitarianum</i> Yunck	β -caryophyllene, β -myrcene α -humulene	(FRANÇA et al., 2015)
<i>dioecious pepper</i> Lindl	eugenol chavicol myrcene	(MARTINS et al., 2020)
<i>graveolens route</i> L.	2-nonona 2-decanone 2-undecanone 2-dodecanone	(ORLANDA; MOUCHREK, 2021)
<i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit	1.8 - cineole	(SILVA et al., 2017)
<i>atlantic cedrus</i>	α -himachalene β -caryophyllene α -cidrene	(PORTO et al., 2016)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	terpinen-4-ol	(PIRES et al., 2019)
<i>origanum majorana</i> L. and <i>Origanum vulgare</i> L.	Pulegona γ -terpinene	(CHAVES et al., 2019)
<i>peumus boldus</i>	ascaridol 1,8-cineole γ -terpinene isoascaridol	(LOPES et al., 2020)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	terpinen-4-ol	(GRANDO et al., 2015)

Despite the great diversity and advantages over the use of EO's, these bioproducts can be unstable to external actions, such as oxidation, pH change, volatility and sun exposure, directly interfering with their biological potential (CARVALHO, ESTEVINHO and SANTOS, 2016). In this way, several researchers have applied the different techniques of nanotechnology of natural compounds in order to increase the action time of these oils, improve chemical stability and reduce volatilization, enhancing the biological properties of these substances (SILVA et al., 2019) .

References

ALMEIDA, MZ Medicinal plants: a historical-contemporary approach. Medicinal Plants [online], v. 3, p. 34-66, 2011.

BARBOSA, LN Antimicrobial property of essential oils from spice plants with potential use as a preservative in beef and beef hamburgers and acceptance tests. 2010.

BARROS, NA; ASSIS, AVR; MENDES, MF Extraction of basil oil using supercritical fluid. Rural Science, vol. 44, p. 1499-1505, 2014.

BEZERRA, GB SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF VANADIUM AND IRON COMPLEX, BINDING NATURAL PRODUCTS. 2016

BIZZO, HR; HOVELL, AMC; REZENDE, CM Essential oils in Brazil: general aspects, development and perspectives. *New Chemistry*, vol. 32, p. 588-594, 2009.

BOTTI, MV Control of *Aedes aegypti*: residual period of temephos in water in plastic, glass and rubber containers, residual larvicidal action in rubber containers and safety of working conditions in malathion nebulization. 2010.

BUSATTA, C. Chemical characterization and antimicrobial activity in vitro and in foods of oregano and marjoram extracts. Integrated Regional University of Alto Uruguay and Missions, 2006.

CAMPOS, AGC et al. Nanocosmetics in facial aging: literature review. *Journal of the Vale do Rio Verde University*, v. 13, no. 1, p. 548-556, 2015.

CARVALHO, IT; ESTEVINHO, BN; SANTOS, L. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal health products - a review. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, no. 2, p. 109-119, 2016.

CHAVES, RSB et al. Evaluation of larvicidal activity of ethanolic crude extract and essential oils from leaves of *origanum majorana* L. and *origanum vulgare* L. against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). 2019

CHAVES, RSB et al. Evaluation of larvicidal activity of ethanolic crude extract and essential oils from leaves of *origanum majorana* L. and *origanum vulgare* L. against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). 2019

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, v. 4, no. 3, p.58-78, 2017.

CORDEIRO, TS Evaluation of the antimicrobial activity of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Sage (*Salvia officinalis*) essential oils for application in food. 2013.

CORREA, JCR; SALGADO, HRN Insecticidal activity of plants and applications: review. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, v. 13, no. 4, p. 500-506, 2011.

DA SILVA, Anne Dayse Soares et al. *Croton growioides* Baill. (Euphorbiaceae) shows antidiarrheal activity in mice. *Research in pharmacognosy*, vol. 8, no. 3, p. 202, 2016.

DA SILVA, TI et al. Larvicidal effect of essential oils from medicinal plants on *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae. *Green Journal of Agroecology and Sustainable Development*, v. 12, no. 2, p. 256-260, 2017.

DA SILVA, VP et al. Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils from the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. *Cultures and industrial products*, v. 123, p. 638-645, 2018.

DELETRE, E. et al. Repellent, irritant and toxic effects of 20 plant extracts on adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* mosquito. *PloSone*, v. 8, no. 12, p. e82103, 2013.

DENGUE, Class. Module 5 | Vector Control Strategies. Youtube. Available at: <<https://www.youtube.com/watch?v=IBl78FWRWcw>>. Access on: 15 Oct. 2021.

DEVIENNE, Karina Ferrazzoli; RADDI, G.; POZETTI, Gilberto Luiz. From medicinal plants to phytopharmaceuticals. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, p. 11-14, 2004.

DOMINGOS, PRC et al. Insecticidal and genotoxic potential of two semi-synthetic derivatives of dillapiole for the control of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 772, p. 42-54, 2014.

DOURADO, Rodrigo Strohmayer. Isolation of secondary compounds in extracts of stems and leaves of *Hypericum cordatum* (Vell. Conc.) N. Robson (Clusiaceae). 2006. Doctoral Thesis. Dissertation. (Master's in plant biodiversity and environment) - area of vascular plants in environmental analyses. Sao Paulo.

EVERTON, GO et al. Essential oil from discarded husks of *Hymenaea courbaril* L. fruit as a larvicide against *Aedes aegypti*. *Research, Society and Development*, v. 9, no. 10, p. e1389108437-e1389108437, 2020.

FAILLOUX, AB Vector competence and arbovirus. *Clinical and Biological Transfusion*, c. 26, no. 3, p. S16, 2019.

FENECH, M. et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, v. 26, no. 1, p. 125-132, 2011.

FRANÇA, LP et al. Evaluation of larvicidal activity of extracts and essential oil of *Piper capitarianum* Yunck, 1966 (Piperaceae) on *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 and *Anopheles* sp (Culicidae) in the laboratory. 2015.

FURTADO, RF et al. Larvicidal activity of essential oils against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*, vol. 34, p. 843-847, 2005.

GALINDO, LA; DE MORAES PULTRINI, A.; COSTA, M.. The biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to the synergistic action between several compounds present in the essential oil. *Journal of natural medicine*, v. 64, no. 4, p. 436-441, 2010.

GAUTAM, N.; MANTHA, AK; MITTAL, S. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. *BioMed research international*, v. 2014, 2014.

GOMES, PRB et al. Evaluation of the larvicidal activity of the essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) against the *Aedes aegypti* mosquito. *Brazilian journal of medicinal plants*, v. 18, p. 597-604, 2016.

GOMES, PVR et al. Incorporation of microparticles loaded with essential oil in holocellulose extracted from organic waste for the development of a larvicidal bio-defensive. 2020

GOVINDARAJAN, M. et al. Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol of the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex*

quinquefasciatus and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Research in Veterinary Science*, vol. 104, p. 77-82, 2016.

GOVINDARAJAN, M. Evaluation of *Andrographis paniculata* Burm. f.(Family: Acanthaceae) extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.)(Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 4, no. 3, p. 176-181, 2011.

GRANDADAM, M. Surveillance et diagnosis of arboviruses in France métropolitaine. *Revue Francophone des Laboratoires*, v. 2007, no. 396, p. 75-84, 2007.

GRAND, TH et al. In vitro ovicidal and larvicidal action of *Melaleuca alternifolia* essential oil, free and nanostructured, and terpinen-4-ol on *Haemonchus contortus*. 2015.

GUERRERO, D.; CANTAERT, T.; MISSÉ, D. *Aedes* mosquito salivary components and their effect on the immune response to arboviruses. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, p. 407, 2020.

HARE, R.; UPMANYU, N.; JHA, M. Exploring the potential effect of *Salvia officinalis* methanolic extract against aging of skin exposed to ultraviolet rays: in vivo and in vitro model. *Current Aging Science*, v. 14, no. 1, p. 46-55, 2021.

JUNIOR, PSS et al. Larvicidal activity of *Alpinia zerumbet* frente essential oil as *Aedes aegypti* mosquito larvae. *Research, Society and Development*, v. 9, no. 8, p. e194985578-e194985578, 2020.

KAMAL, M. et al. Mapping the global potential distributions of two arboviral vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* under changing climate. *PloSone*, v. 13, no. 12, p. e0210122, 2018.

KAMIABI, F.; JAAL, Z.; KENG, CL Bioefficacy of crude extract of *Cyperus aromaticus* (Family: Cyperaceae) cultured cells, against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 3, no. 10, p. 767-775, 2013.

KUNA, A.; GAJEWSKI, M.; BIERNAT, B. Selected arboviral diseases imported to Poland-current state of knowledge and perspectives for research. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 26, no. 3, 2019.

KURIZKY, PS et al. Opportunistic tropical infections in immunosuppressed patients. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, v. 34, no. 4, p. 101509, 2020.

LIMA, YMS et al. Chemical identification and analysis of the larvicidal and repellency activity of the essential oil of the leaves of *Siparuma guianensis* Aublet against *Aedes aegypti* Linnaeus. 2018

LIMA-CAMARA, TN Emerging arboviruses and new challenges for public health in Brazil. *Journal of Public Health*, v. 50, 2016.

LOPES, ASN et al. Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Peumus boldus* (Monimiaceae). *Virtual Journal of Chemistry*, v. 12, no. 2, 2020.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, REC General characteristics and epidemiology of emerging arboviruses in Brazil. Pan-Amazonian Health Magazine, v. 5, no. 3, p. 10-10, 2014.

MARTINS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, ICFR Traditional Portuguese plants: the antioxidant potential of the use of phenolic extracts. SPASS 2015, 2nd National Symposium: Promotion of Healthy and Safe Food, Nutritional Quality and Food Processing, 2015.

MARTINS, TGT et al. Larvicidal activity of essential oil from *Pimenta dioica* Lindl. against *Aedes aegypti* mosquito larvae. Research, Society and Development, v. 9, no. 8, p. e151985518-e151985518, 2020.

MEIRELES, SF et al. Toxic effect and genotoxicity of the semisynthetic derivatives dillapiole ethyl ether and dillapiole n-butyl ether for control of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, v. 807, p. 1-7, 2016.

MENDONÇA, AT Effect of essential oils from spices on the growth of *Staphylococcus aureus* in creamy ricotta. 2004. Doctoral Thesis.

MENEZES, PMN et al. Pharmacological activity of essential oils in the respiratory system: a systematic review of preclinical studies. Rev. Electric Farm., Goiania, vol. 14, no. 3, 16-31, 2017.

MORAIS, LAS Essential oils in phytosanitary control. Embrapa Meio Ambiente-Chapter in a scientific book (ALICE), 2009.

NIETO, G. Biological activities of three essential oils from the Lamiaceae family. *Medicines*, v. 4, no. 3, p. 63, 2017.

NIROUMAND, MC; FARZAEI, MH; KARIMPOUR-RAZKENARI, EE; AMIN, G.; KHANAVI, M.; AKBARZADEH, T.; SHAMS-ARDEKANI, MR An Evidence-Based on Medicinal Plants Used as Insecticide and Insect Repellent in Traditional Iranian Medicine. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. v. 18, no. 2, p.1-8, 2016.

NÚÑEZ, J. et al. Antitumor potential of *Tagetes ostenii* Hicken leaf essential oil in human cervical cancer cells. In: 6th Seminar on Scientific and Technological Initiation (SICT). 2018

WHO. The promotion and development of traditional medicine. Geneva - Switzerland:

PAHO, Pan American Health Organization. Strategies for the prevention and control of arboviruses: Final report. 58th Directing Council of PAHO, 72nd Session of the WHO Regional Committee for the Americas; September 28-29, 2020; Washington, DC. Washington, DC: PAHO; 2020 (CD58/INF/11). Available at:

<<https://www.paho.org/pt/documentos/cd58inf11-estrategia-para-prevencao-e-controle-das-arboviroses-relatorio-final>>. Accessed on: October 16, 2021.

PAHO/WHO. Data entered into the Health Information Platform for the Americas (PLISA, OPS/WHO) by the Health Ministries and Institutes of

the Countries and Territories of the Region. 2020. Accessed on October 15, 2021. Available at:<https://bit.ly/2Pes0li>

World Health Organization, 1978, 44p.

ORLANDA, JFF; MOUCHREK, AN Larvicidal effect of the essential oil of *Ruta graveolens* LINNEAU leaves on the control of *Aedes aegypti* (LINNAEU, 1762) (Diptera: Culicidae). Research, Society and Development, v. 10, no. 12, p. e115101220028-e115101220028, 2021.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. Industrial crops and products, v. 76, p. 174-187, 2015.

PENTEADO, JCP; MAGALHAES, D.; MASINI, JC Didactic experiment on gas chromatography: an analytical and environmental approach. New Chemistry, vol. 31, p. 2190-2193, 2008.

PEREIRA, R. et al. Structural diversity and biological potential of secondary metabolites from species of the genus *Myroxylon* Lf (Fabaceae): a literature review. Hoehnea, v. 46, 2019.

PERON, F.; FERREIRA, GCA Insecticidal potential of castor bean (*Ricinus communis* L.) seed extract to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). Anais... VI Internal Exhibition of Scientific Initiation Works, 2012.

PICOLI, Andressa Araujo et al. Evaluation of bioregulators in the secondary metabolism of whole and minimally processed beets. *Bragantia*, v. 69, no. 4, p. 983-988, 2010.

PIMENTA, E. et al. Evaluation of the antifungal activity of the essential oil of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Lamiaceae) against *Candida glabrata* strains. *Full Scientia*, v. 15, no. 6, 2019.

PIRES, VC et al. Evaluation of larvicidal potential of tea tree *alternifolia* essential oil and its formulation in polymeric nanocapsules. 2019. Doctoral Thesis. Goncalo Moniz Institute.

PONTUAL, EV et al. Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of midgut larvae. *Parasitology research*, v. 113, no. 2, p. 727-733, 2014.

PORTO, BCZ et al. Ovicidal and larvicidal activity of essential oils in *Sarconesia chlorogaster* (Diptera: calliphoridae). 2016

RADÜNZ, LL et al. Analysis of drying kinetics of sage leaves. *Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering*, v. 14, p. 979-986, 2010.

RAMOS, RS et al. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial and larvicidal activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). *The Scientific World Journal*, v. 2017.

REIS, JB et al. Analytical study, evaluation of the toxicity and molluscicidal activity of the essential oil *Cinnamomum zeylanicum* Blume (cinnamon) against the snail *Biomphalaria glabrata* (say, 1818). 2012

ROCHA, RF et al. Host target-based approaches against arboviral diseases. *Biological chemistry*, v. 399, no. 3, p. 203-217, 2018.

ROSA, CS et al. Chemical composition and toxicity against *Aedes aegypti* L. and *Artemia salina* Leach of the essential oil from the leaves of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, v. 18, p. 19-26, 2016.

ROSENBERG, R. Threat from emerging vectorborne viruses. *Emerging infectious diseases*, v. 22, no. 5, p. 910, 2016.

RUST, RS Human arboviral encephalitis. In: *Seminars in pediatric neurology*. WB Saunders, 2012. p. 130-151.

SANTOS, SRL et al. Toxic effects on and structure-toxicity relationships of phenylpropanoids, terpenes, and related compounds in *Aedes aegypti* larvae. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 10, no. 10, p. 1049-1054, 2010.

SEGONDY, M. Arboviruses à risque de transmission autochtone en France métropolitaine. *Revue Francophone des Laboratoires*, v. 2016, no. 487, p. 35-46, 2016.

SILVA, AB et al. Use of *ageratum conyzoides* L. (asteraceae) essential oil in the control of *callosobruchus maculatus* (fabr., 1775) (coleoptera: chrysomelidae: bruchinae). 2019.

SILVA, JMS et al. Encapsulation of *Lippia alba* essential oil in poly-ε-caprolactone (PCL) nanoparticles to evaluate the stability and larvicidal activity against *Aedes aegypti*. 2019

SILVA, CTAC et al. Phytochemical, antioxidant and phytotoxic analysis of *salvia officinalis* L. on *lycopersicon esculentum*. 2016

SILVA, BQ et al. In search of sustainable strategies for the control of *Aedes albopictus* larvae (Skuse, 1894): technological and social perspectives. 2012

SILVA, Jessica de Andrade Gomes. Phytochemical and biological investigation of leaves of *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae). 2017. Master's Thesis. Federal University of Pernambuco.

SILVA, MV Sá G. et al. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of *Eugenia calycina* essential oil. 2018

SILVA, TP et al. Obtention and evaluation of the larvicidal activity of the essential oil nanoemulsion of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. on *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). 2017.

SILVA, WJ et al. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource Technology*, vol. 99, no. 8, p. 3251-3255, 2008.

SIMÕES, CMO et al. *Pharmacognosy: from natural product to medicine*. Artmed Editora, 2016.

SIMÕES, CMO; SPITZER, V. Volatile oils. In: SIMÕES, CMO et al. *Pharmacognosy: from plant to medicine*. Porto Alegre: UFRGS, Cap.18, p.387-416, 1999.

SOUSA, DP et al. A systematic review of anxiolytic-like effects of essential oils in animal models. *Molecules*, v. 20, no. 10, p. 18620-18660, 2015.

SOUZA, AA et al. Chemical composition and minimum bactericidal concentration of sixteen essential oils on enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, v. 18, p. 105-112, 2016.

SRITABUTRA, D.; SOONWERA, M. Repellent activity of herbal essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, v. 3, no. 4, p. 271-276, 2013.

TAKEUTI, TD et al. Hematological alterations found in dengue, Zika and Chikungunya arboviruses. *AJES Health Magazine*, v. 6, no. 11, 2020.

TORRES, SM et al. Cumulative mortality of *Aedes aegypti* larvae treated with compounds. *Journal of Public Health*, v. 48, p. 445-450, 2014.

TRAJANO, VN et al. Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. *Food Science and Technology*, v. 29, p. 542-545, 2009.

VIANA, LRC et al. Reemerging arboviruses: clinical-epidemiological profile of hospitalized elderly patients. *Journal of the USP School of Nursing*, v. 52, 2018.

WARIKOO, R.; WAHAB, N.; KUMAR, S. Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedes aegypti* L. *Parasitology research*, v. 109, no. 4, p. 1125-1131, 2011.

WEAVER, SC; REISEN, WK Present and future arboviral threats. *Antiviral research*, vol. 85, no. 2, p. 328-345, 2010.

WHITEHORN, J.; YACOUN, S. Global warming and arboviral infections. *Clinical Medicine*, v. 19, no. 2, p. 149, 2019.

YUNES, Rosendo A.; PEDROSA, Rozangela Curi; CECHINEL FILHO, Valdir. Drugs and phytotherapies: the need for the development of the herbal and phytopharmaceuticals industry in Brazil. *New Chemistry*, vol. 24, p. 147-152, 2001.

YUSOFF, ZM et al. Characterization of the downflow steam distillation system using step test analysis. *IEEE Control and System Graduate Research Colloquium*. IEEE, 2011. p. 197-201, 2011.

ZARA, ALSA et al. *Aedes aegypti* control strategies: a review. *Epidemiology and Health Services*, v. 25, p. 391-404, 2016.

ZIBETTI, FM Development of a nanostructured formulation containing essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. For the topical treatment of herpes. Master's Thesis (Postgraduate Program in Sciences Applied to Health Products) - Universidade Federal Fluminense, UFF. Niterói, 2016.

**5.2.CAPÍTULO 2 – CAPÍTULO DE LIVRO – PERFIL FITOQUÍMICO,
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Salvia officinalis L.**

Editora Científica: AMPLLA EDITORA

ISBN:

Publicado em:



AMPLLA
EDITORA

PERFIL FITOQUÍMICO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *SALVIA OFFICINALIS* L.

PHYTOCHEMICAL PROFILE, PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND TOXICITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *SALVIA OFFICINALIS* L.

RESUMO

O efeito sinérgico em potencial dos óleos essenciais advém de seus constituintes químicos, no entanto a utilização inadequada desse bioproduto pode ser tóxico ao ser humano. Dessa forma, este estudo teve por objetivo determinar o perfil Fitoquímico e as características físico-químicas e avaliar a atividade toxicológica frente à *Artemia salina* diante do óleo essencial *Salvia officinalis*. O material vegetal foi obtido em São Luís (MA) entre janeiro e maio de 2021. O perfil Fitoquímico foi executado de acordo com Matos. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação a 100 °C por 3h. Os parâmetros físico-químicos foram determinados. O teste de toxicidade foi avaliado frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach. O óleo essencial apresentou características físico-químicas satisfatórias mediante ao seu bom rendimento (1,78%). Os fitoquímicos ativos foram esteroides, glicosídeos, glicosídeos cardíacos, flavonoides, saponinas, fenóis e taninos. O óleo essencial apresentou atoxicidade, com $CL_{50} < 1000 \text{ mg L}^{-1}$. O produto bioativo oriundo da planta *S. officinalis* qualifica-se como uma opção promissora para estudos de seus potenciais biológicos.

Palavras-chave: *Artemia*. Fitoquímicos. *Salvia officinalis*.

ABSTRACT

The potential synergistic effect of essential oils comes from their chemical constituents, however the inappropriate use of this bioproduct can be toxic to humans. Thus, this study aimed to determine the phytochemical profile and physicochemical characteristics and to evaluate the toxicological activity against *Artemia salina* against the essential oil *Salvia officinalis*. Plant material was obtained in São Luís (MA) between January and May 2021. The phytochemical profile was performed according to Matos. The essential oil was extracted by hydrodistillation at 100 °C for 3 h. The physicochemical parameters were determined. The toxicity test was evaluated against the microcrustacean *Artemia salina* Leach. The essential oil showed satisfactory physicochemical characteristics due to its good yield (1.78%). The active phytochemicals were steroids, glycosides, cardiac glycosides, flavonoids, saponins, phenols and tannins. The EO was non-toxic, with $LC_{50} < 1000 \text{ mg L}^{-1}$. The bioactive product from the plant *S. officinalis* qualifies as a promising option for studies of its biological potential.

Keywords: *Artemia*. Phytochemicals. *Salvia*.

1. INTRODUÇÃO

É notório que os produtos fitoterápicos são comumente aplicados para diversos fins. Pode-se destacar a sua presença nos setores alimentícios, terapêuticos e higiênicos. Considera-se que as técnicas de uso para estes produtos à base de materiais vegetais intitulam-se de forma milenar, já que há relatos de seu emprego por diversas civilizações e culturas (MEDEIROS, 2014).

Diante do substancial potencial terapêutico das plantas, outro fator que se sobressai como relevante é seu perfil tóxico, que algumas variedades de espécies podem apresentar. Neste contexto, evidencia-se que os testes toxicológicos são designados com o intuito de analisar e validar os possíveis efeitos tóxicos nos sistemas biológicos, para averiguar a toxicidades relativas destes constituintes. Partindo desta perspectiva há normatizações que consolidam as condições mínimas em prol de produtos fitoterápicos, assim esta normatização é assistida e amparada pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26/2014 da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Para aplicar a atividade toxicológica costuma-se empregar animais aquáticos para estes tipos de ensaios, entre eles está o microcrustáceo de água salgada, a *Artemia salina* Leach. Os fatores que permeiam para tornar-se uma forte opção para objeto de estudo, é a sua facilidade de manuseio e um custo afável, aguçando o seu uso em diversos trabalhos. Dessa forma, o método para atestar a toxicidade aguda baseia-se no quantitativo da (CL50) para constituintes bioativos presentes nos materiais vegetais (LIMA et al., 2019).

Entre estes produtos fitoterápicos, inclui-se a presença dos óleos essenciais, sendo compostos identificados em diversas espécies de vegetais e diante de suas características físico-químicas podem ser atribuídos distintas denotações tendo como exemplos “voláteis, aromáticos ou estéreis”. Em virtude de seu odor agradável e muitas vezes um sabor peculiar, justifica-se a sua aplicação acentuada na indústria de cosméticos, farmacológica e sanitária (CALO et al., 2015; SILVA et al., 2018).

O efeito sinérgico em potencial dos óleos essenciais advém de seus constituintes com base na prospecção fitoquímica, entre eles estão os flavonoides, alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, ligninas, estes são compreendidos como aspectos de análises em prol da atividade toxicológica, em que há a validação dos seus aspectos farmacológicos por meio de testes em animais. Ressalta-se, que as substâncias destacadas tem capacidade em

potencial para se tornarem parte da constituição de agentes medicinais (FERREIRA et al., 2019).

Além disso, todos estes metabólitos citados em termos de concentrações, evidentemente, estão diretamente relacionados ao controle genético e respectivamente aos estímulos do meio externo, entre eles, as condições climáticas, os fatores ligados ao tipo de manejo do solo, a presença de microrganismos, além de possíveis poluentes (CRUZ et al., 2019).

As plantas pertencentes a família das Lamiaceae, como a *Salvia officinalis*, são comumente aplicadas para fins medicinais, em temperos e chás. Todavia, existem relatos de intoxicação decorrente ao seu uso inadequado. Em caso de intoxicações agudas, justifica-se por meio da identificação da espécie de forma equivocada, já em casos crônicos ocorrem através do uso prolongado (GÓES et al., 2015).

Assim, tendo em vista o potencial conhecido do óleo essencial de *Salvia officinalis*, o estudo teve por objetivo determinar o perfil fitoquímico e as características físico-químicas e avaliar a atividade toxicológica frente à *Artemia salina* diante do óleo essencial *Salvia officinalis*.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção do material vegetal

A obtenção das folhas secas de *Salvia officinalis* utilizadas nesta pesquisa foi realizada em janeiro a maio de 2021. A espécie vegetal foi transportada para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde as folhas foram pesadas, trituradas e armazenadas para a extração do óleo essencial do vegetal.

2.2. Perfil Fitoquímico

Para análise do perfil fitoquímico do material vegetal in natura, foram preparados extratos hidroalcoólicos, empregando-se o processo de maceração (HARBORNE, 1998). Os extratos hidroalcoólicos obtidos foram submetidos a testes químicos na metodologia apresentada por Matos (2009) para identificação das classes orgânicas de metabólitos secundários: esteroides, alcaloides, flavonoides, glicosídeos, saponinas, fenóis, taninos e glicosídeos cardíacos.

2.3. Extração dos óleos essenciais

Para extração dos óleos essenciais foi utilizada 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, utilizando-se água destilada como solvente (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o óleo essencial extraído, sendo seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. As amostras foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração a 4°C. Posteriormente sendo submetido as análises.

2.4. Toxicidade

Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach foi utilizada a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Inicialmente, preparou-se uma solução salina estoque de cada óleo essencial na concentração de 10.000 mg L⁻¹ de Tween 80 (tensoativo). 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 branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas de exposição, foi realizada a contagem dos microcrustáceos vivos, considerando-se mortos aqueles que não se movimentam durante a observação e nem com a leve agitação do frasco. A Concentração Letal 50% (CL₅₀) para cada óleos essenciais foi calculada com base no método de Reed&Muench (1938), com classificação da toxicidade pelo critério de Dolabela (1997).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Propriedades físico-químicas

A Tabela 1 traz o resultado dos parâmetros físico-químicos do óleo essencial da *Salvia officinalis* L., sendo de extrema importância não apenas para determinação da qualidade, como também para o controle da sua pureza.

Tabela 1- Parâmetros físico-químicos do óleo essencial

Parâmetros físico-químicos	<i>S. officinalis</i>
Densidade (g/mL)	0,9280
Índice de refração (nD 25°)	1,465
Solubilidade em álcool a 70% (v/v)	1:2
Cor	Amarelo
Aparência	Límpido
Rendimento (%)	1,78

Fonte: Autoria própria

De acordo com os resultados expressos na Tabela 1, foi obtido um rendimento de 1,78% para o óleo essencial extraído das folhas de *S. officinalis*. Este valor mostrou-se superior ao resultado encontrado por Pinheiro et al., (2019) onde relataram que o rendimento do óleo essencial de *S. officinalis* variou em 0,33% a 0,62%. Vale ressaltar, que na literatura há poucos estudos relacionados as propriedades físico-químicas do óleo essencial de *S. officinalis*.

Vasconcelos et al., (2021), ao analisarem os diferentes horários de coletas e tempos de extração do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), espécie pertencente à mesma família da *S. officinalis* observaram a mesma tendência com rendimento de 0,38%. No entanto, Dris et al., (2017) alcançaram um rendimento de 1, 56% para o óleo essencial de *O. basilicum*, próximo ao encontrado neste estudo.

As diferenças quanto a quantidade de óleo essencial encontradas, podem estar relacionadas a fatores climáticos, inerentes a planta, disponibilidade hídrica e de nutrientes, altitude, sazonalidade, local de coleta e técnicas de manejo durante o cultivo das espécies.

Segundo Governici (2019), a trituração de espécies vegetais antes da extração do óleo essencial contribui para um maior rendimento do óleo essencial. Vale salientar que no

presente estudo, o óleo essencial foi extraído das folhas trituradas e apresentou rendimento satisfatório, o que incentiva sua extração e aplicação.

Em relação à solubilidade em etanol 70%, o resultado demonstra que o óleo essencial de *S. officinalis* foi solúvel na proporção de 1:2. A cor apresentada pelo óleo essencial foi amarela típica do óleo essencial *S. officinalis*.

O índice de refração é dependente do conteúdo total de monoterpenos e seus derivados oxigenados e auxilia no reconhecimento de falsificações (Santos et al., 2015). O índice de refração e densidade do óleo essencial obtido de folhas de *S. officinalis* foi de 1,4650 e 0,9280 g mL⁻¹ respectivamente, se observou no trabalho realizado por Silupu et al. (2019) utilizando o óleo essencial desta planta o valor do índice de refração de 1,4917 e densidade de a 0,9420 g mL⁻¹, o que demonstra que os valores foram iguais ou muito próximos, o que indica a não alteração na qualidade do óleo essencial do presente estudo.

3.2. Perfil Fitoquímico

A Tabela 2 exibe a classe de metabólitos secundários identificados no óleo essencial de *S. officinalis*.

Tabela 2- Classes de metabólitos secundários identificados em *Salvia officinalis*

Óleo essencial	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Salvia officinalis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+

Nota: 1: Alcaloides; 2: Esteroides; 3: Glicosídeos; 4: Glicosídeos cardíacos; 5: Flavonoides; 6: Saponinas; 7: Fenóis; 8: Taninos; (+) positivo; (-negativo).

Fonte: Autoria própria

Segundo a Tabela 2, dentre os fitoquímicos ativos encontrados neste estudo, destaca-se a presença de esteroides, glicosídeos, glicosídeos cardíacos, flavonoides, saponinas, fenóis e taninos. Corroborando com estudos anteriores de Díaz (2017) e Arcentales Valladares & Vergara (2020) ao analisarem outras espécies de *Salvia* (*S. trifilis* e *S. squalens*). A diversidade de compostos ativos presentes é importante, demonstrando um alto potencial biológico.

A presença de esteroides observada está relacionada à atividade antioxidante (COSTA, 2017) encontrada neste estudo, além de atuarem também como antimicrobianos, anti-inflamatórios e analgésicos (OLIVEIRA et al., 2016). Os glicosídeos são responsáveis pela

aleopatia em plantas e ainda realizam a defesa do vegetal frente patógenos e herbívoros. Além disso, participam da sinalização, crescimento e desenvolvimento da planta (DELGODA, 2017).

Já os glicosídeos cardíacos têm grande impacto na indústria farmacêutica, pois diversas substâncias glicosídicas são aplicadas no tratamento da insuficiência cardíaca sugestiva (KLOSS et al., 2016). No entanto, pode ser extremamente tóxico quando administrado de forma irregular (BARBOSA et al., 2017).

Os flavonoides estão presentes em todas as espécies vegetais e desempenham diversas funções como: proteção das plantas frente à radiação UV da luz solar, defesa contra microrganismos (vírus, fungos e bactérias), insetos e outros herbívoros, além de ação antioxidante potente (SFORCIN, 2016; AMARAL, SILVA e LANNES, 2018).

As saponinas que testaram positivo são conhecidas pela capacidade de formar espuma em soluções aquosas (FERNANDES et al., 2019), assim diversas plantas contendo este composto eram utilizadas na limpeza. Esses compostos destacam-se por sua ação hemolítica, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, moluscicida, antiparasitária e antiviral (WYKOWSKI, 2012; BESSA et al., 2013).

Os compostos fenólicos são encontrados em abundância nos vegetais e possuem ações farmacológicas ativas na capacidade antioxidante, fungicidas, antibacterianas, antivirais e antitumoral (SHAHIDI & AMBIGAIPALAN, 2015; BESSA et al., 2013).

Os taninos são compostos fenólicos amplamente distribuídos entre as plantas. Possuem sabor adstringente que conferem proteção contra herbívoros em geral e contra ataques de fungos, bactérias e vírus (POYER & SCHAEFER, 2014).

Tendo em vista a presença de metabólitos responsáveis por diversas atividades biológicas, destaca-se a importância de estudos da formulação de produtos biotecnológicos com tais potenciais farmacêuticos.

3.3. Toxicidade frente a *Artemia salina* Leach

No teste de toxicidade foi possível observar que a CL_{50} foi $<1000 \text{ mg L}^{-1}$ e segundo Dolabela (1997) é classificado como atóxico. No estudo de Politi et al. (2022), observaram mortalidade de 26% do microcrustáceo de *Artemia salina* L. na concentração mais alta ($500 \mu\text{L mL}^{-1}$) do hidrolato de *S. officinalis*. Os estudos na literatura referentes a toxicidade pelo

bioensaio de *Artemia salina* Leach frente ao óleo essencial de *S. officinalis* ainda se encontram escassos e pouco divulgados.

Assim, os resultados referentes à toxicidade foram comparados a estudos que apresentaram o eucaliptol como componente majoritário. Em estudo recente de Rosa et al. (2021), comprovaram a baixa toxicidade ($CL_{50}=284,15 \text{ mg L}^{-1}$) do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* frente à *Artemia salina*, considerando como compostos majoritários o p-cimeno (40,15%) e eucaliptol (26,70%). Segundo Stefanello et al., (2009), o eucaliptol é encontrado como composto majoritário também de *Eugenia pyriformis*. Sendo assim, em estudo de Silva et al., (2015), concluíram que a ausência de toxicidade do extrato de *E. pyriformis* está relacionada à presença de seus compostos majoritários que não apresentam características tóxicas para organismos não-alvos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se afirmar através dos resultados obtidos no presente estudo, que óleo essencial de *Salvia officinalis* manifestou características físico-químicas satisfatórias mediante ao seu bom rendimento. Além disso, por meio da determinação dos constituintes químicos como os alcaloides e flavonoides, conferiu a capacidade de uma boa atividade toxicológica com quantitativos (CL_{50}) relativamente baixos frente *A. salina*. Neste contexto, o produto bioativo oriundo da planta *S. officinalis* qualifica-se como uma opção promissora para estudos de seus potenciais biológicos.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, A B.; SILVA, M. V.; LANNES, S. C. S. Oxidação lipídica em carnes: mecanismos e fatores de proteção – uma revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 38, p. 1-15, 2018.
- ANVISA. **Resolução RDC Nº 26, de 13 de maio de 2014**. Ministério da Saúde - MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Disponível em: Acesso em: 31 mar. 2022.
- ARCENTALES VALLADARES, S. D.; MARTINEZ VERGARA, A. J. Determinação de polifenóis totais e atividade antioxidante em extratos aquosos e etanólicos de folhas de *Salvia squalens*. 2020. Tese de Doutorado. Universidade Guayaquil. Faculdade de Ciências Químicas.

- BARBOSA, H.M. et al. Abordagem fitoquímica de metabólitos secundários em *Solanum acanthodes* (Solanaceae) Hook. **Revista Sul-Americana de Educação Básica, Técnica e Tecnológica**, v. 4, n. 1, 2017.
- BESSA, N. G. F. et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde-Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.
- CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. **Food control**, v. 54, p. 111-119, 2015.
- COSTA, M. C. V. V. Citotoxicidade, propriedades antioxidantes e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *Syzygium cumini* (L.) Skeels após irradiação gama. 2017.
- DE ARAÚJO CRUZ, J. H. et al. Análise da atividade farmacológica e toxicológica do monoterpeno relacionado à Odontologia: estudo in silico. **Archives of health investigation**, v. 8, n. 11, 2019.
- DELGODA, R. **Farmacognosia: Fundamentos, aplicações e estratégias**. Imprensa Acadêmica, 2017.
- DIAZ, M. Determinação do rendimento em diferentes épocas de extração do óleo essencial da raiz *Salvia trifilis* Epling (manjerona) pelo método de arraste a vapor. **Ciência Agroindustrial**, v. 7, não. 2 P. 73-77, 2017.
- DOLABELA, M. F. Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. 1997. 130 p. **Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte**, 1997.
- DRIS, D. et al. Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 362-369, 2017.
- FERNANDES, B. F. et al. Estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua importância medicinal. **Revista da Saúde da AJES**, v. 5, n. 9, 2019.
- FERREIRA, J. A. et al. Prospecção Fitoquímica e Análise da Atividade Antimicrobiana e Moduladora in Vitro do Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Senna spectabilis*. **Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 23, n. 3, p. 262-267, 2019.
- GÓES, V. S. et al. **Avaliação toxicológica, antinociceptiva, anti-inflamatória e sobre o sistema nervoso central de *Martianthus Leucocephalus* (Mart. Ex Benth.) JFB Pastore**. 2015.

- GOVERNICI, J. L. Influência da temperatura do ar de secagem e da fragmentação dos frutos no rendimento de óleo essencial de pimenta-rosa. 2019.
- HARBORNE, A.J. Métodos fitoquímicos um guia para técnicas modernas de análise de plantas. **Springer Science & Business Media**, 1998.
- KLOSS, L. C. Identificação de classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper umbellatum* L.(Piperaceae). 2016.
- LIMA, Maria Fernanda Ferreira et al. Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach de espécimes vegetais pertencentes à caatinga. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 5950-5963, 2019.
- MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental, 3ª. Edição, UFC, Fortaleza, 2009.
- MEDEIROS, Fernando César Magalhães de. **Caracterização química e atividade biológica de óleos essenciais de plantas do Cerrado contra fungos xilófagos**. 2014.
- 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. 05, p. 31-34, 1982.
- OLIVEIRA, N.T.et al. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas das espécies *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae). **Biota Amazônia (Biote Amazônia, Biota Amazônia, Biota Amazônia)** , v. 6, n. 1, pág. 20-25, 2016.
- POLITI, M. et al. Hidrossóis de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Cupressus sempervirens*: Análise Fitoquímica e Avaliação da Bioatividade. **Plantas**, v. 11, n. 3, pág. 349, 2022.
- POYER, A.; SCHAEFER, L. Obtenção de taninos a partir do extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- REED, L. J.; MUENCH, H. Um método simples de estimar cinquenta por cento de pontos finais. *Jornal americano de epidemiologia*, v. 27, n. 3, pág. 493-497, 1938.
- ROSA, P. V. S. et al. Constituintes químicos, atividade larvicida e moluscicida de folhas frescas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) e *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas** , v. 50, n. 2, pág. 571-589, 2021.
- SANTOS, A. G. S. et al. Plantas medicinais comercializadas no mercado público de casa amarela-recife-pe: influência do modo de conservação na composição química do óleo essencial. **HOLOS**, v. 1, p. 36-48, 2015.

SFORCIN, J. M. Propriedades biológicas e aplicações terapêuticas da própolis. **Pesquisa em fitoterapia**, v. 30, n. 6, pág. 894-905, 2016.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Fenólicos e polifenólicos em alimentos, bebidas e especiarias: atividade antioxidante e efeitos na saúde – uma revisão. **Jornal de alimentos funcionais**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SILUPU, J. W. E. et al. Composição química, características físico-químicas e capacidade antioxidante de óleos essenciais de cinco ervas aromáticas. **Repositório de revistas da universidade privada de Pucallpa**, v. 4, não. 2 P. 12-12, 2019.

SILVA, A. P. C. et al. **Extração de óleo essencial da casca e coroa do abacaxi (métodosoxhlet)**. 2018.

SILVA, Y. L. et al. Triagem fitoquímica e avaliação de propriedades biológicas do extrato alcoólico das folhas de *Eugenia pyriformis* Cambess.(Myrtaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 19, n. 3, 2015.

STEFANELLO, M. E.A. et al. Composição química e variação sazonal de óleos essenciais de *Eugenia pyriformis* (Myrtaceae). **Revista Latino-Americana de Farmácia**, v. 28, p. 449-453, 2009.

VASCONCELOS, S. C. et al. Composição química, atividade bactericida e antioxidante dos óleos essenciais das folhas de *Ocimum basilicum* e *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e51810817109-e51810817109, 2021.

WYKOWSKI, R. Saponinas: uma promessa da ciência contra o câncer. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 58, 2012.

4.1. CAPÍTULO 3 – CAPÍTULO DE LIVRO – PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO LARVICIDA DE UMA NANOEMULSÃO (O/A) DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia officinalis* L.

Editora Científica: AMPLLA EDITORA

ISBN:

Publicado em:



AMPLLA
EDITORA

**PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO LARVICIDA DE UMA NANOEMULSÃO (O/A) DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *SALVIA OFFICINALIS* L.**

**CHEMICAL PROFILE AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL LARVICIDAL OF A NANOEMULSION
(O/W) OF THE ESSENTIAL OIL OF *SALVIA OFFICINALIS* L.**

RESUMO

A nanotecnologia tem alta potencialidade para aplicações em múltiplas áreas, incluindo médica e farmacêutica, otimizando e servindo de sistemas carreadores. Assim, este estudo tem por objetivo avaliar o perfil químico e o potencial biotecnológico larvicida da nanoemulsão do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. As folhas do vegetal foram coletadas em São Luís, MA, em janeiro a maio de 2021. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação a 100 °C por 3h. A caracterização química foi obtida por CG-EM. A nanoemulsão (O/A) foi formulada pelo método de baixa energia de inversão de fases, sendo submetida a testes de estabilidade termodinâmica e caracterização do tamanho de gota e índice de polidispersidade (PDI). Para atividade larvicida submeteu-se larvas *Aedes aegypti* a soluções do OE e nanoemulsões em concentrações (10-100 mg L⁻¹), avaliou-se a mortalidade das larvas e determinou-se a CL₅₀ pelo método de Probit. Os metabólitos secundários majoritários do OE foram: eucaliptol com 65,14%, cânfora (30,63%) e α-Terpineol (1,53%). As formulações foram caracterizadas como nanoemulsões com tamanho de gota <200 nm. O PDI foi <0,200, indicando uma distribuição de tamanho estreita. A nanoemulsão com potencial larvicida apresentou CL₅₀ de 71,17 mg L⁻¹. A nanoemulsão apresentou potencial bioativo para ação larvicida, podendo estar relacionado a presença de seus compostos químicos, sendo seu uso incentivado no combate ao *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: Larvicida. Nanotecnologia. *Salvia officinalis*.

ABSTRACT

Nanotechnology has high potential for applications in multiple areas, including medical and pharmaceutical, optimizing and serving as carrier systems. Thus, this study aims to evaluate the chemical profile and biotechnological larvicidal potential of the nanoemulsion of the essential oil of *Salvia officinalis* L. The leaves of the plant were collected in São Luís, MA, from January to May 2021. The essential oil was extracted by hydrodistillation at 100°C for 3h. Chemical characterization was obtained by GC-MS. The oil-in-water nanoemulsion was formulated by the low-energy phase inversion method, being subjected to thermodynamic stability tests. For larvicidal activity, *Aedes aegypti* larvae were subjected to EO solutions and nanoemulsions in concentrations (10-100 mg L⁻¹), larval mortality was evaluated and the LC₅₀ was determined by the Probit method. The major secondary metabolites of the EO were: eucalyptol with 65.14%, camphor (30.63%) and α-Terpineol (1.53%). The nanoemulsion with larvicidal potential showed an LC₅₀ of 71.17 mg L⁻¹. The nanoemulsion showed bioactive potential for larvicidal action, which may be related to the presence of its chemical compounds, and its use is encouraged in the fight against *Aedes aegypti*.

Keywords: Larvicide. Nanotechnology. *Salvia officinalis*

1. INTRODUÇÃO

As arboviroses têm-se apresentado como um importante problema de saúde pública, pois enfrenta dificuldades de diagnóstico tanto nos baseados em exame clínico-epidemiológico quanto os de análises sorológicas devido a apresentação de reações cruzadas (GRANDADAM, 2007; LIMA-CAMARA, 2016; KURIZKY et al., 2020). Dentre os mosquitos que atuam diretamente na disseminação dos arbovírus tem-se o *Aedes aegypti*, vetor dos vírus da febre amarela, dengue, Zika e Chikungunya, que afetam pessoas em áreas tropicais e subtropicais em todo o mundo (CASTILLO-MORALES et al., 2019; AN et al., 2020).

O controle químico consiste na aplicação de inseticidas sintéticos como os das classes organofosforados, carbamatos e piretroides são utilizados no controle do vetor, mas apesar de apresentarem bons resultados seu uso contínuo pode causar o desenvolvimento de resistência nos mosquitos e acarretar na contaminação do meio ambiente, desequilíbrio e provocar danos à saúde humana (DE SOUZA WUILLDA et al., 2019; BAZ et al., 2022).

Com base nisso, o uso de produtos naturais se coloca como uma alternativa ecológica na formação de inseticidas naturais, seguros para o meio ambiente e para o homem. Pois, as espécies vegetais produzem diversos compostos bioativos que muitas vezes funcionam em sinergia, geralmente biodegradáveis e apresentam menor risco de desenvolver resistência a vetores, e para comprovar isso, testes de toxicidade são necessários contra organismos não-alvo.

Dentro disto, estão os óleos essenciais, compostos por metabolitos secundários provenientes das mais diversas partes das plantas, sendo moléculas naturais que contrariam até mesmo o desenvolvimento da biorresistência aos pesticidas naturais, são uma fonte alternativa satisfatória devido a fatores favoráveis de biodegradabilidade, seletividade, baixa nocividade aos organismos não alvos e ao meio ambiente. Dentre as plantas utilizadas podemos citar do gênero *Salvia*, pertencente a família das Lamiaceae, a qual revela ter uma boa ação inseticida e são relatadas por produzir muitos metabólitos secundários úteis (ALI et al., 2015; ZAHED et al., 2021; BAZ et al., 2022).

Dentre as espécies do gênero *Salvia*, tem-se *Salvia officinalis* L., uma planta ornamental amplamente utilizada desde a antiguidade dentro da medicina popular, culinária

e aromática e através dos mais diversos estudos demonstra diversos potenciais biológicos, como propriedades antiviral, antimicrobiana e espasmolítica, sendo sua eficácia relacionada principalmente aos metabólitos secundários (REZAI et al.; VOSOUGHI et al., 2018; JAKOVLJEVIĆ et al., 2019).

Nesse contexto, a nanotecnologia tem alta potencialidade para aplicações em múltiplas áreas, incluindo médica e farmacêutica, otimizando e servindo de sistemas carreadores, proporciona vantagens através de nanoemulsões, como a proteção do composto bioativo da degradação e possibilidade de modulação do perfil de liberação (PASQUOTO-STIGLIANI et al., 2017; FOUDA et al., 2020). Diante do exposto, o estudo visou avaliar o perfil químico e o potencial biotecnológico larvicida da nanoemulsão do óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção do material vegetal

A obtenção das folhas secas de *Salvia officinalis* utilizadas nesta pesquisa foi realizada em janeiro a maio de 2021. A espécie vegetal foi transportada para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde as folhas foram pesadas, trituradas e armazenadas para a extração do óleo essencial do vegetal.

2.2. Perfil Fitoquímico

Para análise do perfil fitoquímico do material vegetal in natura, foram preparados extratos hidroalcoólicos, empregando-se o processo de maceração (HARBORNE, 1998). Os extratos hidroalcoólicos obtidos foram submetidos a testes químicos na metodologia apresentada por Matos (2009) para identificação das classes orgânicas de metabólitos secundários: esteroides, alcaloides, flavonoides, glicosídeos, saponinas, fenóis, taninos e glicosídeos cardíacos.

2.3. Extração dos óleos essenciais

Para extração dos óleos essenciais foi utilizada 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, utilizando-se água destilada como solvente

(1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o óleo essencial extraído, sendo seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. As amostras foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração a 4°C. Posteriormente sendo submetido as análises.

2.4. Caracterização química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *Salvia officinalis* foram caracterizados quimicamente por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). As análises dos óleos essenciais foram realizadas em um Cromatógrafo a Gás (CG-2010) acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM QP2010 Plus), ambos da Shimadzu, utilizando coluna capilar DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). O fluxo do gás de arraste, Hélio numa velocidade linear de 39.5 cm/sec e fluxo da coluna 1,0 mL/min, razão de Split 1/100. A programação do forno foi de 45 °C por 4 min com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 180 °C, permanecendo por 7 min, aquecendo a 250 °C, com rampa de 8 °C/min, permanecendo 3 min até o final da corrida. A temperatura do injetor e da fonte de íons de 250 °C e 200 °C, respectivamente. Tempo de Corrida 36.25 min. MS - Modo de Aquisição: Full Scan, Intervalo de Scan 0,30seg, Faixa de Massa: 35 – 500 a.m.u, Tempo de Aquisição: 3.5 a 36,25 min.

A identificação foi realizada por normalização das áreas dos picos, e a identificação através da Biblioteca do Equipamento NIST08 (National Institute of Standards and Technology).

2.5. Preparo das nanoemulsões (O/A)

O preparo das nanoemulsões (O/A) foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al., (2020) e Sugumar et al., (2014), através do método de baixa energia de inversão de fases. As nanoemulsões foram formuladas com óleo essencial, surfactante não iônico e água. A homogeneização final foi finalizada mantendo a formulação em agitação constante a 6000 rpm, até atingir a redução da temperatura para $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para comprovar a estabilidade, as formulações foram submetidas a diferentes testes de estresse: centrifugação, ciclo de aquecimento-resfriamento e estresse de congelamento-descongelamento, de acordo com a metodologia descrita por Shafiq et al. (2007).

Tabela 1- Formulações de nanoemulsões para óleo essencial de *S.officinalis* .

Identificação	Óleo essencial (<i>S.officinalis</i>)	Tween 20	H ₂ O
N O/E1	5%	5%	90%
N O/E 2	5%	10%	85%
N O/E 3	5%	15%	80%

Fonte: Autoria própria

2.6. Caracterização das nanoemulsões

A distribuição do tamanho das gotículas (análise por volume) e índice de polidispersidade (PDI) das formulações das nanoemulsões foram determinadas usando um analisador de tamanho de partícula 90 Plus (SUGUMAR et al., 2014, p. 395).

2.7. Atividade larvicida

Os ovos foram coletados 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, colocaram-se os ovos do *Aedes aegypti* 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 são 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.

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva et al. (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L⁻¹ de cada um dos óleos essenciais sendo diluídas em solução de DMSO 2% e nanoemulsões (isenta de diluição). Desta solução, preparou-se cinco diluições nas concentrações 1,0-90,0 mg L⁻¹. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

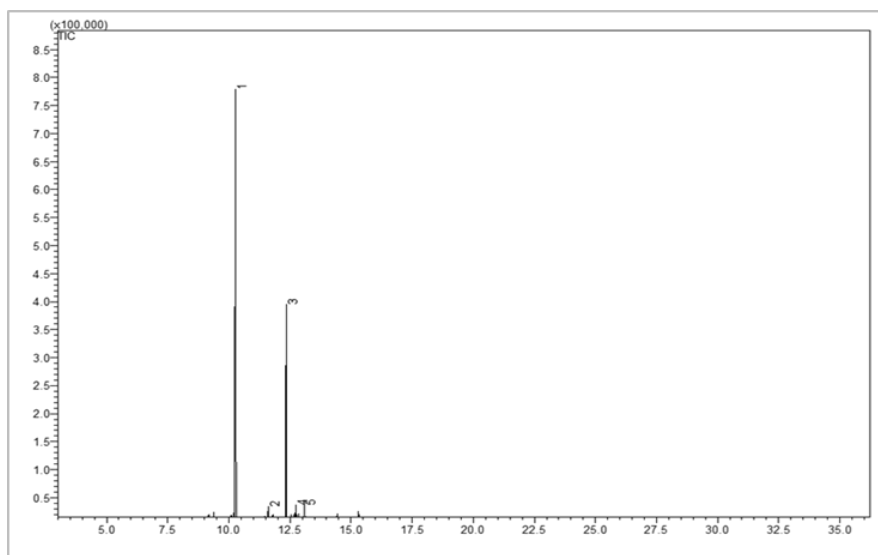
Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de etanol (P.A) 70% v/v. Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo consideradas mortas, as larvas que não reagem ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência dos óleos essenciais e nanoemulsões foi aplicado o teste estatístico de Probit (FINNEY, 1952) e classificação da ação por Cheng et al., (2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Perfil químico

Por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) foi possível separar e identificar cinco constituintes do óleo essencial, os quais são apresentados na Figura 1, seguindo a ordem de eluição.

Figura 1- Cromatograma do óleo essencial de *S. officinalis*.



Fonte: Autoria própria

De acordo com os resultados obtidos, a Tabela 2 apresenta os compostos químicos identificados no OE de *S. officinalis* através da CG/EM. Dessa forma, conforme a Tabela 2, 5 componentes foram identificados no OE de *S. officinalis*, sendo o constituinte majoritário do OE, o eucaliptol com 65,14%, seguido por cânfora (30,63%) e α -Terpineol (1,53%).

Tabela 2- Constituintes químicos na amostra do OE de *S. officinalis*

Pico	Tempo de retenção (min)	Área	Teor%	Compostos - NIST08
1	10.268	1312912	65,14	Eucaliptol
2	11.617	24822	1,23	Tujona
3	12.352	617523	30,63	Cânfora
4	12.753	29549	1,47	Éster ciclobutil
5	13.092	30939	1,53	α -Terpineol

Fonte: Autoria própria

Resultados semelhantes foram descritos por Alcalá-Orozco et al., (2019), que relataram a presença de 6 constituintes caracterizados e identificados por CG/EM, sendo 23,4% do OE de sálvia constituído de eucaliptol, seguido por cis-tujona (18,9%) e trans- β -cariofileno (11,0%). Velandia et al. (2018) também identificaram o eucaliptol (26,6%) como composto majoritário do OE de *S. officinalis* coletado na Colômbia.

Segundo Hadri et al., (2010), a composição do OE de *S. officinalis* pode variar conforme o local de coleta da planta, fatores genéticos, estágio de desenvolvimento, métodos de extração, e outros fatores climáticos, sazonais e ambientais. Assim, no estudo de Hamidpour et al. (2014), a composição e quantificação do OE de sálvia extraído de diferentes locais variou significativamente, sendo o eucaliptol responsável por 55 a 62% da composição dos OE 's extraídos e cânfora com variação de 8 a 10% do teor. Já Rguez et al., (2019), obtiveram variações no rendimento dos compostos de acordo com o tempo de colheita, sendo a cânfora com 22,4 a 18,8%, seguido do α -tujona (21,4 a 21,6%) e o eucaliptol (15,1 a 7,4%).

3.2. Estabilidade termodinâmica

A Tabela 3 exibe a estabilidade termodinâmica das formulações de nanoemulsões com o OE de *S. officinalis*.

Tabela 3- Estudo da estabilidade termodinâmica das formulações de nanoemulsões com o óleo essencial de *Salvia officinalis*.

Identificação	SF	AQ	CG	DCG	Estabilidade final
N O/A 1	-	-	-	-	+
N O/A 2	-	-	-	-	+
N O/A 3	-	+	-	-	-

Nota: SF- separação de fases ou cremeação em temperatura ambiente; AQ- separação de fases após aquecimento; CG- separação de fases ou cremeação após congelamento; DCG- separação de fases ou cremeação após descongelamento; + positivo; - negativo. Fonte:

Fonte: Autoria própria

De acordo com a Tabela 3, as formulações N O/A 1 e N O/A 2 apresentaram estabilidade diante os testes empregados e foram utilizadas para os demais ensaios, no entanto, a formulação N O/A 3 mostrou-se instável com separação de fases após aquecimento e não foi empregada nos ensaios seguintes. Conforme Walker et al. (2015), a estabilidade de nanoemulsões pode depender de fatores como tamanho inicial da gotícula, concentração de surfactante e método de obtenção. Neste estudo, foi observado tamanho das gotículas maior para a formulação instável em relação às outras formulações, o que pode justificar sua instabilidade. Cabe ressaltar que além de não haver estudos específicos sobre a incorporação do OE de sálvia em nanossistemas, a estabilidade ainda não foi estudada, o que configura a importância desta proposta de desenvolvimento.

Resultados semelhantes foram descritos por Bolzan et al., (2015) no estudo sobre a nanoemulsão do OE de *Origanum vulgare* L., onde a formulação apresentou-se instável quando submetida a altas temperaturas, entre 75°C e 100°C. Já Borges et al., (2018), observaram que nenhuma amostra da nanoemulsão do OE de *Rosmarinus officinalis* L., exibiu sinais de instabilidade como cremeação e separação de fases. A formulação foi preparada com a mesma concentração de compostos utilizada neste estudo, a qual apresentou estabilidade.

3.3. Caracterização das nanoemulsões

A Tabela 4 mostra o tamanho médio das formulações contendo surfactante Tween 20, *S. officinalis* EO e H₂O, bem como o índice de polidispersidade ao longo do tempo de 0 a 60 dias.

Tabela 4- Variação da média Z (nm) e índice de polidispersidade (PDI) para a nanoemulsão ao longo do tempo (T0-T60 dias).

Tempo (dias)		Média Z (nm)			PDI		
NO/A 1	0	106.47	±	1.66	0.187	±	0.010
	T15	102.52	±	0.83	0.184	±	0.005
	T30	96.09	±	0.58	0.181	±	0.009
	T45	93.03	±	1.67	0.178	±	0.010
	T60	90.71	±	0.52	0.182	±	0.002
Tempo (dias)		Média Z (nm)			PDI		
NO/A2	0	101.14	±	1.58	0.177	±	0.009
	T15	97.40	±	0.79	0.175	±	0.005
	T30	91.29	±	0.55	0.172	±	0.008
	T45	88.38	±	1.58	0.169	±	0.009
	T60	86.18	±	0.49	0.173	±	0.002

Fonte: Autoria própria

De acordo com o conceito de que as nanoemulsões são sistemas que apresentam gotículas na faixa de tamanho entre 50 e 200 nm (JAISWAL et al., 2015), as formulações produzidas foram caracterizadas como nanoemulsões por apresentarem tamanho médio de gotículas < 200 nm após 0 a 60 dias de manipulação, indicando pequeno tamanho de gota. O índice de polidispersidade para todas as EN durante o período avaliado foi baixo e ficou entre 0,169 e 0,187, indicando uma distribuição de tamanho estreita (PDI= < 0,200) (Tabela 4). Assim, NE's foram utilizados para o bioensaio larvicida contra *Ae. aegypti* e outros testes biológicos.

Segundo Lovison et al., (2017), o método utilizado para a obtenção de nanoemulsões pode influenciar na sua caracterização. Métodos de baixa energia são mais eficientes, pois requerem menos energia para produzir nanoemulsões com tamanhos de gotas menores em comparação com NE's obtidos com a metodologia de alta energia (SOLANS&SOLÉ, 2012).

Assim, este método utilizado neste estudo permitiu obter NE's com tamanho de gota reduzido e baixa polidispersidade. Resultados de Ferreira et al., (2020), sobre a nanoemulsão de *Lippia alba* EO produzida com método de baixa energia, indicaram um tamanho médio de partícula de $116,2 \pm 0,3$ nm e um índice de polidispersão de $0,205 \pm 0,001$, corroborando este estudo.

3.4. Atividade larvicida

A Tabela 5 apresenta a mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* nas concentrações das nanoemulsões testadas com cálculo da CL_{50} e parâmetros estatísticos pelo método de Probit.

Tabela 5- Mortalidade *Aedes aegypti* para ação das nanoemulsões do óleo essencial de *S. officinalis*

Identificação	CL_{50}	χ^2	σ	R^2
N O/A 1	71,17	0,976	0,462	0,925
N O/A 2	> 100 mg L ⁻¹	-	-	-

Fonte: Autoria própria

Conforme apresenta a Tabela 5, a CL_{50} para a nanoemulsão 1 (O/A) formulada referente a estimativa de mortalidade de 50% de larvas *Aedes aegypti* esteve abaixo de 100 mg L⁻¹, sendo classificada por Dias&Moraes (2014) como ação ativa (CL_{50} de 71,17 mg L⁻¹) para atividade larvicida, sendo seu potencial de uso e aplicação incentivado, enquanto a nanoemulsão 2 (O/A) não obteve potencial ativo (CL_{50} de 214,32 mg L⁻¹).

De acordo com as características nanométricas das formulações óleo em água (O/A), estas podem ser apontadas como bons agentes larvicidas pois aumentam a ação biológica do óleo essencial (OLIVEIRA et al. 2016), assim como observado neste estudo. No entanto, investigações sobre o potencial larvicida da nanoemulsão do OE de *S. officinalis* não foram encontrados na literatura, sendo este um estudo de grande relevância quanto aos resultados obtidos, sendo assim, os resultados serão comparados à estudos com o OE de *S. officinalis*.

Ríos et al., (2017) analisaram o potencial larvicida do OE de *S. officinalis* obtido na Colômbia e obtiveram CL₅₀ de 76,43 mg/mL, sendo classificado como ativo. Castillo-Morales & Duque (2020), utilizando a mesma metodologia, encontraram o mesmo valor para mortalidade de 50% das larvas de *Aedes aegypti*. Já Ali et al., (2015), encontraram também ação larvicida ativa frente às larvas de *Ae. aegypti*, com uma CL₅₀ de 56,9 ppm. Esses resultados corroboram com este estudo que mostra o potencial larvicida de *S. officinalis*.

O potencial biológico de um óleo essencial pode estar relacionado a diferentes concentrações e combinações de seus compostos químicos. Abdellaoui et al., (2017), caracterizaram quimicamente o OE de *S. officinalis* e constataram que os principais compostos químicos foram: β -tujona (20,1%), eucaliptol (15,91%) e cânfora (14,79%). Nesse mesmo estudo, foi observada atividade larvicida significativa, mostrando que tal potencial pode ser atribuído às substâncias químicas do vegetal. Já em um estudo de Castillo-Morales et al., (2019), verificaram potencial biológico ativo do OE de *S. officinalis* frente às larvas de *A. aegypti*, o qual apresentou como composto majoritário, o eucaliptol.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, diante dos resultados obtidos, foi possível observar o perfil químico do óleo essencial das folhas de *Salvia officinalis* L, como o eucaliptol como composto majoritário. A nanoemulsão apresentou potencial bioativo para ação larvicida, podendo estar relacionado a presença de seus compostos químicos. Sendo assim, o uso do óleo em nanoemulsões pode ser utilizado como mecanismo para melhorar a distribuição e durabilidade do produto natural, sendo seu uso incentivado no combate ao *Aedes aegypti* a partir do aprofundamento de mais estudos devido ao potencial apresentado.

REFERÊNCIAS

ALI, A. et al. Composição química e atividade biológica de quatro óleos essenciais de sálvia e compostos individuais contra duas espécies de mosquitos. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 63, n. 2, pág. 447-456, 2015.

- ALI, Abbas et al. Chemical composition and biological activity of four salvia essential oils and individual compounds against two species of mosquitoes. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 2, p. 447-456, 2015.
- AN, N. T. G. et al. Mosquito larvicidal activity, antimicrobial activity, and chemical compositions of essential oils from four species of myrtaceae from central Vietnam. **Plants**, v. 9, n. 4, p. 544, 2020.
- BAZ, M. M. et al. Larvicidal and adulticidal effects of some Egyptian oils against *Culex pipiens*. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-18, 2022.
- BOLZAN, A. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo de orégano livre e em nanoemulsões. *Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas*, v. 16, n. 2, pág. 325-332, 2015.
- BORGES, R. S. et al. Atividade anti-inflamatória de nanoemulsões de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.: estudos in vitro e em zebrafish. **Inflamofarmacologia**, v. 26, n. 4, pág. 1057-1080, 2018.
- CASTILLO-MORALES, R. M. et al. Afetação mitocondrial, dano ao DNA e inibição da AChE induzida pelo óleo essencial de *Salvia officinalis* em larvas de *Aedes aegypti*. **Bioquímica e Fisiologia Comparativas Parte C: Toxicologia e Farmacologia**, v. 221, p. 29-37, 2019.
- CASTILLO-MORALES, R.M.; DUQUE, J. E. Atividade dissuasiva e biocida de *Salvia officinalis* (Lamiaceae) com indução de malformações em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 46, n. 2, 2020.
- CASTILLO-MORALES, R. M. et al. Mitochondrial affectation, DNA damage and AChE inhibition induced by *Salvia officinalis* essential oil on *Aedes aegypti* larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 221, p. 29-37, 2019.
- CHENG, S.S.; CHANG, H.T.; CHANG, S.T.; TSAI, K.H., & CHEN, W.J. Bioatividade de óleos essenciais de plantas selecionadas contra as larvas do mosquito da febre amarela *Aedes aegypti*. **Bioresource Technology**, v. 89, n.1, p. 99-102, 2003.
- DE SOUZA WUILLDA, A. C. J; CAMPOS MARTINS, R. C.; COSTA, F. N. Larvicidal activity of secondary plant metabolites in *Aedes aegypti* control: an overview of the previous 6 years. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 7, p. 1934578X19862893, 2019.
- DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Óleos essenciais e seus compostos como larvicidas de *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). **Pesquisa em parasitologia**, v. 113, n. 2, pág. 565-592, 2014.

FINNEY, D. J. **Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve**. Cambridge university press, Cambridge, 1952.

FORATTINI, O. Entomologia Médica. Universidade de São Paulo. S., 1962.

FOUDA, A. et al. Antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities of spherical silver nanoparticles synthesized by endophytic *Streptomyces* spp. **Biological Trace Element Research**, v. 195, n. 2, p. 707-724, 2020.

GRANDADAM, Marc. Surveillance et diagnostic des arboviroses en France métropolitaine. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2007, n. 396, p. 75-84, 2007.

HADRI, A. et al. Atividade citotóxica de α -humuleno e transcariofileno de *Salvia officinalis* em células tumorais animais e humanas. **An R Acad Nac Farm**, v. 76, n. 3, pág. 343-356, 2010.

HAMIDPOUR, M. et al. Química, farmacologia e propriedades medicinais da sálvia (*Sálvia*) para prevenir e curar doenças como obesidade, diabetes, depressão, demência, lúpus, autismo, doenças cardíacas e câncer. **Revista de medicina tradicional e complementar**, v. 4, n. 2, pág. 82-88, 2014.

JAKOVLJEVIĆ, M. et al. Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations. **Plants**, v. 8, n. 3, p. 55, 2019.

KURIZKY, P. S. et al. Opportunistic tropical infections in immunosuppressed patients. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 34, n. 4, p. 101509, 2020.

LIMA, T. C. P. et al. Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v. 13, n. 1, 2020.

LIMA-CAMARA, T. N. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, 2016.

OLIVEIRA, A. E.M.F.M. et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel oil. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0145835, 2016.

PASQUOTO-STIGLIANI, T. et al. Nanocapsules containing neem (*Azadirachta indica*) oil: development, characterization, and toxicity evaluation. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017.

REZAI, S. et al. Effect of Light Intensity on Leaf Morphology, Photosynthetic Capacity, and Chlorophyll Content in Sage (*Salvia officinalis* L.). 2018.

RGUEZ, S. et al. Composição química e atividades biológicas de óleos essenciais de partes aéreas de *Salvia officinalis* afetadas por variações diurnas. **Plant Biosystems-An**

International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, v. 153, n. 2, pág. 264-272, 2019.

RIOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E. Avaliação da atividade inseticida de óleos essenciais e suas misturas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, p. 307-311, 2017.

SHAFIQ, S.; SHAKEEL, F.; TALEGAONKAR, S.; AHMAD, F.J.; KHAR, R.K., & ALI, M. Desenvolvimento e avaliação da biodisponibilidade de formulação de nanoemulsão de ramipril. **Revista Europeia de Farmacêutica e Biofarmacêutica**, v.66, n.2, 227-243, 2007.

SILVA, H. H. G. et al. Idade fisiológica dos ovos de *aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(diptera, culicidae). 1995.

SILVA, W. J. et al. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn. 2006.

SUGUMAR, S.; CLARKE, S.K.; NIRMALA, M.J.; TYAGI, B.K.; MUKHERJEE, A., & CHANDRASEKARAN, N. Nanoemulsão de óleo de eucalipto e sua atividade larvicida contra *Culex quinquefasciatus*. **Boletim de pesquisa entomológica**, v.104, n.3, 393-402, 2014.

VELANDIA, S. A. et al. Atividade antiproliferativa de óleos essenciais de plantas cultivadas na Colômbia. **Ato Biológico Colombiano**, v. 23, não. 2 P. 189-198, 2018.

VOSOUGHI, N. et al. Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. **Industrial crops and products**, v. 117, p. 366-374, 2018.

WALKER, R. M.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Estabilidade física e oxidativa de nanoemulsões de óleo de peixe produzidas por emulsificação espontânea: Efeito da concentração de surfactante e tamanho de partícula. **Journal of Food Engineering**, v. 164, p. 10-20, 2015.

ZAHED, K. et al. Chemical composition and larvicidal activities in vitro and in vivo of essential oils of *Thymus vulgaris* (L) and *Lavandula angustifolia* (Mill) against pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* Den. & Schiff. in Ain Defla (Algeria). **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 128, n. 1, p. 121-137, 2021.

4.1.CAPÍTULO 4 – ARTIGO CIENTÍFICO - DEVELOPMENT OF A NANOEMULSION (O/A) LARVICIDE OF *Salvia officinalis* L. FOR LARVICIDAL CONTROL *Aedes Aegypti*

Revista:

ISSN:

Qualis Capes:

Aceito em:

Publicado em:



 Open Access

Brazilian Archives of Biology and Technology

Publication of: Instituto de Tecnologia do Paraná - Tecpar

Area: Multidisciplinary

ISSN printed version: 1516-8913 ISSN online version: 1678-4324

Previous title Arquivos de Biologia e Tecnologia

Article -Biological and Applied Sciences

Development of a nanoemulsion (o/w) larvicide of *Salvia officinalis* L. for larvicidal control *Aedes aegypti*

HIGHLIGHTS

1. The essential oil of *S. officinalis* showed secondary metabolites with pharmacological properties.
2. It was possible to prove the toxicity of the essential oil of *S. officinalis* against *Artemia salina*.
3. The *S. officinalis* nanoemulsion was active for antioxidant activity.
4. The nanoemulsions were characterized with droplet size < 200 nm.
5. The *Salvia officinalis* nanoemulsion was active for larvicidal activity against *Aedes aegypti*.

Abstract: This study aims to evaluate the chemical profile and biotechnological potential of an oil-in-water (O/W) nanoemulsion incorporated with the essential oil of *Salvia officinalis* L. The plant material was obtained in São Luís (MA) between January and May, 2021. The Phytochemical profile was performed according to Matos. The essential oil was extracted by hydrodistillation at 100 °C for 3 h. The physical-chemical parameters were determined and the chemical characterization obtained by GC-MS. The oil-in-water nanoemulsion was formulated by the low-energy phase inversion method, being subjected to thermodynamic stability tests and characterization of droplet size and polydispersity index (PDI). The quantification of phenolics was performed by the Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity performed by the spectrophotometric method of scavenging hydroxyl radicals from salicylic acid. For larvicidal activity, *Aedes aegypti* larvae were subjected to EO solutions and nanoemulsions in concentrations (10-100 mg L⁻¹), larval mortality was evaluated and the LC₅₀ was determined by the Probit method. The major secondary metabolites of EO were: eucalyptol with 65.14%, camphor (30.63%) and α-Terpineol (1.53%). The EO was non-toxic, with LC₅₀ <1000 mg L⁻¹. The total phenolic content was 8.53 mg EAT g⁻¹ and 12.12 mg EAT g⁻¹. The antioxidant activity exhibited EC₅₀ of 136.29 mg L⁻¹ and 51.59 mg L⁻¹. The nanoemulsion with larvicidal potential showed an LC₅₀ of 71.17 mg L⁻¹. The studied EO nanoemulsion showed active larvicidal activity, being encouraged as a new alternative for the control and combat of *Aedes aegypti* cases.

Keywords: *Aedes aegypti*; nanotechnology; *Salvia officinalis*.

INTRODUCTION

Plant species have been used since ancient times by civilizations for the relief and cure of diseases, through the use of herbs, possibly being one of the first ways to use natural products. Thus, medicinal plants synthesize secondary metabolites responsible for different biological potentials [1,2].

In this context, essential oils (EO's) are a viable alternative in several researches related to plant substances, as they are volatile, natural and complex substances, with a strong odor, extracted from plants and which present a rich active source of biological compounds [3]. They have biological properties such as antifungal, antibacterial, larvicidal, analgesic and anti-inflammatory action, as well as antitumor activity [4].

Due to some factors such as EO instability, nanoemulsions have gained prominence in several researches. Nanoemulsions are systems mediated at the nanometer scale, being an alternative for drug innovation, as it allows better kinetic stability, in addition to providing controlled drug release, greater penetration and/or absorption power and greater bioavailability [5,6].

In Brazil, infections caused to humans by the *Aedes aegypti* mosquito, such as yellow fever, dengue, Zika fever, Chikungunya, among others, are frequent. These diseases are a major challenge for the public health system, becoming a problem for the population and for this study, due to the high incidence of deaths from diseases caused by the virus in Brazil and Maranhão, since adaptive success of the mosquito is related to favorable domestic conditions, such as the presence of aquatic breeding sites, humans and the rapid development of desiccation-resistant eggs [7,8,9].

The most common approach to vector control is the application of chemical insecticides, such as organophosphates and pyrethroids [10]. However, the inadequate application of these chemical substances favored the resistance of the population of *Ae. aegypti* hindering the effectiveness of this strategy, in addition to induced harmful effects on the environment [11]. Thus, there is a need for new tactics to reduce this vector, such as the search for the development of potent larvicides from more effective herbal applications.

Research has shown the biological activity of the plant *Salvia officinalis* L. (sage) as a possible option to inhibit strains of resistant pathogenic microorganisms, which, although scarce in relation to their larvicidal potential, already provide information that justify their pharmacological application [12]. Therefore, this study aims to evaluate the chemical profile and biotechnological potential of an oil-in-water (O/W) nanoemulsion incorporated with the essential oil of *Salvia officinalis* L.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining plant material

Obtaining the leaves *Salvia officinalis* used in this research was carried out from January to May 2021. The plant species was transported to the Laboratory for Research and Application of Essential Oils (LOEPAV/UFMA), where the leaves were weighed, crushed and stored for the extraction of essential oil from the plant.

For analysis of the phytochemical profile of plant material *in natura*, hydroalcoholic extracts were prepared using the maceration process [13]. The hydroalcoholic extracts obtained were submitted to chemical tests in the methodology presented by [14] to identify the organic classes of secondary metabolites: steroids, alkaloids, flavonoids, glycosides, saponins, phenols, tannins and cardiac glycosides.

Extraction of essential oils

For the extraction of essential oils, the hydrodistillation technique was used with a Clevenger glass extractor coupled to a round-bottomed flask placed in an electric blanket as a source of heat, using distilled water as a solvent (1:10). Hydrodistillation was carried out at 100°C for 3h, collecting the extracted essential oil, being dried by percolation with anhydrous sodium sulfate (Na_2SO_4) and centrifuged. Samples were stored in amber glass ampoules under refrigeration at 4°C. Subsequently being submitted to analysis.

Chemical characterization of essential oils

The essential oils from *Salvia officinalis* were chemically characterized by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC/MS). The analyzes of the essential oils were carried out in a Gas Chromatograph (GC-2010) coupled to a Mass Spectrometer (GC-EM QP2010 Plus), both from Shimadzu, using a DB-5MS capillary column (30m x 0.25mm x 0.25µm). Carrier gas flow, Helium at a linear velocity of 39.5 cm/sec and column flow 1.0 mL/min, Split ratio 1/100. The oven was programmed at 45 °C for 4 min with a heating ramp of 10 °C/min to 180 °C, remaining for 7 min, heating at 250 °C, with a ramp of 8 °C/min, remaining for 3 min until the end of the race. Injector and ion source temperatures of 250 °C and

200 °C, respectively. Run Time 36.25 min. MS - Acquisition Mode: Full Scan, Scan Interval 0.30sec, Mass Range: 35 – 500 amu,

The identification was performed by normalizing the peak areas, and the identification through the NIST08 Equipment Library (National Institute of Standards and Technology).

Toxicity

To assess the lethality of *Artemia salina* Leach, the methodology described by [15] was used. Initially, a stock saline solution of each essential oil was prepared at a concentration of 10,000 mg L⁻¹ of Tween 80 (surfactant). Aliquots of 5, 50 and 500 µL were transferred to test tubes and filled with previously prepared saline solution up to 5 mL, obtaining at the end concentrations of 10, 100 and 1000 mg L⁻¹, respectively. All tests were performed in triplicates, where ten larvae in the nauplius stage were transferred to each of the test tubes.

For white, we used 5 mL of saline solution, for the positive control K₂Cr₂O₇ and for the negative control, 5 mL of a 4 mg L⁻¹ solution of Tween 80. After 24 hours of exposure, the live larvae were counted, considering those that were dead. they do not move during observation or with the slight shaking of the flask. The 50% Lethal Concentration (LC₅₀) for each essential oils was calculated based on the method of [16], with classification of toxicity by the criterion of [17].

Total phenolic content (CFT)

The determination of the total phenolic compounds of the essential oil and nanoemulsions was carried out by adapting the Folin-Ciocalteu method [18]. 5 mg of essential oil diluted in 1 mL of ethanol was used. To this solution was added 7 mL of distilled water, 800 µL of Folin-Ciocalteu reagent and 2.0 mL of 20% sodium carbonate. After two hours, the reading was performed in a UV-VIS spectrophotometer at a length of 760 nm. The standard curve was expressed in mg L⁻¹ of tannic acid.

Antioxidant activity

Antioxidant activity was performed by the spectrophotometric method of scavenging hydroxyl radicals of salicylic acid according to the methods described by [19] and [20].

Nanoemulsion and essential oils at different concentrations of 10-500mg L⁻¹ were dissolved in 0.2% DMSO and distilled water, respectively. 1 ml of salicylic acid (9 mM), 1 ml of ferrous sulfate (9 mM) and 1 ml of hydrogen peroxide (9 mM) were added to these concentrations. Ascorbic acid was used as a positive standard. The reaction mixture was incubated for 60 min at 37 °C in a water bath; after incubation, the absorbance of the mixtures was measured at 510 nm using a UV/VIS spectrophotometer and the EC₅₀ calculated.

Preparation of nanoemulsions (O/W)

The preparation of oil-in-water (O/W) nanoemulsions was carried out according to the adapted methodologies described by [21] and [22], using the low-energy phase inversion method. The nanoemulsions were formulated with essential oil, non-ionic surfactant and water, according to Table 1. The final homogenization was completed by keeping the formulation in constant agitation at 6000rpm, until reaching the temperature reduction to 25 °C ± 2 °C. To prove the stability, the formulations were submitted to different stress tests: centrifugation, heating-cooling cycle and freezing-thawing stress, according to the methodology described by [23].

Table 1. Nanoemulsion formulations for *S. officinalis* essential oil.

Identification	Essential oil (<i>S. officinalis</i>)	Tween 20	H ₂ O
NO/W1	5%	5%	90%
NO/W 2	5%	10%	85%

Characterization of nanoemulsions

The droplet size distribution (volume analysis) and Polydispersity (PDI) of the nanoemulsion formulations were determined using a 90 Plus particle size analyzer [22].

Larvicidal activity

The eggs were collected in São Luís/MA, through traps called ovitraps. These consist of brown buckets (500 mL), made of polyethylene, with 1 mL of brewer's yeast and 300 mL of running water and two Eucatex straws inserted for mosquito oviposition. The traps were inspected weekly to replace the straws and collect the eggs and sent them to the Laboratory for Research and Application of Essential Oils (LOEPAV/UFMA) of the Technological Pavilion of the Federal University of Maranhão – UFMA.

Initially, *Aedes aegypti* eggs were placed to hatch at room temperature in a circular glass aquarium containing mineral water. Species identification followed the methodology proposed by [24]. The larvae obtained are fed with cat food according to the methodology of [25] until reaching the third and fourth stages, age at which the experiments were carried out.

Assays for larvicidal activity were performed according to the adapted methodology proposed by [26]. Initially, a stock solution of 100 mg L⁻¹ of each of the essential oils was prepared and diluted in a 2% DMSO solution and nanoemulsions (no dilution). From this solution, five dilutions were prepared at concentrations 1.0-90.0 mg L⁻¹. At each concentration, 10 larvae were added at a rate of 1 mL per larva.

All tests were performed in triplicates and a 2% DMSO solution was used as a negative control, and a 70% v/v ethanol (PA) solution was used as a positive control. After 24 hours, the live and dead were counted, being considered dead, the larvae that did not react to touch after 24 hours of the beginning of the experiment. To quantify the efficiency of essential oils and nanoemulsions, the Probit statistical test [27] and action classification by [28] were applied.

RESULTS

Phytochemical Profile

Table 2 displays the class of secondary metabolites identified in the EO of *S. officinalis*.

Table 2. Classes of secondary metabolites identified in *Salvia officinalis*

EO	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Salvia officinalis</i>	-	+	+	+	+	+	+	+

Note: 1: Alkaloids; 2: Steroids; 3: Glycosides; 4: Cardiac glycosides; 5: Flavonoids; 6: Saponins; 7: Phenols; 8: Tannins; (+) positive; (-negative).

According to Table 2, among the active phytochemicals found in this study, the presence of steroids, glycosides, cardiac glycosides, flavonoids, saponins, phenols and tannins stands out.

Physicochemical properties

Table 3 shows the result of the physicochemical parameters of the essential oil of *Salvia officinalis* L., being extremely important not only to determine the quality, but also to control its purity.

Table 3.Physicochemical parameters of essential oil

Physicochemical parameters	<i>S. officinalis</i>
Density (g mL ⁻¹)	0.9280
Refractive index (nD 25°)	1,465
Solubility in alcohol at 70% (v/v)	1:2
Color	Yellow
Appearance	Clear
Performance (%)	1.78

According to the results expressed in Table 3, a yield of 1.78% was obtained for the EO extracted from the leaves of *S. officinalis*. Regarding the solubility in 70% ethanol, the result demonstrates that the EO of *S. officinalis* was soluble in the proportion of 1:2. The color presented by the EO was typical yellow of the EO *S. officinalis*. The refractive index and density of EO obtained from leaves of *S. officinalis* were 1.4650 and 0.9280 g mL⁻¹ respectively.

Chemical profile

Through gas chromatography coupled to mass spectrometry, it was possible to separate and identify five constituents of the essential oil, which are presented in Figure1, following the order of elution.

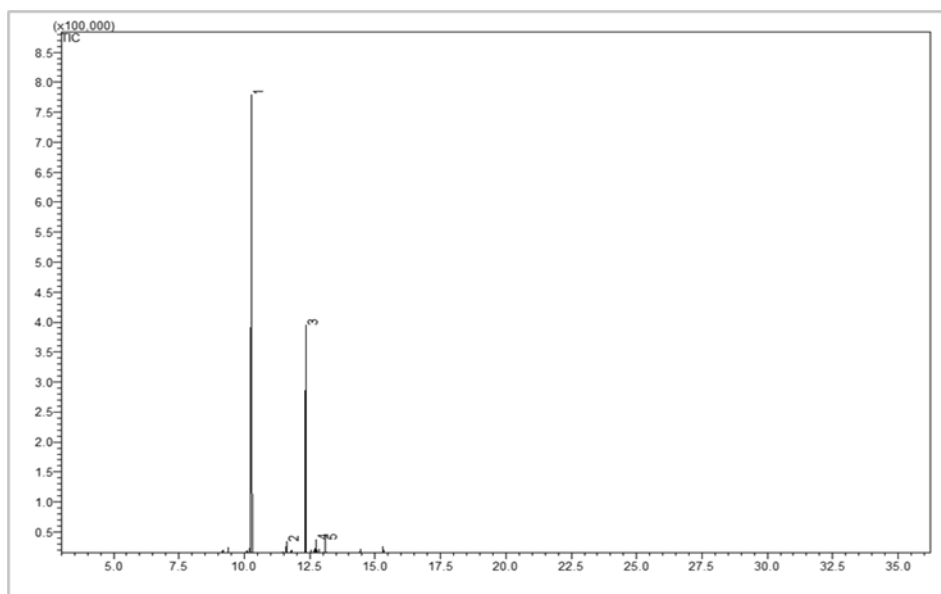


Figure 1.*S. officinalis* essential oil chromatogram.

According to the results obtained, Table 4 presents the chemical compounds identified in the EO of *S. officinalis* through GC/MS. Thus, according to Table 4, 5 components were identified in the EO of *S. officinalis*, being the major constituent of the EO, eucalyptol with 65.14%, followed by camphor (30.63%) and α -Terpineol (1, 53%).

Table 4. Chemical constituents in the EO sample of *S. officinalis*

Peak	Retention time (min)	Area	Content%	Compounds - NIST08
1	10,268	1312912	65.14	Eucalyptol
2	11,617	24822	1.23	Thujone
3	12,352	617523	30.63	Camphor
4	12,753	29549	1.47	Cyclobutyl ester
5	13,092	30939	1.53	α -Terpineol

Lethality against *Artemia salina* Leach

In the toxicity test it was possible to observe that the LC_{50} was <1000 mg/L and according to [17] it is classified as non-toxic.

Thermodynamic stability

Table 5 shows the thermodynamic stability of nanoemulsion formulations with *S. officinalis* EO.

Table 5. Study of the thermodynamic stability of nanoemulsion formulations with *Salvia officinalis* essential oil.

Identification	SF	Q	CG	DCG	Final stability
NO/W 1	-	-	-	-	+
NO/W 2	-	-	-	-	+
NO/W 3	-	+	-	-	-

Note: SF- phase separation or creaming at room temperature; AQ- phase separation after heating; GC- phase separation or creaming after freezing; DCG- phase separation or creaming after thawing; + positive; - negative.

According to Table 5, the formulations NO/W 1 and NO/W 2 showed stability in the tests used and were used for the other tests, however, the formulation NO/W 3 proved to be unstable with phase separation after heating and was not used in the following tests.

Characterization of nanoemulsions

Table 6 shows the average size of formulations containing Tween 20 surfactant, *S. officinalis* EO and H₂O, as well as the polydispersity index over time from 0 to 60 days.

Table 6. Variation of the mean Z (nm) and polydispersity index (PDI) for the nanoemulsion over time (T0-T60 days).

	Time (days)	Mean Z (nm)			PDI		
NOW 1	0	106.47	±	1.66	0.187	±	0.010
	T15	102.52	±	0.83	0.184	±	0.005
	T30	96.09	±	0.58	0.181	±	0.009
	T45	93.03	±	1.67	0.178	±	0.010
	T60	90.71	±	0.52	0.182	±	0.002
	Time (days)	Mean Z (nm)			PDI		
NOW 2	0	101.14	±	1.58	0.177	±	0.009
	T15	97.40	±	0.79	0.175	±	0.005
	T30	91.29	±	0.55	0.172	±	0.008
	T45	88.38	±	1.58	0.169	±	0.009
	T60	86.18	±	0.49	0.173	±	0.002

According to the concept that nanoemulsions are systems that present droplets in the size range between 50 and 200 nm [29], the formulations produced were characterized as nanoemulsions because they had an average droplet size < 200 nm after 0 to 60 days of manipulation, indicating small droplet size. The polydispersity index for all NE's during the evaluated period was low and was between 0.169 and 0.187, indicating a narrow size distribution (PDI= < 0.200) (Table 6). Thus, NE's were used for the larvicidal bioassay against *Ae. aegypti* and other biological tests.

Quantification of phenolics

The results of the total phenolic content of the EO and the formulations of *S. officinalis* nanoemulsions are presented in Table 7.

Table 7. Quantification of total phenolics (mg EAT g⁻¹)

Identification	mg EAT g ⁻¹	Line equation	R ²
EO	148.2	y= 0.0586x + 0.06	0.9998
NOW 1	8.53	y= 0.0586x + 0.06	0.9998
NOW 2	12.12	y= 0.0586x + 0.06	0.9998

According to Table 7, the EO and the nanoemulsions of *S. officinalis* presented an important quantity of total phenolics, being the EO with 148.2 mg EAT g⁻¹, among the nanoemulsions, the formulation NOW 2 which presented the highest quantity with 12.12 mg EAT g⁻¹, while the formulation NOW 1 quantified 8.53 mg EAT g⁻¹.

Antioxidant activity

Table 8 presents the EC₅₀, straight line equation and linear regression for the antioxidant capacity of *S. officinalis* nanoemulsions for the methods used.

Table 8. Antioxidant capacity of *S. officinalis* nanoemulsions.

Identification	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	y=ax-b	R ²
N O/W 1	136.29	y=55.26x-67.963	0.9589
N O/W 2	51.59	y=90.021x-104.17	0.9941

According to [30], plant products with a concentration lower than 500 mg L⁻¹ are classified as active. Thus, *S. officinalis* EO formulations were promising and active for antioxidant activity. The lower the EC₅₀ value, the greater the antioxidant action of the natural compound, since a lower concentration of the natural product (nanoemulsion) is required to reduce the H₂O₂ radical by 50% [31]. Thus, when evaluating Table 8, it was found that the *S. officinalis* EO nanoemulsion showed better antioxidant activity by the NO/W 2 formulation (EC₅₀= 51.59 mg L⁻¹), when compared to an EC₅₀ of 136.29 mg L⁻¹ of the formulation NO/W 1. In the literature, it was not possible to find studies on the antioxidant activity of the O/W nanoemulsion of the EO of *S. officinalis*, which emphasizes the importance of this research.

Larvicidal activity

Table 9 shows the mortality of *Aedes aegypti* larvae in the EO concentrations tested with LC₅₀ calculation and statistical parameters by the Probit method.

Table 9. *Aedes aegypti* mortality for essential oil action

Identification	CL ₅₀	χ ²	σ	R ²
NO/W 1	71.17	0.976	0.462	0.925
NO/W 2	> 100 mg L ⁻¹	-	-	-

As shown in Table 9, the LC₅₀ for NO/W1 formulated regarding the estimated mortality of 50% of *Aedes aegypti* larvae was below 100 mg L⁻¹, being classified by [32] as active action (LC₅₀ of 71.17 mg L⁻¹) for larvicidal activity, and its potential for use and application was encouraged, while nanoemulsion 2 (O/W) did not obtain active potential (LC₅₀ of 214.32 mg L⁻¹).

DISCUSSION

The phytochemicals found in this study corroborate previous studies by [33] and [34] when analyzing other *Salvia* species (*S. trilobis* and *S. squalens*). The diversity of active compounds present is important, demonstrating a high biological potential.

The presence of steroids observed is related to the antioxidant activity [45] found in this study, in addition to acting as antimicrobial, anti-inflammatory and analgesic [36].

Glycosides are responsible for allelopathy in plants and still perform the defense of the plant against pathogens and herbivores. In addition, they participate in plant signaling, growth and development [37].

On the other hand, cardiac glycosides have a great impact on the pharmaceutical industry, as several glycosidic substances are applied in the treatment of suggestive heart failure [38]. However, it can be extremely toxic when administered irregularly [39].

Flavonoids are present in all plant species and perform several functions such as: protection of plants against UV radiation from sunlight, defense against microorganisms (viruses, fungi and bacteria), insects and other herbivores, in addition to potent antioxidant action [40, 41].

Saponins that tested positive are known for their ability to foam in aqueous solutions [42], so several plants containing this compound were used in cleaning. These compounds stand out for their hemolytic, antimicrobial, antifungal, antioxidant, molluscicidal, antiparasitic and antiviral action [43,44].

Phenolic compounds are found in abundance in plants and have active pharmacological actions in antioxidant, fungicidal, antibacterial, antiviral and antitumor properties [45,44].

Tannins are phenolic compounds widely distributed among plants. They have an astringent taste that provides protection against herbivores in general and against attacks by fungi, bacteria and viruses [46].

Considering the presence of metabolites responsible for several biological activities, the importance of studies on the formulation of biotechnological products with such pharmaceutical potential is highlighted.

Regarding the EO yield, the value found was superior to the result found by [47] where they reported that the EO yield of *S. officinalis* ranged from 0.33% to 0.62%. It is worth mentioning that in the literature there are few studies related to the physicochemical properties of the essential oil of *S. officinalis*.

[48], when analyzing the different collection times and extraction times of essential oil from basil (*Ocimum basilicum*), a species belonging to the same family as *S. officinalis*, observed the same trend with a yield of 0.38%. However, [49] reached a yield of 1.56% for the essential oil of *O. basilicum*, close to the one found in this study.

The differences in the amount of essential oil found may be related to climatic factors, inherent to the plant, water and nutrient availability, altitude, seasonality, collection site and management techniques during the cultivation of the species. According to [50], the grinding of plant species before essential oil extraction contributes to a greater yield of essential oil. It is worth mentioning that in the present study, the EO was extracted from the crushed leaves and presented satisfactory yield, which encourages its extraction and application.

It was observed in the work carried out by [51] using the EO of this plant the value of the refractive index of 1.4917 and density of 0.9420 g mL⁻¹, which demonstrates that the values were equal or very close, the which indicates no change in the quality of the EO of the present study.

Similar results related to chemical compounds were described by [52], who reported the presence of 6 constituents characterized and identified by GC/MS, with 23.4% of sage EO consisting of eucalyptol, followed by cis-tujone (18, 9%) and trans- β -caryophyllene (11.0%). [53] also identified eucalyptol (26.6%) as the major compound in the EO of *S. officinalis* collected in Colombia.

According to [54], the composition of the EO of *S. officinalis* can vary according to the place of collection of the plant, genetic factors, stage of development, extraction methods, and other climatic, seasonal and environmental factors. Thus, in the study by [55], the composition and quantification of the EO of sage extracted from different locations varied significantly, with eucalyptol being responsible for 55 to 62% of the composition of the extracted EO's and camphor with a variation of 8 to 10% of the content. On the other hand, [56] obtained variations in the yield of the compounds according to the time of harvest, with camphor with 22.4 to 18.8%, followed by α -thujone (21.4 to 21.6%) and eucalyptol (15.1 to 7.4%).

Regarding toxicity, in the study by [57], they observed mortality of 26% of *Artemia salina* L. larvae at the highest concentration (500 μ L/mL) of *S. officinalis* hydrolate. Studies in the literature regarding toxicity by the *Artemia salina* Leach bioassay against *S. officinalis* EO are still scarce and poorly publicized.

Thus, the results regarding toxicity were compared to studies that showed eucalyptol as the major component. In a recent study by [58], they proved the low toxicity (LC₅₀=284.15 mg. L⁻¹) of the EO of *Alpinia zerumbet* against *Artemia salina*, considering p-cymene (40.15%) and eucalyptol as the major compounds. (26.70%). According to [59], eucalyptol is found as a major compound also in *Eugenia pyriformis*. Thus, in a study by [60], they concluded that the absence of toxicity of the *E. pyriformis* extract is related to the presence of its major compounds that do not present toxic characteristics for non-target organisms.

According to [61], the stability of nanoemulsions may depend on factors such as initial droplet size, surfactant concentration and method of production. In this study, a larger droplet size was observed for the unstable formulation compared to other formulations, which may explain its instability. It should be noted that in addition to the lack of specific studies on the incorporation of sage EO in nanosystems, stability has not yet been studied, which configures the importance of this development proposal.

Similar results were described by [62] in the study on the nanoemulsion of EO from *Origanum vulgare* L., where the formulation was unstable when subjected to high temperatures, between 75°C and 100°C. On the other hand, [63] observed that none of the EO nanoemulsion samples from *Rosmarinus officinalis* L. showed signs of instability such as creamation and phase separation. The formulation was prepared with the same concentration of compounds used in this study, which showed stability.

According to [64], the method used to obtain nanoemulsions can influence their characterization. Low-energy methods are more efficient, as they require less energy to produce nanoemulsions with smaller droplet sizes compared to NE's obtained with the high-energy methodology [65]. Thus, this method used in this study allowed to obtain NE's with reduced droplet size and low polydispersity. Results from [66], on the *Lippia alba* EO nanoemulsion produced with a low energy method, indicated a mean particle size of 116.2±0.3 nm and a polydispersion index of 0.205±0.001, corroborating this study.

Phenolic compounds are phytochemical agents responsible for the secondary metabolism of plants. They are related to several biological activities such as antimicrobial, fungicidal, antioxidant, and insecticide [67-69]. However, the total phenolic content for the EO nanoemulsion of the species under study is not yet present in the literature, so the importance of disclosing this study is emphasized.

A smaller amount on a gram equivalence basis of gallic acid for extracts of *S. officinalis* species were found in the literature. A recent study by [70] reported that the phenolic content for sage extract was 1.32 mg/mL. Similar values were also observed by [71] for the hydroalcoholic and aqueous extracts for the same plant species, with 1.88 mg GAE/mL and 1.61 mg GAE/mL, respectively. These findings indicate that the values found in the present study are promising.

Some factors may contribute to different levels of total phenolics in plants, highlighting the extraction methods, solvent used, extraction temperature, in addition to environmental and agronomic conditions, which can act by modifying the concentration of these compounds in different studies [72].

[73] observed in their study that time and temperature variables influenced the antioxidant potential of *S. officinalis* extract, ranging from 327.54 to 1628.02 mg AA/100 g of sample. Similar results to those obtained in this study were reported by [74], where an EC₅₀ of 48,800 EAA/g of the dry sage plant was observed. On the other hand, [75] reported only 19.70% of *S. officinalis* EO antioxidant action, at a concentration of 1000 µL mL⁻¹.

The antioxidant potential of plant species may be related to the presence of phytoantioxidants found in medicinal plants such as flavonoids, tannins, anthocyanins, ascorbic acid, including phenolics present in this study. Therefore, several authors point out the relationship between the antioxidant potential and the phenolic content of natural products. In addition, the production of these substances also depends on environmental conditions, such as high temperatures, radiation, pathogen attack or even mineral imbalance [76].

According to the nanometric characteristics of the oil-in-water (O/W) formulations, they can be identified as good larvicidal agents as they increase the biological action of the essential oil [36], as observed in this study. However, investigations on the larvicidal potential of the nanoemulsion of the EO of *S. officinalis* were not found in the literature, which is a study of great relevance regarding the results obtained, therefore, the results will be compared to studies with the EO of *S. officinalis*.

[77] analyzed the larvicidal potential of the EO of *S. officinalis* obtained in Colombia and obtained an LC₅₀ of 76.43 mg/mL, being classified as active. [78], using the same methodology, found the same value for 50% mortality of *Aedes aegypti* larvae. On the other hand, [79] also found active larvicidal action against *Ae. aegypti*, with an LC₅₀ of 56.9 ppm. These results corroborate with this study that shows the larvicidal potential of *S. officinalis*.

The biological potential of an essential oil may be related to different concentrations and combinations of its chemical compounds. [80] chemically characterized the EO of *S. officinalis* and found that the main chemical compounds were: β-thujone (20.1%), eucalyptol (15.91%) and camphor (14.79%). In the same

study, significant larvicidal activity was observed, showing that such potential can be attributed to the chemical substances of the plant. In a study by [81], they verified the active biological potential of the EO of *S. officinalis* against *Ae. aegypti* larvae, which presented eucalyptol as the major compound.

It is important to highlight that the EO under study has great biological action, so the nanoemulsion obtained from this bioproduct has high market potential, being a viable alternative in the fight and control of *Aedes aegypti*.

CONCLUSION

We identified the chemical constituents eucalyptol (65.14%), camphor (30.63%), α -Terpineol (1.53%), cyclobutyl ester (1.47%) and thujone (1.23%) through Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry. Through the toxicity test, it was possible to prove the non-toxicity of sage EO against *Artemia salina*. It was possible to quantify the antioxidant action by the decolorization method of hydroxyl radicals of the formulated nanoemulsions. The nanoemulsions presented concentrations below 500 mg L⁻¹, being classified as active according to the established criteria. It was possible to obtain a smaller droplet size for the NO/W 1 and NO/W 2 formulations, with an average droplet <200 nm, characterizing them as nanoemulsions. The formulation NO/W 1 showed active potential for larvicidal activity, being encouraged as a new alternative for the control and combat of *Aedes aegypti* cases.

Funding: This research did not receive external funding.

Acknowledgments: We would like to thank the entire team at the Laboratory for Research and Application of Essential Oils (LOEPAV/UFMA) for their support and material preparations.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Mukherjee PK, Harwansh RK, Bahadur S, Banerjee S, Kar A. Evidence-Based Validation of Traditional Indian Medicine – The Way Forward. *World J Tradit Chin Med* 2016; 2:48-61. Available in: <https://www.wjtcn.net/text.asp?2016/2/1/48/294424>
2. Rana, KL, Kour, D, Kaur, T, Devi, R, Negi, C, Yadav, AN, ... & Saxena, AK. Endophytic fungi of medicinal plants: biodiversity and biotechnological applications. *Microbial Endophytes*, Woodhead Publisher, 2020;273-305. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819654-0.00011-9>
3. Mendes, LSDS. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil from leaves of *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (cinnamon), 2012.
4. Machado, BFMT, & Fernandes Júnior, A. Essential oils: general aspects and uses in natural therapies. *Academic notebooks* 2011; 3:105-127.
5. Irache, JM, Esparza, I, Gamazo, C, Agüeros, M, Espuelas, S. Nanomedicine: new approaches in human and veterinary therapy. *Veterinary Parasitology*, 2011; 180; 47-71. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.028>
6. Sidonius, IAP. Evaluation of the lethal effect of *Rosmarinus officinalis* L. nanoemulsion on *Bactrocera carambolae* Drew and Hancock (Diptera: Tephritidae), 2017.
7. Zara, ALDSA, Santos, SMD, Fernandes-Oliveira, ES, Carvalho, RG, Coelho, GE. *Aedes aegypti* control strategies: a review. *Epidemiology and Health Services*, 2016; 25: 391-404. Available in: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017>
8. Carvalho, FD, Moreira, LA. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so successful as a species? *Neotropical Entomology*, 2017; (46) 243-255. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13744-017-0520-4>
9. Bassani AT, Tramontina AC, Tramontina FF. Environmental Education, Health Surveillance and the Control of the *Aedes aegypti* Vector (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)
Environmental Education, Health Surveillance and the Control of the *Aedes aegypti* Vector (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)
Environmental Education, Health Surveillance and the Control of the Vector *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *REMEA [Internet]*. 2019;36(1):339-56. Available in: <https://periodicos.furg.br/remea/article/view/8772>
10. Brandler, S, Ruffié, C, Combredet, C, Brault, JB, Najburg, V, Prevost, MC, Tangy, F. A recombinant measles vaccine expressing chikungunya virus-like particles is strongly immunogenic and protects mice from lethal challenge with chikungunya virus. *Vaccine*, 2013; 31(36), 3718-3725. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.086>

11. Aponte A, Penilla RP, Rodríguez AD, Ocampo CB. Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* from Colombia. *Acta tropica*, 2019; 191:146-154. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.021>
12. Khedher, MRB, Khedher, SB, Chaieb, I, Tounsi, S, Hammami, M. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI Magazine*, 2017;16: 160. Available at: <https://doi.org/10.17179/excli2016-832>
13. Harborne JB, Harborne AJ. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Kluwer Academic Publishers, London, UK, 1998.
14. Matos, FDA. *Introduction to experimental phytochemistry*. UFC editions, 1997.
15. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DEJ, McLaughlin JL. *Artemia*: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Medicinal Plant*, 1982; 45 (05), 31-34. Available at: <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
16. Reed, LJ, Muench, H. A simple method of estimating fifty percent of endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 1938; 27:493-497.
17. Dolabela, MF. In vitro screening for antitumor and anti *Trypanosoma cruzi* activity of plant extracts, natural products and synthetic substances. Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997;130.
18. Waterhouse, AL. Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 2002; 6(1), 11-1.
19. Smirnoff, N, Cumbes, QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 1989; 28:4, 1057-1060.
20. Sundararajan, R, Koduru, R. In vitro antioxidant activity in roots of *Limnophila heterophylla*. *Free radicals and antioxidants*, 2016.;6:2,178-185.
21. Lima, TCP, Almeida, AF, Oliveira, ECP, Carrera Silva Júnior, JO, Ribeiro Costa, RM, Pena Matos, A, Fonseca Gomes, MR. Development of *Copaifera reticulata* nanogel on muscle injury in rats using phonophoresis. *Health and Research*, 2020; 13(1).
22. Sugumar, S, Clarke, SK, Nirmala, MJ, Tyagi, BK, Mukherjee, A, Chandrasekaran, N. *Eucalyptus* oil nanoemulsion and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. *Entomological Research Bulletin*, 2014; 104:3, 393-402.
23. Shafiq, S, Shakeel, F, Talegaonkar, S, Ahmad, FJ, Khar, RK, Ali, M. Development and evaluation of bioavailability of ramipril nanoemulsion formulation. *European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals*, 2007;66:2, 227-243.
24. Forattini, O. *Medical Entomology*. University of Sao Paulo. S., 1962.
25. Silva, HHGD, Silva, IGD, Elias, CN, Lemos, SPS, & Rocha, AP. Idade fisiológica dos ovos de *aedes* (*stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762)(diptera, culicidae), 1995.
26. Silva, WJD. Larvicidal activity of the essential oil of existing plants in the state of Sergipe against *Aedes aegypti* Linn., 2006.
27. Finney, DJ. *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*. Cambridge University Press, Cambridge, 1952.
28. Cheng SS, Chang HT, Chang ST, Tsai KH, Chen WJ. Bioactivity of essential oils from selected plants against yellow fever mosquito larvae *Aedes aegypti*. *Bioresource Technology*, 2003; 89:1, 99-102.
29. Jaiswal, M, Dudhe, R, Sharma, PK. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 2015; 5:2, 123-127.
30. Campos, MG et al. Age-induced decrease in free radical scavenging capacity in bee pollen and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003; 51: 3,742-745.
31. Sousa, CMDM, Silva, HR, Ayres, MCC, Costa, CLSD, Araújo, DS, Cavalcante, LCD, Chaves, MH Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *New Chemistry*, 2007.; 30,351-355. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>
32. Dias, CN, Moraes, DFC. Essential oils and their compounds as larvicides of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Research in Parasitology*, 2014; 113:2,565-592.
33. Diaz, M. Determination of yield at different times of extraction of essential oil from *Salvia trifilis* Epling (marjoram) root by the steam drag method. *Agroindustrial Science*, 2017; 7: 2.73-77.
34. Arcenales Valladares, SD, Martinez Vergara, AJ. Determination of total polyphenols and antioxidant activity in aqueous and ethanolic extracts of *Salvia squalens* leaves. *Doctoral Thesis*. Guayaquil University. Faculty of Chemical Sciences, 2020.
35. Costa, MCVV. Cytotoxicity, antioxidant properties and evaluation of antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels extract after gamma irradiation, 2017.
36. Oliveira, NT. Phytochemical, cytotoxic and antimicrobial analysis of crude ethanolic extract from leaves of the species *Ambelia acida* Aublet (Apocynaceae). *Biota Amazônia* (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), 2016; 6:1, 20-25.
37. Delgoda, R. *Pharmacognosy: Fundamentals, applications and strategies*. Academic Press, 2017.
38. Kloss, LC. Identification of secondary metabolite classes of the ethanolic extract of *Piper umbellatum* L.(Piperaceae), 2016.

39. Barbosa, HM, Albino, AM, Cavalcante, FSA, Lima, RA. Phytochemical approach of secondary metabolites in *Solanum acanthodes* (Solanaceae) Hook. South American Journal of Basic Education, Technical and Technological, 2017; 4:1. Available in: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/1143>
40. Sforcin, JM. Biological properties and therapeutic applications of propolis. Research in phytotherapy, 2016; 30: 6,894-905.
41. Amaral, AB, Silva, MVD, & Lannes, SCDS. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. Food Science and Technology, 2018; 38, 1-15. Available in: <https://doi.org/10.1590/fst.32518>
42. Fernandes, BF, Gonçalves, HR, Guimarães, MR, Alves, AA, Bieski, IGC. Ethnopharmacological study of medicinal plants with the presence of saponins and their medicinal importance. AJES Health Magazine, 2019; 5:9.
43. Wykowski, R. Saponins: A Promise of Cancer Science, 2012.
44. Bessa, NGF, Borges, JCM, Beserra, FP, Carvalho, RHA, Pereira, MAB, Fagundes, R, Alves, A. Preliminary phytochemical prospection of native cerrado plants of popular medicinal use by the rural community of the Vale Verde settlement, Tocantins. Brazilian Journal of Medicinal Plants, 2013;15:4, 692-707.
45. Shahidi, F, Ambigaipalan, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. Journal of Functional Foods, 2015; 18, 820-897.
46. Poyer A, Schaefer L, Teixeira SD, da Rocha, RDC. Obtaining tannins from the hydroalcoholic extract of leaves and flowers of *Lippia alba*. Synergismus scyentifica UTFPR, 2015; 10:1, 140-151.
47. Alcala-Orozco, M. et al. Repellent and fumigant action of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus and *Lippia origanoides* (V.) Kunth essential oils against *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2019; 22:1, 18-30.
48. Velandia, SA et al. Antiproliferative activity of essential oils from plants cultivated in Colombia. Colombian Biological Act, 2018 ;23:2,189-198.
49. Hadri, A. et al. Cytotoxic activity of α -humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. An R Acad Nac Farm. 2010; 76:3, 343-356.
50. Hamidpour, M. et al. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of sage (Sage) to prevent and cure diseases such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease and cancer. Journal of traditional and complementary medicine, 2014; 4:2, 82-88.
51. Rguez, S. et al. Chemical composition and biological activities of essential oils from aerial parts of *Salvia officinalis* affected by diurnal variations. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 2019;153:2, 264-272.
52. Pine, SMG. Concentration and composition of the nutrient solution in the production and cytogenotoxicity of the essential oil of *Salvia officinalis* L (Doctoral Thesis, Federal University of Santa Maria), 2019.
53. Vasconcelos, SC, Régis, LA, de Menezes Filho, ACP, de Melo Cazal, C, Pereira, PS, Christofoli, M. Chemical composition, bactericidal and antioxidant activity of essential oils from the leaves of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). Research, Society and Development, 2021; 10(8). Available in:<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17109>
54. Dris, D, Tine-Djebbar, F, Bouabida, H, Soltani, N. Chemical composition and activity of *Ocimum basilicum* essential oil in *Culex pipiens* larvae: toxicological, biometric and biochemical aspects. South African Journal of Botany, 2017; 113, 362-369. Available in:<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.013>
55. Governici, JL. Influence of drying air temperature and fruit fragmentation on pink pepper essential oil yield.,2019.
56. Silupu, JWE et al. Chemical composition, physicochemical characteristics and antioxidant capacity of essential oils from five herbs. Repository of journals of the private university of Pucallpa ,2019; 4:2,12-12.
57. Politi, M. et al. Hydrosols of *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* and *Cupressus sempervirens*: Phytochemical Analysis and Bioactivity Assessment. Plants, 2022;11:3,349.
58. Rosa, PVS, Santos Júnior, PS, Sousa, ITPD, Silva, ISD, Farias, WKDS, Souza, LDS, Everton, GO. Chemical constituents, larvicidal and molluscicidal activity of fresh leaves of *Alpinia zerumbet* (Pers.) and *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Colombian Journal of Chemical-Pharmaceutical Sciences, 2021; 50:2, 571-589. Available in:<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n2.97293>
59. Stefanello, ME, Junior, AW, Simionatto, EL, Cervi, AC. Chemical composition and seasonal variation of essential oils from *Eugenia pyriformis* (Myrtaceae). Latin love J. Pharm. 2009; 28:3, 449-53.
60. Silva, YL, Takemura, OS, Romagnolo, MB, Junior, AL. Phytochemical screening and evaluation of biological properties of the alcoholic extract of leaves of *Eugenia pyriformis* Cambess.(Myrtaceae). UNIPAR Health Science Archives, 2015; 19:3.
61. Walker, RM; Decker, EA; McClements, DJ Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size. Journal of Food Engineering, 2015; 164:10-20.
62. Bolzan, AA, Lopes, LQ, Marin, LS, Santos, RCV, Raffin, R, Fagan, SB, Bulhões, LOS. Evaluation of the antimicrobial activity of free oregano oil and in nanoemulsions. Disciplinarum Scientia| Natural and Technological, 2015; 16:2, 325-332.

63. Borges, RS et al. Anti-inflammatory activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil nanoemulsions: in vitro and zebrafish studies. *Inflammopharmacology*, 2018; 26:4,1057-1080.
64. Lovison, M et al. Nanoemulsions encapsulating essential oil of oregano: production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. *LWT*, 2017; 77, 233-240.
65. Solans, C.; Solé, I. Nanoemulsions: formation by low energy methods. *Current opinion in colloid & interface science* , , 2012; 17:5, 246-254.
66. Ferreira, R, Duarte, JL, Cruz, RA, Oliveira, AE, Araújo, RS, Carvalho, JC, Fernandes, CP A nanoemulsion of herbal oil in water prepared using an ecologically correct approach affects two vectors of tropical diseases. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 2020; 29 , 778-784. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.05.003>
67. Cruz, ND, et al. Extraction and quantification of phenolic compounds from *Eucalyptus* spp. In: III Brazilian Congress of Science and Technology of Madeira, 2017 Florianópolis.
68. Nasr, A. et al. Comparison between five eucalyptus species based on leaf content of some primary and secondary metabolites. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2019; 20:7, 573-587.
69. Ahmad, N. et al. Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. *Food Chemistry*, 2016; 190, 80-89.
70. Gomes, BAF, Furtado, NA, de Oliveira, JEZ, de Freitas Castro, W, Bastos, RA. Biodegradable packages containing extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) and their influence on the peroxide index of butter in tablets. *ForScience*, 2021; 9:2. Available in: <https://doi.org/10.29069/forscience.2021v9n2.e1049>
71. Garcia, CS, Menti, C, Lambert, APF, Barcellos, T, Moura, S, Calloni, C, Henriques, JA Pharmacological perspectives of *Salvia officinalis* (Lamiaceae): antioxidant and antitumor in mammalian cells. *Proceedings of the Brazilian Academy of Sciences*, 2016, 88, 281-292.
72. Gonçalves, JHT, Santos, AS, MORAIS, HA Antioxidant activity, total phenolic compounds and phytochemical screening of dehydrated spice herbs. *Magazine of the Vale do Rio Verde University*, 2015; 13:1, 486-497.
73. Neves, IL, PG, AAM, Deliberali, N. Extraction and quantification of phenolic compounds from *salvia officinalis* L. And assessment of antioxidant activity, 2018.
74. Melo, IAD. Evaluation of the anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial potential of sage, pennyroyal and chive extracts (Doctoral dissertation), 2016.
75. Ugalde ML, De Cezaro AM, Cenci A., Junior CV, Paroul N., Toniazzo G, Cansian RL. Antibacterial and Antioxidant Activity of the Essential Commercial Oils of Romero, Clavo de Olor, Oregano and Salvia. *Journal of Science and Technology*, 2016; 25, 54-61.
76. Wilmes, A. et al. Identification and dissection of the Nrf2-mediated oxidative stress pathway in human renal proximal tubule toxicity. *In Vitro Toxicology*, 2011; 25:3, 613-622.
77. Rios, N, Stashenko, EE, Duke, JE. Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Brazilian Journal of Entomology*, 2017; 61,307-311. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.08.005>
78. Castillo-Morales, RM, Duque, JE. Deterrent and biocidal activity of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) with induction of malformations in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 2020; 46 :2. Available in: <https://doi.org/10.25100/socolen.v46i2.7683>
79. Ali, A. et al. Chemical composition and biological activity of four sage essential oils and individual compounds against two mosquito species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2015; 63:2, 447-456.
80. Abdellaoui, K et al. Chemical composition, toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Salvia officinalis* essential oils against *Tribolium confusum*. *J Entomol Zool Stud*. 2017; 5:4, 1761-1768.
81. Castillo-Morales, RM et al. Mitochondrial affect, DNA damage and AChE inhibition induced by *Salvia officinalis* essential oil in *Aedes aegypti* larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2019; 221, 29-37.

© 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foi possível identificar os constituintes químicos do óleo essencial de *Salvia officinalis* L., sendo o eucaliptol o componente majoritário e comprovou-se atoxicidade do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. frente *Artemia salina*
- Foi possível obter tamanho de gota para as formulações com média de gotas <200 nm, caracterizando-as como nanoemulsões.
- Quantificou-se a ação antioxidante pelo método de descoloração de radicais hidroxilas das nanoemulsões formuladas e estas apresentaram concentrações inferiores a 500 mg L⁻¹, sendo classificadas como ativas de acordo com os critérios estabelecidos.
- A formulação testada para nanoemulsão apresentou potencial ativo para atividade larvicida frente *Aedes aegypti*, sendo incentivada como uma nova alternativa para o controle e combate de casos do vetor de arboviroses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELLAOUI, K. et al. Composição química, toxicidade e atividade inibitória da acetilcolinesterase de óleos essenciais de *Salvia officinalis* contra *Tribolium confusum*. **J Entomol Zool Stud** , v. 5, n. 4, pág. 1761-1768, 2017.

ACEVEDO-FANI, A. et al. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food hydrocolloids*, v. 47, p. 168-177, 2015.

AGUIAR, W. S. et al. Estudo químico-biológico das espécies *Coutarea hexandra* (Rubiaceae) e *Annona rugulosa* (Annonaceae). 2022.

AHMAD, N. et al. Caracterização de compostos fenólicos livres e conjugados em frutos de plantas silvestres selecionadas. **Química dos alimentos**, v. 190, p. 80-89, 2016.

ALCALA-OROZCO, M. et al. Ação repelente e fumigante dos óleos essenciais de *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus e *Lippia origanoides* (V.) Kunth contra *Tribolium castaneum* e *Ulomoides dermestoides*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants** , v. 22, n. 1, pág. 18-30, 2019.

ALI, A. et al. Composição química e atividade biológica de quatro óleos essenciais de sálvia e compostos individuais contra duas espécies de mosquitos. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 63, n. 2, pág. 447-456, 2015.

ALMEIDA, C. M. et al. Avaliação in vitro do potencial antimicrobiano de *Salvia officinalis* L. contra patógenos orais. **Jornal de Ciências da Saúde** , v. 21, n. 2, pág. 129-133, 2019.

ALMEIDA, J. F. et al. Atividade Antioxidante in vitro e Microencapsulação por spray drying de extrato hidroalcoólico de Sálvia (*Salvia officinalis* L.). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos** v, v. 5, n. 2, p. 41-49, 2014.

ALMEIDA, M. Z. Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea. *Plantas Medicinais* [online], v. 3, p. 34-66, 2011.

ALONSO, J. Tratado de Fitofarmacos y Nutracéuticos. Rosário, Argentina: Corpus Libros, 2004.

ALTIZER, S.; BARTEL, R.; HAN, B. A. Animal migration and infectious disease risk. *Science*, v. 33, p. 296–302, 2011.

AMARAL, A B.; SILVA, M. V.; LANNES, S. C. S. Oxidação lipídica em carnes: mecanismos e fatores de proteção – uma revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 38, p. 1-15, 2018.

APONTE, A. et al. Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes (Stegomyia) aegypti* from Colombia. **Acta tropica**, v. 191, p. 146-154, 2019.

ARCENTALES VALLADARES, S. D.; MARTINEZ VERGARA, A. J. Determinação de polifenóis totais e atividade antioxidante em extratos aquosos e etanólicos de folhas de *Salvia squalens*. 2020. Tese de Doutorado. Universidade Guayaquil. Faculdade de Ciências Químicas.

ASADI-SAMANI, M.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; LORIGOOINI, Z.; SHIRZAD, H. A screening of anti-breast cancer effects and antioxidant activity of twenty medicinal plants gathered from Chaharmahal va Bakhtyari province. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 213-222, 2019.

ASSUNÇÃO, L. S. Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas ricas em β -caroteno obtidas pela técnica de deslocamento de solvente. Universidade Federal Da Bahia Faculdade De Farmácia Programa De Pós-Graduação Em Ciência De Alimentos. http://www.pgalimentos.far.ufba.br/sites/pgalimentos.far.ufba.br/files/dissertacao_larissa_assuncao.pdf, 2016.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. Aulton's pharmaceutics. **The design and manufacture of medicines**, v. 3, p. 176-178, 2007.

BÄCK, A. T.; LUNDKVIST, A. Dengue viruses - an overview. *Infection Ecology & Epidemiology*, v. 3, e:19839, 2013.

BALASUBRAMANI, S. et al. Development of nanoemulsion from *Vitex negundo* L. essential oil and their efficacy of antioxidant, antimicrobial and larvicidal activities (*Aedes aegypti* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 17, p. 15125-15133, 2017.

BALDACCHINO, F. et al. Métodos de controle contra mosquitos invasores *Aedes* na Europa: uma revisão. **Ciência de controle de pragas**, v. 71, n. 11, pág. 1471-1485, 2015.

BARBOSA, H.M. et al. Abordagem fitoquímica de metabólitos secundários em *Solanum acanthodes* (Solanaceae) Hook. **Revista Sul-Americana de Educação Básica, Técnica e Tecnológica**, v. 4, n. 1, 2017.

BARBOSA, L. N. Propriedade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservante em carne e hambúrguer bovino e testes de aceitação. 2010.

BARNIK, M.; FACEY, P.C. Glicosídeos. In: *Farmacognosia*. **Imprensa Acadêmica**, 2017. p. 101-161.

BARROS, N. V. A. et al. Bioacessibilidade in vitro de compostos fenólicos e atividade antioxidante em cultivares biofortificadas de feijão-caupi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, 2021.

BARROS, N.A.; ASSIS, A. V. R.; MENDES, M. F. Extração do óleo de manjeriço usando fluido supercrítico. **Ciência Rural** , v. 44, p. 1499-1505, 2014.

BASSANI, A. T.; TRAMONTINA, A. C.; TRAMONTINA, F. F. Educação Ambiental, Vigilância em Saúde e o Controle do Vetor *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **REMEA-Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 36, n. 1, p. 339-356, 2019.

BAUD, D. et al. Uma atualização sobre a infecção pelo vírus Zika. **The Lancet** , v. 390, n. 10107, pág. 2099-2109, 2017.

BEN KHEDHER, M. R. et al. Efeitos preventivos do extrato da folha de sálvia officinalis na resistência à insulina e inflamação, em modelo de camundongos com obesidade induzida por dieta rica em gordura. **PeerJ Preprints** , v. 5, p. e3086v1, 2018.

BESSA, N. G. F. et al. Prospeção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde-Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

BEZERRA, G. B. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, E POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE COMPLEXO DE VANÁDIO E FERRO, TENDO COMO LIGANTES PRODUTOS NATURAIS. 2016.

BHATT, S. et al. A distribuição global e a carga da dengue. **Nature** , v. 496, n. 7446, pág. 504-507, 2013.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

BOLONEZI J. Você conhece mesmo a dengue? Blog da saúde. 2018. Disponível em: <http://www.blog.saude.gov.br/index.php/promocao-da-saude/53624-voce-conhece-mesmo-adengue> . Acesso em: 5 de out de 2021.

BOLZAN, A. A et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo de orégano livre e em nanoemulsões. *Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas* , v. 16, n. 2, pág. 325-332, 2015.

BORGES, R. S. et al. Atividade anti-inflamatória de nanoemulsões de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.: estudos in vitro e em zebrafish. **Inflamofarmacologia** , v. 26, n. 4, pág. 1057-1080, 2018.

BOTTI, M. V. Controle de *Aedes aegypti*: período residual de temefós na água em recipientes de plástico, vidro e borracha, ação larvicida residual em recipientes de borracha e segurança das condições de trabalho na nebulização de malathion. 2010.

BOWMAN, L. R.; DONEGAN, S.; MCCALL, P. J. O controle do vetor da dengue é deficiente em eficácia ou evidência? Revisão sistemática e meta-análise. **PLoS negligenciou doenças tropicais**, v. 10, n. 3, pág. e0004551, 2016.

BOYLAN, J. C.; SWARBRICK, J. (Ed.). **Encyclopedia of pharmaceutical technology**. Marcel Dekker, 2001.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, n. 16, v. 4, p. 279-293,. 2007.

BRANDLER, S. et al. Uma vacina recombinante contra o sarampo que expressa partículas semelhantes ao vírus chikungunya é fortemente imunogênica e protege camundongos do desafio letal com o vírus chikungunya. **Vaccine** , v. 31, n. 36, pág. 3718-3725, 2013.

BUSATTA, C. Caracterização química e atividade antimicrobiana in vitro e em alimentos dos extratos de orégano e manjerona. **Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões**, 2006.

CAGLIOTI, C.; LALLE, E.; CASTILLETI, C.; CARLETTI, F.; CAPOBIANCHI, M. R.; BORDI, L. Chikungunya virus infection: an overview. **New Microbiology**, v. 36, p. 211-227, 2013.

CAIANA, R. R. A.; DE MEDEIROS FILHO, F. C.; DE FREITAS, J. C. R. ESTUDO FARMACOLÓGICO E TOXICOLÓGICO DE UM CANDIDATO À FÁRMACO DERIVADO DA D-GLICOSE.2019

CAMPOS, A. G. C. et al. Os nanocosméticos no envelhecimento facial: revisão de literatura. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 13, n. 1, p. 548-556, 2015.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, Silvia I. Surto de Zika vírus, Bahia, Brasil. **Doenças infecciosas emergentes**, v. 21, n. 10, pág. 1885, 2015.

CAMPOS, J. M. et al. Arboviroses de importância epidemiológica no Brasil. 2018.

CAMPOS, M. G. et al. Diminuição induzida pela idade da capacidade de eliminação de radicais livres em pólen de abelha e a contribuição de flavonóides constituintes. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 51, n. 3, pág. 742-745, 2003.

CAOHUY, H. et al. Common cardiac medications potently inhibit ACE2 binding to the SARS-CoV-2 Spike, and block virus penetration and infectivity in human lung cells. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2021.

CAPEK, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. *Revista Advances in Colloid and Interface Science*, v.107, p. 125-155, 2004.

CARLINI, C. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Proteínas tóxicas de plantas com propriedades inseticidas. Uma revisão sobre suas potencialidades como bioinseticidas. **Toxicon** , v. 40, n. 11, pág. 1515-1539, 2002.

CARVALHO, F. D.; MOREIRA, L. A. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species. **Neotropical entomology**, v. 46, n. 3, p. 243-255, 2017.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Aplicação de óleos essenciais microencapsulados em produtos cosméticos e de saúde pessoal - uma revisão. **Jornal internacional de ciência cosmética**, v. 38, n. 2, pág. 109-119, 2016.

CASTILLO-MORALES, R. M. et al. Afetação mitocondrial, dano ao DNA e inibição da AChE induzida pelo óleo essencial de *Salvia officinalis* em larvas de *Aedes aegypti*. **Bioquímica e Fisiologia Comparativas Parte C: Toxicologia e Farmacologia**, v. 221, p. 29-37, 2019.

CASTILLO-MORALES, R.M.; DUQUE, J. E. Atividade dissuasiva e biocida de *Salvia officinalis* (Lamiaceae) com indução de malformações em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 46, n. 2, 2020.

CASTRILLÓN, J. C.; CASTAÑO, J. C.; URCUQUI, S. Dengue na Colômbia: dez anos de evolução. **Jornal chileno de infectologia**, v. 32, n. 2 P. 142-149, 2015.

CASTRO, C. F. S. et al. AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS DE *Cochlospermum regium* EM UM CERRADO RALO. 2020.

CCANA-CCAPATINTA, G. V. et al. *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. and *Symphonia globulifera* Lf: The botanical sources of isoflavonoids and benzophenones in Brazilian red propolis. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2060, 2020.

CHAVES, R. S. B. et al. Avaliação da atividade larvicida do extrato bruto etanólico e óleos essenciais das folhas de *Origanum majorana* L. e *Origanum vulgare* L. frente ao *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). 2019.

CHAVES, R. S. B. et al. Avaliação da atividade larvicida do extrato bruto etanólico e óleos essenciais das folhas de *Origanum majorana* L. e *Origanum vulgare* L. frente ao *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). 2019.

CHENG, S.S.; CHANG, H.T.; CHANG, S.T.; TSAI, K.H., & CHEN, W.J. Bioatividade de óleos essenciais de plantas selecionadas contra as larvas do mosquito da febre amarela *Aedes aegypti*. **Bioresource Technology**, v. 89, n.1, p. 99-102, 2003.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p.58-78, 2017.

CHUESIANG, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SANGUANDEEKUL, R.; MCLANDBOROUGH, L.; MCCLEMENTS, D. J. Optimization of cinnamon oil nanoemulsions using phase inversion temperature method: Impact of oil phase composition and surfactant concentration. **Journal of colloid and interface science**, v. 514, p. 208-216, 2018.

CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 30 nd ed. 2020.

CORDEIRO, T. S. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e Sálvia (*Salvia officinalis*) para aplicação em alimentos. 2013.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. M. Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica: contêm formulação e modo de preparo de cosméticos. In: **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica: contêm formulação e modo de preparo de cosméticos**. 2003. p. 247-247.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011.

COSTA, M. C. V. V. Citotoxicidade, propriedades antioxidantes e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *Syzygium cumini* (L.) Skeels após irradiação gama. 2017.

COSTA, Z. G. A. et al. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 2, n. 1, p. 11-26, 2011.

CRUZ, N.D., et al. Extração e quantificação de compostos fenólicos de folhas de *Eucalyptus* spp. In: III Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia da Madeira, 2017 Florianópolis.

DA SILVA, Anne Dayse Soares et al. *Croton growioides* Baill. (Euphorbiaceae) mostra atividade antidiarreica em camundongos. **Pesquisa em farmacognosia**, v. 8, n. 3, pág. 202, 2016.

DA SILVA, T. I. et al. Efeito larvicida de óleos essenciais de plantas medicinais sobre larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 12, n. 2, p. 256-260, 2017.

DA SILVA, V. P. et al. Composição química e atividades leishmanicida, antibacteriana e citotóxica in vitro de óleos essenciais da família Myrtaceae ocorrentes no bioma Cerrado. **Culturas e produtos industriais**, v. 123, p. 638-645, 2018.

DANG, L.; VAN DAMME, E.J.M. Proteínas tóxicas em plantas. **Phytochemistry**, v. 117, p. 51-64, 2015.

DE AMORIM, S. L. et al. Prospecção fitoquímica da *Carapa guianensis* (Meliaceae) e *Uncaria guianensis* (Rubiaceae) com vista à atividade anti-helmíntica sobre nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Scientia Naturalis**, v. 2, n. 1, 2020.

DE MELO BURGER, M. C. et al. Flavonoides e Atividade Inseticida Sobre *Spodoptera frugiperda* de *Myrsine coriacea* (Primulaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 4, p. 953-958, 2021.

DE SOUZA, G. N. et al. Potencial de óleos essenciais na inibição de *Alternaria* e sem vigor de semente de coentro. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 12, pág. e36291211210-e36291211210, 2020.

DELETRE, E. et al. Repellent, irritant and toxic effects of 20 plant extracts on adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* mosquito. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e82103, 2013.

DELGODA, R. **Farmacognosia: Fundamentos, aplicações e estratégias**. Imprensa Acadêmica, 2017.

DENGUE, Aula. Módulo 5 | Estratégias de Controle do Vetor. Youtube. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=IBI78FWRWcw>>. Acesso em: 15 out. 2021.

DEVIIENNE, Karina Ferrazzoli; RADDI, G.; POZETTI, Gilberto Luiz. Das plantas medicinais aos fitofármacos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, p. 11-14, 2004.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Óleos essenciais e seus compostos como larvicidas de *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). **Pesquisa em parasitologia**, v. 113, n. 2, pág. 565-592, 2014.

DIAZ, M. Determinação do rendimento em diferentes épocas de extração do óleo essencial da raiz *Salvia trifilis* Epling (manjerona) pelo método de arraste a vapor. **Ciência Agroindustrial**, v. 7, não. 2 P. 73-77, 2017.

DOLABELA, M. F. Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti *Trypanossoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. 1997. 130 p. **Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte**, 1997.

DOMINGOS, P. R. C. et al. Insecticidal and genotoxic potential of two semi-synthetic derivatives of dillapiole for the control of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 772, p. 42-54, 2014.

DONG, S. et al. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. **Industrial crops and products**, v. 149, p. 112350, 2020.

DONSÌ, F.; ANNUNZIATA, M.; SESSA, M.; FERRARI, G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1908-1914, 2011.

DOURADO, Rodrigo Strohmayer. Isolamento de compostos secundários em extratos de caules e folhas de *Hypericum cordatum* (Vell. Conc.) N. Robson (Clusiaceae). 2006. Tese de Doutorado. Dissertação. (Mestrado em biodiversidade vegetal e meio ambiente) -área de plantas vasculares em análises ambientais. São Paulo.

DRIS, D. et al. Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 362-369, 2017.

DUARTE, G. et al. Infecção pelo vírus Zika em mulheres grávidas e microcefalia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 39, p. 235-248, 2017.

DUARTE, J. L. et al. Avaliação da atividade larvicida de uma nanoemulsão de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 25, p. 189-192, 2015.

DUPUIS-MAGUIRAGA, L. et al. Doença de Chikungunya: marcadores associados à infecção da fase aguda à crônica da artralgia induzida por arbovírus. **PLoS negligenciou doenças tropicais**, v. 6, n. 3, pág. e1446, 2012.

DUQUE, Cr. Avaliação microbiológica, anti-inflamatória e da capacidade de indução de mineralização de flavonoides como agentes para aplicação em odontologia. 2021.

DURÁN, M. L.; MANCHENO, M. Actividad antifúngica de compuestos fenólicos de tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium graminearum*. **RIAA**, v. 12, n. 1, p. 9, 2021.

EL ASBAHANI, A.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. A.; CASABIANCA, H.; ELAISSARI, A. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

EL MALAH, T. et al. Design, synthesis, and antimicrobial activities of 1, 2, 3-triazole glycoside clickamers. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 790, 2020.

ENSERINK, M. Surto massivo atrai nova atenção para vírus pouco conhecidos. 2006.

ENSIGN, L. M.; CONE, R.; HANES, J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, n. 6, p. 557-570, 2012.

ESTRELA, T. S. Resistência antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira. **Brasil, Ministério da Saúde, Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde. Saúde e Política Externa: os**, v. 20, p. 1998-2018, 2018.

EVERTON, G. O. et al. Óleo essencial das cascas descartadas do fruto de *Hymenaea courbaril* L. como larvicida frente *Aedes aegypti*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 10, pág. e1389108437-e1389108437, 2020.

FAILLOUX, A. B. Competência vetorial e arbovírus. **Transusão Clínica e Biológica**, c. 26, n. 3, pág. S16, 2019.

FARMACOPEIA BRASILEIRA (2019). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 6 ed., p.92.

FENECH, M. et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 125-132, 2011.

FERNANDES, B. F. et al. Estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua importância medicinal. **Revista da Saúde da AJES**, v. 5, n. 9, 2019.

FERNANDEZ, P. et al. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 251, n. 1-3, p. 53-58, 2004.

FERREIRA, R. et al. Uma nanoemulsão de óleo de ervas em água preparada por meio de uma abordagem ecologicamente correta afeta dois vetores de doenças tropicais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 778-784, 2020.

FERREIRA, W. A. et al. Potencial antitumoral dos compostos fenólicos de produtos da oliveira (*Olea europaea* L.): uma revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e22101320733-e22101320733, 2021.

FINNEY, D. J. **Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve**. Cambridge university press, Cambridge, 1952.

FORATTINI, O. Entomologia Médica. Universidade de São Paulo. S., 1962.

FORGIARINI, A. et al. Formation of nano-emulsions by low-energy emulsification methods at constant temperature. *Langmuir*, v. 17, n. 7, p. 2076-2083, 2001.

FRANÇA, L. P. et al. Avaliação da atividade larvívica de extratos e óleo essencial de *Piper capitanianum* Yunck, 1966 (Piperaceae) sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 e *Anopheles* sp (Culicidae) em laboratório. 2015.

FURTADO, R. F. et al. Atividade larvívica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 843-847, 2005.

GALÁN-HUERTA, K. A. et al. Vírus Chikungunya: uma visão geral. **Medicina universitaria** , v. 17, n. 68, pág. 175-183, 2015.

GALINDO, L. A.; DE MORAES PULTRINI, A.; COSTA, M.. Os efeitos biológicos de *Ocimum gratissimum* L. são devidos à ação sinérgica entre vários compostos presentes no óleo essencial. **Journal of natural medicine** , v. 64, n. 4, pág. 436-441, 2010.

GARCIA, C. S. C. *Salvia officinalis* (Lamiaceae) Lin.: caracterização química, atividade citotóxica e apoptótica em células de mamíferos. 2015.

GARCIA, C. S. C. et al. In vitro evaluation of the biological potential of *Salvia officinalis* L. in tumor cells [Abstract in English]. **Scientia Medica**, v. 22, n. 3, p. 131-137, 2012.

GARCIA, C. S.C. et al. Perspectivas farmacológicas da *Salvia officinalis* (Lamiaceae): antioxidante e antitumoral em células de mamíferos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, p. 281-292, 2016.

GAUTAM, N.; MANTHA, A. K.; MITTAL, S. Óleos essenciais e seus constituintes como agentes anticâncer: uma visão mecanicista. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

GIATROPOULOS, A. et al. Composição química e avaliação da capacidade larvicida e repelente de óleos essenciais de 14 Lamiaceae contra *Aedes albopictus*. **Parasitology research**, v. 117, n. 6, p. 1953-1964, 2018.

GOMES, B. A. F. et al. Embalagens biodegradáveis contendo extratos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e sálvia (*Salvia officinalis* L.) e sua influência no índice de peróxidos da manteiga em tablete. **ForScience**, v. 9, n. 2, p. e01049-e01049, 2021.

GOMES, P. R. B. et al. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 18, p. 597-604, 2016.

GOMES, P. V. R. et al. Incorporação de micropartículas carregadas com óleo essencial em holocelulose extraída de rejeito orgânico para o desenvolvimento de um biodefensivo larvicida. 2020.

GONÇALVES, J. H. T.; SANTOS, A. S.; MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 13, n. 1, p. 486-497, 2015.

GONZÁLEZ, C.; WANG, O.; STRUTZ, S. E.; GONZÁLEZ-SALAZAR, C.; SÁNCHEZCORDERO, V.; SARKAR, S. Climate change and risk of leishmaniasis in North America: Predictions from ecological niche models of vector and reservoir species. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 4, e585, 2010.

GOVERNICI, J. L. Influência da temperatura do ar de secagem e da fragmentação dos frutos no rendimento de óleo essencial de pimenta-rosa. 2019.

GOVINDARAJAN, M. et al. Potencial larvicida de carvacrol e terpinen-4-ol do óleo essencial de *Origanum vulgare* (Lamiaceae) contra *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* e *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). **Pesquisa em ciência veterinária**, v. 104, p. 77-82, 2016.

GOVINDARAJAN, M. Evaluation of *Andrographis paniculata* Burm. f. (Family: Acanthaceae) extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say.) and *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 176-181, 2011.

GRANDADAM, M. Surveillance et diagnostic des arboviroses en France métropolitaine. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2007, n. 396, p. 75-84, 2007.

GRANDO, T. H. et al. Ação in vitro ovicida e larvicida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, livre e nanoestruturado, e terpinen-4-ol sobre o *Haemonchus contortus*. 2015.

GUERRERO, D.; CANTAERT, T.; MISSÉ, D. Aedes mosquito salivary components and their effect on the immune response to arboviruses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 407, 2020.

GUO, X.X. et al. *Culex pipiens quinquefasciatus*: um vetor potencial para transmitir o vírus Zika. **Micróbios emergentes e infecções**, v. 5, n. 1, pág. 1-5, 2016.

GUPTA, A.; ERAL, H. B.; HATTON, T. A.; DOYLE, P. S. Nanoemulsions: formation, properties and applications. **Soft matter**, v. 12, n. 11, p. 2826-2841, 2016.

GURSOY, R. N.; BENITA, S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 58, n. 3, p. 173-182, 2004.

HADRI, A. et al. Atividade citotóxica de α -humuleno e transcariofileno de *Salvia officinalis* em células tumorais animais e humanas. **An R Acad Nac Farm**, v. 76, n. 3, pág. 343-356, 2010.

HAMIDPOUR, M. et al. Química, farmacologia e propriedades medicinais da sálvia (*Sálvia*) para prevenir e curar doenças como obesidade, diabetes, depressão, demência, lúpus, autismo, doenças cardíacas e câncer. **Revista de medicina tradicional e complementar**, v. 4, n. 2, pág. 82-88, 2014.

HAMIDPOUR, R. et al. Canela, desde a seleção de aplicações tradicionais até seus novos efeitos na inibição da angiogênese em células cancerosas e prevenção da doença de Alzheimer, e uma série de funções como antioxidante, antiolesterol, antidiabetes, atividades antibacterianas, antifúngicas, nematocidas, acaracidas e repelentes. **Jornal da medicina tradicional e complementar**, v. 5, n. 2, pág. 66-70, 2015.

HARBORNE, A.J. Métodos fitoquímicos um guia para técnicas modernas de análise de plantas. **Springer Science & Business Media**, 1998.

HARE, R.; UPMANYU, N.; JHA, M. Explorando o efeito potencial do extrato metanólico de *Salvia officinalis* contra o envelhecimento da pele exposta aos raios ultravioleta: modelo in vivo e in vitro. *Current Aging Science*, v. 14, n. 1, pág. 46-55, 2021.

HASANEIN, P.; FELEHGARI, Z.; EMAMJOMEH, A. Efeitos preventivos da *Salvia officinalis* L. contra o déficit de aprendizagem e memória induzido por diabetes em ratos: Possíveis mecanismos hipoglicêmicos e antioxidantes. **Cartas de neurociência**, v. 622, p. 72-77, 2016.

HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; SILVA, C. B.; MENEZES, C. R. Técnicas de preparação de sistemas nanotecnológicos aplicados a alimentos. *Ciência e Natura*, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 87-96, Dez. 2015.

HOTEZ, P. J. Neglected infections of poverty in the United States of America. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 2, e:256, 2008.

IRACHE, J. M. et al. Nanomedicine: novel approaches in human and veterinary therapeutics. **Veterinary parasitology**, v. 180, n. 1-2, p. 47-71, 2011.

JAISWAL, M.; DUDHE, R.; SHARMA, P.K. Nanoemulsão: um modo avançado de sistema de liberação de drogas. **3 Biotech** , v. 5, n. 2, pág. 123-127, 2015.

JÚNIOR, J. A. A. et al. Doseamento de Flavonoides e Avaliação da Atividade Antioxidante e Antimicrobiana de Baccharis Dracunculifolia DC de um Fragmento de Cerrado Sul-Mato-Grossense. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 26, n. 2, p. 191-196, 2022.

JÚNIOR, P. S. S. et al. Atividade larvicida do óleo essencial de Alpinia zerumbet frente a larvas do mosquito Aedes aegypti. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** , v. 9, n. 8, pág. e194985578-e194985578, 2020.

KAMAL, M. et al. Mapping the global potential distributions of two arboviral vectors Aedes aegypti and Ae. albopictus under changing climate. **PloS one**, v. 13, n. 12, p. e0210122, 2018.

KAMIABI, F.; JAAL, Z.; KENG, C. L. Bioefficacy of crude extract of Cyperus aromaticus (Family: Cyperaceae) cultured cells, against Aedes aegypti and Aedes albopictus mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 10, p. 767-775, 2013.

KARIMZADEH, S.; FARAHPOUR, M. R. A aplicação tópica do extrato hidroetanólico da folha de Salvia officinalis melhora o processo de cicatrização de feridas. 2017.

KESHAVARZ, M. et al. Atividade antiangiogênica in vitro e ex vivo de Salvia officinalis. **Pesquisa em fitoterapia** , v. 24, n. 10, pág. 1526-1531, 2010.

KHATER, H. F. et al. Perspectivas de biopesticidas botânicos no manejo de insetos-pragas. **Pharmacologia** , v. 3, n. 12, pág. 641-656, 2012.

KHEDHER, M. R. B. et al. Chemical composition and biological activities of Salvia officinalis essential oil from Tunisia. **EXCLI journal**, v. 16, p. 160, 2017.

KLOSS, L. C.. Identificação de classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de Piper umbellatum L.(Piperaceae). 2016.

KOLAC, U. K. et al. Os efeitos antiinflamatórios e antioxidantes da Salvia officinalis na inflamação induzida por lipopolissacarídeos em ratos. **Journal of medicinal food** , v. 20, n. 12, pág. 1193-1200, 2017.

KOURNIATIS, L. R.; SPINELLI, L. S.; MANSUR, C. R. E. Nanoemulsões óleo de laranja/água preparadas em homogeneizador de alta pressão. *Química Nova*, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 295-300, Jan. 2010.

KUNA, A.; GAJEWSKI, M.; BIERNAT, B. Selected arboviral diseases imported to Poland-current state of knowledge and perspectives for research. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 26, n. 3, 2019.

KURIZKY, P. S. et al. Infecções tropicais oportunistas em pacientes imunossuprimidos. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology** , v. 34, n. 4, pág. 101509, 2020.

LANNOO, N.; VAN DAMME, E.J.M. Domínios da lectina nas fronteiras da defesa das plantas. **Fronteiras na ciência das plantas**, v. 5, p. 397, 2014.

LIMA, E. L. F. Atividade antifúngica e potencial antibiofilme do extrato hidroetanólico de *Spondias mombin* L. e de suas frações frente a leveduras do gênero *Candida*. 2021.

LIMA, T. C. P. et al. Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v. 13, n. 1, 2020.

LIMA, Y. M. S. et al. Identificação química e análise da atividade larvicida e de repelência do óleo essencial das folhas de *Siparuma guianensis* Aublet frente a *Aedes aegypti* Linnaeus. 2018.

LIMA-CAMARA, T. N. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, 2016.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

LOIZZO, M. R. et al. Atividade citotóxica de óleos essenciais das famílias Labiatae e Lauraceae contra modelos de tumor humano in vitro. **Pesquisa anticâncer**, v. 27, n. 5A, pág. 3293-3299, 2007.

LOPES, A. S. N. et al. Composição química e atividades biológicas do óleo essencial de *Peumus boldus* (Monimiaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 2, 2020.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 10-10, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.

LOVISON, M. et al. Nanoemulsões encapsulando óleo essencial de orégano: Produção, estabilidade, atividade antibacteriana e incorporação em patê de frango. **LWT**, v. 77, p. 233-240, 2017.

LU, W. C.; HUANG, D. W.; WANG, C. C.; YEH, C. H.; TSAI, J. C.; HUANG, Y. T.; LI, P. H. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. **Journal of food and drug analysis**, v. 26, n. 1, p. 82-89, 2018.

LUZ, T. R. S. A. et al. Variação sazonal na composição química e atividade biológica do óleo essencial de *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. **Culturas e produtos industriais**, v. 153, p. 112600, 2020.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cad. acad., Tubarão**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MAIA, D. R. **Extrato a base de taninos da casca da Azadirachta indica A Juss. e seu potencial antioxidante e antibacteriano**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

MARTINS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C.F.R. Plantas tradicionais portuguesas: o potencial antioxidante da utilização de extratos fenólicos. **SPASS 2015, 2º Simpósio Nacional: Promoção de uma Alimentação Saudável e Segura, Qualidade Nutricional e Processamento Alimentar**, 2015.

MARTINS, T. G. T. et al. Atividade larvicida do óleo essencial de *Pimenta dioica* Lindl. frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 8, pág. e151985518-e151985518, 2020.

MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental, 3ª. **Edição, UFC, Fortaleza**, 2009.

MAZID, S.; KALITA, J. C; RAJKHOWA, R. C. A review on the use of biopesticides in insect pest management. **Int J Sci Adv Technol**, v. 1, n. 7, p. 169-178, 2011.

MCCLEMENTS, D. J.; XIAO, H. Potential biological fate of ingested nanoemulsions: influence of particle characteristics. **Food & function**, v. 3, n. 3, p. 202-220, 2012.

MEIRELES, S. F. et al. Toxic effect and genotoxicity of the semisynthetic derivatives dillapiole ethyl ether and dillapiole n-butyl ether for control of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 807, p. 1-7, 2016.

MELO, I. A. **Avaliação do potencial anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano de extratos de sálvia, poejo e cebolinho**. 2016. Tese de Doutorado.

MENDES, L. S. S. et al. Estudo químico e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do óleo essencial das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (Canela). 2012.

MENDONÇA, A. T. **Efeito dos óleos essenciais de condimentos sobre o crescimento de Staphylococcus aureus em ricota cremosa.** 2004. Tese de Doutorado.

MENEZES, P.M.N. et al. Atividade farmacológica de óleos essenciais no sistema respiratório: uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos. **Rev. Eletr. Farm.**, Goiânia, vol. 14, no. 3, 16-31, 2017.

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. 05, p. 31-34, 1982.

MILLEZI, A. F. et al. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra Staphylococcus aureus e Escherichia coli. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 18-24, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue: sintomas, causas, tratamento e prevenção. 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/dengue>. Acesso em: 5 de out de 2021.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de sementes de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3Supl1, pág. 1783-1798, 2015.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. D. G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. D. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MORADABADI, L.; KOUHSARI, S. M.; SANI, M. F. Efeitos hipoglicêmicos de três plantas medicinais no diabetes experimental: inibição da α -glucosidase intestinal de rato e aumento da expressão de insulina pancreática e glut-4 mrnas cardíaca. **Jornal iraniano de pesquisa farmacêutica: IJPR**, v. 12, n. 3, pág. 387, 2013.

MORAES-LOVISON, M.; MAROSTEGAN, L. F.; PERES, M. S.; MENEZES, I. F.; GHIRALDI, M.; RODRIGUES, R. A.; PINHO, S. C. Nanoemulsions encapsulating oregano essential oil: Production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. **LWT**, v. 77, p. 233-240, 2017.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2009.

MUKHERJEE, P. K.; VENKATESH, M.; GANTAIT, A. Ayurveda in modern medicine: development and modification of bioactivity. In: MANDER, L.; LIU, HUNG-WEN. Comprehensive natural products II. **Hardbound: Elsevier**, V.3.n.14, p. 479-507.2010.

MUSSO, D. et al. Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 2, p. 359, 2015.

NASR, A. et al. Comparação entre cinco espécies de eucalipto com base no conteúdo foliar de alguns metabólitos primários e secundários. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 20, n. 7, pág. 573-587, 2019.

NETO, A. T.; BORTOLANZA, M. E. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Salvia officinalis* (*Salvia* comum) em extrações circadianas de coletas nas estações da primavera e verão. **Seminário de Iniciação Científica e Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2016.

NEVES, I. L.; PG, A. A. M.; DELIBERALI, N. **Extração e quantificação dos compostos fenólicos da salvia officinalis L. E avaliação da atividade antioxidante**, 2018.

NIETO, G. Atividades biológicas de três óleos essenciais da família Lamiaceae. **Medicamentos**, v. 4, n. 3, pág. 63, 2017.

NIROUMAND, M.C.; FARZAEI, M.H.; KARIMPOUR-RAZKENARI, E.E.; AMIN, G.; KHANAVI, M.; AKBARZADEH, T.; SHAMS-ARDEKANI, M.R. An Evidence-Based on Medicinal Plants Used as Insecticide and Insect Repellent in Traditional Iranian Medicine. **Iranian Red Crescent Medical Journal**. v. 18, n. 2, p.1-8, 2016.

NÚÑEZ, J. et al. Potencial antitumoral do óleo essencial de folha de *Tagetes ostenii* Hicken em células de câncer de colo uterino humano. In: **6º Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica (SICT)**. 2018.

OLIVEIRA, A. E.M.F.M. et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel oil. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0145835, 2016.

OLIVEIRA, J.; CASTILHO, A.; RONTANI, R.; ROSALEN, P. Potencial antimicrobiano e toxicidade sistêmica de vernizes à base produtos naturais. **Revista dos Trabalhos de Iniciação Científica da UNICAMP**, n. 27, p. 1-1, 2019.

OLIVEIRA, N.T.et al. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas das espécies *Ambelania acida* Aublet (*Apocynaceae*). **Biota Amazônia (Biote Amazônia, Biota Amazônia, Biota Amazônia)**, v. 6, n. 1, pág. 20-25, 2016.

OMS. A promoção e o desenvolvimento da medicina tradicional. Genebra - Suíça:

OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. Estratégias para a prevenção e controle das arboviroses: Relatório final. 58º Conselho Diretor da OPAS, 72ª Sessão do Comitê Regional da OMS para as Américas; 28-29 de setembro de 2020; Washington, DC. Washington, DC: OPAS; 2020 (CD58/INF/11). Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/documentos/cd58inf11-estrategia-para-prevencao-e-controle-das-arboviroses-relatorio-final>>. Acesso em: 16 out 2021.

OPS/OMS. **Datos ingresados a la Plataforma de Información de Salud para las Américas (PLISA, OPS/OMS) por los Ministerios e Institutos de Salud de los países y territorios de la Región**. 2020. Acesso em 15 de outubro de 2021. Disponível em: <https://bit.ly/2Pes0li>. Organização Mundial da Saúde, 1978, 44p.

ORLANDA, J. F. F.; MOUCHREK, A. N. Efeito larvícida do óleo essencial das folhas de *Ruta graveolens* LINNEAU no controle de *Aedes aegypti* (LINNAEU, 1762)(Diptera: Culicidae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e115101220028-e115101220028, 2021.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of colloid and interface science*, v. 388, n. 1, p. 95-102, 2012.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **Journal of colloid and interface science**, v. 388, n. 1, p. 95-102, 2012.

PAILAN, S. et al. Degradação do inseticida organofosforado por uma nova cepa de *Bacillus aryabhattai* SanPS1, isolada do solo de um campo agrícola em Burdwan, West Bengal, Índia. **Biodeterioração e biodegradação internacional**, v. 103, p. 191-195, 2015.

PANSERA, M. R. et al. Utilização de óleo essencial e extratos vegetais de *Salvia officinalis* L. no controle da podridão esclerotínica em alface. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 6, n. 2, pág. 83-88, 2013.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. **Industrial crops and products**, v. 76, p. 174-187, 2015.

PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D.; MASINI, J. C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v. 31, p. 2190-2193, 2008.

PEREIRA, R. et al. Diversidade estrutural e potencial biológico dos metabólitos secundários de espécies do gênero *Myroxylon* Lf (Fabaceae): uma revisão da literatura. **Hoehnea**, v. 46, 2019.

PERON, F.; FERREIRA, G. C. A. Potencial inseticida de extrato de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) no controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). **Anais... VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica**, 2012.

PICOLI, Andressa Araujo et al. Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas. *Bragantia*, v. 69, n. 4, p. 983-988, 2010.

PIMENTA, E. et al. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Lamiaceae) contra cepas de *Candida glabrata*. **Scientia Plena**, v. 15, n. 6, 2019.

PINHEIRO, S. M. G. et al. **Concentração e composição da solução nutritiva na produção e citogenotoxicidade do óleo essencial da *Salvia officinalis* L.** 2019. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

PIRES, V. C. et al. **Avaliação do potencial larvicida do óleo essencial de melaleuca alternifolia e sua formulação em nanocápsulas poliméricas**. 2019. Tese de Doutorado. Instituto Gonçalo Moniz.

POLITI, M. et al. Hidrossóis de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Cupressus sempervirens*: Análise Fitoquímica e Avaliação da Bioatividade. **Plantas**, v. 11, n. 3, pág. 349, 2022.

PONTUAL, E. V. et al. Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. **Parasitology research**, v. 113, n. 2, p. 727-733, 2014.

PORTO, B. C. Z. et al. Atividade ovicida e larvicida de óleos essenciais em *Sarconesia chlorogaster* (diptera: calliphoridae). 2016.

POYER, A.; SCHAEFER, L. Obtenção de taninos a partir do extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

RADÜNZ, L. L. et al. Análise da cinética de secagem de folhas de sálvia. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 14, p. 979-986, 2010.

RAMOS, R. S. et al. Composição química e atividades antioxidante, citotóxica, antimicrobiana e larvicida in vitro do óleo essencial de *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2017.

RANA, K. L. KOUR, D.; KAUR, T.; DEVI, R.; NEGI, C.; YADAV, A.N.; et al. Endophytic fungi from medicinal plants: biodiversity and biotechnological applications. In: KUMAR, A.; RADHAKRISHNAN, E. K. **Microbial Endophytes**. Elsevier, 2020.

REED, L. J.; MUENCH, H. Um método simples de estimar cinquenta por cento de pontos finais. **Jornal americano de epidemiologia**, v. 27, n. 3, pág. 493-497, 1938.

REIS, J. B. et al. Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata* (say, 1818). 2012.

RGUEZ, S. et al. Composição química e atividades biológicas de óleos essenciais de partes aéreas de *Salvia officinalis* afetadas por variações diurnas. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 153, n. 2, pág. 264-272, 2019.

RIOS, J.L.; RECIO, M. C. Plantas medicinais e atividade antimicrobiana. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, pág. 80-84, 2005.

RIOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E. Avaliação da atividade inseticida de óleos essenciais e suas misturas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, p. 307-311, 2017.

ROCHA, R. F. et al. Host target-based approaches against arboviral diseases. **Biological chemistry**, v. 399, n. 3, p. 203-217, 2018.

RODRÍGUEZ CEPEDA, R.; ALVAREZ SUAREZ, N. Ya. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de Calendula Officinalis L. **Revista Ion**, v. 34, n. 1, p. 97-110, 2021.

RODRÍGUEZ, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v. 83, p. 41-59, May. 2016.

RONDÓN MEDINA, K. J.; CENTY RODRÍGUEZ, M. F. Actividad Antiinflamatoria de la Crema elaborada con el Extracto Etanólico de Olea europaea L.(Olivo) en Rattus norvegicus var. Albinus con edema plantar inducido. 2022.

ROSA, C. S. et al. Composição química e toxicidade frente Aedes aegypti L. e Artemia salina Leach do óleo essencial das folhas de Myrcia sylvatica (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 19-26, 2016.

ROSA, P. V. S. et al. Constituintes químicos, atividade larvívica e moluscívica de folhas frescas de Alpinia zerumbet (Pers.) e Cymbopogon citratus (DC.) Stapf. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 50, n. 2, pág. 571-589, 2021.

ROSENBERG, R. Threat from emerging vectorborne viruses. **Emerging infectious diseases**, v. 22, n. 5, p. 910, 2016.

RUST, R. S. Human arboviral encephalitis. In: **Seminars in pediatric neurology**. WB Saunders, 2012. p. 130-151.

SÁ FILHO, G. F. Avaliação da indução da neuroplasticidade e do potencial antimicrobiano dos extratos metanólicos da catigueira (Cenostigma bracteosum) e da canafístula (Senna trachypus) plantas nativas da caatinga. 2022.

SANCHES, A. R.; STULZER, H. K. Desenvolvimento e avaliação de nanoemulsões contendo o antiviral Acyclovir. Anais do XIX EAIC–UNICENTRO, 2010.

SANTOS, A. G. S. et al. Plantas medicinais comercializadas no mercado público de casa amarela-recife-pe: influência do modo de conservação na composição química do óleo essencial. **HOLOS**, v. 1, p. 36-48, 2015.

SANTOS, S. R. L. et al. Toxic effects on and structure-toxicity relationships of phenylpropanoids, terpenes, and related compounds in Aedes aegypti larvae. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, n. 10, p. 1049-1054, 2010.

SARWAR, M. Doenças transmitidas por insetos transmitidas por alguns vetores importantes da classe dos insetos, afetando a saúde pública. **Jornal Internacional de Bioinformática e Engenharia Biomédica**, v. 1, n. 3, pág. 311-317, 2015.

SCARIOT, M. A. et al. Óleo essencial de *Salvia officinalis* no controle de caruncho do feijão. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 2, p. 177-182, 2016.

SEGONDY, M. Arboviroses à risque de transmission autochtone en France métropolitaine. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2016, n. 487, p. 35-46, 2016.

SEIBERT, J. B.; BAUTISTA-SILVA, J. P.; AMPARO, T. R.; PETIT, A.; PERVIER, P.; SANTOS ALMEIDA, J. C.; SANTOS, O. D. H. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food chemistry**, v. 287, p. 61-67, 2019.

SENTHIL-NATHAN, S. Physiological and biochemical effect of neem and other Meliaceae plants secondary metabolites against Lepidopteran insects. **Frontiers in Physiology**, v. 4, e:359, 2013.

SENTHIL-NATHAN, S. Uma revisão dos biopesticidas e seu modo de ação contra as pragas de insetos. **Sustentabilidade ambiental**, p. 49-63, 2015.

SEOW, Y. X.; YEO, C. R.; CHUNG, H. L.; YUK, H. G. Plant essential oils as active antimicrobial agents. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 5, p. 625-644, 2014.

SFORCIN, J. M. Propriedades biológicas e aplicações terapêuticas da própolis. **Pesquisa em fitoterapia**, v. 30, n. 6, pág. 894-905, 2016.

SHAFIQ, S.; SHAKEEL, F.; TALEGAONKAR, S.; AHMAD, F.J.; KHAR, R.K., & ALI, M. Desenvolvimento e avaliação da biodisponibilidade de formulação de nanoemulsão de ramipril. **Revista Europeia de Farmacêutica e Biofarmacêutica**, v.66, n.2, 227-243, 2007.

SHAH, P.; BHALODIA, D.; SHELAT, P. Nanoemulsion: A pharmaceutical review. **Systematic reviews in pharmacy**, v. 1, n. 1, 2010.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Fenólicos e polifenólicos em alimentos, bebidas e especiarias: atividade antioxidante e efeitos na saúde – uma revisão. **Jornal de alimentos funcionais**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHARMA, A.; KUMAR, Pratap. Understanding implantation window, a crucial phenomenon. **Journal of human reproductive sciences**, v. 5, n. 1, p. 2, 2012.

SHEPARD, D. S. et al. Impacto econômico da doença dengue nas Américas. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 2, pág. 200, 2011.

SIDÔNIO, I. A. P. et al. Avaliação do efeito letal da nanoemulsão de *Rosmarinus officinalis* L. sobre *Bactrocera carambolae* Drew e Hancock (Diptera: Tephritidae). 2017.

SILUPU, J. W. E. et al. Determinación de la Actividad Antioxidante, contenido de Fenoles Totales, Taninos Totales y Flavonoides Totales del Hidromiel de Sauco

(sambucus peruviana) de Cuatro Empresas del Distrito de Talavera en el año 2019. **SENDAS**, v. 2, n. 1, p. 59-78, 2021.

SILUPU, J. W. E. et al. Composição química, características físico-químicas e capacidade antioxidante de óleos essenciais de cinco ervas aromáticas. **Repositório de revistas da universidade privada de Pucallpa**, v. 4, não. 2 P. 12-12, 2019.

SILVA, A. B. et al. Uso do óleo essencial de *ageratum conyzoides* L.(asteraceae) no controle do *callosobruchus maculatus* (fabr., 1775) (coleoptera: chrysomelidae: bruchinae). 2019.

SILVA, B. Q. et al. Em busca de estratégias sustentáveis para o controle de larvas de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894): perspectivas tecnológicas e sociais. 2012.

SILVA, C. T. A. C. et al. Análise fitoquímica, antioxidante e fitotóxica dos extratos de folhas de *salvia officinalis* L. sobre *lycopersicon esculentum*. 2016.

SILVA, F. E. F. Derivatização dos esteroides fucosterol e campesterol e avaliação biológica dos seus derivados. 2019.

SILVA, H. H. G. et al. Idade fisiológica dos ovos de *aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(diptera, culicidae). 1995.

SILVA, J. A. G. **Investigação fitoquímica e biológica de folhas do *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae)**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SILVA, J. M. S. et al. Encapsulamento do óleo essencial da *Lippia alba* em nanopartículas de poli-ε-caprolactona (PCL) para avaliação da estabilidade e atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. 2019.

SILVA, J. S; MARIANO, Z. F. e SCOPEL, I. A dengue no Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa de erradicação às políticas de controle. *Hygea – Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde*, Uberlândia, v. 03, n. 06, p. 163-175, jun. 2008.

SILVA, M. V. S. G. et al. Composição química e atividade larvicida contra *Aedes aegypti* do óleo essencial da *Eugenia calycina*. 2018.

SILVA, T. P. et al. Obtenção e avaliação da atividade larvicida da nanoemulsão do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. sobre *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). 2017.

SILVA, W. J. et al. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn. 2006.

SILVA, W.J. et al. Efeitos dos óleos essenciais em larvas de *Aedes aegypti*: alternativas aos inseticidas ambientalmente seguros. **Tecnologia Bioresource**, v. 99, n. 8, pág. 3251-3255, 2008.

SILVA, Y. L. et al. Triagem fitoquímica e avaliação de propriedades biológicas do extrato alcoólico das folhas de *Eugenia pyriformis* Cambess.(Myrtaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 19, n. 3, 2015.

SIMMONS, C. P.; FARRAR, J. J.; NGUYEN, V. V. C.; WILLS, B. Dengue. **New England Journal of Medicine**, v. 366, p. 1423-1432, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, Cap.18, p.387-416,1999.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Atividade sequestrante de radical hidroxila de solutos compatíveis. **Phytochemistry** , v. 28, n. 4, pág. 1057-1060, 1989.

SOLANS, C.; SOLÉ, I. Nanoemulsões: formação por métodos de baixa energia. **Opinião atual em colloid & interface science** , v. 17, n. 5, pág. 246-254, 2012.

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. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 351-355, 2007.

SOUSA, D. P. et al. Uma revisão sistemática dos efeitos do tipo ansiolítico de óleos essenciais em modelos animais. **Molecules** , v. 20, n. 10, pág. 18620-18660, 2015.

SOUZA E SOUZA, K. F. C. et al. Na⁺/K⁺-ATPase as a target of cardiac glycosides for the treatment of SARS-CoV-2 infection. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 624704, 2021.

SOUZA, A. A. et al. Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 105-112, 2016.

SRINIVAS, N.; SANDEEP, K. S.; ANUSHA, Y.; DEVENDRA, B. N. In vitro cytotoxic evaluation and detoxification of monocrotaline (Mct) alkaloid: an in silico approach. **Int. Inv. J. Biochem. Bioinform**, v. 2, n. 3, p. 20-29, 2014.

SRITABUTRA, D.; SOONWERA, M. Atividade repelente de óleos essenciais de ervas contra *Aedes aegypti* (Linn.) E *Culex quinquefasciatus* (Say.). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 4, pág. 271-276, 2013.

SRIVASTAVA, V.; MEHROTRA, S.; VERMA, P. K. Biotechnological interventions for production of therapeutic secondary metabolites using hairy root cultures of medicinal plants. In: DUBEY, S. K.; PANDEY, A.; SANGWAN, R. S. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, 2017.

STAIKOWSKY, F. et al. Estudo prospectivo da infecção aguda pelo vírus Chikungunya na Ilha da Reunião durante o surto de 2005–2006. **PloS one** , v. 4, n. 10, pág. e7603, 2009.

STANAWAY, J. D. et al. The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 6, p. 712-723, 2016.

STEFANELLO, M. E.A. et al. Composição química e variação sazonal de óleos essenciais de *Eugenia pyrifomis* (Myrtaceae). **Revista Latino-Americana de Farmácia** , v. 28, p. 449-453, 2009.

SUGUMAR, S.; CLARKE, S.K.; NIRMALA, M.J.; TYAGI, B.K.; MUKHERJEE, A., & CHANDRASEKARAN, N. Nanoemulsão de óleo de eucalipto e sua atividade larvídica contra *Culex quinquefasciatus*. **Boletim de pesquisa entomológica**, v.104, n.3, 393-402, 2014.

SUN, W.; M.A, X.; WEI, X.; XU, Y. Nano composite emulsion for sustained drug release and improved bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 31, n. 10, p. 2774-2783, 2014.

SUNDARARAJAN, R.; KODURU, R. Atividade antioxidante in vitro em raízes de *Limnophila heterophylla*. **Radicais livres e antioxidantes** , v. 6, n. 2, pág. 178-185, 2016.

SUNDRARAJAN, R.; KODURU, R. Atividade antioxidante in vitro em raízes de *Limnophila heterophylla*. **Radicais Livres e Antioxidantes**, v. 6, n. 2, pág. 178-185, 2016.

TADROS, T. et al. Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in colloid and interface science*, v. 108, p. 303-318, 2004.

TAKEUTI, T. D. et al. Alterações hematológicas encontradas nas arboviroses dengue, Zika e Chikungunya. **Revista da Saúde da AJES**, v. 6, n. 11, 2020.

TANGTRAKULWANICH, K.; REDDY, G. V.P. Desenvolvimento da resistência de insetos a biopesticidas de plantas: uma visão geral. **Avanços em biopesticidas de plantas**, p. 47-62, 2014.

THIBERVILLE, S.D. et al. Febre de Chikungunya: uma investigação clínica e virológica de pacientes ambulatoriais na Ilha da Reunião, sudoeste do Oceano Índico. **PLoS negligenciou doenças tropicais**, v. 7, n. 1, pág. e2004, 2013.

TORRES, S. M. et al. Mortalidade acumulativa de larvas de *Aedes aegypti* tratadas com compostos. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, p. 445-450, 2014.

TRAJANO, V. N. et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Food Science and Technology**, v. 29, p. 542-545, 2009.

UGALDE, M. L. et al. Atividade Antibacteriana e Antioxidante de los Aceites Esenciales Comerciales de Romero, Clavo de Olor, Orégano y Salvia. **Revista de Ciencia y Tecnología** , n. 25, pág. 54-61, 2016.

VASCONCELOS, S. C. et al. Composição química, atividade bactericida e antioxidante dos óleos essenciais das folhas de Ocimum basilicum e Ocimum gratissimum (Lamiaceae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e51810817109-e51810817109, 2021.

VELANDIA, S. A. et al. Atividade antiproliferativa de óleos essenciais de plantas cultivadas na Colômbia. **Ato Biológico Colombiano** , v. 23, não. 2 P. 189-198, 2018.

VELOSO, C. A. G.; SOUZA, P. H. S.; NÓBREGA, F. P.; MEDEIROS, A. C. D.; FECHINE, I. M.; MELO, J. I. M.; TAVARES, J. F. Composição química do óleo essencial de Varronia dardani (Taroda) JS Mill e sua atividade antibiofilme. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 12887-12898, 2020.

VENIER, M.; HITES, R. A. DDT e HCH, dois inseticidas organoclorados descontinuados na região dos Grandes Lagos: tendências e fontes de isômeros. **Environment International** , v. 69, p. 159-165, 2014.

VIANA, L. R. C. et al. Reemerging arboviruses: clinical-epidemiological profile of hospitalized elderly patients. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, 2018.

VIGILÂNCIA, S. A. N. Farmacopeia Brasileira. **Farmacopeia Brasileira, 6a edição**, v. 2, p. EF-172, 2019.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. Documentos florestais, v. 17, p. 1-26, 2003.

WALKER, R. M.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Estabilidade física e oxidativa de nanoemulsões de óleo de peixe produzidas por emulsificação espontânea: Efeito da concentração de surfactante e tamanho de partícula. **Journal of Food Engineering**, v. 164, p. 10-20, 2015.

WARE, G.W.; WHITACRE, D.M. O livro de pesticidas MeisterPro Information Resources Willoughby. 2004.

WARIKOO, R.; WAHAB, N.; KUMAR, S. Oviposition-altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, Aedes aegypti L. **Parasitology research**, v. 109, n. 4, p. 1125-1131, 2011.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. **Current protocols in food analytical chemistry**, v. 6, n. 1, p. I1. 1.1-I1. 1.8, 2002.

WEAVER, S. C. et al. Vírus Zika: história, emergência, biologia e perspectivas de controle. **Pesquisa antiviral**, v. 130, p. 69-80, 2016.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010.

WHITEHORN, J.; YACOUB, S. Global warming and arboviral infections. **Clinical Medicine**, v. 19, n. 2, p. 149, 2019.

WILMES, A. et al. Identificação e dissecação da via do estresse oxidativo mediado por Nrf2 na toxicidade do túbulo proximal renal humano. **Toxicologia In Vitro**, v. 25, n. 3, pág. 613-622, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Washington DC, 2016. Dengue media centre: Dengue and Haemorrhagic Fever. Disponível em 21 de outubro de 2021.

WYKOWSKI, R. SAPONINAS: UMA PROMESSA DA CIÊNCIA CONTRA O Câncer. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 58, 2012.

XAVIER, M. V. A. et al. Toxicidade e repelência de extratos de plantas da caatinga sobre *Tetranychus bastosi* Tutler, Baker & Sales (Acari: Tetranychidae) em pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 790-797, 2015.

YANG, Z.-G.; SUN, H.-X.; FANG, W.-H. Haemolytic activities and adjuvant effect of *Astragalus membranaceus* saponins (AMS) on the immune responses to ovalbumin in mice. **Vaccine**, v. 23, n. 44, p. 5196-5203, 2005.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química nova*, v. 24, p. 147-152, 2001.

YUSOFF, Z. M. et al. Caracterização do sistema de destilação a vapor de fluxo descendente usando análise de teste de etapas. **IEEE Control and System Graduate Research Colloquium**. IEEE, 2011. p. 197-201, 2011.

ZANETTI-RAMOS, B. G.; CRECZYNSKI-PASA, T. B. O desenvolvimento da nanotecnologia: cenário mundial e nacional de investimentos. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 2, p. 95-101, 2008.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569-572, 2015.

ZANLUCA, C.; DOS SANTOS, C. N. Zika virus - an overview **Microbes and Infection**, v.18, p. 295-301, 2016.

ZARA, A. L. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391-404, 2016.

ZIBETTI, F. M. Desenvolvimento de formulação nanoestruturada contendo óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. Para o tratamento tópico do herpes. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos da Saúde) - Universidade Federal Fluminense, UFF. Niterói, 20.

NORMAS DOS PERIÓDICOS

AMPLLA EDITORA

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

4. Artigos para Capítulo de Livro

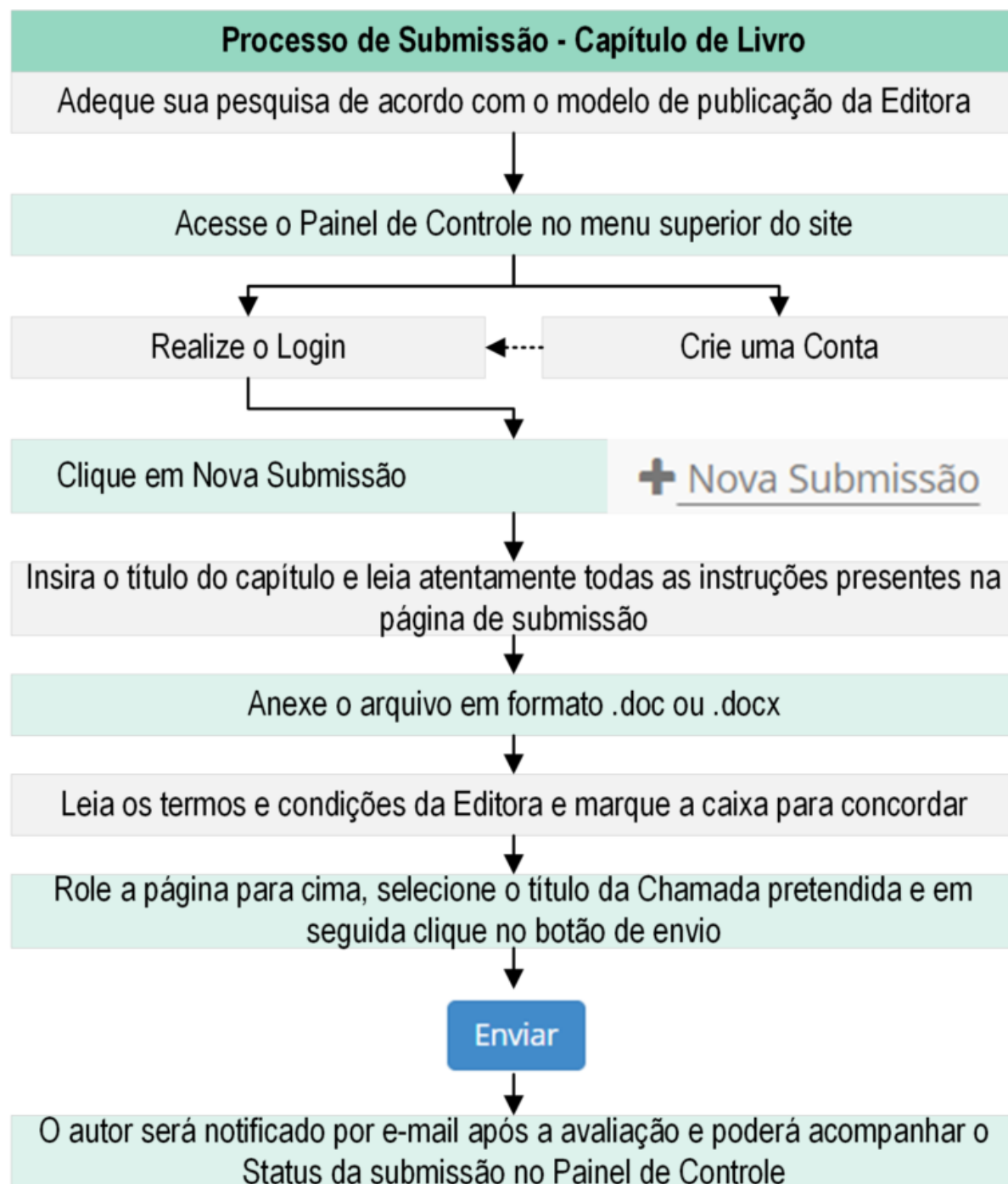
1. Cada trabalho deverá possuir entre 8 e 15 páginas;
2. Não exigimos titulação mínima entre os autores;
3. São aptos à submissão artigos originais, artigos de revisão e estudos de caso;
4. O artigo deverá ser fruto da pesquisa de no máximo 6 autores (incluindo autor principal). A inclusão de demais autores acarretará em custos extras, conforme informado no Modelo de Publicação.

O autor(a) responsável deverá submeter o trabalho por meio de nosso sistema, conforme ilustrado no fluxograma ao lado. O trabalho submetido deve seguir o modelo e instruções presentes no Modelo de Publicação. O valor para publicação está tabelado na aba “Serviços”.

Verifique com atenção o título da chamada pretendida, para evitar problemas com a submissão.

[Modelo de Publicação](#)

[Submeta seu artigo aqui](#)



[Vídeo Tutorial](#)

5. Obras Independentes

Se você deseja publicar um livro digital fruto de uma pesquisa individual, de um grupo de pesquisadores ou de um evento científico, a Amplla é a editora ideal para você!

Acesse nossa [página de publicações independentes](#) e fique por dentro de todos os trâmites necessários para garantir sua publicação! Nossa equipe técnica irá analisar

o conteúdo e posteriormente indicar os procedimentos necessários para a publicação.

BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY – BABT

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Scope and policy

The **Brazilian Archives of Biology and Technology (BABT)**, publishes **original articles** and **review articles** in the following areas:

- Agriculture, Agribusiness and Biotechnology;
- Human and Animal Health;
- Biological and Applied Sciences;
- Food /Feed Science and Technology;
- Environmental Sciences;
- Engineering, Technology and Techniques.

When submitting an article, the authors assign the copyright and use of all its content to BABT, if it is approved for publication, but the opinions expressed in the texts are the sole responsibility of the authors.

The corresponding author should be familiar with the BABT journals' editorial policies and is solely responsible for communicating with the journal and managing communication between coauthors. Before submission, the corresponding author ensures that all authors are included in the author list and agree with its order, and that they are aware the manuscript is to be submitted

Similarities will be verified in the manuscripts through a specific plagiarism verification software, providing a report to support the decision regarding the originality

Manuscripts to be considered for publication must be submitted by the authors through the ScholarOne Manuscripts™ [online system](#). Please follow these guidelines to ensure that your submission proceeds smoothly.

Preprints

BABT journal accepts manuscripts posted on preprint

servers of the authors' choice, authors' or institutional websites, and open communications between researchers whether on community preprint servers or preprint commenting platforms.

Preprints are defined as an author's version of a research manuscript prior to formal peer review at a journal, which is deposited on a public server. Preprints may be posted at any time during the peer review process. Posting of preprints is not considered prior publication and will not jeopardize consideration at our journal. Manuscripts posted on preprint servers will not be considered when determining the advance provided by a study under consideration at BAPT journal.

Our policy on posting, licensing, citation of preprints and communications with the media about preprints of primary research manuscripts is summarized below.

Authors should disclose details of preprint posting, including DOI and licensing terms, upon submission of the manuscript or at any other point during consideration at BAPT journal. Once the preprint is published, it is the author's responsibility to ensure that the preprint record is updated with a publication reference, including the DOI and a URL link to the published version of the article on the journal website.

Preprints may be cited in the reference list of articles under consideration at Nature Portfolio journals as shown below:

Author(s). Preprints Title [Internet]. Repository Name [Preprint]. Year [consulted on <consultation date>]: Number of pages. Available in: URL

Brief guide for submission

This guide outlines key points for preparing primary research manuscripts for submission to BAPT.

To facilitate the preparation of the manuscript, the templates below were created for mandatory use.

- [Cover Letter Template](#)
- [Manuscript Template](#)

Cover Letter

When submitting the article, the authors must send a cover letter to the editor, summarizing the findings of his manuscript, showing that it is in the interest of the Brazilian Archives of Biology and Technology to publish it, that it is original and has been not submitted or published previously elsewhere. Moreover, the cover letter should clearly address Biology or Technology area of Knowledge. And that there are no conflicts of interest associated with the manuscript and meet all applicable standards regarding the ethics of experimentation and research, and there are no duplicate publications, fraud, plagiarism, or concerns about animal or human experimentation.

If the article has already been shared as a preprint, inform in "Comments to Editors" on the Cover Letter

The cover letter must follow the template form attached [here](#).

Main Manuscript

The manuscript must be written in English only. If the authors don't have experience writing in this language, we suggest that the manuscript to be reviewed by an expert before its submission, preferably with scientific experience in the knowledge area.

The BAPT journal is strict to the format of initial submissions, it **must** be using the template attached [here](#).

Important: Manuscripts that do not comply with the standards set for submission will be unsubmitted and returned to the authors until it is correct to be sent to the reviewers' appreciation.

All the information must be presented in a **single file .docx** format, including **all author information and ORCID ID's**. All the **figures and tables** must be **presented along the text**, and the manuscript must have **less than 15 pages total**.

While using the template please use the Styles gallery to format your manuscript.

A guide to the styles contained in the template is shown below.

Title

- Must fit on maximum 3 lines in print
- Font: Arial, 20 pt, Bold, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 12 pt,
- Must be precise, clearly reflecting the content of the manuscript. (Put each word in upper case).

Author's name

- Without titles or graduations, preferably without abbreviations
- Font: Arial, 11 pt, Bold, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 0 pt,
- Corresponding author(s) should be identified with an asterisk.

Author's ORCID

- Format: <https://orcid.org/0000-0000-0000-0000>
- Font: Arial, 10 pt, Left, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 12 pt,
- It's mandatory to all authors.

IMPORTANT: If there is more than 4 Authors you can put the list in two columns

Affiliation

- must be submitted in English or Latin languages
- Format: University, College, Department, City, State, Country.
- Font: Arial, 10 pt, Left, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 8 pt,
- It's mandatory to all authors.

Highlights

Research highlights concisely summarize the core findings and provide readers with an overview of the paper. They include three to five bullet points describing the main achievements of the research (e.g., results or conclusions) and highlight what is unique about the study.

- Include 2 to 4 highlights.
- Maximum 85 characters in each highlight including spaces.
- Only the core results of the paper should be covered.
- Write the research highlight in the present tense.
- Be concise and specific.
- Font: Arial, 11 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 12 pt,

Abstract

- Font: Arial, 11 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 12 pt. The word abstract before is Bold.

A single paragraph of about 250 words maximum. For research articles, abstracts should give a pertinent overview of the work. We strongly encourage authors to use the following style of structured abstracts, **but without headings: Background:** Place the question addressed in a broad context and highlight the purpose of the study; **Methods:** Briefly describe the main methods or treatments applied; **Results:** Summarize the article's main findings; and **Conclusion:** Indicate the main conclusions or interpretations. The abstract should be an objective representation of the article, it must not contain results which are not presented and substantiated in the main text and should not exaggerate the main conclusion.

Keywords

- keyword 1; keyword 2; keyword 3. List three to six pertinent keywords specific to the article; yet reasonably common within the subject discipline.
- Font: Arial, 11 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space After: 12 pt. The word Keywords

before is Bold.

Graphical Abstract (Optional)

A Graphical Abstract is a single, concise, pictorial and visual summary of the main findings of the article. This could either be the concluding figure from the article or a figure that is specially designed for the purpose, which captures the content of the article for readers at a single glance.

Main Sections

- Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Patents, References.
- Font: Arial, 11 pt. Bold, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 6 pt.

Subsections

- Subsection
- Font: Arial, 11 pt. Bold, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 6 pt.
- Subsubsection
- Font: Arial, 11 pt. Italic, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 6 pt.
- Subsubsubsection
- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 6 pt.

Introduction

- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. First line indent de 0,75cm.

The introduction should briefly place the study in a broad context and highlight why it is important. It should define the purpose of the work and its significance. The current state of the research field should be reviewed carefully, and key publications cited. Please highlight controversial and diverging hypotheses when necessary. Finally, briefly mention the main aim of the work. References should be numbered in order of appearance and indicated by a

numeral or numerals in square brackets, e.g., [1] or [2,3], or [4–6]. See the end of the document for further details on references.

Materials and Methods

- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. First line indent de 0,75cm.

Material and Methods should be described with sufficient details to allow others to replicate and build on published results. Please note that publication of your manuscript implicates that you must make all materials, data, computer code, and protocols associated with the publication available to readers. Please disclose at the submission stage any restrictions on the availability of materials or information in cover letter. New methods and protocols should be described in detail while well-established methods can be briefly described and appropriately cited. This section may be divided by subheadings as reported below.

Results

- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. First line indents de 0,75cm.

It should provide a concise and accurate description of the experimental results, their interpretation as well as the experimental conclusion that can be drawn.

Figures Tables and Schemes

- Put all figures tables and schemes in their correct place in the text
- All figures and tables should be cited in the main text numbered consecutively in Arabic digits as Figure 1, Table 1, etc

Tables

- Table Caption Font: Arial, 10 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 0 pt.

Each table should be accompanied by a short title sentence describing what the table shows. Further details can be

included as footnotes to the table.

- Table Body Font: Arial, 11 pt., Centered, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt.

Vertical and Diagonal lines must not be used in tables

- Table Footer Font: Arial, 10 pt, Centered, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 12 pt.

IMPORTANT: The tables must be elaborated and edited in cells, using the resources of the text editor. Observation: Tables in figure format are not accepted, or that contain lines drawn.

Tables that are too large for portrait pages should be placed on a separate page in the sequence they appear in the text, in landscape mode, as in the example page below

Figures and Schemes

- Figure Caption Font: Arial, 10 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 12 pt.
- If there are multiple panels, they should be listed as: (a) Description of what is contained in the first panel; (b) Description of what is contained in the second panel.
- Images should have a minimum **resolution of 300 dpi**.
- A caption on a single line should be centered.
- Figures should be submitted preferably in color, the texts inside the figures must be legible.
- When figures present different parts, each one must be indicated by uppercase (Fig. 1 A, B, C, etc.).

Equations and Theorems

- Equations must not be in image format.
- They must be numbered
- Equation: Arial, 11 pt, Centered, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 6 pt. Space After: 6 pt.

- Theorems: Arial, 11 pt, Italic Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 8 pt. The word Theorem nº in the beginning of the sentence is Bold
- Proof of Theorems: Arial, 11 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 8 pt. The word Proof of Theorem nº in the beginning of the sentence is Bold

Discussion

- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. First line indents de 0,75cm.
- Authors should discuss the results and how they can be interpreted in perspective of previous studies and of the working hypotheses. The findings and their implications should be discussed in the broadest context possible. Future research directions may also be highlighted.

Conclusions

- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. First line indents de 0,75cm.
- This section is not mandatory but can be added to the manuscript if the discussion is unusually long or complex.

Patents

- Font: Arial, 11 pt., Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. First line indents de 0,75cm.
- This section is not mandatory but may be added if there are patents resulting from the work reported in this manuscript.

Funding

- Arial, 10 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 0 pt. The word Funding in the beginning of the sentence is Bold

Please add: "This research received no external funding" or "This research was funded by NAME OF FUNDER, grant number XXX". Check carefully that the details given are accurate.

Acknowledgments

- Arial, 10 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 0 pt. The word Acknowledgments in the beginning of the sentence is Bold

In this section you can acknowledge any support given which is not covered by the author contribution or funding sections. This may include administrative and technical support, or donations in kind (e.g., materials used for experiments).

Conflicts of Interest

- Arial, 10 pt, Justified, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 12 pt. Space After: 0 pt. The word Conflicts of Interest in the beginning of the sentence is Bold

Declare conflicts of interest or state, "The authors declare no conflict of interest." Authors must identify and declare any personal circumstances or interest that may be perceived as inappropriately influencing the representation or interpretation of reported research results. Any role of the funders in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results must be declared in this section. If there is no role, please state, "The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results". " The "Authors have authorization by the company <Name of the company> to disclose the data and images used in this article"

References

References must be numbered in order of appearance in the text (including citations in tables and legends) and listed individually at the end of the manuscript. We recommend preparing the references with a bibliography software package, such as EndNote, Reference Manager or Zotero to avoid typing mistakes and duplicated references. In the

text, reference numbers should be placed in square brackets [], and placed before the punctuation; for example [1], [1–3] or [1,3].

- Arial, 10 pt, Left Aligned, Line Spacing: 1,0 (Simple), Space Before: 0 pt. Space After: 0 pt. Numbered

Reference list should be in Font 10, with organized in numerical order. The full list of references, at the end of the article, must follow the Vancouver style:

References Guide

Manuscripts may be submitted following the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" produced by the International Committee of Medical Journal Editors also known as the **Vancouver Style**. In this case, authors should follow the guidelines in the link bellow and will be responsible for modifying the manuscript where it differs from the instructions given here.

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

IMPORTANT: There will be no restrictions on the reference article source language, despite the recommendation be in English, however the title should be translated and presented in English, between brackets

Important: Save the file in **.doc or .docx** format.

Editorial criteria and processes

Editorial processes are described for the following stages:
At submission | After submission | After acceptance

At submission

The criteria for publication of scientific papers BABT are that they:

- report original scientific research (the main results and conclusions must not have been published or submitted elsewhere)
- are of scientific importance and not too regional.
- reach a conclusion of interest to an interdisciplinary readership.

- have an unequivocal definition of the objectives to be achieved at the end of the study in question
- are up-to-date support literature on the topic defined for study.
- have definition and appropriate application of methodology(s);
- make a critical analysis of facts, opinions and procedures relating to the approach(s);
- make a discussion of the evidence found and its implications.
- have a valid study premise and the arguments that support it.
- have clear and coherent structure.
- are alignment with current referencing and citation standards.
- follow the format indicated in the submission rules.
- are well written in English language
- have a properly written Cover Letter according to the template
- the journal follows the Open Science guidelines

Important:

- Check that all authors are included in the text and with orcid id

After submission

The first stage for a newly submitted Article is that the editorial staff consider whether to send it for peer-review.

The criteria follow the list above.

First the manuscript is evaluated by its format, at the submission the authors must use the template properly and follow the instructions presented in the section “Brief guide for submission”. The Cover Letter is mandatory, and it must follow its template. The manuscript that doesn’t follow the criteria’s will be returned to authors for corrections, as many

times as necessary.

If the manuscript pass through the check list will be evaluated by one of journals Editors in Chief, depending on which field of knowledge is the manuscript related. The Editors will evaluate it by how well written the manuscript is, by similarities through a specific plagiarism verification software, by regionalism and scientific importance. If they judge that the manuscript attends those criteria, it will be sent to one of our associate editors.

The associate editor will select at least 3 reviewers to evaluate the manuscript, it could be sent to more reviewers if for any reason one of them declines to review. The associated editor needs at least 2 reviews to make a decision. This number of reviews can change based on the quality of the revision. That decision is made by the associated editor. The manuscript can be rejected if we can't find reviewers interested to see your manuscript.

All Articles published in BABT go through at least one round of review, usually two or three, sometimes more. At each stage, the editor will evaluate the manuscript with editorial colleagues in the light of reviewers' reports, and send a letter to the author offering one of the following options:

- The paper is accepted for publication.
- The manuscript needs a minor revision in principle once the authors have made some revisions in response to the referees' comments. Under these circumstances, revised papers are not usually sent back to the referees because further technical work has not been required but are accepted for publication once the editors have checked that the referees' suggestions have been implemented
- The paper needs a major revision, pending the authors' response to the referees' comments. Under these circumstances, further experiments or technical work can be required to address some or all of the referees' concerns, and revised papers are sent back to some or all of the referees for a second opinion. Revised papers should be accompanied by a point-by-point response to all the comments made by all the referees.
- The paper is rejected because the referees have

raised considerable technical objections and/or the authors' claim has not been adequately established. Under these circumstances, the editor's letter will state explicitly whether or not a resubmitted version would be considered. If the editor has invited the authors to resubmit, authors must ensure that all the referees' technical comments have been satisfactorily addressed (not just some of them), unless specifically advised otherwise by the editor in the letter and must accompany the resubmitted version with a point-by-point response to the referees' comments. Editors will not send resubmitted papers to the reviewers if it seems that the authors have not made a serious attempt to address all the referees' criticisms.

- The paper is rejected with no offer to reconsider a resubmitted version. Under these circumstances, authors are strongly advised not to resubmit a revised version as it will be declined without further review. If the authors feel that they have a strong scientific case for reconsideration (if the referees have missed the point of the paper, for example) they can appeal the decision in writing by email. The main grounds for a successful appeal for reconsideration are if the author can identify a specific technical or other point of interest which had been missed by the referees and editors previously. Appeals written in general or vague terms, or that contain arguments not relevant to the content of the manuscript, are not likely to be successful. Manuscripts cannot be submitted elsewhere while an appeal is being considered.

At any time the author can ask to withdraw the manuscript by email to babt@tecpar.br with the subject [Manuscript ID*] Withdraw the manuscript

If an author needs to be withdrawn or inserted in the paper after the initial submission the journal need that a letter signed by all authors, including the one to be inserted or withdraw, authorizing the changes

After Acceptance

After accepted the paper passes through a final format check. If there are no big changes needed the journal submits, to the author of correspondence by email, the final proof of the article ready for publication. The authors have

2 (two) weeks for review and point if any correction is needed. If the deadline for response expires without a return from the authors, the magazine considers that the article is approved and therefore ready for publication.

If any big change or the need of correction by the authors is found by the editorial staff the manuscript will be sent to the author of correspondence asking him to change the aspects pointed by the editorial staff. At this point we won't allow any changes in the content of the paper.

An erratum applies only to cases where the journal has effectively wrong without the knowledge of the author. The author has a number of instances where errors / mistakes can and should be corrected such as author name, keywords, title, errors in the main text, etc.

Communication with editorial staff

All communication with the editorial staff **must be by the email** babt@tecpar.br

The Subject of the email must follow the pattern below:

[Manuscript ID*] Subject

Examples:

[BABT-2022-0000] Review and Correction

[BABT-2022-0000] Approved Article

Emails sent outside this standard are automatically rejected.

*Manuscript ID – BABT-NNNN-NNNN

Editorial Staff

Marilene Aparecida Boaron

Brazilian Archives of Biology and Technology

Email: babt@tecpar.br