



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

BRENDHA ARAUJO DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE
NANOEMULSÕES ÓLEO-EM-ÁGUA (O/A) INCORPORADAS COM ÓLEO
ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius***

São Luís - MA

2025

BRENDHA ARAUJO DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE
NANOEMULSÕES ÓLEO-EM-ÁGUA (O/A) INCORPORADAS COM ÓLEO
ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestra em Química.

Orientador: Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro.

São Luís - MA

2025

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

Araujo de Sousa, Brendha.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE
NANOEMULSÕES ÓLEO-EM-ÁGUA O/A INCORPORADAS COM ÓLEO
ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius* / Brendha Araujo de
Sousa. - 2025.

86 f.

Orientador(a): Odair dos Santos Monteiro.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2025.

1. Plantas Aromáticas. 2. Nanotecnologia. 3.
Toxicidade. 4. Atividade Antimicrobiana. 5. Larvicida.
I. dos Santos Monteiro, Odair. II. Título.

BRENDHA ARAUJO DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE
NANOEMULSÕES ÓLEO-EM-ÁGUA (O/A) INCORPORADAS COM ÓLEO
ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestra em Química.

Aprovada em: 25 de fevereiro de 2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro
(Orientador – PPGQUIM/UFMA)

Prof. Dr. Renato Sonchini Gonçalves
(Membro interno – PPGQUIM/UFMA)

Prof. Dr. Antônio José Cantanhede Filho
(Membro externo – PPGQ/UFMA)

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQuim) pelo apoio institucional que tornou este sonho possível, com um agradecimento especial à coordenadora do programa, Prof^a. Dr^a. Cláudia Quintino da Rocha, por seu empenho, supervisão e apoio constante ao longo da minha trajetória no mestrado, que se estende ao meu orientador, Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro, pela confiança, paciência e orientação durante o desenvolvimento desta dissertação.

Ao grupo LOEPAV (Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), coordenado pelo Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho, devido ao seu acolhimento no laboratório e disponibilidade laboratorial para a realização dos ensaios biológicos, ao Me. Gustavo Oliveira Everton, responsável técnico, por sua contribuição no desenvolvimento da parte experimental, conhecimento e colaborações fundamentais para a realização das análises e parcerias com as Universidade Federal de Recife (caracterização e cromatografia) e Universidade Federal do Rio de Janeiro (testes ovicida e adulticidas). Ao corpo de pesquisadores e amigos: Cassiano Vasques, Rodrigo Almeida, Ana Patrícia Pereira, Thaylanna Pinto, Marcella Matos e Thamires Ribeiro, pelo auxílio nas análises e incentivo, cruciais para este projeto.

Assim como aos colegas do grupo de pesquisa do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LQPN). As valiosas sugestões e comentários recebidos certamente contribuirão para meu desenvolvimento pessoal e profissional. Aos alunos Josafá Vieira e Lucas George Andrade, pelo auxílio nas extrações. Em especial a Layana Sousa, Aglaete Araújo, Francisca Taveira, pelo apoio e incentivo.

Agradeço à Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo investimento em pesquisa e ensino, que contribuiu significativamente para minha formação e desempenho em pesquisa.

Em especial, quero agradecer aos meus familiares e amigos mais próximos, que me acolheram em momentos significativos e me ofereceram apoio incondicional durante esta jornada. Vocês foram minha força para superar desafios e celebrar conquistas. Por fim, dedico este trabalho à minha avó, Antônia Pereira Jeremias da Luz (*in memoriam*), que continua sendo uma fonte de inspiração em minha vida.

"Você não sabe o quão forte é, até que
ser forte seja a única alternativa."

(Desconhecido)

RESUMO

As plantas aromáticas contêm óleos essenciais (OEs) cujas propriedades estão frequentemente associadas ao tratamento de doenças e ao controle de organismos patogênicos. A eficácia desses OEs decorre da diversidade de seus compostos químicos, o que possibilita aplicações biológicas ativas, muitas das quais ainda não foram suficientemente exploradas. Entretanto, algumas características dos OEs, como sua volatilidade e lipofilicidade, dificultam sua utilização e aplicação efetiva, o que pode ser contornado pela nanotecnologia. Deste modo, este trabalho teve como objetivo a caracterização química e avaliação do potencial biotecnológico de nanoemulsões (O/A) incorporadas com óleo essencial (OE) de *Dizygostemon riparius*. O OE foi obtido por hidrodestilação, sendo seus parâmetros analisados. A nanoemulsão (NOE) foi formulada por método de inversão de fases. Ao se realizar a análise química por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) com detector de ionização de chama, foram identificados 33 constituintes no OE e 24 na NOE, sendo os seus majoritários o acetato de *endo*-fenchil (42,66%, 44,14%), *endo*-fenchol (34,88%, 37,09%), (*E*)-cariofileno (3,22%, 3,34%) e o óxido de cariofileno (2,58%, 2,64%). A formulação foi caracterizada como nanoemulsão estável com tamanho de partícula de 94,12 nm, potencial ζ -17,14 mV, PDI de 0,29 e pH 4,35. No bioensaio de toxicidade frente *A. salina*, o OE foi considerado atóxico mostrando uma $CL_{50} > 250 \text{ mg L}^{-1}$ e sua NOE com CL_{50} de $24,9 \text{ mg L}^{-1}$ pode ser considerado altamente tóxico. O OE também apresentou atividade antimicrobiana de concentração inibitória mínima (CIM) significativa frente todas as cepas utilizadas no estudo pela técnica de microdiluição, com concentrações que variaram de $7,812 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ a $500,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. No entanto, sua NOE exibiu maior sensibilidade aos patógenos: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus cereus*, com concentrações de $3,12 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $1,56 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $6,25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ e $6,25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. No ensaio de atividade anti-inflamatória *in vitro*, obteve-se CE_{50} de $36,59 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ para o OE e $42,84 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ para a sua NOE. A NOE demonstrou alto potencial larvicida com uma CL_{50} na dose de $13,289 \text{ mg L}^{-1}$. O estudo apresentou, uma comparação entre a composição química do OE e da sua NOE, evidenciando a preservação dos compostos majoritários e de uma significativa parte dos constituintes, o que pode estar associado ao seu elevado potencial. Dessa forma, estima-se que tanto o OE quanto a NOE de *D. riparius* demonstram comportamento bioativo, configurando-se como alternativas a serem consideradas nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, a partir de investigações mais aprofundadas sobre seus mecanismos de ação.

Palavras-chave: Plantas aromáticas; Nanotecnologia; Toxicidade; Atividade antimicrobiana; Larvicida.

ABSTRACT

Aromatic plants contain essential oils whose properties are often associated with the treatment of diseases and the control of pathogenic organisms. The effectiveness of these EOs stems from the diversity of chemical compounds, which enables active biological applications, many of which have not yet been sufficiently explored. However, some characteristics of EOs, such as their volatility and lipophilicity, hinder their effective use and application, which can be overcome by nanotechnology. The aim of this study was therefore to chemically characterize and evaluate the biotechnological potential of nanoemulsions (O/A) incorporated with essential oil (EO) from *Dizygostemon riparius*. The EO was obtained by hydrodistillation, and its parameters were analyzed. The nanoemulsion (NEO) was formulated using the phase inversion method. Chemical analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) with a flame ionization detector identified 33 constituents in the OE and 24 in the NEO, the main constituents were *endo*-fenchyl acetate (42.66%, 44.14%), *endo*-fenchol (34.88%, 37.09%), (*E*)-caryophyllene (3.22%, 3.34%) and caryophyllene oxide (2.58%, 2.64%). The formulation was characterized as a stable nanoemulsion with a particle size of 94.12 nm, potential ζ -17.14 mV, PDI of 0.29 and pH 4.35. In the toxicity bioassay against *A. salina*, the EO was considered non-toxic showing a $CL_{50} > 250 \text{ mg L}^{-1}$ and its NEO with a CL_{50} of 24.9 mg L^{-1} can be considered highly toxic. The EO also showed significant minimum inhibitory concentration (MIC) antimicrobial activity against all the strains used in the study using the microdilution technique, with concentrations ranging from $7.812 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ to $500.0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. However, its NEO exhibited greater sensitivity to the pathogens: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus cereus*, with concentrations of $3.12 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $1.56 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $6.25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ and $6.25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. In the in vitro anti-inflammatory activity test, a CE_{50} of $36.59 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ was obtained for the OE and $42.84 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ for its NEO. The NEO showed high larvicidal potential with a CL_{50} at a dose of 13.289 mg L^{-1} . The study presented, a comparison between the chemical composition of OE and its NEO, showing the preservation of the majority compounds and a significant part of the constituents, which may be associated with its high potential. In this way, it is estimated that both the OE and the NEO of *D. riparius* show bioactive behavior, configuring them as alternatives to be considered in the food, pharmaceutical and cosmetic industries, based on more in-depth investigations into their mechanisms of action.

Keywords: Aromatic plants; Nanotechnology; Toxicity; Antimicrobial activity; Larvicidal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Planta da espécie <i>Dizygostemon riparius</i>	20
Figura 2 – Náuplios de <i>Artemia salina</i>	22
Figura 3 – Bactérias em coloração de Gram.	25
Figura 4 – Larvas de <i>Aedes aegypti</i>	28
Figura 5 – Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	32
Figura 6 – Ovos do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	33
Figura 7 – Larvas do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	34
Figura 8 – Pupas do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	35
Figura 9 – Mosquito <i>Aedes aegypti</i> em sua fase adulta.	35
Figura 10 – Esquema da nanoemulsão (O/A) e (A/O).....	36
Figura 11 – Folhas e flor da cor lilás de exemplares de <i>Dizygostemon riparius</i>	40
Figura 12 – Local de coleta das amostras de <i>Dizygostemon riparius</i>	41
Figura 13 – Processo de extração de OE das folhas de <i>D. riparius</i>	42
Figura 14 – Estruturas dos componentes majoritários no OE e NOE de <i>D. riparius</i> .52	
Figura 15 – Formulação de nanoemulsão com 5% de OE; 10% de Tween 20 e 85% água.	55
Figura 16 – Gráfico do log da concentração versus mortalidade da <i>A. salina</i> frente ao (A) óleo essencial e (B) nanoemulsão de <i>D. riparius</i>	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nanoemulsões produzidas a partir de diferentes óleos essenciais com diversos tipos de ação e propriedades biológicas, além de apresentar o meio dispersante/surfactante, o tamanho de partícula e o efeito potencializado das nanoemulsões.	38
Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos do óleo essencial	49
Tabela 3 – Constituintes químicos identificados por CG-EM-DIC no óleo essencial de <i>D. riparius</i> e sua nanoemulsão.....	50
Tabela 4 – Diferentes composições % (v/v) de óleo essencial, surfactantes e água, presentes nas formulações.	54
Tabela 5 – Caracterização da nanoemulsão com óleo essencial de <i>D. riparius</i>	55
Tabela 6 – Toxicidade frente à <i>A. salina</i> com CL ₅₀ para ação de <i>D. riparius</i>	57
Tabela 7 – Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial e nanoemulsão de <i>D. riparius</i>	59
Tabela 8 – Capacidade anti-inflamatória do óleo essencial e nanoemulsão.	62
Tabela 9 – Concentrações de Letalidade de <i>D. riparius</i> frente à <i>A. aegypti</i>	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Grau Celsius
µg	Microgramas
µL	Microlitros
A/O	Água-em-óleo
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Ágar Infusão de Cérebro e Coração (do inglês “Brain Heart Infusion”)
CE ₅₀	Concentração Eficiente 50%
CG	Cromatografia Gasosa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL ₅₀	Concentração Letal 50%
DIC	Detector de ionização de chama
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>D. riparius</i>	<i>Dizygostemon riparius</i>
EM	Espectrometria de Massas
eV	Elétron-volts
IC ₅₀	Concentração de Inibição 50%
MA	Maranhão
mg	Miligramas
mL	Mililitros
Na ₂ SO ₄	Sulfato de Sódio Anidro
nm	Nanômetro
O/A	Óleo-em-água
OE	Óleo essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino (do inglês “phosphate buffered saline”)
PDI	Índice de polidispersidade
PsAM	Plantas aromáticas e medicinais
ppm	Parte por milhão
TSA	Ágar Triptona de Soja (do inglês “Tryptic Soy Agar”)
UFC	Unidade Formadora de Colônias
v/v	Volume por volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	Plantas Aromáticas e Medicinais (PsAM)	17
3.2	Os óleos essenciais (OEs)	18
3.2.1	<i>Óleo essencial de Dizygostemon riparius</i>	20
3.2.2	<i>O óleo essencial e sua ação toxicológica</i>	21
3.2.3	<i>O óleo essencial com ação antimicrobiana</i>	22
3.2.3.1	<i>O óleo essencial com ação antibacteriana</i>	24
3.2.3.2	<i>O óleo essencial com ação antifúngica</i>	26
3.2.4	<i>O óleo essencial com ação larvicida</i>	27
3.2.5	<i>O óleo essencial com ação anti-inflamatória</i>	29
3.3	<i>O Aedes aegypti, suas características e controle</i>	30
3.3.1	<i>Ciclos de vida do Aedes aegypti</i>	32
3.3.1.1	<i>A fase ovicida</i>	32
3.3.1.2	<i>A fase larval</i>	33
3.3.1.3	<i>A fase de pupa</i>	34
3.3.1.4	<i>A fase de Adulticida</i>	35
3.4	Nanoemulsões	36
4	METODOLOGIA	40
4.1	Coleta do Material Vegetal	40
4.2	Extração dos óleos essenciais	41
4.3	Análises físico-químicas	42
4.4	Caracterização química do óleo essencial e nanoemulsão	43
4.5	Preparo, estabilidade e caracterização das nanoemulsões	44
4.6	Toxicidade frente a organismo <i>Artemia salina</i>	44
4.7	Padronização do inóculo microbiano para testes de sensibilidade	45
4.8	Determinação da Concentração Inibitória Mínima	45
4.9	Atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i> por desnaturação proteica de albumina	46
4.10	Coleta de <i>Aedes aegypti</i> e atividade ovicida, larvicida e adulticida	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
5.1	Propriedades físico-químicas do óleo essencial	49
5.2	Constituintes químicos do óleo essencial e nanoemulsão	50
5.3	Estabilidade termodinâmica	53
5.4	Caracterização das nanoemulsões	55
5.5	Toxicidade	56
5.6	Atividade antimicrobiana	59

5.7	Capacidade anti-inflamatória.....	61
5.8	Atividade ovicida, larvica e adultica.....	63
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
	REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

Evidencia-se que o uso de plantas aromáticas e medicinais (PsAM) é algo considerado milenar pelas civilizações devido as suas propriedades terapêuticas. Estima-se que no Brasil, aproximadamente, 80% dos habitantes utilizam produtos de origem vegetal com alguma finalidade terapêutica, e que em relação aos países em desenvolvimento, 85% da população vem fazendo uso de PsAM para os tratamentos de doenças, devido aos seus baixos efeitos colaterais e custo-efetividade. O que vem despertando o interesse em relação aos diversos campos da sociedade, destacando-se a indústria alimentícia e farmacológica. Uma tendência que vem promovendo uma transição do conhecimento popular para abordagens mais fundamentadas no método científico, contribuindo também para um desenvolvimento econômico mais sustentável (Ferreira *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2019; Fierascu *et al.*, 2021; Pereira; Da Silva, 2023; Ansari *et al.*, 2024).

Neste sentido, os óleos essenciais (OEs) estão entre os produtos naturais que são empregados para essas finalidades, não somente pelo seu aroma característico e agradável, mas também devido aos inúmeros constituintes químicos presentes em sua composição, como os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e fenilpropanóides, que capacitam a sua aplicação devido ao seu potencial biológico impulsionados pela busca de alternativas naturais frente ao uso e exploração de medicamentos e aditivos sintéticos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) relatou que cerca de 80% das pessoas nas áreas periféricas dependem de medicamentos fitoterápicos para várias doenças, com baixos riscos à saúde (Seow *et al.*, 2014; Pavela, 2015; Scheid; Fajardo; 2020; Pereira *et al.*, 2022; Aqeel *et al.*, 2023).

Entre as atividades biológicas associadas aos OEs, pode-se destacar a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, sendo esses OEs e suas nanoemulsões uma alternativa de tratamento de origem vegetal que pode amenizar e solucionar várias problemáticas em termos de enfermidades que costumam assolar a população, como a pneumonia, sepse, úlcera péptica crônica, tuberculose, desinterias, artrite reumatoide, entre outras (Santos *et al.*, 2020; Boukhatem *et al.*, 2020; Matulyte *et al.*, 2020;). Doenças essas que surgem geralmente pelo contato com microrganismos presentes em alimentos ou superfícies do cotidiano. Além de contaminar as lavouras existentes no mundo, acarretando uma série de prejuízos não somente no segmento

da saúde, mas também no da economia (Mutlu-Ingok *et al.*, 2021; Angane *et al.*, 2022; Corrêa *et al.*, 2023).

Ainda quanto aos problemas atrelados a ação dos microrganismos, estão os processos inflamatórios, que se configuram como uma condição fisiológica adaptativa e um processo mecânico de defesa natural contra lesões provocadas pela ação e presença de microrganismos em seres humanos. Por isso, é crucial explorar as possibilidades de novos OEs com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. O que desperta um crescente interesse em explorar os potenciais biotecnológicos dos produtos naturais, devido à crescente resistência antimicrobiana, à grande quantidade de mutações em microrganismos que dificultam o seu controle (Estrela, 2018; Freitas; De Oliveira, 2020; De Melo *et al.*, 2021).

Nesse contexto, as arboviroses, como a dengue, Zika e chikungunya, também se destacam entre as doenças que afetam a sociedade. Pesquisas científicas vêm indicando que o controle de um dos vetores transmissores dessas mazelas, o *Aedes aegypti*, pode ser eficazmente realizado por meio do uso de derivados de plantas com propriedades inseticidas, a exemplo, os OEs e suas bioformulações. Essas opções representam soluções sustentáveis em relação aos inseticidas sintéticos, cujo uso prolongado não apenas prejudica o meio ambiente e a saúde humana e animal, mas também contribui para o desenvolvimento de resistência a esses produtos químicos (Wojciechowska *et al.*, 2016; Balasubramani *et al.*, 2017; Duque *et al.*, 2023; Vanegas-Estévez *et al.*, 2024).

Contudo, as aplicações dos OEs são limitadas pelas suas propriedades, incluindo a volatilidade e lipofilicidade. Dessa forma, devido a necessidade de se contornar tais limitações, pesquisas voltadas para o uso da nanotecnologia se apresentam como uma abordagem promissora através da síntese de bioformulações, como as nanoemulsões, uma solução que pode não somente aumentar a eficiência dos OEs ricos em compostos bioativos, como também ajudar a manter sua biodisponibilidade e estabilização devido às suas características únicas, tais como uma maior capacidade de solubilização do que soluções micelares simples, (Donsì *et al.*, 2011; EL Asbahani *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2016; Pires; Moura 2017).

As nanoemulsões são termodinamicamente estáveis, transparentes (ou até mesmo ligeiramente turvas) e podem ser produzidas com pouca energia, apresentando uma longa vida útil, apresentando vantagens sobre dispersões

instáveis, como emulsões e suspensões. Elas oferecem uma tensão superficial ultrabaixa e uma grande área interfacial através de gotículas em nanoescalas associadas, estabilizadas por um filme interfacial de moléculas de surfactante, permitindo que o óleo essencial seja disperso na fase aquosa, um fator importante para a distribuição sustentada que pode potencializar a atividade biológica a que está sendo direcionada (Donsi *et al.*, 2011; Balasubramani *et al.*, 2017; Mishra *et al.*, 2023). Pesquisas vêm demonstrando uma melhor aplicabilidade e potencialização de efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e larvicidas de vários óleos essenciais, quando utilizados bioformulações (Balasubramani *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2023; Peniche *et al.*, 2022).

Deste modo, diante de toda a diversidade floral do Brasil, tem-se a espécie de planta aromática *Dizygostemon riparius*, recentemente descoberta às margens do Rio Preto, no município de São Benedito do Rio Preto-MA, popularmente conhecida como melosa, com alto potencial para as aplicações biológicas citadas, em razão dos constituintes químicos presentes em seu interior, como é caso dos seus majoritários o acetato de endo-fenchila e endo-fenhol, além do sinergismo entre eles (Brandão *et al.*, 2020; Galvão *et al.*, 2023).

Mediante o exposto, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e a caracterização química de nanoemulsões (O/A) formuladas por um método de baixa energia, incorporando o óleo essencial de *D. riparius* com potencial biotecnológico para aplicações em atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas com testes em diversas cepas fúngicas, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Penicillium chrysogenum*, além de cepas bacterianas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* e *Salmonella typhi*. Adicionalmente, com análise da toxicidade do composto em relação à *Artemia salina* e sua eficácia contra o *Aedes aegypti* em suas diferentes fases de desenvolvimento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Desenvolver e avaliar o potencial biotecnológico de nanoemulsões óleo-em-água (O/A) incorporadas com óleo essencial de *Dizygostemon riparius*.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar os constituintes químicos dos óleos essenciais de *Dizygostemon riparius* e nanoemulsões por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) com detector de ionização de chama;
- Formular nanoemulsões (O/A) do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* através de método de baixa energia;
- Investigar propriedades físico-química do óleo essencial e nanoemulsão de *Dizygostemon riparius*.
- Determinar a toxicidade frente *Artemia salina* Leach para ação das nanoemulsões (O/A) formuladas de *Dizygostemon riparius*;
- Verificar a atividade antimicrobiana das nanoemulsões (O/A) produzidas a partir do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*;
- Avaliar a ação anti-inflamatória das nanoemulsões (O/A) produzidas a partir do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*;
- Determinar a ação ovicida, larvicida e adulticida frente *Aedes aegypti* das nanoemulsões (O/A) produzidas a partir do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas Aromáticas e Medicinais (PsAM)

As plantas aromáticas e medicinais (PsAM) desempenham um papel significativo no ramo da fitoterapia e da medicina, devido aos constituintes químicos presentes em suas estruturas morfológicas — incluindo folhas, galhos, cascas, raízes, frutos, flores e sementes — que podem ser utilizados no tratamento de doenças crônicas e agudas. O conhecimento sobre produtos naturais tem evoluído, sendo aprimorado tanto pela sabedoria popular quanto pelas ferramentas científicas disponíveis. Os resultados positivos desse aprimoramento têm gerado aplicações práticas que beneficiam a sociedade. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 85% da população de países desenvolvidos utiliza plantas, especialmente relacionados a saúde (Ribeiro *et al.*, 2020; Aqeel *et al.*, 2023; Pereira; Da Silva, 2023; Ansari *et al.*, 2024).

É relatado a existência de aproximadamente mais de 368.000 plantas em nosso planeta, e mais de 3.000 espécies são utilizadas globalmente devido aos seus potenciais biofarmacológicos, baixos efeitos colaterais e custo-efetividade (Ansari *et al.*, 2024). Assim, o uso de plantas tem se tornado cada vez mais recorrente entre a população. O uso prolongado dessas plantas gerou informações valiosas sobre sua toxicidade e princípios fitoterápicos. Com base nessas informações, é possível caracterizar as plantas com propriedades benéficas e distinguir aquelas consideradas tóxicas, conforme demonstrado por estudos científicos que diferenciam substâncias que promovem a saúde daquelas que apresentam efeitos adversos (Franco *et al.*, 2022; Pereira; Da Silva, 2023).

As PsAM são frequentemente chamadas de “fabricas bioquímicas naturais”, possuindo valiosos ativos que podem ser utilizados como potenciais demarcadores para a síntese de novos fármacos, moldando uma variedade de medicamentos e estratégias terapêuticas inovadoras. O amplo espectro de constituintes bioativos com propriedades farmacológicas desperta o interesse de grandes polos industriais, especialmente devido ao seu baixo custo e à ausência de efeitos colaterais indesejados associados a sintéticos convencionais (Bacelar, 2020; Aqeel *et al.*, 2023; Ansari *et al.*, 2024; Lima, 2024). Além disso, esses constituintes podem interagir entre

si, formando associações fitoquímicas que intensificam seu sinergismo, promovendo benefícios à saúde possuindo forte apelo antioxidante, antimicrobiano, anticancerígeno e benéfico para doenças cardiovasculares (Da Costa, 2023; Oliveira *et al.*, 2022).

Os constituintes químicos, também conhecidos como metabólitos secundários, desempenham mecanismos de defesa que auxiliam contra agentes patogênicos e predadores, tornando-se relevantes para diversas atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, larvicida, antibacteriana e antifúngica. A atividade larvicida é particularmente notável, já que algumas espécies de plantas apresentam níveis de toxicidade devido a certos metabólitos com esse caráter, capazes de modificar a estrutura celular e o metabolismo de humanos e animais. No entanto, apesar de apresentarem um certo nível de toxicidade, essas plantas podem ser empregadas como agentes larvicidas, pois suas concentrações são geralmente inferiores às dos inseticidas convencionais, com ótima seletividade e menores impactos ambientais (Soonwera; Phasomkusolsil, 2016; Balasubramani *et al.*, 2017; Medrano *et al.*, 2021; Duque *et al.*, 2023).

A capacidade das plantas de evoluírem em paralelo com larvas e outros microrganismos intensifica sua eficiência e evita o desenvolvimento de resistência. Os OEs, que são veículos propagadores de compostos aleloquímicos e normalmente derivados de plantas aromáticas em quantidades variadas, são uma forma comum de aplicar esses metabólitos, utilizados historicamente no combate a determinadas enfermidades, antes mesmo do advento dos sintéticos orgânicos (Da Silva *et al.*, 2021; Dos Santos *et al.*, 2023).

3.2 Os óleos essenciais (OEs)

Os OEs podem ser produzidos no metabolismo vegetal das plantas, constituídos por uma mistura complexa de compostos orgânicos voláteis, caracterizados por odor e fragrância específicos e individuais, que podem ser obtidos por métodos como hidrodestilação, destilação por arraste a vapor d'água, extração por solvente, extração por fluido supercrítico e prensagem a frio (Pavela, 2015). E são utilizados em diversas áreas, devido às suas propriedades químicas e biológicas, como microbiologia, para a preservação de alimentos, controle de pragas e

microrganismos, além de diversas técnicas terapêuticas (Alves et al., 2022; Angane et al., 2022; Aqeel et al., 2023; Duque et al., 2023).

Eles são há muito valorizados por suas propriedades médicas, culinárias e aromáticas e propósitos biológicos. Os OEs são usados para vários propósitos fisiológicos, ecológicos e defensivos.

Entre as características que permitem a identificação dos OEs, destacam-se a sua tonalidade, volatilidade e aroma intenso e agradável. Além disso, esses OEs são, geralmente, solúveis em substâncias orgânicas e parcialmente solúveis em água, devido às suas complexas e variadas composições químicas. Existem metodologias específicas para avaliar suas propriedades físico-químicas, com a finalidade de assegurar o controle de qualidade (Syahadat; Diningsih, 2022).

Além dessas propriedades, é fundamental considerar que fatores exógenos podem influenciar a qualidade e o rendimento dos OEs, tais como temperatura, umidade relativa, sazonalidade, disponibilidade de água e as condições da área de cultivo. Variações na composição genética entre as plantas e suas respectivas idades (fatores endógenos) também afetam a qualidade e o rendimento dos óleos. É importante ressaltar que a coleta de plantas que contêm OEs deve ser realizada pela manhã ou à noite; a exposição intensa ao sol durante a coleta pode resultar em uma diminuição significativa da quantidade de óleo essencial presente no material vegetal (Rahal et al., 2022; Aqeel et al., 2023; De Jesus et al., 2024; Mugao, 2024).

A composição química dos OEs deve ser analisada em estudos detalhados, frequentemente utilizando a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. Essa análise cromatográfica permite identificar os constituintes químicos, que são responsáveis por contribuir com resultados e tratamentos para as atividades biológicas (Mutlu-Ingok et al., 2021; Alves et al., 2022).

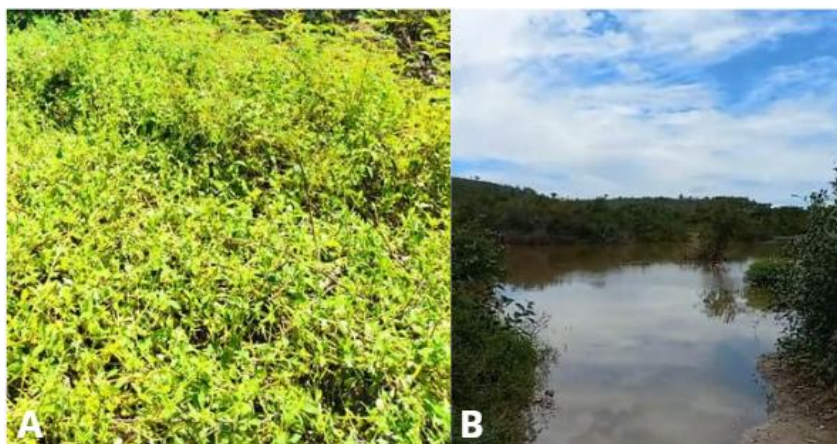
Devido ao aumento dos casos de doenças transmitidas tanto por agentes patológicos quanto por artrópodes vetores de arboviroses, a preocupação com seu controle levou à intensificação de estudos e pesquisas baseadas em conhecimentos empíricos. Esses conhecimentos, transmitidos pelas gerações mais velhas, são fundamentados em um histórico de uso e práticas relacionadas às plantas, que são posteriormente revisados e avaliados por metodologias científicas para garantir o interesse da população mundial. Por meio dessas práticas e estudos, a busca por novas espécies de plantas para extração de OEs se torna uma oportunidade para a

obtenção de novos compostos bioativos (Serrano; Figueiredo, 2018; Fronza *et al.*, 2020).

3.2.1 Óleo essencial de *Dizygostemon riparius*

Há um amplo espectro de OEs disponíveis para atividades biotecnológicas oriundos da diversidade da flora brasileira. Entre esses, o da espécie *Dizygostemon riparius* tem se destacado. Recém catalogada, esta planta aromática pertencente à família das Plantaginaceae, popularmente conhecida como melosa, descoberta as margens do Rio Preto no município de São Benedito do Rio Preto (MA), nordeste do Brasil. Caracterizada pelo hábito herbáceo, tem caules esparsados, folhas intercaladas espiraladas ou opostas e as suas flores estão localizadas na parte inferior do gineceu, com dois carpelos e quatro ou dois estames (Brandão *et al.*, 2020; Teles; Rocha, 2017; Scatigna *et al.*, 2019).

Figura 1 – Planta da espécie *Dizygostemon riparius*.



Nota: A- A planta popularmente conhecida como melosa;
B- Margens do Rio Preto no município de São Benedito (MA).

Fonte: Autora (2024).

É importante salientar que a espécie *D. riparius* é a segunda espécie do gênero *Dizygostemon* (Plantaginaceae) e apresenta dois morfotipos, a flor lilás e a flor branca. O óleo essencial extraído desta espécie é, predominantemente, composto por acetato de fenchila e endo-fenchol, ambos monoterpenos oxigenados, além de dois sesquiterpenos, geralmente dispostos em menor quantidade, o (E)-cariofileno e óxido de cariofileno (Figura 14) (Brandão, 2018; Scatigna *et al.*, 2019; Brandão *et al.*, 2020).

Sendo documentado a ação do óleo essencial no controle do *Aedes aegypti*, além de apresentarem atividades antifúngicas e repelentes contra ácaros (Corrêa *et al.*, 2023; Ferreira *et al.*, 2024).

3.2.2 O óleo essencial e sua ação toxicológica

Diante das características relevantes discutidas sobre os OEs, a toxicidade emerge como um aspecto de grande importância, uma vez que esses compostos podem apresentar efeitos adversos à saúde humana. Esse fato é corroborado por diversos estudos que visam avaliar a aplicação segura de produtos vegetais, enfatizando a necessidade de rigoroso controle das concentrações ou doses específicas. Assim, essas informações fundamentam uma série de normas destinadas a garantir um uso seguro, considerando seu potencial toxicológico. A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é o órgão responsável por regulamentar essas questões, classificando as substâncias de acordo com o tempo de exposição em: toxicidade aguda, subaguda e crônica (ANVISA, 2013; De Araújo *et al.*, 2014; Lanzerstorfer *et al.*, 2021).

A toxicidade de compostos presentes nos OEs está intimamente relacionada a concentração à qual os insetos estão expostos, corroborando o potencial toxicológico de contra vetores como o *Aedes aegypti*, que é responsável por diversas arboviroses que afetam a população mundial (Dias; Moraes, 2014). Além disso, esses metabólitos têm um impacto sobre microcrustáceos, como a *Artemia salina* (Figura 2), que é comumente utilizado como objeto de estudo, devido à sua alta sensibilidade ao método, baixo custo e facilidade de manuseio, configurando-se como um alvo promissor para testes *in vivo*, em estudos que visam suas aplicações, principalmente, em células cancerígenas, oferecendo uma possibilidade de tratamento de doenças crônicas e agudas (Da Silva *et al.*, 2021; Mallmann *et al.*, 2021; Rahamouz haghghi *et al.* 2022).

Figura 2 – Náuplios de *Artemia salina*.



Fonte: Martinez (2024).

Além disso, pesquisas que utilizam *A. salina* em ensaios toxicológicos demonstram que a toxicidade observada é semelhante à atividade citotóxica em tumores humanos, permitindo também a avaliação da toxicidade oral em camundongos. Estudos de toxicidade envolvendo *A. salina* podem ser direcionados a outras atividades biológicas, classificando-se como pré-testes relevantes para diversos estudos de toxicidade em geral (Pedroza *et al.*, 2019; Cansian *et al.*, 2021).

3.2.3 O óleo essencial com ação antimicrobiana

Outro aspecto importante dos OEs é sua capacidade de ação antimicrobiana, que abrange tanto bactérias quanto fungos. Quando em contato com a parede celular dos microrganismos, os OEs promovem a desnaturação e coagulação de proteínas, resultando na desintegração das membranas mitocondriais. As alterações na permeabilidade seletiva da membrana plasmática impactam significativamente a estrutura celular, afetando atividades vitais, como o fluxo de elétrons no sistema de transporte de elétrons, a fosforilação e reações essenciais inibindo a atividade de enzimas na célula, levando à morte celular. Essa ação antimicrobiana representa uma alternativa viável em razão da boa seletividade de determinados OEs em comparação aos produtos sintéticos, como os fármacos convencionais, diminuindo os impactos ambientais (Lorenzetti *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2020; Hernandez, 2021; Angane *et al.*, 2022).

É notório que doenças causadas por microrganismos têm se tornado cada vez mais frequentes, especialmente aquelas adquiridas por meio de alimentos, configurando-se como um problema de saúde pública em escala global. Estima-se

que aproximadamente 600 milhões de pessoas sofram consequências à saúde após a ingestão de alimentos contaminados por esses microrganismos. Fungos e bactérias, frequentemente presentes em produtos como carnes, ovos, aves, leite, cremes e queijos, também afetam as lavouras, ocasionando não apenas problemas de saúde, mas também significativos prejuízos econômicos (De Frias Gonçalves; Dos Santos Garcia-Gomes, 2023).

Em países em desenvolvimento, essas doenças estão frequentemente associadas à falta de uma infraestrutura adequada, de saneamento básico, e dificuldades no acesso a medicamentos. Historicamente, o uso da etnomedicina nas áreas carentes representava uma alternativa significativa devido ao seu baixo custo e fácil acesso. Uma prática que se expande também para regiões consideradas desenvolvidas, onde a fitoterapia tem se mostrado eficaz na inibição e prevenção do crescimento de cepas de fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Essas propriedades antimicrobianas são aplicáveis tanto a seres humanos quanto a animais, além de terem relevância na indústria alimentícia (Reis *et al.*, 2020).

Os fatores mencionados, juntamente com o aumento da resistência microbiana a agentes sintéticos e fármacos produzidos em laboratório, impulsionam o desenvolvimento de estudos focados na atividade antimicrobiana *in vitro* dos OEs. Os microrganismos apresentam uma notável capacidade de evoluir, mutar e recombinar geneticamente, resultando em novas variantes com maior virulência e resistência a antimicrobianos e a condições ambientais adversas (Brandl, 2006; Estrela, 2018)

A sensibilidade de microrganismos a determinados constituintes presentes nos óleos essenciais pode ser analisada e identificada por meio da concentração inibitória mínima (CIM), que se refere à menor quantidade do composto capaz de inibir o crescimento microbiano. As técnicas empregadas incluem diluições ou microdiluições (Figura 2), que podem ser realizadas em placas ou tubos. Os OEs demonstram uma eficácia antimicrobiana quando sua concentração inibitória mínima é inferior a 1000 µg/mL (Aligiannis *et al.*, 2001; Dalmolin *et al.*, 2022).

Os OEs de plantas têm sido amplamente empregados como flavorizantes em alimentos e bebidas, além de outras aplicações. Sua composição versátil e amplo espectro antimicrobiano são aliados à baixa toxicidade em concentrações mínimas, o que os credencia a serem considerados agentes naturais para a conservação de alimentos (Mutlu-Ingok *et al.*, 2021, Angane *et al.*, 2022). A literatura científica oferece

diversas referências sobre a atividade antimicrobiana dos OEs (Bakkali *et al.*, 2008; Mutlu-Ingok *et al.*, 2021). Essa atividade vem sendo atribuída à presença de compostos fenólicos e terpenos, que em sua forma pura, têm demonstrado eficácia antibacteriana e antifúngica. Isso estimula a pesquisa de novos OEs, como o da espécie *D. riparius*, para esses fins.

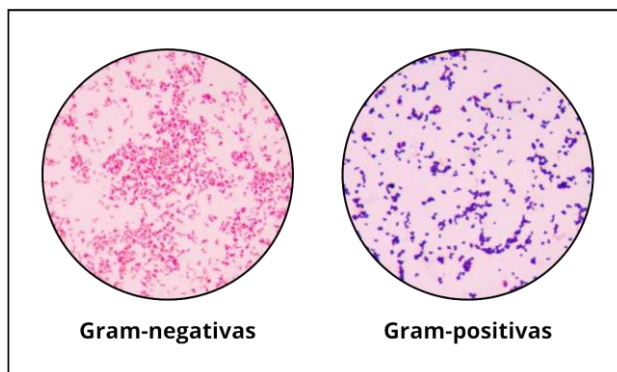
3.2.3.1 O óleo essencial com ação antibacteriana

Ressalta-se que a atividade antibacteriana enfrenta um desafio significativo devido à resistência dos microrganismos. Pesquisas indicam que a lentidão na síntese de novos antibióticos e no desenvolvimento de terapias eficazes para combater infecções bacterianas está contribuindo para a evolução desses microrganismos em resposta aos seus sistemas de defesa devido a habilidade de adquirir e transmitir resistência a drogas terapêuticas. Essa situação tem gerado intensa preocupação entre os profissionais de saúde e a OMS, uma vez que dificulta o controle de doenças infecciosas, eleva a taxa de mortalidade humana e aumenta os custos com tratamentos relacionados à saúde, especialmente em países subdesenvolvidos (De Brito; Trevisan, 2021; Alves *et al.*, 2022; Brito *et al.*, 2024).

As bactérias podem ser classificadas em dois grupos distintos: Gram-negativas e Gram-positivas. As Gram-negativas possuem uma membrana externa que lhes confere uma superfície hidrofílica, devido à presença de lipopolissacarídeos (LPS). Pequenos solutos hidrofílicos podem atravessar essa membrana externa por meio de proteínas chamadas porinas, o que faz dessa membrana uma barreira que dificulta a penetração de macromoléculas e compostos hidrofóbicos (Barreiras *et al.*, 2020; Canci, 2020).

Por outro lado, as bactérias Gram-positivas apresentam uma camada espessa de peptidoglicano em sua membrana externa, além de ácido lipoteicóico com extremidades lipofílicas, o que facilita a infiltração de compostos hidrofóbicos. Outra forma de identificação dessas bactérias está relacionada à coloração obtida durante o processo de coloração de Gram: as Gram-positivas apresentam uma tonalidade azul, enquanto as Gram-negativas adquirem uma coloração vermelha, refletindo as diferenças em suas paredes celulares, conforme ilustrado na Figura 3 (Porto *et al.*, 2024; Moreira *et al.*, 2020).

Figura 3 – Bactérias em coloração de Gram.



Fonte: Adaptado de Latham (2021).

De maneira geral, um ponto crucial para a atividade antimicrobiana contra bactérias, tanto gram-negativas quanto gram-positivas, é a capacidade de atravessar a membrana externa desses microrganismos. Um exemplo de bactéria gram-positiva é a *Staphylococcus aureus*, que demonstra uma resistência significativa à maioria dos antibióticos direcionados à penicilina. Por outro lado, um exemplo de bactéria gram-negativa é a *Escherichia coli*, comumente encontrada no intestino de indivíduos saudáveis; no entanto, algumas cepas podem ocasionar infecções no sistema digestivo e urinário (Cussolim *et al.*, 2021; Puvača, De Llanos frutos, 2021).

Sendo assim, a avaliação e a busca por compostos antibacterianos presentes em plantas e OEs são cruciais para o combate e a inibição da ação tanto de bactérias gram-negativas quanto gram-positivas. Os extratos vegetais e os OEs, de maneira mais específica, são capazes de atravessar a membrana celular causando a desestabilização de bactérias, provocam a lise celular e a perda de integridade da membrana devido à saída de íons e a inibição da respiração celular. Além de outros fatores relacionados às reações enzimáticas, resultando em apoptose ou necrose celular. (Swamy *et al.*, 2016; Matos *et al.*, 2021; Alves *et al.*, 2022; Di Fonzo, 2024).

Diversos estudos têm utilizado ensaios de atividade antibacteriana. Um exemplo é o trabalho de Santos *et al.* (2020), que investigou o óleo essencial das folhas da *Pimenta dioica* contra as cepas bacterianas *Escherichia coli* (ATCC 25922), gram-negativa, e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), gram-positiva, demonstrando ação inibitória com concentrações consideradas baixas. Este resultado reforça a possibilidade de emprego dos constituintes dos OEs como agentes antimicrobianos (SANTOS *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2021).

3.2.3.2 O óleo essencial com ação antifúngica

Infecções fúngicas configuram um significativo problema de saúde pública e estima-se que 25% da população tem infecções (Alves *et al.*, 2022). O uso de substâncias com caráter e ação fungicida tem se tornado o foco de estudos e pesquisas, não apenas no âmbito farmacológico, mas também na busca por uma produção sustentável de alimentos. Isso implica em sistemas de cultivo menos dependentes de aplicações de agrotóxicos, contribuindo para a agricultura sustentável e para o controle de doenças fúngicas que afetam as plantas (De Figueiredo *et al.*, 2020; Kenfaoui *et al.*, 2023). Nesse contexto, as atividades com os OEs se destacam como potenciais aliados para combater as doenças causadas tanto em plantas como em animais, incididas por microrganismos (Rodrigues, 2024).

Nesta perspectiva, a discussão sobre o controle alternativo de fungos tem crescido significativamente, especialmente por meio da aplicação de OEs. O uso de OEs de espécies aromáticas vem ganhando cada vez mais espaço no controle de fitopatógenos, contribuindo para a diminuição dos impactos ambientais associados aos fungicidas sintéticos (Da Silva *et al.*, 2024; Kenfaoui *et al.*, 2023). A capacidade antifúngica dos OEs deve-se à capacidade de inibir o ciclo celular, afetando as concentrações de cálcio e hidrogênio. O que leva à perda da permeabilidade da membrana (Alves *et al.*, 2022). Um exemplo notável é o fungo *Aspergillus niger*, causador do mofo preto, que pode afetar diversas partes das plantas, incluindo frutos, caules, folhas, sementes e ramos. Esta espécie de fungo foi aplicada pelo estudo de Nunes *et al.* (2021), no qual usaram óleo essencial da planta *Thymus vulgaris*, comprovando sua eficácia com concentrações inibitórias miceliais muito baixas frente a *A. niger*.

Outro estudo relevante foi realizado por De Figueiredo *et al.* (2020), que avaliou a atividade fungicida do óleo essencial da espécie *Origanum vulgare* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, um fungo considerado um dos mais relevantes fitopatogênicos em regiões tropicais e subtropicais, afetando a produção e cultivos de frutas (Tozze Júnior *et al.*, 2015). A incorporação do óleo essencial da planta Ba-har em nanoemulsões demonstrou eficácia contra *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Colletotrichum gloeosporioides* (ATCC 96723) e *Penicillium chrysogenum* (ATCC 10106), com resultados que evidenciaram concentrações inibitórias mínimas (CIM)

baixas, atribuídas à capacidade das bioformulações em intensificar e estabilizar a ação dos constituintes químicos (Felizardo *et al.*, 2021).

Ademais, o óleo essencial de *Dizygostemon riparius* vem se destacando pelos seus aspectos fungicidas. A ação desse óleo tem sido documentada em concentrações fungicidas mínimas (CFM) em que o óleo agiu contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus epidermidis* (Monteiro *et al.* 2022). A espécie de fungo micelial *C. gloeosporioides*, que provoca danos significativos nas áreas de cultivo também demonstrou sensibilidade (Corrêa *et al.*, 2023). O óleo essencial apresenta características que conferem atividade antimicrobiana, conforme demonstrado no estudo de Dos Santos *et al.* (2023). Esses achados indicam que formulações à base deste óleo essencial podem apresentar grande potencial como agentes fungicidas.

3.2.4 O óleo essencial com ação larvicida

Os OEs têm despertado o interesse do segmento industrial em virtude de suas propriedades inseticidas. Assim, foi necessário organizar e estabelecer parâmetros que garantam a aplicação segura desses compostos, evitando danos significativos à saúde humana. Nesse sentido, um critério fundamental para que os OEs possam ser utilizados com fins larvicidas é que apresentem baixas concentrações de letalidades e possuam efeitos colaterais mínimos. Parâmetros que asseguram a confiabilidade de que os materiais de origem vegetal sejam benéficos em comparação aos inseticidas sintéticos disponíveis no mercado com a mesma finalidade (Yang *et al.*, 2020; Da Cruz *et al.*, 2024; Komalamisra *et al.*, 2005; Dias; Moraes, 2014).

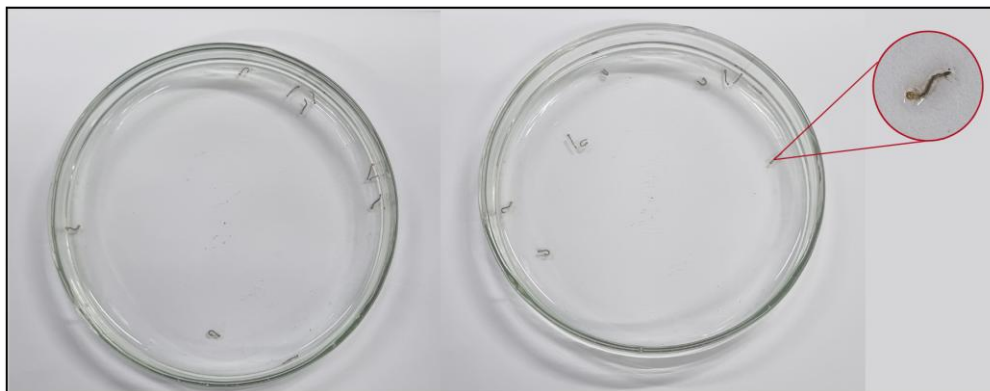
Em razão disso, produtos de origem vegetal têm sido avaliados com o intuito de identificar e isolar compostos biocidas, visando minimizar e substituir inseticidas organofosforados e piretróides no controle de vetores responsáveis por diversas doenças. Assim, os OEs são considerados alternativas viáveis, fundamentadas na diversidade de bioatividade assegurada pelos vários componentes ativos em sua composição (Távora *et al.*, 2023).

Essas propriedades são evidentes em diversos OEs ou extratos de plantas, que são classificados como tóxicos em relação a diferentes espécies de mosquitos. Um exemplo relevante é o óleo essencial da espécie *D. riparius*, conforme demonstrado

no estudo de Martins (2022), que utilizou extrato das folhas de *D. riparius* na fase larval do mosquito *Aedes aegypti*. Os resultados mostraram uma taxa de mortalidade promissora nas larvas expostas, associando esse efeito ao uso do extrato de acetato de etila, que extraiu compostos apolares em maior quantidade — compostos estes responsáveis pela atividade biológica observada. Essa relação é justificável, uma vez que a escolha do solvente pode influenciar a extração de determinados metabólitos secundários, dependendo de suas quantidades (Da Cunha *et al.*, 2024).

A atividade larvicida baseia-se na inibição do processo de desenvolvimento de mosquitos, como *A. aegypti*, em sua fase juvenil (Figura 4). A ação contra esses mosquitos está alinhada ao seu habitat, pois o controle na fase larval é mais pragmático e eficaz. Além disso, essa abordagem não se fundamenta apenas na redução de impactos ambientais, mas também na resistência dos mosquitos aos inseticidas convencionais, o que deve ser valorizado para promover a síntese de novas formulações à base de materiais vegetais (Martins *et al.*, 2020; Junior *et al.*, 2024 Sibien *et al.*, 2005).

Figura 4 – Larvas de *Aedes aegypti*.



Fonte: Autora (2024).

As bases de dados indicam que o Brasil está entre os países que mais consomem produtos agrícolas, especialmente agrotóxicos, com uma tendência crescente às propriedades larvicidas, totalizando cerca de 700 mil toneladas de produtos sintéticos utilizados anualmente. Essa realidade impulsiona a busca por plantas, com ênfase nos OEs, concentrando-se especialmente nos monoterpenos e sesquiterpenos, com a intenção de potencializar a avaliação larvicida em relação ao *Aedes aegypti* (Hari; Mathew, 2018; Da Silva Santos *et al.*, 2022).

É importante destacar que, de acordo com a Agência Reguladora de Alimentos e Drogas dos Estados Unidos (FDA - Food Drug Agency) e a OMS, os OEs são classificados como produtos biodegradáveis e não tóxicos, fundamentados em fatores como a toxicidade e a lenta evolução da resistência das cepas analisadas nos testes (Oliveira *et al.*, 2011). Dessa forma, as doenças causadas por insetos e microrganismos costumam desencadear uma série de processos inflamatórios no organismo humano e animal. Assim, a propriedade anti-inflamatória dos OEs é amplamente explorada, oferecendo um potencial terapêutico significativo.

3.2.5 O óleo essencial com ação anti-inflamatória

O processo inflamatório, que ocorre na maioria dos organismos, configura-se como uma resposta biológica complexa a presença de agentes nocivos, como patógenos, irritantes ou células comprometidas e danificadas. Os processos inflamatórios são classificados em agudos ou crônicos, ambos relacionados aos eventos bioquímicos que compõem o sistema vascular local, o sistema imunológico e as diversas células presentes em tecidos lesionados (Silva; Macedo, 2011; Zanzfirescu *et al.*, 2020; Frazão *et al.*, 2023).

A inflamação aguda é a resposta inicial e se caracteriza pela ativação das células do sistema imunológico inato, principalmente neutrófilos e monócitos, que migram do sangue para os tecidos danificados. Por outro lado, a inflamação crônica é marcada por uma alteração progressiva no tipo de células presentes na área da reação inflamatória, acompanhada de destruição e cicatrização do tecido lesionado. Dessa forma, os processos inflamatórios atuam como um mecanismo natural de defesa do organismo, evidenciados pelo aumento do fluxo sanguíneo, do metabolismo celular, pela vasodilatação e pela liberação de mediadores solúveis, entre outros (Ferrero-Miliani *et al.*, 2007; Zanzfirescu *et al.*, 2020).

Um dos principais indicadores de processos inflamatórios é o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), que é altamente suscetível e ativo em regiões inflamatórias associadas a diversas patologias. Este fator pode estimular a transcrição de mediadores pró-inflamatórios como as citocinas e quimiocinas, a isoforma indutível da sintase do óxido nítrico (iNOS) e da enzima cicloxigenase-2 (COX-2). E sua ativação desregulada contribui para vários distúrbios inflamatórios, incluindo doenças

autoimunes, como artrite reumatoide e esclerose múltipla, desencadeando reações inflamatórias inapropriadas. A interrupção da homeostase marca o início das respostas inflamatórias (Elkotamy *et al.*, 2024; Zanzfirescu *et al.*, 2020)

Diante desses processos, tanto voluntários quanto involuntários, existe uma variedade de medicamentos disponíveis para o tratamento de doenças inflamatórias. Nesse contexto, as plantas são amplamente utilizadas para tratar diversas condições inflamatórias, oferecendo uma alternativa aos efeitos colaterais associados a muitos desses fármacos, com a vantagem dos baixos custos e um melhor perfil de segurança. Os OEs, como já mencionado, apresentam um amplo espectro de metabólitos secundários, como taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides, terpenos e glicosídeos, que possuem a capacidade de suprimir processos inflamatórios em diversas patologias, contribuindo para a recuperação da homeostasia do organismo (Premakumari; Kumaraswamy; Manoj, 2020; Zanzfirescu *et al.*, 2020; Dhiman *et al.*, 2022).

Nesse sentido, os OEs provenientes da família Plantaginaceae destacam-se pelo seu potencial anti-inflamatório. Um exemplo é a espécie *Plantago major* L., conhecida popularmente como tanchagem, que é frequentemente utilizada para inibir a tosse brônquica relacionada à inflamação das vias respiratórias, além de apresentar ação cicatrizante e combater inflamações da boca, garganta, gengivas e parotidites (Nogueira *et al.*, 2021). Assim, as plantas da família Plantaginaceae, incluindo a espécie *D. riparius*, revelam características anti-inflamatórias significativas.

3.3 O *Aedes aegypti*, suas características e controle

O *Aedes aegypti* é um mosquito da família *Culicidae*, responsável por transmitir uma quantidade significativa de arboviroses, como dengue, febre amarela, chikungunya e Zika. Dados mostram que este mosquito está relacionado a um elevado número de infecções em todo o mundo, o que torna a situação crítica para a saúde pública. Esses índices são mais frequentes em países tropicais e subtropicais, que oferecem as condições ideais para o desenvolvimento e a proliferação do mosquito (Gomes *et al.*, 2019; Silvério *et al.*, 2020; Carvalho *et al.*, 2023a).

Dessa forma, o *Aedes aegypti* demonstra uma significativa capacidade adaptativa. Originário do continente africano, dispersou-se pelo mundo no século XVII,

em grande parte devido a alterações provocadas pelo ser humano. Essa dispersão é corroborada por registros de enfermidades em diversas regiões, excetuando-se apenas o continente antártico. No Brasil, os primeiros relatos de surtos de dengue datam do século XIX, embora o registro oficial tenha sido descrito em 1980, em Boa Vista, RO (Garcez *et al.*, 2013).

Em 2024 o Brasil chegou a registrar mais de 5 milhões de casos prováveis de dengue no primeiro semestre, sendo 6.975 desses casos só no maranhão (Brasil, [2025]). Segundo dados do Painel de Monitoramento de Arboviroses do Ministério da Saúde, o país registrou, ao longo de todo o ano de 2024, aproximadamente 6,5 milhões de casos prováveis de dengue e 5.972 mortes provocadas pela doença. O coeficiente de incidência da dengue, até o final do ano, era de 3.193,5 casos para cada 100 mil habitantes, valores que superaram os obtidos no mesmo período do ano anterior (Brasil, 2025).

Com o intuito de monitorar e controlar esses dados, foi instituído o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) em 2002, que orienta suas ações na prevenção e controle do *Aedes aegypti*. O programa implementa medidas larvicidas e inseticidas, além de políticas educacionais, visando conscientizar a população sobre a importância de evitar o acúmulo de água em recipientes, como forma de inibir o crescimento populacional da espécie (Baptista; Campos, 2019).

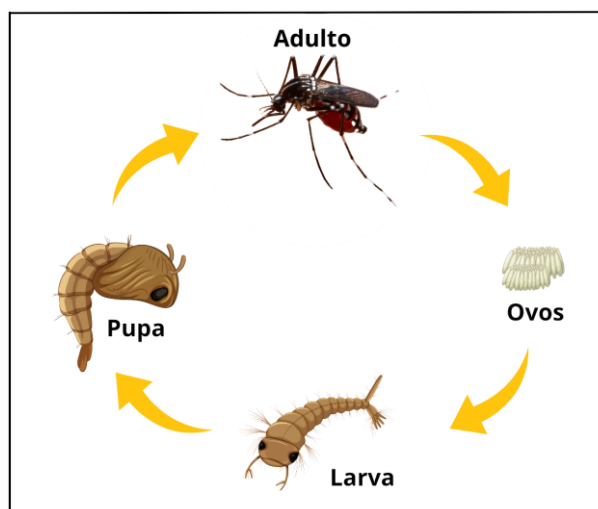
Em função dessas medidas, destacam-se ações comunitárias através da conscientização e mobilização social. Essas práticas, embora simples, contribuem significativamente para o controle do mosquito, incluindo a substituição ou remoção diária de qualquer recipiente que acumule água parada, a fim de eliminar os ovos do *Aedes aegypti*, além de ações de limpeza e reciclagem em benefício das cidades. Tais medidas, juntamente com o controle químico e mecânico do vetor, são fundamentais para mitigar os impactos na saúde humana (Dias *et al.*, 2022; De Sousa *et al.*, 2024).

Além disso, outras técnicas têm se mostrado eficientes no controle da fase larval do *Aedes aegypti*, considerada alvo. Entre elas, destaca-se a introdução de predadores naturais, como peixes larvófagos das espécies *Gambusia affinis* e *Poecilia spp.*, o uso de bioinseticidas e inseticidas convencionais, como piretróides, carbamatos e organofosforados (Voris *et al.*, 2017).

Entretanto, é relevante considerar que o uso prolongado dessas alternativas de controle pode levar à resistência adquirida, o que justifica a necessidade de

desenvolvimento de novas formulações. Essas novas abordagens devem priorizar características como baixa toxicidade, baixo custo e alta seletividade e sensibilidade em relação às diferentes fases do ciclo de vida do *Aedes aegypti* (Figura 5) (Welbert *et al.*, 2024; Carvalho *et al.*, 2023a; Moura *et al.*, 2021).

Figura 5 – Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Autora (2024).

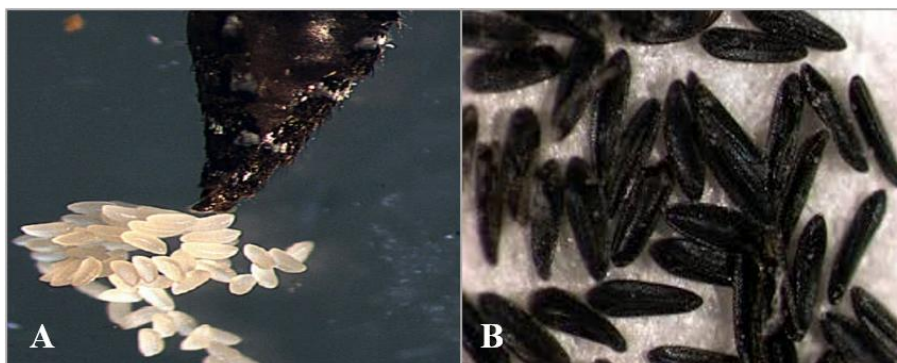
3.3.1 Ciclos de vida do *Aedes aegypti*

3.3.1.1 A fase ovicida

A fase inicial do ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti* corresponde à postura dos ovos, realizada pela fêmea da espécie, conforme ilustrado na Figura 6. As características morfológicas desses ovos estão relacionadas ao seu tamanho, que é equivalente a aproximadamente 1 mm de comprimento, apresentando um contorno alongado e fusiforme. A postura ocorre de forma individual, uma vez que as paredes dos depósitos agregam valor como criadouros, sendo que os ovos são depositados próximos a lâminas de água para facilitar sua eclosão (Machado Filho *et al.*, 2020).

Outra característica distintiva refere-se à tonalidade dos ovos, que se modifica drasticamente com o tempo. Inicialmente, apresentam-se brancos, mas após 24 horas, tornam-se pretos. Após 48 horas, o embrião atinge sua formação total, garantindo a estabilidade necessária para suportar as intempéries de diversos períodos de dissecação (Soares-Pinheiro *et al.*, 2016).

Figura 6 – Ovos do mosquito *Aedes aegypti*.



Legenda: A- Ovos no início da postura (Cor branca); B- Após as 24 horas da postura dos ovos (Cor preta).

Fonte: Adaptado da Fio Cruz (2024).

Partindo desse princípio, os dados fornecidos pela Fundação Nacional da Saúde (FUNASA) demonstram que os ovos do *Aedes aegypti* podem perdurar por cerca de um ano a 450 dias até atingirem sua época de eclosão. Com base nessas informações, fica evidente a dificuldade em erradicar essa espécie. Diante dessas características, o transporte dos ovos para uma ampla diversidade de locais, incluindo recipientes secos e reservatórios pequenos e grandes, torna-se permissível, configurando-se como o principal veículo de dispersão do mosquito *A. aegypti* (Machado Filho *et al.*, 2020; Silvério *et al.*, 2020).

3.3.1.2 A fase larval

O segundo estágio de desenvolvimento do ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti* compreende a fase larval, que se inicia com a eclosão dos ovos, conforme representado na Figura 7, e se estende até a transição para a fase de pupa. Durante este período, as larvas alimentam-se principalmente de matéria orgânica, como fungos, algas e protozoários, de acordo com a disponibilidade no ambiente em que estão inseridas (Junior *et al.*, 2024).

Figura 7 – Larvas do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Fio Cruz (2024).

A fase larvica é um período crucial do ciclo de vida do mosquito, durando cerca de 5 dias e podendo se estender por algumas semanas em relação ao seu 4º estágio. Durante essa fase, as larvas são especialmente sensíveis a movimentos bruscos, o que as leva a se refugiar no fundo dos recipientes para minimizar tais impactos. Em termos morfológicos, as larvas são compostas de cabeça, tórax e abdômen, com um sifão curto, grosso e de coloração mais escura (Machado Filho *et al.*, 2020; Carvalho 2023b).

3.3.1.3 A fase de pupa

O terceiro estágio de vida do mosquito *Aedes aegypti* é conhecido como a fase de pupa, conforme ilustrado na Figura 8. Esta fase representa a última etapa do desenvolvimento no ambiente aquático, caracterizando-se pela ausência de hábitos alimentares e pelo armazenamento de energia proveniente dos processos anteriores. Durante essa etapa, as pupas permanecem em repouso, movendo-se apenas quando necessário, como em resposta a perturbações externas. Entram em contato com o ar através de chifres respiratórios emparelhados. À medida que se aproxima da transição para a fase adulta, sua coloração torna-se mais escura, o que facilita sua mudança para o ambiente aéreo, ocorrendo em condições adequadas de temperatura, geralmente entre dois a três dias (FUNASA, 2001; Chapman *et al.*, 2021; Yamany; *et al.*, 2024).

Figura 8 – Pupas do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Santos (2024).

3.3.1.4 A fase de Adulticida

A fase adulta do mosquito é caracterizada pela transição do ambiente aquático (ou fase imatura) para a convivência no mesmo ambiente que os seres humanos, após a passagem pelos estágios de ovo, larva e pupa. Uma vez que o mosquito atinge a fase adulta (Figura 9), é comum que permaneça em repouso por algumas horas, com o intuito de fortalecer seu exoesqueleto (Reinhold *et al.*, 2018).

Figura 9 – Mosquito *Aedes aegypti* em sua fase adulta.



Fonte: Getty Images (2024).

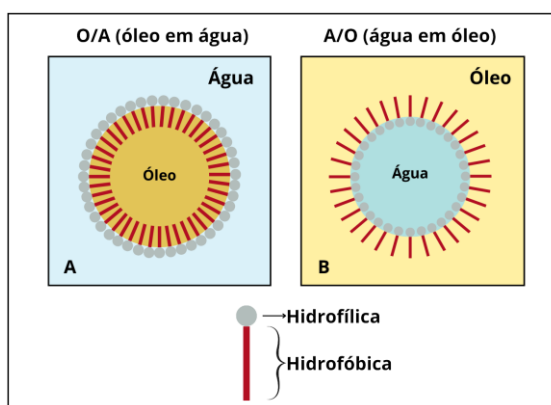
Em relação às fêmeas de *Aedes aegypti*, elas são consideradas responsáveis pela transmissão de arboviroses por serem hematófagos, implicando em doenças como dengue, zika vírus e chikungunya. No entanto, nem todas as fêmeas herdam o vírus de forma maternal; elas também adquirem a infecção durante o processo de alimentação sanguínea. Esse comportamento ocorre exclusivamente durante as

manhãs e no início das noites, com o objetivo de obter aminoácidos essenciais para a realização de suas atividades vitais. Após alcançarem um nível de energia adequado por meio desses aminoácidos, elas podem se infectar ao se alimentar de sangue de um hospedeiro já infectado (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2009).

3.4 Nanoemulsões

As emulsões são denominadas como sistemas que consistem em duas fases imiscíveis mantidas juntas com um surfactante e podem ser divididas em dois tipos: óleo em água (O/A), quando uma fase de óleo é dispersa em uma fase contínua de água, e água em óleo (A/O), em que a água se configura como dispersante na fase contínua de óleo. As nanoemulsões, um subtipo de emulsões, são caracterizadas por seu pequeno tamanho de partícula em escala nanométrica. Elas podem existir nas formas O/A e A/O, como pode ser observado na Figura 10, e são consideradas estruturas bioativas. Quanto menor o tamanho da partícula em uma nanoemulsão, mais estável e transparente ela é, e mais eficaz é a administração de medicamentos ativos. Essas propriedades tornam as nanoemulsões ideais para incorporar e preservar as propriedades físicas, químicas e biológicas do material vegetal (Yukuyama *et al.*, 2015; Pires; Moura 2017; Mishra *et al.* 2023).

Figura 10 – Esquema da nanoemulsão (O/A) e (A/O).



Fonte: Adaptado de Embrapa (2012).

A síntese de nanoemulsões bioativas requer processos mecânicos específicos para fornecer a energia necessária. Equipamentos de alta rotação, alta pressão e ultrassônicos são frequentemente usados para cisalhar as gotículas de óleo e

alcançar o tamanho de partícula desejado. Há uma variedade de métodos para o desenvolvimento de formulações, como os métodos de homogeneização de alta pressão e ultrassom, que requerem mais energia e costumam ser utilizados na indústria alimentícia, sendo adequados para a produção em larga escala. Em contraste, a emulsificação de baixa energia utiliza critérios físico-químicos para criar sistemas de partículas nanométricas, abordagem que consome menos energia, embora possa ser limitada em capacidade de produção (Yukuyama *et al.*, 2015; Pires; Moura 2017; Balasubramani *et al.*, 2017).

As nanoemulsões são caracterizadas pelo tamanho de suas partículas, que podem ser transparentes e translúcidas quando variam de 20 a 200 nm, ou opacas quando excedem 500 nm. Partículas menores resultam em nanoemulsões mais estáveis e transparentes, ideais para o transporte de medicamentos ativos e para aprimorar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos materiais vegetais aos quais são incorporadas (McClements, 2012; Mishra *et al.*, 2023).

Essas nanoemulsões são particularmente úteis para incorporar OEs em produtos alimentícios, superando os desafios hidrofóbicos e reativos, solucionam a baixa solubilidade dos OEs em água e traz mais estabilidade aos seus constituintes químicos, prolongando sua eficácia. Esse potencial tem atraído atenção significativa em diversos setores, como químico, medicinal, cosmético, agrícola e alimentício. Suas propriedades únicas permitem criar de diferentes tipos de produtos, como géis, cremes e aerossóis. (Preeti *et al.*, 2023; Jamir *et al.*, 2024).

As pesquisas atuais têm se concentrado na otimização de formulações de nanoemulsão com o objetivo de melhorar os resultados terapêuticos, uma vez que, dispondo de ingredientes aprovados, garantem a segurança se tornando adequadas para tratamentos (Jamir *et al.*, 2024; Mustafa *et al.*, 2024; Tanuku *et al.*, 2024; Chavda *et al.*, 2024). A literatura vem mostrando um aumento de investigações sobre as atividades farmacológicas de nanoemulsões produzidas com diversos óleos essenciais (Tabela 1), abordando uma potencialização de seus efeitos quando utilizadas como bioformulações.

Tabela 1 – Nanoemulsões produzidas a partir de diferentes óleos essenciais com diversos tipos de ação e propriedades biológicas, além de apresentar o meio dispersante/surfactante, o tamanho de partícula e o efeito potencializado das nanoemulsões.

Gênero / Espécie do OE	Dispersante/ Surfactante	Tamanho/ Potencialização	Tipos de ação	Ref.
<i>Cymbopogon pendulus</i>	Água / Tween 80/ Etanol /	327–511 nm / A	Antibacteriana, Antinflamatória, Antidiabético	Agnish <i>et al.</i> , 2022.
<i>Ba-har</i>	Água / Tween 20	A / +	Antifúngica	Felizardo <i>et al.</i> , 2021.
<i>Aeollanthus suaveolens</i> Mart. ex Spreng	Água / Tween 80	126,73 nm / +	Larvicida Toxicológica	Lopes Martins <i>et al.</i> , 2021.
<i>Thymus vulgaris</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Citrus medica</i> , <i>Camellia sinensis</i>	Água / Tween 80	56,8–224,9 nm / +	Larvicida	Li <i>et al.</i> , 2023.
<i>Lavanda</i>	Água / Tween 80	21,86–115,15 nm / +	Antimicrobiana	Rahman <i>et al.</i> , 2024.
<i>Vitex negundo</i>	Água / Polissorbato 80	200 nm / +	Antimicrobiana; Antioxidante; Larvicida	Balasubramani <i>et al.</i> , 2017.
<i>Syzygium aromaticum</i>	Água / Tween 20	A / +	Antifúngica	Lima <i>et al.</i> , 2021.
<i>Lantana camara</i>	Água / Tween 20	147,62 nm / +	Larvicida, pupicida	Sonter <i>et al.</i> , 2024

<i>Hyptis suaveolens</i>	Água / monooleato sorbitan ou trioleate sorbitan /Polissorbato 20	≤ 200 nm / +	Larvicida	Peniche <i>et al.</i> , 2022
<i>Myrtus communis</i>	Água / Tween 80 / Span 20	200 nm / +	Larvicida	Firooziyan <i>et al.</i> , 2022
<i>Eucalyptus Globulus</i>	Água / dodecil sulfato de sódio / Tween 20	80–200 nm / +	Antibacteriana, Antinflamatória,	Sharma; Kaur; Singh, 2021
<i>Lippia organoides</i>	Água / Polissorbato 80	167,5 nm / -	Antifúngica	Kotwiski, <i>et al.</i> , 2024
<i>Ocimum basciliicum</i> , <i>Cuminum cyminum</i> ,	Água / Tween 80	215–446,2 nm / +	Larvicida	Mahran, 2022
<i>Syzygium aromaticum</i> ; <i>Lawsonia inermis</i> ; <i>Zingiber officinalis</i>	Água / Tween 80	273,9–996,4 nm / -	Larvicida	Mahran, 2022

Legenda: (+) - Ação potencializada na forma de nanoemulsões; (-) - Ação não potencializada ou indiferente na forma de nanoemulsão; (A) – Ausente; Ref. - Referências.

Fonte: Autora (2024).

Dado seu potencial para aumentar a eficácia de diversos produtos, as nanoemulsões permanecem sendo uma área promissora para exploração e desenvolvimento, especialmente no controle de agentes patógenos e vetores transmissores de doenças por meio do uso de produtos de origem natural.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta do Material Vegetal

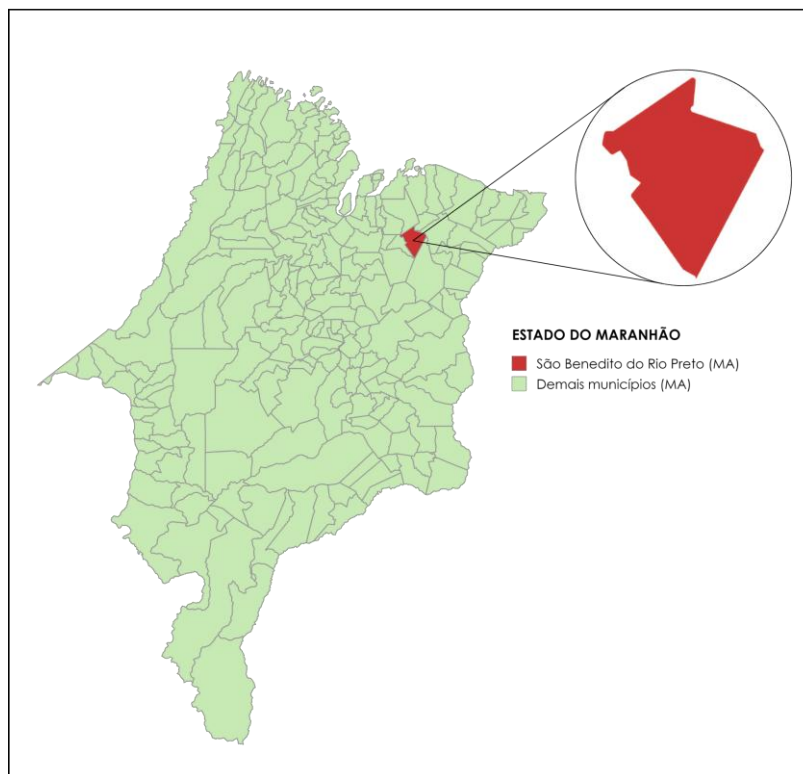
Foram obtidas amostras das folhas de *Dizygostemon riparius* (Figura 11) coletadas em fevereiro de 2024 no município de São Benedito do Rio Preto, Maranhão (Figura 12), Brasil, coordenadas 03° 20' 01" S, 43° 31' 42" W. Sendo a identificação botânica feita a partir da comparação com as exsicatas já depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Campinas, com nº 182792. A autorização para a coleta e estudo científico foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o código A0B272D. As amostras foram acondicionadas e transportadas até o Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) da Universidade Federal do Maranhão – UFMA. Posteriormente, foram trituradas e tiveram sua massa mensurada para cálculos de rendimento. A umidade inicial (u.a.) das amostras foi avaliada por analisador de umidade (FARMACOPEIA, 2019).

Figura 11 – Folhas e flor da cor lilás de exemplares de *Dizygostemon riparius*.



Fonte: Autora (2024).

Figura 12 – Local de coleta das amostras de *Dizygostemon riparius*.



Fonte: Autora (2024).

4.2 Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram extraídos das folhas (300g) utilizando a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger modificado de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor (Figura 13), utilizando-se água destilada como solvente na proporção de 1:10. A hidrodestilação foi conduzida a aproximadamente 100 °C por 2h30min recolhendo-se o óleo essencial extraído, sendo centrifugado e secos por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). As amostras foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração a 4 °C. Posteriormente sendo submetido as análises.

Figura 13 – Processo de extração de OE das folhas de *D. riparius*.



Fonte: Autora (2024).

4.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas seguiram os padrões da Farmacopeia Brasileira (2019). Posteriormente sendo submetido as análises de densidade, solubilidade em etanol, índice de refração, cor e aparência. A densidade do OE foi determinada com o emprego de um picnômetro de 1,0 mL previamente seco, tarado e aferido, sendo adicionado a amostra de OE a 25 °C e então pesado. A análise da solubilidade em etanol 70% foi realizada partindo-se de um volume constante do óleo essencial, sendo adicionados volumes proporcionais da solução de álcool etanol (70% em volume) até uma solubilização completa. A leitura do índice de refração foi realizada a 25 °C com gotas do óleo essencial sendo adicionados diretamente sobre o prisma de Flint do refratômetro Abbe. A coloração e aparência foram avaliadas utilizando a técnica visual comparando-se a cor da amostra de óleo essencial com as cores descritas na literatura especializada e testes sensoriais no que se referi a transparência e limpidez. O rendimento (%) dos óleos essenciais extraídos da biomassa vegetal foi calculado pelo método de BLU (base livre de umidade).

4.4 Caracterização química do óleo essencial e nanoemulsão

O óleo essencial e nanoemulsão foram caracterizados quimicamente por Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), utilizando um equipamento analítico modelo QP 2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) em conjunto com uma coluna capilar de sílica fundida (30 m × 0,25 mm) compreendendo uma fase ligada DB-5 (espessura do filme, 0,25 µm). sendo utilizada a técnica de amostragem head-space para a nanoemulsão.

Utilizou-se hélio como gás de arraste, com vazio de 1,0 mL min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas em 220 e 240 °C, respectivamente. A amostra foi injetada em um volume de 0,5 µL, diluída em hexano (1%) e com uma razão de partição do volume de injeção (split) de 1:100. A rampa de temperatura começou em 60 °C, com um aumento a uma taxa de 3 °C min⁻¹ para 240 °C, seguido por aumento de 10 °C min⁻¹ até atingir 300 °C, com a temperatura final mantida por 7 min. A pressão da coluna foi de aproximadamente 71,0 kPa.

O espectrômetro de massa foi operado com um potencial de ionização de 70 eV e uma temperatura da fonte de íons de 200 °C. A análise de massa foi realizada no modo de varredura completa, variando de 45 a 500 Da, taxa varredura de 1000 Da s⁻¹ e intervalo de varredura de 0,5 fragmentos s⁻¹. Os dados foram obtidos e processados usando o *software* Lab Solutions LC/GC Workstation 2.72 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Os índices de retenção dos compostos foram calculados em relação a uma série homóloga de n-alcanos (nC9 – nC18), utilizando a equação de Van den equation Dool e Kratz (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963). A identificação dos compostos foi conduzida comparando os índices de retenção calculados com aqueles documentados na literatura (ADAMS et al., 2017). Além disso, foram feitas comparações entre os espectros de massa obtidos e aqueles existentes nas bibliotecas FFNSC 1.2, NIST107 e NIST21.

Uma análise quantitativa foi conduzida via cromatografia gasosa com um detector de ionização de chama (CG-DIC), utilizando equipamento modelo GC-2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). As condições experimentais foram idênticas às empregadas na análise qualitativa, exceto pela temperatura do detector que foi de

300 °C. As porcentagens relativas de cada constituinte foram obtidas através do uso do método de normalização de área.

4.5 Preparo, estabilidade e caracterização das nanoemulsões

O preparo das nanoemulsões foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima *et al.* (2020), Costa *et al.* (2014), Sugumar *et al.* (2014) e Rodrigues *et al.* (2014), através do método de baixa energia de inversão de fases. As formulações de nanoemulsão foram preparadas com óleo essencial, surfactante não iônico e água (v/v). Sendo as composições obtidas por planejamento experimental compreendo o óleo essencial na faixa de 2,5% – 5%, surfactante (Tween 80, Tween 20) na faixa de 2% – 15% e água destilada (80% – 95,5%) (Tabela 4). A homogeneização final foi finalizada mantendo a formulação em agitação constante a 6000 rpm, até atingir a redução da temperatura para $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

Para comprovar a estabilidade, as formulações foram submetidas a diferentes testes de estresse durante 90 dias: centrifugação, ciclo de aquecimento-resfriamento e estresse de congelamento-descongelamento de acordo com o método descrito por Shafiq *et al.* (2007). A distribuição do tamanho da partícula (D_h nm) e o índice de polidispersão (PDI) da nanoemulsão foram determinadas usando um instrumento de espalhamento dinâmico de luz (Zetasizer Nano ZS90). Este instrumento determina o tamanho da partícula a partir das flutuações de intensidade-tempo de feixe de laser (632,8 nm) espalhado por uma amostra em um ângulo de 90°. A amostra foi diluída usando água destilada (1:100) antes da realização da medição para evitar os efeitos de espalhamento múltiplo. O pH também foi verificado utilizando um pHmetro.

4.6 Toxicidade frente a organismo *Artemia salina*

A toxicidade dos óleos essenciais e nanoemulsões foi avaliada através do bioensaio de letalidade frente *Artemia salina* Leach conforme a metodologia adaptada descrita por Meyer *et al.* (1982), inicialmente foi preparada uma solução salina estoque (30 g L^{-1} NaCl) do óleo essencial e nanoemulsão na concentração de 5.000 mg L^{-1} , sendo processadas por diluições seriadas obtendo-se no final concentrações de 20, 40, 100, 400 e 800 mg L^{-1} para o óleo essencial, e 10, 25, 250 e 2500 mg L^{-1} para a

nanoemulsão. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplios foram transferidas para cada uma das concentrações finais, realizando-se os controles necessários, para o branco utilizou-se 5 mL da solução salina (pH 8-9), para o controle positivo $K_2Cr_2O_7$ e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg L^{-1} de Tween 20.

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% (CL_{50}) e análise estatística para o óleo essencial e nanoemulsão foi calculada com base no método de Reed&Muench (1938). Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade do óleo essencial, sendo considerado produto altamente tóxico quando $CL_{50} \leq 80 \text{ mg L}^{-1}$, moderadamente tóxico para $80 - 250 \text{ mg L}^{-1}$ e com baixa toxicidade ou atóxico quando $CL_{50} \geq 250 \text{ mg L}^{-1}$ baseadas também em Meyer (1982) e Vinatea (1994).

4.7 Padronização do inóculo microbiano para testes de sensibilidade

Foram utilizadas cepas de bactérias: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Salmonella typhi* (ATCC 700623) e fungos: *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Colletotrichum gloeosporioides* (ATCC 96723), *Penicillium chrysogenum* (ATCC 10106), identificadas e confirmadas por testes bioquímicos.

Culturas microbianas puras mantidas em Agar TSA foram picotadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C até atingirem a fase de crescimento exponencial (4 – 6h). Após esse período, os cultivos tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina estéril 0,85%, de forma a obter turbidez comparável à da solução padrão de McFarland 0,5, que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (2020).

4.8 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima, utilizou-se a técnica de microdiluição em meio de cultura em placa de 96 poços, em que se avaliou a Concentração Inibitória Mínima (CIM) da amostra de óleo essencial e da nanoemulsão, sendo a formulação diluída diretamente no meio de cultura, conforme metodologia adaptada descrita por Dos Santos Filho *et al.* (2019). Primeiramente foi preparada uma solução estoque do óleo essencial ($2000 \mu\text{g mL}^{-1}$) utilizando-se etanol 70%, sendo preparadas diluições seriadas em caldo BHI ($200 \mu\text{L}$), que foi preparado conforme as recomendações do fabricante para os ensaios, resultando em concentrações que variaram de 0,488281 a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A nanoemulsão foi utilizada sem diluição prévia, sendo adicionada a alíquota ($200 \mu\text{L}$) no poço inicial, realizando-se diluições seriadas com concentrações que variaram de 0,024414 a $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. A cada concentração foram adicionadas $10 \mu\text{L}$ de suspensões microbianas contendo $1,5 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ das cepas. As placas foram incubadas estaticamente a 37°C por 24 horas para detecção das cepas microbianas. Foram realizados controles de esterilidade e crescimento para o teste realizado. Após o período de incubação utilizou-se a resazurina 0,01%, aplicando-se $20 \mu\text{L}$ da solução em cada poço e foi verificada CIM, sendo definido como a menor concentração que inibiu do óleo essencial e das nanoemulsões. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.9 Atividade anti-inflamatória *in vitro* por desnaturação proteica de albumina

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo método de desnaturação proteica de albumina (Padmanabhan; Jangle, 2012). A mistura reacional (4 mL) consistiu em 1 mL de diferentes concentrações ($8 - 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) removidas da solução estoque, solução esta preparada com $20 \mu\text{L}$ do óleo essencial diluídos em 10 mL de Tampão salino fosfato (PBS; pH 6,4) e homogeneizada em banho ultrassônico. E adicionadas a um tubo de ensaio 3 mL de uma solução a 10% de albumina (ovo fresco de galinha) e incubado a $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 15 minutos. A desnaturação foi induzida mantendo a mistura de reação a 70°C em um banho-maria de água por 5 minutos. Após o resfriamento por 10 minutos, a absorbância foi medida em 660 nm em espectrofotômetro UV-Vis, utilizando água destilada como branco e 3 mL de albumina 10% como controle. Assim, as concentrações do óleo essencial foram: 8; 16; 31; 63;

125; 250; 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O procedimento se repetiu para a nanoemulsão, com isenção da preparação de solução estoque, sendo as concentrações 10; 20; 39; 78; 156; 313; 625; 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A inibição da desnaturação proteica foi expressa em percentual conforme a equação 1, e obtendo-se os valores para a equação linear calculou-se a Concentração Eficiente 50% (CE_{50}) capaz de inibir 50% da desnaturação (equação 2) expressa em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

$$\% \text{ Inibição} = \frac{(A_c - A_a)}{A_c} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

A_c = absorbância de controle.

A_a = absorbância da amostra.

$$CE_{50\%} = 10^{((50-b)/a)} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

a = coeficiente angular.

b = coeficiente linear.

4.10 Coleta de *Aedes aegypti* e atividade ovicida, larvicida e adulticida

Os ovos foram coletados em São Luís-MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem em 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 (LOEPA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Os ovos foram agrupados em 10 para realização com ensaios de mortalidade frente ao óleo essencial e a formulação produzida em concentrações de 10 – 1000 mg L^{-1} com avaliação de exposição a cada 24h.

Para os ensaios larvicidas, inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por

Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

Os ensaios para atividade larvívica foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹ do óleo essencial sendo diluída em solução de DMSO 2%. Os testes para o óleo essencial foram realizados nas concentrações de 50, 250 e 500 mg L⁻¹. E com ampla gama de concentrações (2,5; 7,5; 12,50; 17,50; 20; 22,50 e 25 mg L⁻¹) para a amostra de nanoemulsão (isenta de diluição prévia em DMSO), com base nos resultados. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva. Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controles negativos foram utilizadas soluções de DMSO e de Tween 20, e controle positivo uma solução de temefós a 100 ppm, equivalente à concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle larvívica do vetor. Após 24h foi realizada a contagem de vivas e mortas, sendo consideradas mortas, as larvas que não reagem ao toque após 24 horas do início do experimento. As larvas foram identificadas através de microscópio óptico de acordo com as instruções e características específicas descritas no manual de treinamento (Almeida *et al.*, 2018).

Para os ensaios adulticidas, grupos de dez mosquitos no estágio adulto e mantidos em gaiolas entomológicas, foram expostos a diferentes concentrações de 10 – 1000 mg L⁻¹ com avaliação de exposição a cada 24h pelas formulações produzidas em estado de spray inseticida. Para quantificação da eficiência dos óleos essenciais e nanoemulsões nos testes acima foi aplicado o teste estatístico de Probit (Finney, 1952) e classificação da ação por Komalamisra *et al.* (2005) e Dias; Moraes (2014).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Propriedades físico-químicas do óleo essencial

A Tabela 2 fornece uma visão ampla dos parâmetros físico-químicos que foram abordados para a amostra de óleo essencial (OE) de *D. riparius*.

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos do óleo essencial

Parâmetros físico-químicos	<i>D. riparius</i>
Densidade (g mL ⁻¹)	0,9377
Índice de refração (nD 25°)	1,464
Solubilidade em etanol a 70% (v/v)	1:5
Cor	Amarelo
Aparência	Límpido
Odor	Característico e forte
Rendimento (%)	1,54

Fonte: Autora (2024).

O óleo essencial extraído das folhas de *D. riparius* apresentou um rendimento médio de 1,54%, uma densidade de 0,9377 g mL⁻¹ e uma coloração límpida, que se adequa à cor de outros óleos essenciais, e um odor forte e marcante. Brandão (2018) encontrou parâmetros semelhantes para amostras de óleo essencial de *D. riparius* também com flores do tipo lilás (rendimento médio de 1,3 – 1,54% e densidade 0,9377 g mL⁻¹), além de um índice de refração de 1,467 nD 25 °C com valor aproximado ao deste estudo, sendo possível inferir a não alteração de algumas das características intrínsecas do óleo essencial.

De forma distinta, Hammami *et al.* (2020) apontam que as partes aéreas secas de *Plantago afra* (pertencente à família Plantaginaceae) produziu um óleo essencial com rendimento de 0,025%. Embora sejam da mesma família, a grande variação genética de cada espécie que regulam a secreção e biodisponibilidade do óleo essencial é um dos fatores abordados por Mugao (2024), que afetam diretamente o rendimento dos óleos essenciais.

A análise do óleo essencial em relação à solubilidade em etanol 70% mostra que o OE foi solúvel na proporção de 1:5, sendo necessário 5 volumes de álcool etanol para produzir uma solução límpida/clara, vale ressaltar que quando adicionou-se 4 volumes do álcool etanol foi observada a presença de uma turvação. A literatura aponta que os diversos processos biológicos podem estar diretamente ligados à solubilidade das substâncias orgânicas (Martins; Lopes; Andrade, 2013; Chen *et al.*, 2014).

As características dos óleos são fatores fundamentais para a sua utilização, especialmente nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, uma vez que não apenas garantem seus benefícios terapêuticos, como também protegem os consumidores de possíveis efeitos colaterais (Ordoudi *et al.*, 2022; Sindler *et al.*, 2021). Todavia, é preciso que sejam feitas análises mais aprofundadas para confirmar essas afirmações. É importante salientar que, na literatura, há poucos estudos sobre as propriedades físico-químicas do óleo essencial de *D. riparius*.

5.2 Constituintes químicos do óleo essencial e nanoemulsão

A análise CG-EM-DIC identificou e quantificou os constituintes químicos presente no OE de *D. riparius* e em sua nanoemulsão. Foram identificados 33 compostos no OE, enquanto apenas 24 compostos se mantiveram presentes em sua formulação (Tabela 3).

Tabela 3 – Constituintes químicos identificados por CG-EM-DIC no óleo essencial de *D. riparius* e sua nanoemulsão.

n	Constituintes químicos	IR ^b	IR ^c	OE (%) ^a	NOE (%) ^a
1	(E)-Hex-2-enal	841	840	0,41	-
2	(Z)-Hex-3-enol	843	842	0,36	-
3	Santolina trieno	902	901	1,55	-
4	α -tujeno	920	919	0,35	0,41
5	α -pineno	927	926	0,67	0,73
6	α -fencheno	938	939	0,48	0,54
7	β -pineno	968	969	0,31	0,37
8	p-cimeno	1016	1017	0,80	0,86

9	Limoneno	1022	1021	1,09	1,15
10	(Z)- β -Ocimeno	1030	1029	0,44	0,50
11	γ -Terpineno	1051	1050	0,34	0,40
12	Linalol	1091	1093	0,37	0,43
13	endo-Fenchol	1108	1110	34,88	37,09
14	α -Terpineol	1166	1168	0,48	0,54
15	neoiso-Isopulegol	1173	1175	0,68	0,74
16	acetato de endo-Fenchil	1176	1178	42,66	44,14
17	Nerol	1181	1183	0,48	0,54
18	<i>p</i> -Cimen-8-ol	1188	1186	0,38	0,44
19	Carvacrol	1292	1290	0,38	0,44
20	acetato de neoiso-isopulegila	1307	1305	0,48	-
21	Metil-eugenol	1349	1347	0,32	0,38
22	acetato de neoiso-dihidrocarveol	1353	1351	0,98	-
23	acetato de <i>trans</i> -mirtanol	1394	1392	0,14	-
24	(E)- Cariofileno	1417	1419	3,22	3,34
25	<i>trans</i> -Nerone	1442	1444	1,38	1,44
26	(E)-nerolidol	1443	1445	0,31	-
27	α -Humuleno	1450	1452	0,88	0,94
28	Epóxido de italiceno	1549	1551	0,48	-
29	Viridiflorol	1565	1566	0,36	-
30	Epóxido de humuleno II	1572	1573	0,41	0,47
31	Espatulanol	1574	1575	0,88	0,94
32	Óxido de cariofileno	1583	1584	2,58	2,64
33	Pogostol	1621	1622	0,47	0,53

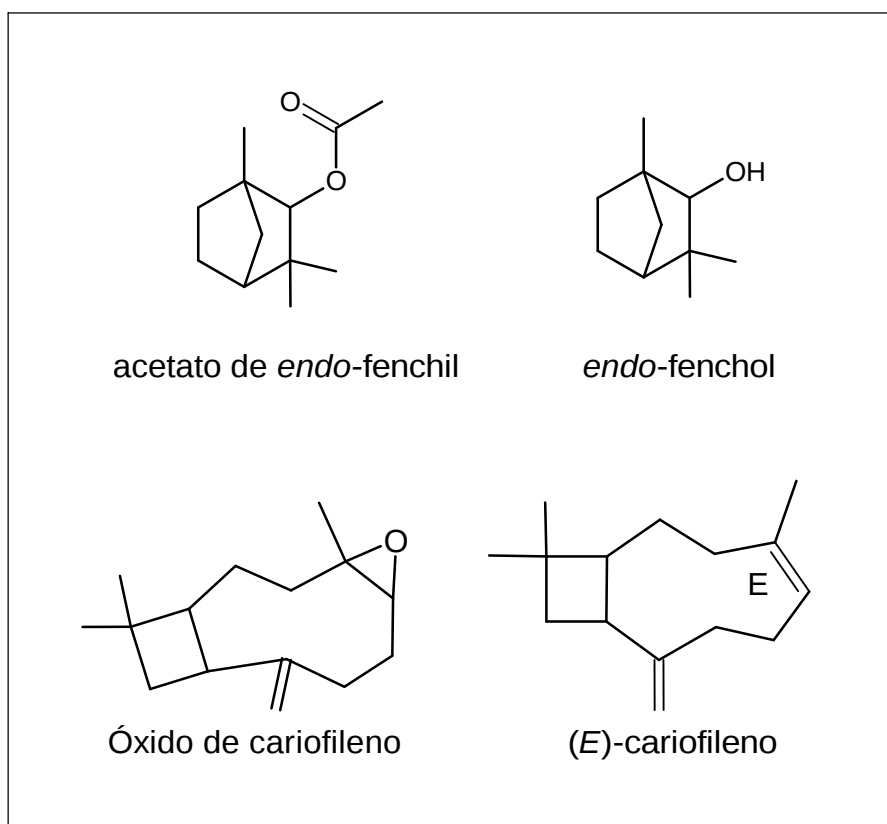
Legenda: ^aPorcentagens obtidas por normalização de área de pico FID; ^bÍndices de retenção Kovats lineares (coluna DB-5) experimental; ^cÍndices de retenção Kovats lineares teórico.

Fonte: Autora (2024).

Quantidades significativas de monoterpenos oxigenados foram identificadas como compostos majoritários para o OE e NOE, o acetato de *endo*-fenchil (42,66% e

44,14%, respectivamente) e *endo*-fenchol (34,88% e 37,09%, respectivamente), seguidos do Sesquiterpeno (*E*)-Cariofileno (3,22% e 3,34%, respectivamente) e do Sesquiterpeno oxigenado, óxido de Cariofileno (2,58% e 2,64%, respectivamente), sendo as suas estruturas representadas na Figura 14. É possível notar uma variação no teor de todos os constituintes que se mantiveram presentes na nanoemulsão, que embora alguns estejam em minoria, são considerados de grande importância para as atividades abordadas.

Figura 14 – Estruturas dos componentes majoritários no OE e NOE de *D. riparius*.



Fonte: Autora (2024).

Outros estudos avaliaram a composição do OE de *D. riparius*. Resultados parecidos foram observados por Galvão et al., (2023) que avaliaram as análises cromatográficas realizadas em CG/EM dos óleos essenciais das folhas de *D. riparius*, em um estudo circadiano e sazonal, onde foi possível detectar os constituintes primários: acetato de *endo*-fenchil (30,5 – 42,1%) e *endo*-fenchol (31,6 – 37,4%), (*E*)-cariofileno (2,8 – 7,6%), α -fencheno (3,3 – 6,5%), *p*-cimeno (0,7 – 4,5%) e óxido de cariofileno (1,4 – 2,7%). Brandão et al. (2020) também identificaram a presença de o

acetato de fenchil (42,8% – 48,0%) e endo-fenchol (33,3% – 35,0%) como majoritários nas amostras de óleo coletada no interior do Maranhão.

Brandão *et al.* (2020) descrevem a falta de dados científicos sobre essa espécie recém catalogada e a particularidade de não se encontrar trabalhos na literatura que relatem a presença de acetato de *endo*-fenchil e *endo*-fenchol nas matrizes de óleo essencial de outros gêneros da mesma família. No entanto, o acetato de *endo*-fenchil é descrito como um dos compostos predominantes presente em outras plantas como as do gênero *Strobilanthes* (Upadhyay *et al.*, 2023; Murali Sharma *et al.*, 2023).

Em seu estudo, Murali Sharma *et al.* (2023) abordam sobre os óleos essenciais ricos em acetato de *endo*-fenchil terem ações biológicas, como a antimicrobiana, os efeitos alelopáticos que inibem o crescimento, a anti-inflamatória e até mesmo o potencial larvicida. Sugerindo esse composto como um fator influenciador dessas interações. O que torna este trabalho ainda mais relevante, uma vez que o óleo essencial de *D. riparius* e sua nanoemulsão contêm o acetato de *endo*-fenchil presente, majoritariamente, em suas composições.

O óleo essencial e a nanoemulsão de *D. riparius* abordados nesse estudo apresentaram um perfil terpênico e complexo. Estudos demonstram que os óleos essenciais com esse perfil complexo podem não somente combater eficazmente patógenos relacionados à dieta alimentar como também ter os seus compostos ativos modificados e assim aumentado por outros, tanto principais quanto os disponíveis em concentrações mais baixas, atuando aditivamente ou até mesmo de forma sinérgica, impactando nos diversos potenciais de ação e bioativos (Lopes Martins *et al.*, 2021; Hamidian *et al.*, 2024).

5.3 Estabilidade termodinâmica

A análise da estabilidade termodinâmica das formulações constituídas com OE de *D. riparius*, foi realizada através da centrifugação, do ciclo de aquecimento e resfriamento e do ciclo de congelamento e descongelamento. As formulações encontram-se dispostas na Tabela 4.

Tabela 4 – Diferentes composições % (v/v) de óleo essencial, surfactantes e água, presentes nas formulações.

Identificação	OE ^a	Tween 80 ^a	Tween 20 ^a	H ₂ O ^a
NOE 1	2,5	-	2	95,5
NOE 2	2,5	0,2	1,8	95,5
NOE 3	2,5	0,4	1,6	95,5
NOE 4	2,5	0,6	1,4	95,5
NOE 5	2,5	0,8	1,2	95,5
NOE 6	2,5	1	1	95,5
NOE 7	2,5	1,2	0,8	95,5
NOE 8	2,5	1,4	0,6	95,5
NOE 9	2,5	1,6	0,4	95,5
NOE 10	2,5	1,8	0,2	95,5
NOE 11	2,5	2	-	95,5
NOE 12	5	-	5	90
NOE 13	5	-	10	85
NOE 14	5	-	15	80

Legenda: ^aPorcentagens (%) fixas.

Fonte: Autora (2024).

A formulação composta por 10% de surfactante Tween 20, óleo essencial (5%) e 85% de água, descrita na tabela 4 e ilustrada na Figura 15, foi a que apresentou um aspecto homogêneo em termos macroscópicos, e apresentou o melhor desempenho em análises iniciais. As outras formulações apresentaram instabilidade com relação à separação de fases, em também em curtos espaços de tempo (20 dias) e não apresentaram resultados satisfatórios, não sendo utilizadas em ensaios posteriores. O comportamento termodinâmico das emulsões pode estar relacionado ao tipo de surfactante utilizado, e a termoestabilidade é o que distingue as nanoemulsões ou microemulsões das emulsões que possuem estabilidade cinética (Gharibzahedi; Mohammadnabi, 2016; García Vior *et al.*, 2011).

Figura 15 – Formulação de nanoemulsão com 5% de OE; 10% de Tween 20 e 85% água.



Fonte: Autora (2024).

5.4 Caracterização das nanoemulsões

A Tabela 5 fornece uma visão dos valores de tamanho médio de partícula, potencial zeta (ζ), índice de polidispersão (PDI) e pH da nanoemulsão que passou nos testes de estabilidade termodinâmica, parâmetros esses que servem para avaliação da instabilidade das nanoemulsões (Oliveira *et al.*, 2017).

A caracterização da nanoemulsão revelou um tamanho de partícula de 94,12 nm, o que sugere uma formulação caracterizada como nanoemulsão devido ao seu tamanho < 500 nm, o que reflete em sua aparência translúcida. É sabido que o tamanho de partícula tem um impacto direto na consistência, aparência, biodisponibilidade e na textura do produto (MOHAMMED *et al.*, 2020; MISHRA *et al.*, 2023).

Tabela 5 – Caracterização da nanoemulsão com óleo essencial de *D. riparius*

	NOE
Tamanho de partícula (nm)	94,12
Potencial ζ (mV)	-17,14

	NOE
Índice de Polidispersão	0,29
pH	4,35

Fonte: Própria autora (2024).

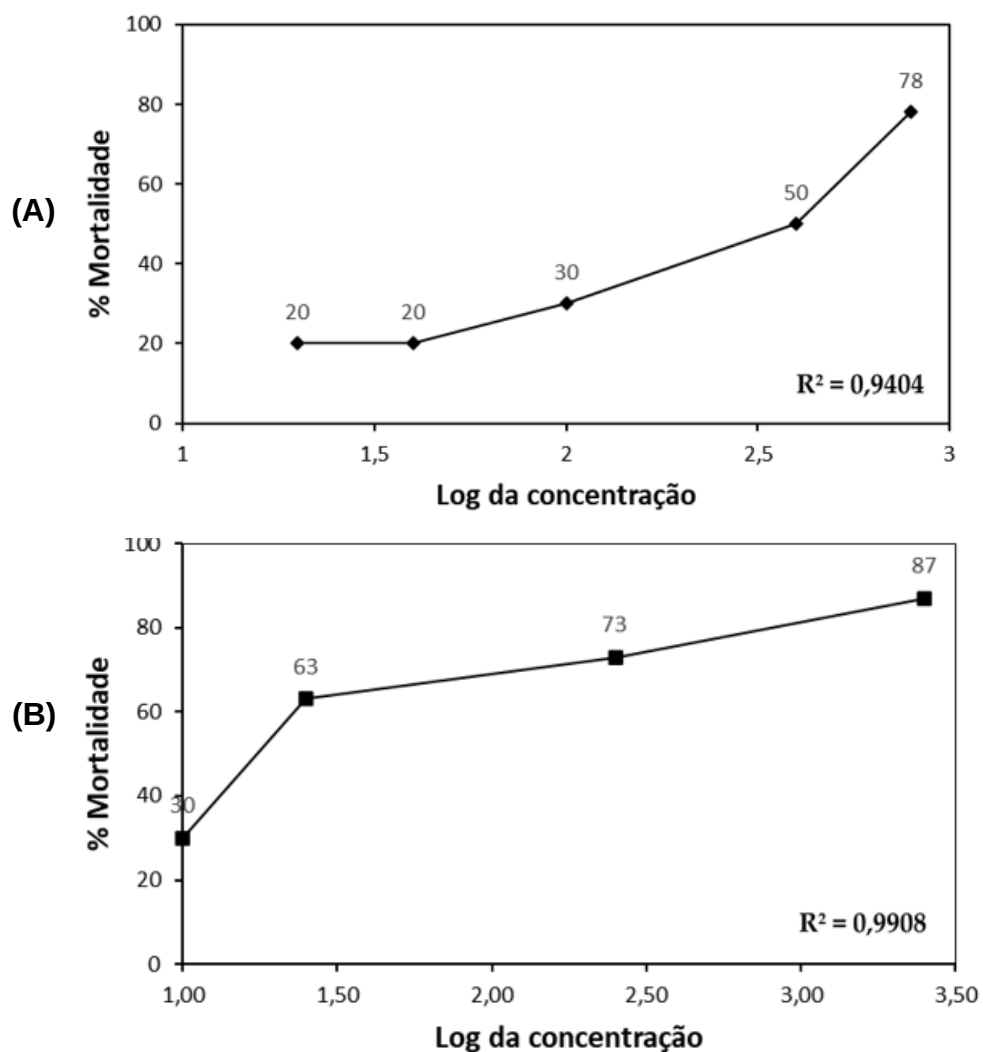
A nanoemulsão (NOE) apresentou um PDI relativamente baixo ($<0,3$) indicando uma solução com baixa polidispersividade, demonstrando uma distribuição estreita do tamanho das partículas, inferindo uma maior estabilidade física, uma vez que de acordo com Gibis *et al.* (2013), um PDI $>0,5$ indica uma distribuição de partícula grande. Ao analisar o potencial hidrogeniônico (pH), a nanoemulsão apresentou um pH ácido (4,35), o que afeta o potencial ζ da nanoemulsão. O pH da formulação pode estar sendo influenciado pelos excipientes (Ferreira *et al.*, 2016).

O pH ácido ligado a um potencial ζ negativo, sugere que a nanoemulsão permaneceu estável e resistiu a agregação, fator esse crucial para a sua eficácia como sistemas de liberação. Um valor absoluto mais alto do potencial ζ (± 30 mV) geralmente se correlaciona com uma maior estabilidade, pois ajuda a evitar a agregação das partículas impedindo a coalescência, e o valor encontrado nesse estudo de -17 mV é característico de nanoemulsões do tipo óleo em água (Junior *et al.*, 2013; Mohammed *et al.*, 2020; Mustafa *et al.*, 2024). Os parâmetros de caracterização analisados, são de extrema importância para o comportamento da nanoemulsão em análises biológicas, principalmente nas *In vivo* (Yazgan 2020, Mishra *et al.*, 2023). A nanoemulsão foi usada para as demais atividades.

5.5 Toxicidade

Os resultados para a toxicidade frente *A. salina* encontram-se expressos na Figura 16 e Tabela 6. Em relação à avaliação da mortalidade de náuplios, o percentual nas maiores concentrações do óleo essencial (800 mg L^{-1}) foi equivalente a 78% e 87% para a nanoemulsão (2500 mg L^{-1}), em 24 horas de exposição. Os valores mostram um efeito dependente da dose, evidenciado por um aumento exponencial na taxa de mortalidade (Figura 16), o que reforça essa relação e influencia diretamente na concentração letal 50% das amostras de estudo.

Figura 16 – Gráfico do log da concentração versus mortalidade da *A. salina* frente ao (A) óleo essencial e (B) nanoemulsão de *D. riparius*.



Fonte: Autora (2024).

Tabela 6 – Toxicidade frente à *A. salina* com CL_{50} para ação de *D. riparius*.

	Conc. (mg L ⁻¹)	% Mortalidade	CL_{50} mg L ⁻¹
OE <i>D. riparius</i>	800	78	420,2
	400	50	
	100	30	
	40	20	

	Conc. (mg L ⁻¹)	% Mortalidade	CL ₅₀ mg L ⁻¹
	20	20	
	2500	87	
	250	73	
	25	63	24,9
	10	30	
Nanoemulsão <i>D. riparius</i>			
	Controle positivo ^a		Todos os náuplios inativos
	Controle negativo ^b		Todos os náuplios ativos

Legenda: ^aDicromato de potássio, ^bTween20 e solução salina.

Fonte: Autora (2024).

É perceptível que o OE apresentou uma concentração letal 50% superior, sendo considerado atóxico por apresentar CL₅₀ > 250 mg L⁻¹ e a nanoemulsão exibiu um valor muito inferior, apresentando alta toxicidade no bioensaio ocasionando letalidade em *A. salina*, o que pode refletir nas atividades biológicas a que for submetida.

Devido à presença majoritária de compostos oxigenados, a análise de toxicidade do OE e NOE de *D. riparius* é um grande apoio para as diversas atividades biológicas, servindo de parâmetro para estudos toxicológicos mais profundos que venham indicar o grau de toxicidade a nível celular (citotóxico, mutagênico e genotóxico) (Mallmann *et al.*, 2021).

Os estudos na literatura referente a toxicidade pelo bioensaio de *A. salina*, que fazem uso do óleo essencial e nanoemulsão de *D. riparius*, ainda se encontram escassos e pouco divulgados. No entanto, resultados relacionados à toxicidade obtidos por Godinho (2024) demonstraram não haver toxicidade para os extratos aquoso das folhas de *D. riparius* do morfotipo branco e baixa toxicidade (337,6 µg mL⁻¹) para o acetato de etila. Já Martins (2022) relatou alta toxicidade em seus extratos de acetato de etila e metanólico para as folhas de *D. riparius* do morfotipo lilás, com CL₅₀ < 100 mg L⁻¹ e em relação ao extrato aquoso sua CL₅₀ > 2000 mg L⁻¹, sendo considerado atóxico. Em estudos de plantas da mesma família (Plantaginaceae), Rahamouz haghghi *et al.* (2022) comprovaram baixa toxicidade para os óleos

essenciais de *Plantago lanceolata* ($CL_{50} = 2242,57 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *Plantago major* ($CL_{50} = 1783,7 \mu\text{g mL}^{-1}$) frente à *A. salina*.

O estudo das plantas tóxicas vem ganhando importância, pois não apenas esclarece diversos aspectos dos casos de intoxicação, como também oferece compostos em potencial para o desenvolvimento de medicamentos. Apesar de serem benéficas, algumas plantas e seus derivados podem apresentar propriedades tóxicas, dependendo do seu estágio de desenvolvimento e concentração, interligada a presença e consequente variação dos seus metabolitos, sendo necessário avaliações de toxicidade (Cruz *et al.*, 2020; Ebadollahi-Natanzi; Arab-Rahmatipour, 2023).

5.6 Atividade antimicrobiana

A ação antimicrobiana do OE de *D. riparius* e NOE foram analisadas ao todo em 8 patógenos sendo determinado seus valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) (Tabela 7).

Tabela 7 – Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial e nanoemulsão de *D. riparius*.

Patógenos	OE	NOE
Fungos		
<i>Aspergillus niger</i>	31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	NI
<i>Colletotrichum gloeosporioids</i>	15,62 $\mu\text{g mL}^{-1}$	3,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Penicillium chrysogenum</i>	15,62 $\mu\text{g mL}$	NI
Bactérias		
<i>Escherichia coli</i>	62,50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1,56 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,62 $\mu\text{g mL}^{-1}$	NI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	500,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Bacillus cereus</i>	31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Salmonella typhi</i>	7,812 $\mu\text{g mL}^{-1}$	NI

Legenda: NI – não teve inibição perceptível.

Fonte: Autora (2024).

O óleo essencial e a nanoemulsão exibiram efeitos inibitórios. Dessa forma, todos os resultados apresentados foram considerados de alto potencial devido aos baixos valores de CIM em comparação com a literatura de padronização de Aligiannis *et al.* (2001) que determinaram inibição forte com valores abaixo de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e inibição moderada com CIM's entre 600 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O óleo essencial de *D. riparius* apresentou atividade frente a todas as cepas testadas tanto para as gram-negativas quanto as gram-positivas, destacando-se o melhor efeito de inibição frente a cepa bacteriana *S. typhi* (7,812 $\mu\text{g mL}^{-1}$), seguido por *S. aureus* (15,62 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e aos fungos: *C. Gloesporioides* (15,62 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *P. chrysogenum* (15,62 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

A nanoemulsão diminuiu consideravelmente as concentrações de ação inibitória mínima, porém não teve efeito sobre *S. aureus*, *S. typhi*, *P. chrysogenum*, e *A. niger*, não sendo perceptível ação de inibição. A *E. coli* apresentou sensibilidade excessiva, uma vez que uma concentração menor de nanoemulsão foi necessária com CIM de 1,56 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em comparação com o óleo essencial (CIM de 62,50 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Uma outra bactéria gram-negativa, a *P. aeruginosa*, também exibiu forte sensibilidade ao uso da nanoemulsão (CIM de 6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) enquanto para o óleo essencial só se observou ação inibitória com concentração CIM de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Todavia, em relação as cepas fúngicas, só foi perceptível efeito inibitório contra *C. Gloesporioides* com CIM de 3,12 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Martins *et al.* (2021) discutem a dificuldade de se prever o quão suscetível um microrganismo é e qual o motivo de variações de suscetibilidade entre as cepas, devido à variedade de alvos que os constituintes químicos apresentam.

Os resultados estão de acordo com o estudo de Balasubramani *et al.* (2017) que relataram que o crescimento bacteriano de *E. coli* foi inibido por uma nanoemulsão de *Vitex negundo* L. com valores CIM de 0,68 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o óleo essencial apresentou valor CIM de 3,28 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o patógeno. A ação antimicrobiana de *D. riparius*, embora ainda pouco explorada, já vêm sendo analisada através dos seus extratos e óleo essencial. Em comparação, Dias *et al.* (2018) obtiveram valores diferentes com uma CIM de 1,34 mg mL^{-1} do óleo essencial de *D. riparius* tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus*. Em estudos direcionados por Corrêa *et al.* (2023) o OE de *D. riparius* inibiram o desenvolvimento do fungo *C. gloeosporioides in vitro* (concentração de 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$), e em variações dos frutos de manga.

No entanto, os extratos de acetato de etila, metanólico e aquoso de *D. riparius* avaliados por Martins (2022) apresentaram valores de CIM de 12,50 mg mL⁻¹ para *E. coli* e *P. aeruginosa* e CIM que variaram de 1,56 a 12,50 mg mL⁻¹ para *S. aureus*. No estudo realizado por Huong *et al.* (2021), o óleo essencial dos rizomas de *Elettariopsis triloba* (Zingiberaceae) que contém 23% de Canfeno e 12,7% de acetato de fenchil também demonstrou atividade antimicrobiana frente as bactérias gram-positivas de *S. aureus* e *B. cereus* com valores de CIM de 256 µg mL⁻¹ e 32,0 µg mL⁻¹, respectivamente, e não exibiu CIM em relação as gram-negativas: *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Segundo Balasubramani *et al.* (2017), os compostos lipofílicos dos óleos essenciais podem promover danos à membrana celular, o que afeta fortemente a homeostase do pH e o equilíbrio dos íons inorgânicos. Lima *et al.*, (2017) demonstram que o carvacrol, que está presente na matriz do óleo essencial e nanoemulsão deste estudo, pode exercer um efeito potencializador da atividade antimicrobiana, sugerindo que essa ação biológica se deve às deformações da membrana celular causadas por este composto. Relatando também que a atividade antimicrobiana pode ser favorecida devido a existência de núcleos aromáticos com grupos polares que podem estabelecer ligações de hidrogênio com enzimas microbianas.

De acordo com a literatura, os óleos essenciais e as nanoemulsões têm uma ação antimicrobiana não específica, ao contrário dos antibióticos que têm uma atividade antibacteriana particular, porém as nanoemulsões permitem uma ação de grande alcance, ao mesmo tempo em que reduz o risco de resistências, sendo adequadas para tratamentos tópicos e descontaminação de superfícies (Mustafa *et al.*, 2024).

5.7 Capacidade anti-inflamatória

A Tabela 8 informa os resultados referente a capacidade anti-inflamatória do OE e nanoemulsão (O/A) estável obtidos em Concentração Eficiente 50% de inibição da desnaturação proteica de albumina com avaliação espectrofotométrica. Sendo também corroborado pelo aumento da turbidez que as soluções analisadas apresentaram.

Tabela 8 – Capacidade anti-inflamatória do óleo essencial e nanoemulsão.

<i>D. riparius</i>	CE ₅₀ µg mL ⁻¹	Parâmetros da equação	R ²
OE	36,59 ± 0,05	a= 17,995 b= 21,868	0,9970
NOE	42,84 ± 0,09	a= 9,3572 b= 34,73	0,9902

Fonte: Autora (2024).

A partir da tabela 6, notou-se que o óleo essencial (36,59 ± 0,05 µg mL⁻¹) e a nanoemulsão (42,84 ± 0,09 µg mL⁻¹) mostraram capacidade de inibir a desnaturação da proteína, sendo avaliados como tendo um potencial anti-inflamatório bastante ativo, de acordo com Jonville *et al.* (2011), que classificaram o potencial de atividade anti-inflamatória ativo ao ter uma CE₅₀ < 130 µg mL⁻¹. Apesar de a CE₅₀ do OE ter se destacado em relação à nanoemulsão de *D. riparius*, a bioformulação ainda apresenta concentração próxima e se destaca pelo diferencial na biodisponibilidade terapêutica de aplicação, além de consumir menos ingredientes ativos, mantendo-se como um sistema de entrega promissor.

Os componentes bioativos presentes no óleo essencial e nas nanoemulsões podem ter uma ligação direta com a atividade anti-inflamatória, protegendo os diferentes mecanismos de desnaturação que podem envolver alterações na ligação eletrostática, de hidrogênio, dissulfeto ou hidrofóbica (Agnish *et al.*, 2022; Belkhodja *et al.*, 2022). Infere-se que o potencial anti-inflamatório do óleo essencial e da nanoemulsão de *D. riparius* pode ser atribuído à presença de compostos como o acetato de fenchil e (*E*)-cariofileno, encontrados também em outras plantas e relatados anteriormente como possuidores de atividade anti-inflamatória (Chandrakanthan *et al.*, 2020; Lorençoni *et al.*, 2020; Umaru *et al.*, 2020).

Ainda são poucos os estudos sobre a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *D. riparius* e nanoemulsão, que utilizam o método de desnaturação de proteína. Assim, os resultados foram comparados a pesquisas que mostraram o acetato de fenchil como majoritário. Upadhyay *et al.* (2023) em seus estudos comprovaram a ação anti-inflamatória do óleo essencial de *Strobilanthes angustifrons*

(IC₅₀ 9,6 ± 0,57 µL mL⁻¹) e *Strobilanthes glutinosa* (IC₅₀ 22,08 ± 0,43 µL mL⁻¹), constituídos de acetato de fenchil (72% e 41,7%, respectivamente) utilizando também o método de desnaturação.

A atividade anti-inflamatória por desnaturação de albumina também pode ser observada em formulações. Segundo Najda *et al.* (2022), a nanoemulsão de extrato de *Woodfordia fruticosa* exibiu ação inibitória da desnaturação de proteína com variações de 55,36% – 83,58% para concentrações de 20 – 100 µg mL⁻¹. Nesse mesmo sentido, Bogéa *et al.* (2024) encontraram resultados próximos com uma CE₅₀/IC₅₀ de 31,59 µg mL⁻¹ para microemulsão de *Attalea speciosa*.

Dessa forma, as propriedades anti-inflamatórias *in vitro* do óleo essencial de *D. riparius* e sua nanoemulsão são reforçadas, demonstrando ser possível prosseguir com investigações *in vivo*, uma vez que a liberação de mediadores pró-inflamatórios no organismo está vinculada à desnaturação, que atua em processos inflamatórios. Esses mediadores causam danos teciduais, resultando em doenças e síndromes inflamatórias (Chen *et al.*, 2018; Yesmin *et al.*, 2020; De Freitas Rocha, 2023).

5.8 Atividade ovicida, larvicida e adulticida

Os testes realizados neste estudo revelaram resultados promissores para o OE e NOE de *D. riparius*, que estão relacionados à ação contra o *Aedes aegypti*. No entanto, o OE e sua formulação não mostraram concentrações efetivas de inibição da viabilidade dos ovos de *Aedes aegypti*, não sendo possível determinar uma IC₅₀ e determinar sua eficácia para o controle de ovos.

Na Tabela 9 estão descritas as Concentrações Letais do OE e NOE de *D. riparius* para inibir 50% da população de *Aedes aegypti* em sua fase larval e adultos. Os ensaios larvicidas e adulticidas foram conduzidos sob condições controladas, sendo os parâmetros estatísticos aferidos pelo método estatístico Probit.

Tabela 9 – Concentrações de Letalidade de *D. riparius* frente à *A. aegypti*.

	<i>D. riparius</i>	CL ₅₀ mg L ⁻¹	χ ²	R ²
Larvicida ^b	OE	371,676 ± 0,44	0,999	0,890
	NOE	13,289 ± 0,62	0,591	0,890
Adulticida	OE	1094,12 ± 5,11	0,9988	0,9922
	NOE	995,14 ± 4,11	0,9912	0,9988
Controle negativo ^a		Todos permaneceram vivos.		

Legenda: ^aTween20 e DMSO. ^bTodos morreram no controle positivo: Temefós.

Fonte: Autora (2024).

A partir da Tabela 9 é possível observar que o óleo essencial de *D. riparius* demonstrou ação significativa frente a fase larval de *Aedes aegypti*, com uma CL₅₀ correspondente a 371,676 ± 0,44 mg L⁻¹, apresentando uma ação larvicida efetiva. A nanoemulsão de *D. riparius* teve sua CL₅₀ estabelecida em 13,289 ± 0,62 mg L⁻¹, indicando uma atividade com alto potencial larvicida e sugerindo que concentrações relativamente menores da NOE podem levar a mortalidade substancial das larvas, sendo classificada como muito ativa por apresentar CL₅₀ < 50 mg L⁻¹, pois Komalamisra *et al.* (2005) e Dias; Moraes (2014) consideraram produtos que apresentam CL₅₀ < 50 mg L⁻¹ como altamente ativos, 50 mg L⁻¹ ≤ CL₅₀ ≤ 100 mg L⁻¹ como ativos, 100 mg L⁻¹ < CL₅₀ ≤ 750 mg L⁻¹ como eficazes e CL₅₀ > 750 mg L⁻¹ como inativos, no que se refere a larvas de *Aedes aegypti*.

O potencial larvicida eficiente do gênero *Dizygostemon* vem sendo estudado dentro da literatura nos últimos anos o que reforça a importância desse estudo. Teles *et al.* (2019) observaram uma CL₅₀ de 456,3 ± 5,8 µg mL⁻¹ para o óleo essencial de *D. riparius*, enquanto Brandão *et al.* (2020) já encontrou as CL₅₀ 296.5 mg L⁻¹, 311,2 mg L⁻¹ e 329,6 mg L⁻¹ para o óleo essencial de *D. riparius* e seus majoritários (acetato de Fenchila e Fenchol), respectivamente, em relação ao *Aedes albopictus*. Percebe-se com isso que o óleo essencial de *D. riparius* desse estudo apresentou valores

contundentes e que o potencial dessa espécie pode estar relacionado diretamente as sinergias e as combinações envolvidas dos seus compostos.

Foi possível estabelecer uma CL_{50} para o OE e NOE de *D. riparius* ($1094,12 \pm 5,11 \text{ mg L}^{-1}$ e $995,14 \pm 4,11 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente) a respeito da população adulta de *Aedes aegypti*. Contudo, ambos tiveram uma atividade adulticida/inseticida apontada como limitada, pois revelaram valores de CL_{50} maiores que os encontrados por Távora *et al.* (2023) em relação ao óleo essencial de *Cymbopogon citratus* ($234,24 \mu\text{g mL}^{-1}$) e os por Duque *et al.* (2023), em que todos os óleos essenciais testados no período de 24h exibiram uma $CL_{50} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Não foram encontrados estudos que versem sobre a bioatividade inseticida/larvicida da NOE de *D. riparius* frente ao vetor transmissor de arboviroses, *Aedes aegypti*. Entretanto, Balasubramani *et al.* (2017), ao avaliar a atividade larvicida do OE de *Vitex negundo* L. em relação à sua nanoemulsão desenvolvida pelo método de baixa energia, obtiveram uma CL_{50} de $77,35 \text{ mg L}^{-1}$ maior para o OE e uma CL_{50} $28,84 \text{ mg L}^{-1}$ menor para a nanoemulsão, o que corrobora com a questão de que o uso de bioformulações tende a aprimorar a ação de produtos naturais.

O tamanho da partícula da nanoemulsão, bem como a presença de compostos como β -cariofileno, cânfora e α -humuleno são apontados como fatores que podem estar relacionados à atividade larvicida, compostos estes que também se fazem presente no OE abordados nesse estudo e se mantêm presentes em sua nanoemulsão (Balasubramani *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2016). Dessa forma, o mecanismo de ação do OE e seu bioproducto podem estar relacionados a uma interação com as células do vetor, causando efeitos neurotóxicos e levando até a uma possível deformação larval (Soonwera; Phasomkusolsil, 2016; Balasubramani *et al.*, 2017; Duque *et al.*, 2023). No entanto, mais estudos são necessários para confirmação dessas hipóteses.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos permitem concluir que é viável desenvolver uma nanoemulsão incorporada com o óleo essencial de *Dizygostemon riparius*, sugerindo a preservação dos compostos predominantes, como acetato de *endo*-fenchila, *endo*-fenchol, óxido de cariofileno e (E)-cariofileno. A nanoemulsão, com um tamanho de partícula reduzido (< 500 nm), potencial ζ -17,14 mV e um baixo índice de polidispersão (0,29), demonstrou um potente efeito larvicida contra larvas de *Aedes aegypti* nos estágios de terceiro e quarto instar.

Adicionalmente, a nanoemulsão apresentou ação antimicrobiana, uma vez que todas as cepas testadas foram sensíveis ao efeito antimicrobiano do óleo essencial. Contudo, embora a formulação tenha demonstrado uma inibição superior, observou-se uma certa seletividade em relação às cepas, não apresentando inibição em *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi*. Os resultados incentivam a continuidade de estudos mais aprofundados sobre os mecanismos de ação e de usabilidade do óleo e sua formulação no controle de determinados patógenos, dado o impacto significativo na população microbiana analisada.

A concentração eficiente para a ação anti-inflamatória, avaliada pelo método *in vitro* de desnaturação da albumina, apresentou valores promissores para o óleo essencial com CE_{50} de $36,59 \pm 0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ e a nanoemulsão com CE_{50} de $42,84 \pm 0,09 \mu\text{g mL}^{-1}$ da espécie de *D. riparius*, sugerindo que ambas podem minimizar o potencial de reações inflamatórias, sendo que o óleo essencial demonstrou melhor atividade nessa categoria. Todos os resultados alcançados foram satisfatórios e resolutivos para os parâmetros e atividades avaliadas, representando uma contribuição inédita para o estudo da nanoemulsão. A ampliação dos estudos com análises mais diretas pode ajudar a esclarecer a sua atuação em outras proteínas que estão relacionadas às reações inflamatórias.

Neste contexto, este estudo possibilitou o desenvolvimento de uma bioformulação com potencial biotecnológico para aplicação ecológica, eficiente e de baixo custo, que com mais análises visando sua utilização de forma segura, poderá se tornar um aliado na luta do controle e combate a microrganismos patogênicos e vetores transmissores de arboviroses. Além disso, nossos resultados fornecem novas

informações sobre essa espécie da família Plantaginaceae, ainda pouco explorada pela comunidade científica, ressaltando sua importância e incentivando o progresso de pesquisas mais aprofundadas sobre a aplicação do óleo essencial de *D. riparius* e suas bioformulações. Esses produtos bioativos têm se mostrado cada vez mais promissores para a ampliação do estudo de seu potencial biotecnológico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. **Gruver, TX USA: Texensis Publishing**, 2017.
- ALIGIANNIS, N. *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ALVES, N. V. *et al.* POTENCIAL FARMACOLÓGICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS: UMA ATUALIZAÇÃO. In: [s.l.]: **Editora Científica Digital**, 2022, v. 2, p. 144–160.
- ALMEIDA, P. S. *et al.* Governo do Estado de Mato Grosso do Sul: Secretaria de Estado de Saúde. **Curso de Identificação de Culicídeos de Importância Médica**, 2018. Disponível em: <<https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2023/02/Apostila-treinamento-CCV-SES-I-3.pdf>>. Acessado em: set. 2024.
- AGNISH, S. *et al.* Nanoemulsions (O/W) containing *Cymbopogon pendulus* essential oil: development, characterization, stability study, and evaluation of *in vitro* anti-bacterial, anti-inflammatory, anti-diabetic activities. **BioNanoScience**, v. 12, n. 2, p. 540–554, fev./mar. 2022.
- ANGANE, M. *et al.* Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. **Foods**, v. 11, n. 3, p. 464, Fev. 2022.
- ANSARI, M. K. A. *et al.* **Plants as Medicine and Aromatics: Uses of Botanicals**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2024.
- ANVISA (2013). **Guia para condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança necessários para o desenvolvimento de medicamentos**. Brasília. Disponível em: < <https://fitoterapiabrasil.com.br/biblioteca-virtual/guia-para-conducao-de-estudos-nao-clinicos-de-toxicologia-e-seguranca>>. Acessado em: set. 2024.
- AQEEL, U. *et al.* Regulation of essential oil in aromatic plants under changing environment. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 32, p. 100441, 2023.
- BACELAR, T. S. **Identificação de flavonoides e taninos em plantas medicinais pertencente a lista estadual de plantas medicinais comercializadas em um mercado público em Fortaleza-CE**. 2020. 29 p. Artigo (Graduação em Farmácia) – Centro Universitário Fametro, Fortaleza, 2020.
- BAKKALI. F. *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

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, dez./mai. 2017.

BAPTISTA, J.; CAMPOS, A. As Políticas Públicas de combate e controle da Dengue e de seu vetor *Aedes aegypti* no Brasil. **Revista dos Trabalhos de Iniciação Científica da UNICAMP**, n. 27, p. 1-1, out. 2019.

BARREIRAS, D. G. *et al.* Eficácia da ação antimicrobiana do extrato de própolis de abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 12, p. 1-5, 2020.

BELKHODJA, H. *et al.* *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory potential of *eucalyptus globulus* essential oil. **Journal of Applied Biological Sciences**, v. 16, n. 1, p. 80-88, mar./ago. 2022.

BOGÉA, M. D. C. M. *et al.* Potencialização do efeito anti-inflamatório de microemulsões do óleo de *Attalea speciosa* (babaçu) através da incorporação do óleo essencial de *Citrus x aurantium* L. (laranja-azeda). **Ciência e Natura**, v. 46, p. e73684, jan./ jul. 2024.

BOUKHATEM, M. N. *et al.* In Vitro Antifungal and Topical Anti-Inflammatory Properties of Essential Oil from Wild-Growing *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) Used for Medicinal Purposes in Algeria: A New Source of Carvacrol. *Scientia Pharmaceutica*, v. 88, n. 3, p. 33, 2020.

BRANDÃO, C. M. *et al.* Composition and Larvicidal Activity of the Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a New Aromatic Species Occurring in Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 17, n.11, p. 1-9, 18 set. 2020.

BRANDÃO, C. M. **Óleo essencial de *Dizygostemon* sp. (Plantaginaceae): composição química e investigação larvídica contra *Aedes***. 2018. 116 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Luís, 2018.

BRANDL, M. T. Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. **Phytopathology**, v.44, p.367-392, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monitoramento das arboviroses**. [Brasília]: MS, [2025?]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses> Acesso em: 03 fev. 2022.

BRASIL. Agência Brasil. **Casos de dengue em 2024 passam de 6,4 milhões; mortes somam 5,9 mil**. 2025. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2025-01/casos-de-dengue-em-2024-passam-de-64-milhoes-mortes-somam-59-mil>. Acesso em: 3 fev. 2025.

BRITO, G. S. *et al.* Nanoemulsions of essential oils against multi-resistant microorganisms: An integrative review. **Microbial Pathogenesis**, v. 195, p. 106837, 2024.

CANCI, L. A. **Potencial antimicrobiano de extratos de café na inibição de bactérias gram-positivas e gram-negativas**. 2020. 62 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2020.

CANSIAN, R. L. *et al.* Toxicidade e atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* de óleo essencial de citronella submetido à esterificação enzimática. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e244647, 2021.

CARVALHO, F. D. Um passeio pelo fantástico mundo dos mosquitos. Insetos na Educação, p. 163, 2023b.

CARVALHO, K. R. *et al.* Extrator alternativo e de baixo custo de óleos essenciais para obtenção de um repelente natural no combate à dengue, zika e chikungunya. **Revista Ceará Científico**, v. 2, n. 3, p. 83-90, 2023a.

CHANDRAKANTHAN, M. *et al.* Topical Anti-Inflammatory Activity of Essential Oils of *Alpinia calcarata* Rosc., Its Main Constituents, and Possible Mechanism of Action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, n. 1, p. 2035671, fev./abr. 2020.

CHAPMAN, H. *et al.* The Effect of Varying Salinity on Larval Survival and Pupation Rates in the Yellow Fever Mosquito (*Aedes aegypti*). **The Expedition**, v. 13, 2022.

CHAVDA, V. P. *et al.* Nanoemulsions: Summary of a Decade of Research and Recent Advances. **Nanomedicine**, v. 19, n. 6, p. 519–536, mar. 2024.

CHEN, H.; DAVIDSON, P. M.; ZHONG, Q. Impacts of Sample Preparation Methods on Solubility and Antilisterial Characteristics of Essential Oil Components in Milk. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 3, p. 907–916, set./nov. 2014.

CHEN, L. *et al.* Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**, v. 9, n. 6, p. 7204, jan./dez. 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). CLSI M100: **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard**. 30. ed. p. 1- 416. 2020.

CORRÊA, L. A. D. *et al.* Antifungal potential of essential oils from *Pectis brevipedunculata* and *Dizygostemon riparius* in anthracnose control in mango. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 45, p. e-889, 2023.

COSTA, I. C. *et al.* Development of jojoba oil (*Simmondsia chinensis* (Link) CK Schneid.) based nanoemulsions. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 33, n. 3, p. 459-463, dez./jan. 2014.

CRUZ, C. K. S. *et al.* The use of medicinal plants in the treatment of obesity: an integrative review. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e439997167-e439997167, jul./ago. 2020.

CUSSOLIM, P. A. *et al.* Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista faculdades do saber**, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021.

DA COSTA, M. E. M. Revisão bibliográfica do perfil fitoquímico e atividades biológicas da *Turnera subulata* SM. **Biodiversidade**, v. 22, n. 2, 2023.

DA CRUZ, I. L. S. *et al.* Da História às Práticas Modernas: a Função dos Óleos Essenciais na Sustentabilidade e no Controle de Insetos. **Revista Mosaico**, v. 15, n. 2, p. 86-96, 2024.

DA CUNHA, T. R. *et al.* Efeito antifúngico em *Aspergillus* spp. por extratos e partições de folhas de *Ocotea indecora* obtidos por diferentes solventes. **Anais do II Simpósio Nacional de Microbiologia Veterinária**, p. 24.

DA SILVA SANTOS, A. L. *et al.* Composição química, atividade larvicida, inseticida e repelente e larvicida de óleos essenciais frente ao *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e37611225711-e37611225711, jan.2022.

DA SILVA, M. A. D. *et al.* Alelopatia de espécies da Caatinga. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e57610414328-e57610414328, 24 abr. 2021.

DA SILVA, M. G. *et al.* A importância dos ensaios de toxicidade para o desenvolvimento e o registro de fitoterápicos no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e538101220137-e538101220137, 2021.

DA SILVA, T. *et al.* Ação de diferentes óleos essenciais no controle *in vitro* de *Colletotrichum musae* da bananeira. **Revista Ifes Ciência**, v. 10, n. 1, p. 01-12, dez./jun. 2024.

DALMOLIN, J. *et al.* Mecanismos de expressão de resistência aos antibióticos e saúde pública. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 26, n. 3, 2022.

DE ARAÚJO, É. J. F. *et al.* Aspectos toxicológicos da planta medicinal *Casearia sylvestris* Swartz: revisão de literatura. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, 2014.

DE BRITO, G. B.; TREVISAN, M. O uso indevido de antibióticos e o eminente risco de resistência bacteriana. **Revista Artigos. Com**, v. 30, p. e7902-e7902, 2021.

DE FIGUEIREDO, A.R. *et al.* Atividade biofúngica do óleo essencial de orégano no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*. 2020.

DE FREITAS ROCHA, J. *et al.* In vitro anti-inflammatory activity and ameliorative effects on gastric ulcers of *Licania rigida* Benth seed extract. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 5, p. 2631-2640, Jul. 2023.

DE FRIAS GONÇALVES, F.; DOS SANTOS GARCIA-GOMES, A. Uma breve revisão sobre o risco associado ao consumo de ovo cru. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 4, n. 1, 2023.

DE JESUS, L. C. L. *et al.* Influência da sazonalidade no rendimento, composição química e atividade fito e citogenotóxica do óleo essencial de *Psidium cattleianum* Sabine. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 6, p. e4427-e4427, 2024.

DE MELO, A. F. M. *et al.* Alecrim (*rosmarinus officinalis* L.) Atividade anti-inflamatória: uma revisão de literatura. **Revista de Casos e Consultoria**, v. 12, n. 1, p. e24346-e24346, mar./jun. 2021.

DE SOUSA, K. O. *et al.* Gestão sustentável de resíduos sólidos e sua influência no controle da dengue: Revisão integrativa da literatura. **Revista Políticas Públicas & Cidades**, v. 13, n. 1, p. e756-e756, 2024.

DHIMAN, V. *et al.* A brief review on pharmacological and phytochemical activity of *Plantago major* LINN. A review. **International Journal of Health Sciences**, v. 6, n. S3, p. 11126-11135, 2022.

DI FONZO, I. A. **Estudo dos efeitos antimicrobianos e antioxidantes de óleos essenciais aplicados contra patógenos alimentícios**. 2024. 30 p. Dissertação (Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de São Carlos, Buri, 2024.

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

DIAS, G. P. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial da Plantaginaceae *Dizygostemon* sp. Frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA. 58., Centro Pedagógico Paulo Freire da Universidade Federal do Maranhão. **Anais [CBQ]**, p. 1-2, 2018.

DIAS, Í. K. R. *et al.* Ações educativas de enfrentamento ao *Aedes Aegypti*: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, n. 1, p. 231–242, jan. 2022.

Dolabela, M. F. **Triagem in vitro para atividade antitumoral e antitrypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. 1997. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

DONSÌ, F. *et al.* Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1908-1914, 2011.

DOS SANTOS FILHO, L. G. A. *et al.* Detecção da atividade antibacteriana *in vitro* de compostos naturais à base de plantas: metodologia científica. **Embrapa**, Teresina, PI, 254, ISSN 0104-7647, 2019.

DOS SANTOS, R. M. *et al.* Composição Química e Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais das Folhas da *Schinus terebinthifolius* e *Siparuna guianensis*. **Revista Virtual de Química**, v. 15, n. 2, 2023.

DUQUE, J. E. *et al.* Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, out./fev. 2023.

EBADOLLAHI-NATANZ, A.; ARAB-RAHMATIPOUR, G. An Overview on Toxicity, Adverse Effects and Therapeutic Properties of Some Medicinal Plants. **Razi Journal of Medical Sciences**, v. 30, n. 7, p.1-1. nov. 2023.

EL ASBAHANI, A. *et al.* Essential oils: from extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

ELKOTAMY, M. S. *et al.* Spiro-fused indoline-quinazoline hybrids as smart bombs against TNF- α -mediated inflammation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 283, p. 137554, 2024.

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.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 6.ed. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 609, Dispõe sobre a aprovação da Farmacopeia Brasileira, v.1, n.1, p. 1-909, 2019. Disponível em:< <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>> Acessado em: 05 out. 2024.

FELIZARDO, M. G. A. C. *et al.* Chemical profile, stability and fungicide activity of oil-in-water nanoemulsion (O/A) incorporated with Ba-har essential oil. **Ciência e Natura**, v. 43, n.1, p. e57-e57, jan./jul. 2021.

FERREIRA, E. T. *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019.

FERREIRA, L. M. *et al.* Pomegranate seed oil nanoemulsions improve the photostability and in vivo antinociceptive effect of a non-steroidal anti-inflammatory drug. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 144, p. 214-221, 2016.

FERREIRA, M. C. *et al.* Bioactivity of essential oils of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) on *Tetranychus neocaledonicus* (Acari: Tetranychidae). 2024. Disponível em: <<https://www.researchsquare.com/article/rs-4396767/v1>>. Acesso em: 2 fev. 2025.

FERRERO-MILIANI, L. *et al.* Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 147, n. 2, p. 227-235, 2007.

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

FIERASCU, R. C. *et al.* Selected aspects related to medicinal and aromatic plants as alternative sources of bioactive compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1521, 2021.

FORATTINI, O. P. Entomologia medica vol. I Faculdade de Higiene e Saúde Pública. **São Paulo, Brazil**. pp, 1962. 662 p.

FRANCO, N. A. C. *et al.* Extrato aquoso de resíduo do processamento de *Lentinula edodes* no controle de fungos fitopatogênicos. **Energia na agricultura**, v. 37, n. 4, p. 23-28, 2022.

FRAZÃO, L. F. N. *et al.* Aspectos imunológicos durante o processo inflamatório: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, p. e7912340455-e7912340455, fev. 2023.

FREITAS, L. A.; DE OLIVEIRA, T. C. Atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais de três espécies de Lamiaceae: uma revisão de literatura. **Rev Bras Plantas Med/Braz J Med Plants**, v. 22, n.1, p. 70-78, ago./fev. 2020.

FIROOZIYAN, S. *et al.* Nanoemulsion of Myrtus communis essential oil and evaluation of its larvicidal activity against Anopheles stephensi. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 9, p. 104064, 2022.

FRONZA, M. *et al.* Óleos essenciais como alternativa de renda em áreas de sistemas silvipastoril. In: **Sistemas Integrados de Produção: Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias**. Editora Científica Digital, 2021. p. 165-183.

FUNASA. Fundação Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. Brasília-DF, 2001.

FUNASA, **Direção do Centro Nacional de Epidemiologia**. Plano de intensificação das ações de prevenção e controle da Febre Amarela. Brasília-DF, jul. 2002.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Imagens larvas do *Aedes aegypti*. Disponível em: <<https://www.ioc.fiocruz.br/dengue/galeria/data/images1/80.jpg>>. Acessado em: 11 set. 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Imagens ovo do *Aedes aegypti*. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/galeria/galeria.html>>. Acessado em: 11 set. 2024.

GALVÃO, F. S. *et al.* Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 8, p. e202300864, ago. 2023.

GARCEZ, W. S. *et al.* Substâncias de origem vegetal com atividade larvica contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, mai./out. 2013.

GARCÍA VIOR, M. C. *et al.* A comparative study of a novel lipophilic phthalocyanine incorporated into nanoemulsion formulations: Photophysics, size, solubility and thermodynamic stability. **Dyes and Pigments**, v. 91, n. 2, p. 208–214, jan./mar. 2011.

GETTY IMAGES. Imagem do mosquito do *Aedes aegypti*; jornal joca. Disponível em: < <https://www.jornaljoca.com.br/dengue-entenda-e-se-proteja-2/>>. Acessado em: 11 de set. 2024.

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; MOHAMMADNABI, S. Characterizing the novel surfactant-stabilized nanoemulsions of stinging nettle essential oil: Thermal behaviour, storage stability, antimicrobial activity and bioaccessibility. **Journal of Molecular Liquids**, v. 224, p. 1332–1340, ago./dez. 2016.

GIBIS, M. *et al.* Physical and oxidative stability of uncoated and chitosan-coated liposomes containing grape seed extract. **Pharmaceutics**, v. 5, n. 3, p. 421–433, jun./ago. 2013.

GODINHO, A. S. **Investigação da composição química e atividade larvicida contra *Aedes aegypti* de extratos do morfotipo de flor branca da *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae)**. 2024. 108 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Luis, 2024.

GOMES, V. O.; SARINHO, V. T.; DE SANTANA, F. ZikAcerte-Um Jogo de Mensagens Instantâneas para Conscientização Sobre o *Aedes aegypti* e suas Doenças. **Anais do XVIII SBGames. Rio de Janeiro, RJ.** <https://sol.sbc.org.br/index.php/erbase/article/view/8950>, 2019.

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.

HAMIDIAN, M. *et al.* Biological activity of essential oils from *Ferulago angulata* and *Ferula assa-foetida* against food-related microorganisms (antimicrobial) and *Ephestia kuehniella* as a storage pest (insecticidal); an in vitro and in silico study. **Fitoterapia**, v. 175, p. 105937, nov./mar. 2024.

HAMMAMI, S. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from the aerial parts of *Plantago afra* L. (*Plantaginaceae*) growing wild in Tunisia. **South African Journal of Botany**, v. 132, p. 410–414, ago. 2020.

HARI, I.; MATHEW, N. Larvicidal activity of selected plant extracts and their combination against the mosquito vectors *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 9176–9185, out./fev. 2018.

HERNANDES, Karoline Massari. Avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais frente a diferentes espécies de dermatófitos: uma revisão da literatura. 2021.

HUONG, L. T.; LINH, L. D.; OGUNWANDE, I. A. Chemical Compositions of Essential Oils and Antimicrobial Activity of *Elettariopsis triloba* from Vietnam. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 2, p. 201–208, ago./mai. 2021.

JAMIR, Y. *et al.* Plant-based essential oil encapsulated in nanoemulsions and their enhanced therapeutic applications: An overview. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 121, n. 2, p. 415–433, fev. 2024.

JONVILLE, M. C. *et al.* Antiplasmodial, anti-inflammatory and cytotoxic activities of various plant extracts from the Mascarene Archipelago. **Journal of ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 525-531, mai./jul. 2011.

JUNIOR, E. DA S. *et al.* Formação de nanoemulsões do tipo óleo em água contendo óleo de semente de romã. **Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas**, v. 14, n. 1, p. 115–122, abr./ago. 2013.

JUNIOR, P. P. G. *et al.* Efeito larvívica do extrato das folhas de *Caryocar coriaceum* Wittm. Sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera: Culicidae). **Seven Editora**, p. 7-18, 2024.

KENFAOUI, J. *et al.* The potency and effectiveness of six essential oils in controlling grapevine trunk diseases in Morocco. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 6, p. 100053, 2023.

KOMALAMISRA, N. *et al.* Screening for larvicidal activity in some thai plants against four mosquito vector species. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 36, n. 6, p. 1412-1422, nov. 2005.

KOTWISKI, F. O. *et al.* Development of a nanoemulsion containing *Lippia organoides* essential oil with antifungal activity by low energy method: From extraction to formulation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 102, p. 106392, 2024.

LATHAM, K. **Gram-Positive vs. Gram-Negative**. **Biology Dictionary**, jan. 2021. Disponível em: <<https://biologydictionary.net/gram-positive-vs-gram-negative/>>. Acessado em: 10 set. 2024

LANZERSTORFER, P. *et al.* Acute, reproductive, and developmental toxicity of essential oils assessed with alternative in vitro and in vivo systems. **Archives of Toxicology**, v. 95, p. 673-691, Nov. 2021.

LI, Y. *et al.* Larvicidal, acetylcholinesterase inhibitory activities of four essential oils and their constituents against *Aedes albopictus*, and nanoemulsion preparation. **Journal of Pest Science**, v. 96, n. 3, p. 961-971, 2023.

LIMA, A. A. **Plantas medicinais utilizadas na comunidade genipapo no município de Remígio-PB: a fitoquímica como aliada do conhecimento popular**. 2024. 64 p. Dissertação (Graduação em Química) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2024.

LIMA, D. S. D. *et al.* Estudo da atividade antibacteriana dos monoterpenos timol e carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de β -lactamases de amplo espectro. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1, jun. 2017.

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, jan./mar. 2020.

LIMA, T. P. *et al.* Chemical profile, thermodynamic stability and fungicidal activity of the nanoemulsion incorporated with essential oil and hydroalcoholic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM. Perry. **Ciência Nat**, v. 43, p. e77, 2021.

LOPES MARTINS, R. *et al.* Development of larvicide nanoemulsion from the essential oil of *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng against *Aedes aegypti*, and its toxicity in non-target organism. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 103148, jun. 2021.

LORENÇONI, M. F. *et al.* Chemical composition and anti-inflammatory activity of essential oil and ethanolic extract of *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 252, p. 112562, abr. 2020.

LORENZETTI, E. R. *et al.* Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, p. 619-627, ago./dez.2011.

MACHADO FILHO, E. A. *et al.* Produção e aplicação do óleo de cravo da Índia como alternativa do controle das larvas do mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Acadêmica Online**, v. 6, n. 32, p. e764-e764, 2020.

MALLMANN, V. *et al.* Avaliação da toxicidade do óleo essencial das folhas *Ocotea puberula* frente a *Artemia salina*. **Rev Bras Plantas Med/Braz J Med Plants**, v. 23, n.1, p. 47-52, nov. 2021.

MAHRAN, H.A. Using nanoemulsions of the essential oils of a selection of medicinal plants from Jazan, Saudi Arabia, as a green larvicide against *Culex pipiens*. **PLOS ONE**, v. 17, n. 5, p. e0267150, 2022.

MARTINEZ, A.E.D. Imagens da *Artemia Salina*; Flickr. Disponível em: <<https://www.flickr.com/photos/anendima/8640053417/>>. Acessado em: 10 set. 2024.

MARTINS, S. M. A. **Perfil químico de extratos da *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) e sua aplicação como larvicida frente ao *Aedes aegypti***. 2022. 104 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Luís, 2022.

MARTINS, C. R; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, V. 36, n. 8, p. 1248- 1255, jul. 2013

MARTINS, T. G. T. *et al.* Atividade larvívica do óleo essencial de Pimenta dioica Lindl. frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e151985518-e151985518, jun. 2020.

MARTINS, T. G. T. *et al.* Chemical profile, bactericidal *in vitro* potential and toxicity against *Artemia salina* Leach of essential oils obtained from natural condiments. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e58310212898–e58310212898, fev. 2021.

MATOS, A. M. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* de uma combinação de óleos vegetais de caju e mamona e de óleos essenciais de cravo, eugenol, timol e vanilina contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas no rúmen de bovinos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e4210816900-e4210816900, 2021.

MATULYTE, I. *et al.* The Essential Oil and Hydrolats from *Myristica fragrans* Seeds with Magnesium Aluminometasilicate as Excipient: Antioxidant, Antibacterial, and Anti-inflammatory Activity. **Foods**, v. 9, n. 1, p. 37, 2020.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, dez. 2012.

MEDRANO, L. A. R. *et al.* ALFABETIZACIÓN CIENTÍFICA DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL ULEX EUROPAEUS: un proyecto de aula en la vereda Santa Rosa-localidad de Ciudad Bolívar. **Momento-Diálogos em Educação**, v. 30, n. 01, 2021.

MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, mai. 1982.

MISHRA, N. *et al.* Nano Emulsion Drug Delivery System: A Review. **Current Nanomedicine (Formerly: Recent Patents on Nanomedicine)**. v. 13, n. 1, p. 2–16, mar. 2023.

MOHAMMED, N. K. *et al.* Characterization of nanoemulsion of *Nigella sativa* oil and its application in ice cream. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 2608–2618, jun. 2020.

MONTEIRO, O. DOS S. *et al.* Análise química e ação antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Dizygostemon riparius* (MELOSA). **Anais do Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, 2022.

MOREIRA, T. M. P. **Exploração de novos análogos de nucleósidos como potenciais agentes antibacterianos visando a inibição da síntese do peptidoglicano**. 2022. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2022.

MOURA, P. F. *et al.* Atividade larvívica de extratos de *Diplodia pinea* frente à *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e6710212295-e6710212295, 2021.

MUGAO, L. Factors influencing yield, chemical composition and efficacy of essential oils. **International Journal of Multidisciplinary Research and Growth Evaluation**, v. 5, n. 4, p. 169–178, jul./ago. 2024.

MUTLU-INGOK, A. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of fennel, ginger, oregano and thyme essential oils. **Food Frontiers**, v. 2, n. 4, p. 508-518, abr. 2021.

MURALI SHARMA, P. *et al.* Endo -fenchyl acetate rich essential oil of *Strobilanthes sessilis* Nees inflorescence and its characterisation using GC, GC-MS, and NMR techniques. **Natural Product Research**, p. 1–7, out./dez. 2023.

MUSTAFA, M. A. *et al.* Development and In vitro Evaluation of a Nanoemulsion Containing Piroxicam for Topical Drug Delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care**, v. 16, n. 2, p. 144-151, 2024.

MUSTAFA, M. A. *et al.* Formulation Techniques, Characterization of Nanoemulsion and their Pharmaceutical Applications: A Comprehensive Technical Review. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 36, n. 2, p. 12–27, fev. 2024.

NAJDA, A. *et al.* Woodfordia fruticosa extract nanoemulsion: Influence of processing treatment on droplet size and its assessment for *in vitro* antimicrobial and anti-inflammatory activity. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 944856, mai./set. 2022.

NOGUEIRA, M. L. *et al.* *Plantago major* L.(Plantaginaceae) pode ser utilizado como agente antimicrobiano para emprego em produtos para uso oral?. **Revista Fitos**, v. 15, n. 3, p. 354-365, 2021.

NUNES, C. R. *et al.* Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de thymus vulgaris sobre Aspergillus niger, Penicillium expansum, Sclerotinia sclerotiorum e Sclerotium rolfsii. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 14250-14260, 2021.

NUNES, C. R. *et al.* Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de thymus vulgaris sobre Aspergillus niger, Penicillium expansum, Sclerotinia sclerotiorum e Sclerotium rolfsii. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 14250-14260, jan./fev. 2021.

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, jan. 2016.

OLIVEIRA, A. E. M. F. M. *et al.* Essential oil from Pterodon emarginatus as a promising natural raw material for larvicidal nanoemulsions against a tropical disease vector. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 6, p. 1–9, jan./jun. 2017.

OLIVEIRA, H. K. L. G. *et al.* Sinergismo relacionado à proporção dos constituintes do óleo essencial de Piper aduncum L. 2022.

OLIVEIRA, J. *et al.* 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, M. M. M. et al. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 08-16, mar./out. 2011.

ORDOUDI, S. A. et al. Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.) Essential Oil as a Food Preservative Source: Chemistry, Quality Control, Activity Assessment, and Applications to Olive Industry Products. **Foods**, v. 11, n. 5, p. 752, mar. 2022.

PADMANABHAN, P.; JANGLE, S. N. Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. **International journal of basic and applied medical sciences**, v. 2, n. 1, p. 109-116, 2012.

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

PEDROZA, L. S. **Estrutura molecular e atividade biológica de metabólitos secundários de espécies de *Vismia Vand* (Hypericaceae)**. 2019. 207 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

PENICHE, T. et al. Larvicidal effect of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Essential oil nanoemulsion on *Culex quinquefasciatus* (Diptera: culicidae). **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8433, 2022.

PEREIRA, D.; DA SILVA, I. J. G. Uma breve revisão sobre a utilização da Amburana (*Amburana Cearensis*) como planta medicinal. 2023.

PEREIRA, J. et al. Análise da composição química e rendimento do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae) em função do cultivo. **Anais do Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**, 2022.

PIRES, V. G. A.; MOURA, M. R. de. Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial. **Química Nova**, v. 40, p. 1-5, 2017.

PORTO, B. G. M. et al. Análise microbiológica de cosméticos vendidos irregularmente e em estabelecimentos de saúde (farmácia). **Repositório Institucional**, v. 2, n. 2, 2024.

PREETI et al. Nanoemulsion: An Emerging Novel Technology for Improving the Bioavailability of Drugs. **Scientifica**, v. 2023, p. 1–25, out. 2023.

PREMAKUMARI, Pradeep Damodaran; KUMARASWAMY, Murugan; SARAYU, Manoj Gopal. Anti-inflammatory potential of essential oil from *Pogostemon benghalensis* (Burm. F.) Kuntze. using animal models. **Journal of Advanced Scientific Research**, v. 11, n. 04, p. 92-99, 2020.

PUVAČA, N.; DE LLANOS FRUTOS, R. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from humans and pet animals. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 69, 2021.

RAHAL, I. L. *et al.* Determinação do rendimento do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L. em função da variação sazonal. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 26, n. 3, 2022.

RAHAMOUZ HAGHIGHI, S. *et al.* Volatile Constituents and Toxicity of Essential Oils Extracted From Aerial Parts of *Plantago Lanceolata* and *Plantago Major* Growing in Iran. **Pharmaceutical and Biomedical Research**, jul./fev. 2022.

RAHMAN, M. M. *et al.* Antimicrobial activity of polycaprolactone nanofiber coated with lavender and neem oil nanoemulsions against airborne bacteria. **Membranes**, v. 14, n. 2, p. 36, 2024.

REED, L. J.; MUENCH, H. Um método simples de estimar cinqüenta por cento de pontos finais. **Jornal americano de epidemiologia**, v. 27, n.3, p. 493-497.mai. 1938.

REINHOLD, J. M.; LAZZARI, C. R.; LAHONDÈRE, C. Effects of the environmental temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes: a review. **Insects**, v. 9, n. 4, p. 158, set. /out. 2018.

REIS, J. B. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

RIBEIRO, A. F. *et al.* Uso de plantas medicinais pela população do município de Presidente Médici, Rondônia, Brasil. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 14, n. 19, 2020.

RODRIGUES, A. R. S. P. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Mentha piperita* (Lamiaceae: Labiatae) –uma revisão. **Conexão Ciência (Online)**, v. 19, n. 2, p. 103-114, jul. 2024.

RODRIGUES, E. C.R *et al.* Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n.6, p. 699-705, nov./dez. 2014.

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, jan./mar. 2015.

SANTOS, M. Imagens da pulpa do *Aedes aegypti*; Jornal da USP. Disponível em: <https://imagens.usp.br/wp-content/uploads/Laborat%C3%B3rio-de-espectrometria-de-massa-no-ICB-IV-004-16-Foto-Marcos-Santos20160108_000-240x135.jpg>. Acessado em 11 de set. 2024.

SANTOS, P. V. S. R. *et al.* Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da *Pimenta dioica* L. (pimenta da Jamaica) e *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 49, n. 3, p. 641-655, nov. 2020.

SCATIGNA A. V. *et al.* *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae, Gratioleae), a new species from Maranhão, northeastern Brazil. **Willdenowia**, v. 49, n. 2, p. 177-186, 2019.

SCHEID, T.; FAJARDO, A. P. Uso de plantas medicinais por idosos adscritos à atenção primária em Porto Alegre/RS e potenciais interações planta-medicamento. **Revista Fitos, Rio de Janeiro**, v. 14, n. 1, p. 103-117, mai./mar. 2020.

SEOW, Y. X. *et al.* Plant essential oils as active antimicrobial agents. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 5, p. 625-644, 2014.

SERRANO, C.; FIGUEIREDO, A. C. Métodos de obtenção dos óleos essenciais e outros extratos. **A Fileira das Plantas Aromáticas e o Desenvolvimento Local**, p. 83-92, 2018.

SHAFIQ, S. *et al.* Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 66, n. 2, p. 227-243, mai. 2007.

SHARMA, A. D.; KAUR, I.; SINGH, N. Synthesis, Characterization, and In Vitro Drug Release and In Vitro Antibacterial Activity of O/W Nanoemulsions Loaded with Natural Eucalyptus Globulus Essential Oil. **International Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 17, n. 3, p. 191–207, 2021.

SIBIEN, R. B. *et al.* **Evaluation of larvicide activity of essential oil of *Schinus terebinthifolius*; Avaliacao da atividade larvicida do oleo essencial de *Schinus terebinthifolius***. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), São Paulo, SP (Brazil) 2005.

SILVA, F. O. C.; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 13, p. 320-328, 2011.

SILVA, H. H. G. *et al.* Idade fisiológica dos ovos de *aedes* (stegomyia) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (diptera, culicidae). **Rev. patol. trop**, v. 24, n.2. p. 269-73, jul./dez.1995.

SILVA, W. J. **Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no Estado de sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.** 2006. 81 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2006.

SILVÉRIO, M. R. S. *et al.* Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3484, 2020.

SINDLE, A.; MARTIN, K. Art of Prevention: Essential Oils - Natural Products Not Necessarily Safe. **International Journal of Women's Dermatology**, v. 7, n. 3, p. 304–308, jun. 2021.

SOARES-PINHEIRO, V. C. et al. Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, p. 396-401, abr./jun.2016.

SONTER, S. et al. In vitro larvicidal efficacy of *Lantana camara* essential oil and its nanoemulsion and enzyme inhibition kinetics against *Anopheles* culicifacies. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 16325, 2024.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and *Syzygium aromaticum* (clove) oils on the morphology and mortality of *Aedes aegypti* and *Anopheles dirus* larvae. **Parasitology Research**, v. 115, n. 4, p. 1691–1703, jan. 2016.

SUGUMAR, S. et al. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. **Bulletin of entomological research**, v. 104, n. 3, p. 393-402, nov. /jan. 2014.

SWAMY, M. K.; et al. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM, v. 2016, 2016.

SYAHADAT, A; DININGSIH, A. Identification of Specific Gravity and Solubility in ethanol from citronella oil. **Journal of Public Health and Pharmacy**, v. 2, n. 1, p. 1–3, 25 mar. 2022.

TANUKU, S. et al. Nanoemulsion Formulation Strategies for Enhanced Drug Delivery: Review Article. **Journal of Pharma Insights and Research**, v. 2, n. 4, p. 125–138, 4 ago. 2024.

TÁVORA, N. P. L. et al. Insecticide evaluation of the *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf essential oil in *Aedes aegypti*. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 21, n. 10, p. 16158–16180, set./out. 2023.

TELES, R. D. M.; ROCHA, A. D. P. “Lenghten life” operation: environmental education, citizenship and preservation of Rio Preto. **European Journal of Sustainable Development**, v. 6, n. 4, p. 95–104, 1 out. 2017.

TELES, R. De M. et al. *Dizygostemon riparius* (PLANTAGINACEAE): estudo larvicida preliminar do óleo essencial de uma nova espécie aromática encontrada em São Benedito do Rio Preto - Ma frente ao mosquito *Aedes aegypti*. In: FERNANDES, D. N.; MARQUES, G. E. De C.; NOGUEIRA, N. M. C.; MAGALHÃES, Y. N. O. **Trilhas de Pesquisa no IFMA**: campus São Luís Monte Castelo. 1 ed. São Luís: EDIFMA, p. 243 - 268. 2019.

TOZZE J. et al. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 270–280, 2015.

UMARU, I. J. *et al.* Extraction, isolation, characterization of Caryophyllene from *Barringtonia asiatica* stem-bark extracts and biological activity. **Int. J. pharm. Biomed. Res**, v. 7, n. 1, p. 1-15, jan./fev. 2020.

UPADHYAY, P. *et al.* First report on essential oil composition and biological activities of five *Strobilanthes* species from Kumaun Region of Uttarakhand, India. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 107, p. 104599, nov./jan. 2023.

VAN DEN DOOL, H. A. N. D.; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, 1963.

VANEGAS-ESTÉVEZ, T. *et al.* Design and elucidation of an insecticide from natural compounds targeting mitochondrial proteins of *Aedes aegypti*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 198, p. 105721, ago./dez. 2024.

VINATEA, J. E. *Artemia* um ser vivo excepcional. **Panorama da aquicultura**, v. 4, n. 25, p. 8-9, out. 1994.

VORIS, D. G. R. *et al.* Estudos etnofarmacológicos de óleos essenciais com atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti*. **Semioses**, v. 11, n. 1, p. 86-94, mai. 2017.

WELBERT, J. P. *et al.* Potencial da utilização de resíduos orgânicos da produção industrial do suco de laranja *Citrus sinensis* na obtenção de óleo essencial para controle do *Aedes aegypti*. **Revista Fitos**, v. 18, n. 3, p. e1585-e1585, 2024.

WOJCIECHOWSKA, M. *et al.* The use of insecticides to control insect pests (Review). **Invertebrate Survival Journal**, v. 13, p. 210-220, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control**. World Health Organization, 2009.

YAMANY, A.S. *et al.* Morphological description of the pupa of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) using a scanning electron microscope. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 76, n. 1, p. 43-54, 2024.

YANG, S. *et al.* Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Peganum harmala*, *Nepeta cataria* and *Phellodendron amurense* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 5, p. 560-564, jan. /mar.2020.

YAZGAN, H. Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. **LWT**, v. 130, p. 109669, fev./mai. 2020.

YESMIN, S. *et al.* Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of ethanolic root extract of Choi (*Piper chaba*). **Clinical Phytoscience**, v. 6, n. 1, p. 1-10, nov./ago. 2020.

YUKUYAMA, M. N. *et al.* Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics - a review. **International Journal of Cosmetic Science**, Hoboken, v. 37, p. 1–12, mai. /jun.2015.

ZANFIRESCU, A. *et al.* Evaluation of Topical Anti-Inflammatory Effects of a Gel Formulation with *Plantago Lanceolata*, *Achillea Millefolium*, *Aesculus Hippocastanum* and *Taxodium Distichum*. **Scientia Pharmaceutica**, v. 88, n. 2, p. 26, 2020.