



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**  
**CURSO DE FARMÁCIA**

**ARTHUR DA SILVA NETO**

**DESENVOLVIMENTO DE ESFERAS DE ALGINATO DE CÁLCIO COM ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunt COMO POSSÍVEL LARVICIDA CONTRA  
*Aedes aegypti***

**FORTALEZA**

**2023**

ARTHUR DA SILVA NETO

DESENVOLVIMENTO DE ESFERAS DE ALGINATO DE CÁLCIO COM ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunt COMO POSSÍVEL LARVICIDA CONTRA  
*Aedes aegypti*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S578d Silva Neto, Arthur da.

Desenvolvimento de esferas de alginato de cálcio com óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth como possível larvicida contra *Aedes aegypti* / Arthur da Silva Neto. – 2023.

43 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2023. Orientação: Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca.

1. Compostos fitoquímicos. 2. Óleos voláteis. 3. Formulação. 4. Tecnologia farmacêutica. I. Título.

CDD 615

---

ARTHUR DA SILVA NETO

DESENVOLVIMENTO DE ESFERAS DE ALGINATO DE SÓDIO COM ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* Kunt COMO POSSÍVEL LARVICIDA FRENTE AO  
*Aedes aegypti*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca.

Aprovado em 27/06/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Maria Aparecida Alexandre Josino  
Universidade Maurício de Nassau (UNINASSAU)

À minha mãe, por toda a fé, todo apoio e sacrifício direcionados a mim.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À minha família, meu pai **José Walter Neto** e meu irmão **Lucas da Silva Sousa** por todo o apoio oferecido a mim durante todos esses anos, além de especialmente à minha mãe, **Maria do Céu da Silva**, que sempre acreditou em mim e sempre se dedicou a mim inteiramente, se sacrificando para que eu alcance meus objetivos. Então, se cheguei até aqui, certamente foi pela senhora.

À minha tia, **Raimunda Nonata**, e seus filhos **Diane Karen, Diele Karine e Diego Celso**, que sempre demonstraram um carinho enorme por mim e me deram suporte de diversas formas.

À minha prima **Janaina Maia**, por também sempre me acolhere e apoiar nesses anos.

Aos **demais membros da minha família**, por todo o suporte durante minha trajetória na graduação.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca**, por ter aceitado a proposta e ter acreditado no trabalho, por ter me acolhido tão bem em seu laboratório e por sempre ser tão solícito para me orientar quando precisei. Agradeço sinceramente por todos os ensinamentos repassado a mim.

À **Prof.<sup>a</sup> Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago**, pela orientação no Projeto de Iniciação Científica que fomentou a ideia para realização desse projeto, também sempre solicita e disponível para me atender.

Aos colegas do **Laboratório de Farmacotécnica**, especialmente ao **Jefferson Nascimento** e à **Ana Letícia**, por toda a ajuda, tanto nas etapas do estudo quanto nas conversas que deixaram todo o processo mais leve.

Aos meus amados amigos da graduação (**Alberto de Macedo, Ana Caroline Moreno, Bruna Duque, Clara Lira, Letícia Gois, Luiz Henrique Amorim, Natasha Pinheiro e Maria de Jesus**), por simplesmente tornarem todos esses anos de graduação muito mais leves, por todo o suporte tanto nas atividades acadêmicas quanto na vida, pelas risadas, pelos conselhos e pelo cuidado. As lembranças geradas durante esse tempo estarão sempre comigo e quero formar muito mais daqui para frente. Vocês se tornaram pessoas extremamente importantes para mim e sempre levarei vocês no meu coração.

Aos amigos do grupo “**Qual o filme?**” (**Walter Brilhante, Melissa Nunes, Lara Almeida e Octavio Bacalini**), por todos os momentos juntos, pela descontração, pelas loucuras, pelas saídas, pelas conversas, pelo suporte e pelos vários filmes assistidos juntos. Vocês se tornaram importantes e desejo compartilhar muito mais desses momentos com vocês.

Ao projeto **Melhoria da Qualidade e Segurança do Paciente no Ambiente Hospitalar**, por todo o enriquecimento durante minha passagem pela extensão universitária. Essa experiência me mostrou mais uma das importantes atuações do farmacêutico, então, agradeço por todos os ensinamentos repassados.

À professora **Alcília Braga**, professora da disciplina da qual participei como monitor, por todo o suporte e todos os ensinamentos repassados durante o Projeto de Iniciação à Docência.

À **Universidade Federal do Ceará**, casa que escolhi para minha graduação e que, certamente, contribuiu com meu crescimento pessoal e profissional.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo suporte no financiamento do projeto de pesquisa, contribuindo com apoio financeiro durante à graduação.

## RESUMO

*Lippia origanoides* Kunth, conhecida popularmente como “alecrim-pimenta”, possui um óleo essencial (OELO) cujo constituinte majoritário é o timol e que exibe diversas atividades biológicas, podendo-se destacar a atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. Dessa forma, pode constituir uma alternativa aos larvicidas sintéticos. No entanto, é necessário contornar limitações apresentadas pelos óleos essenciais, como sua volatilização. Ademais, uma liberação lenta é interessante, pois possibilita a diminuição da frequência de reaplicações. O presente estudo teve como objetivo desenvolver esferas/*beads* de alginato de cálcio contendo OELO reticuladas com cloreto de cálcio, de liberação lenta para possível aplicação como larvicida contra ao *Aedes aegypti*. O OELO foi obtido PRONAT LTDA. e teve seu teor de timol determinado por espectrofotometria UV-Vis a 275 nm. As esferas foram produzidas pelo gotejamento de emulsões compostas de OELO, Tween 20 e soluções de Alginato de Sódio (ALG) a 1,5, 2 e 2,5% em Cloreto de Cálcio 5%, para obtenção de três formulações, com secagem em dessecador acoplado à bomba de vácuo. As esferas foram caracterizadas quanto ao tamanho, pelo processamento de imagens no software *Image J*, dados os quais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), além da sua Eficiência de Encapsulação (EE) pela extração do timol por trituração com etanol absoluto e leitura espectrofotométrica. Foi realizado ensaio de liberação com as esferas em solução de Tween 20 e retirada de alíquotas nos tempos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos e posterior leitura espectrofotométrica, sendo os resultados processados em DDSolver para análise de cinética de liberação. Para o OELO analisado, obteve-se o teor de 79,17% de timol. Para os *beads* com 1,5%, 2% e 2,5% de ALG observou-se proporcionalidade entre as concentrações de ALG e o tamanho, além da obtenção de respectivos 49,41%, 44,98% e 62,88% de EE, com maior recuperação para a formulação com maior concentração de ALG. Já no ensaio de liberação, foi verificado o OELO foi liberado mais lentamente pela formulação 1,5% ALG, mas observou-se melhor linearidade para ALG 2,5%. Ademais, as três formulações encaixam-se no modelo de Korsmeyer-Peppas e têm liberação regida por mecanismo de difusão. Portanto, o estudo demonstrou a possibilidade de se formular um possível larvicida contra o vetor de doenças ainda prevalentes como a Dengue, Zika e Chikungunya, e que possa proteger e controlar a liberação do ativo vegetal escolhido.

**Palavras-chave:** compostos fitoquímicos; óleos voláteis; formulação; tecnologia farmacêutica.

## ABSTRACT

*Lippia origanoides* Kunth, popularly known as “alecrim-pimenta”, has an essential oil (OELO) whose major constituent is thymol, which exhibits several biological activities, highlighting the larvicidal activity against *Aedes aegypti*. Thus, it may constitute an alternative to synthetic larvicides. However, it is necessary to overcome limitations presented by essential oils, such as their volatilization. Furthermore, a slow release is interesting, as it makes it possible to reduce the frequency of applications. The present study aimed to develop spheres/beads of calcium alginate containing OELO cross-linked with calcium chloride, slow release for possible application as a larvicide against *Aedes aegypti*. The OELO was obtained from PRONAT LTDA. and had its thymol content determined by UV-vis spectrometry at 275 nm. The spheres were produced by dripping emulsions composed of OELO, Tween 20 and Sodium Alginate (ALG) solutions at 1.5, 2 and 2.5% in Calcium Chloride 5%, to obtain three formulations, with drying in desiccator coupled to the vacuum pump. The spheres were characterized in terms of size, by processing images in the Image J software, data which were submitted to analysis of variance (ANOVA), in addition to their Encapsulation Efficiency (EE) by extracting thymol by grinding with absolute ethanol and reading spectrophotometric. A release test was carried out with the spheres in Tween 20 solution and aliquots were withdrawn at times of 30, 60, 90, 120, 150 and 180 minutes and subsequent spectrophotometric reading, with the results processed in DDSolver for analysis of release kinetics. For the analyzed OELO, the content of 79.17% of thymol was obtained. For beads with 1.5%, 2% and 2.5% ALG, proportionality was observed between ALG concentrations and size, in addition to obtaining the respective 49,41%, 44,98% and 62,88% of EE, with higher recovery for the formulation with higher concentration of ALG. In the release assay, it was verified that OELO was released more slowly by the 1.5% ALG formulation, but better linearity was observed for 2.5% ALG. Furthermore, the three formulations fit the Korsmeyer-Peppas model and release is governed by a diffusion mechanism. Therefore, the study demonstrated the possibility of formulating a possible larvicide against the vector of still prevalent diseases such as Dengue, Zika and Chikungunya, and that can protect and control the release of the chosen plant active.

**Keywords:** phytochemicals; oils, volatile; formulation; technology, pharmaceutical.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i> com respectivos tempos de desenvolvimento....	18
Figura 2 - Estruturas químicas do carvacrol e do timol.....	22
Figura 3 - Características estruturais do alginato .....	25
Figura 4 - Esferas produzidas e respectivas imagens processadas no software <i>Image J</i> .....	32

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva de calibração de timol em L.S.S. 0,1 % em 275 nm.....	30
Gráfico 2 - Curva de calibração de timol em Tween 20 0,1% em 275 nm.....	31
Gráfico 3 - Tamanho das esferas <i>versus</i> Concentração de ALG nas formulações.....	34
Gráfico 4 - Perfil de liberação de timol <i>versus</i> tempo.....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das formulações preparadas.....	28
Tabela 2 - Parâmetros do tamanho de partícula das esferas produzidas.....	33
Tabela 3 - Quantidades de timol (reais e teóricos) e valores de Eficiência de encapsulação (EE) para as diferentes formulações.....	35
Tabela 4 - Coeficientes de correlação ( $r^2$ ) para os diferentes modelos cinéticos para as diferentes formulações.....	36
Tabela 5 - Parâmetros cinéticos para as formulações produzidas.....	37

## LISTA DE SÍMBOLOS

K	Constante de liberação
n	Coefficiente difusional
g	Gramas
>	Maior que
<	Menor que
µg	Micrograma
µg/mL	Micrograma por mililitro
µm	Micrômetro
µL	Microlitro
mg	Miligramas
mL	Mililitro
mm	Milímetros
nm	Nanômetros
p/v	Peso por volume
%	Por cento
Mt/M $\infty$	Quantidade de óleo essencial liberada
t	Tempo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	16
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>Arboviroses: Aspectos gerais</b> .....	17
<b>3.1.1</b>	<i>Aedes aegypti</i> .....	18
<b>3.1.1.1</b>	<i>Medidas de controle vetorial</i> .....	19
<b>3.1.1.2</b>	<i>Agentes vegetais como medida de controle</i> .....	20
<b>3.2</b>	<b>Óleos essenciais</b> .....	21
<b>3.2.1</b>	<i>Óleo essencial de Lippia origanoides Kunt</i> .....	22
<b>3.3</b>	<b>Encapsulação de óleos essenciais</b> .....	23
<b>3.3.1</b>	<i>Gelificação iônica</i> .....	24
<b>3.3.2</b>	<i>Alginato de sódio</i> .....	24
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	26
<b>4.1</b>	<b>Local da pesquisa</b> .....	26
<b>4.2</b>	<b>Materiais</b> .....	26
<b>4.3</b>	<b>Métodos</b> .....	26
<b>4.3.1</b>	<i>Curva de calibração do timol</i> .....	26
<b>4.3.2</b>	<i>Determinação do teor de timol no OELO</i> .....	27
<b>4.3.3</b>	<i>Produção das esferas/beads com OELO</i> .....	27
<b>4.3.4</b>	<i>Determinação de tamanho das esferas produzidas</i> .....	28
<b>4.3.5</b>	<i>Eficiência de encapsulação das esferas</i> .....	28
<b>4.3.6</b>	<i>Ensaio de liberação in vitro</i> .....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	30
<b>5.1</b>	<b>Curva de calibração do timol</b> .....	30
<b>5.2</b>	<b>Determinação do teor de timol no OELO</b> .....	31
<b>5.3</b>	<b>Determinação de tamanho das esferas produzidas</b> .....	32
<b>5.4</b>	<b>Eficiência de encapsulação das esferas/beads</b> .....	34
<b>5.5</b>	<b>Ensaio de liberação in vitro</b> .....	35

<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Dengue, Zika e Chikungunya são arboviroses que apresentam uma notável importância epidemiológica para o cenário de saúde, não só do Brasil, mas do mundo. Isso se dá, dentre outros fatores, pela rápida disseminação geográfica do mosquito vetor, o *Aedes aegypti* (SILVA *et al.*, 2019).

O controle do artrópode vetor ainda é uma das principais medidas utilizadas para a diminuição da transmissão dos vírus causadores dessas doenças, visto que ainda não há tratamentos específicos (DÓRIA *et al.*, 2010). Dito isso, dentre as estratégias de controle vetorial do *A. aegypti*, são utilizados mecanismos classificados em controles físicos, biológicos e químicos (ZARA *et al.*, 2016), sendo observado o emprego de larvicidas, com a utilização de inseticidas sintéticos (DÓRIA *et al.*, 2010).

No entanto, é importante ressaltar que o uso desses inseticidas pode resultar na aquisição de resistência (BRAGA; VALLE, 2007) e poluição ambiental, sendo problemas que podem constituir uma barreira para o controle do vetor (SILVA *et al.*, 2019), os quais somam-se à possibilidade de toxicidade a organismos não-alvo. Dessa forma, pode-se olhar para os agentes vegetais como possível alternativa para solucionar os problemas acarretados pelo uso de larvicidas sintéticos.

A *Lippia origanoides* Kunth é popularmente conhecida como alecrim-pimenta, pertence à família Verbenaceae, e é relatada na literatura como de maior ocorrência no Nordeste (BRASIL, 2018). Uma revisão realizada por Pereira Morão *et al.* (2020), demonstrou que o principal constituinte em estudos cearenses realizados com óleos essenciais de *L. origanoides* era o timol. Ademais, alguns pesquisadores já demonstraram a atividade larvicida do OELO frente às larvas de *A. aegypti* (COSTA *et al.*, 2005; CARVALHO *et al.*, 2003). Desse modo, escolheu-se o óleo essencial de *L. origanoides* para a realização do trabalho.

Contudo, é importante destacar que, apesar das vantagens oferecidas pelos óleos essenciais, algumas características de instabilidade podem ser atribuídas a eles, como a oxidação em contato com o oxigênio durante o armazenamento, fotodegradação, além da própria volatilidade a temperaturas mais amenas e da pouca solubilidade em água (EL ASBAHANI *et al.*, 2015; KHAYYAT; ROSELIN, 2018). Desse modo, pode-se utilizar de técnicas de formulação, como a encapsulação, para contornar essas limitações, além de possibilitarem uma liberação lenta dos componentes, (EL ASBAHANI *et al.*, 2015).

Ao encapsular as substâncias, pode-se observar vantagens como melhora no manuseio, na estabilidade física, química e biológica, proteção contra degradação pela luz ou oxigênio, melhor distribuição, possibilidade de controle da desintegração das partículas, entre outros (MARTINS, 2022). Sendo assim, a utilização dessa estratégia é de bastante interesse para a melhora das características dos OE.

Então, ressaltando a prevalência das arboviroses transmitidas pelo *A. aegypti* e a necessidade da utilização de medidas de controle vetorial menos prejudiciais, o estudo do desenvolvimento de uma formulação larvicida oriunda de materiais mais bem tolerados – como pela utilização de ativos vegetais – demonstra-se como uma boa alternativa à utilização de larvicidas sintéticos. Além disso, a utilização de técnicas simples como a encapsulação por gelificação iônica, com o uso de materiais encapsulantes como o alginato de sódio, é interessante, ao passo que pode melhorar a performance do OELO, tanto ao protegê-lo da degradação, quanto ao possibilitar o controle de liberação dele.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver esferas/*beads* de alginato de sódio contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth (OELO) reticuladas com cloreto de cálcio, de liberação lenta para possível aplicação como larvicida contra o *Aedes aegypti*.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Construir curva de calibração para o timol;
- Determinação do teor de timol no OELO;
- Desenvolver esferas/*beads* com diferentes concentrações de alginato de sódio carregadas com OELO;
- Determinar o tamanho das esferas/*beads* produzidas;
- Avaliar a eficiência de encapsulação das esferas/*beads*;
- Avaliar o perfil de liberação *in vitro* do OLEO das esferas/*beads*.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Arboviroses: Aspectos gerais

No Brasil, a Dengue, a Zika e a Chikungunya são as arboviroses de maior importância epidemiológica transmitidas pelo *A. aegypti*, além da febre amarela, que apesar de haver uma restrição a certas regiões do país e menor proporção de incidência quando relacionada com as outras já citadas, ainda apresenta alto risco de disseminação. Os vírus causadores dessas infecções são transmitidos a vertebrados, inclusive a seres humanos, principalmente por picadas de mosquitos infectados do gênero *Aedes* (TEDJOU *et al.*, 2019), no território brasileiro, mais especificamente, durante o repasto sanguíneo das fêmeas da espécie *Aedes aegypti*.

Enfrenta-se no Brasil, desde 1986, quase que de forma ininterrupta, epidemias de dengue, sendo observada atualmente a circulação dos quatro sorotipos virais responsáveis pela doença (DENV-1; DENV-2; DENV-3; DENV-4), onde se convive comumente com falhas na prevenção, as quais são atribuídas a fatores que extrapolam o setor da saúde (VALLE; PIMENTA; AGUIAR, 2016).

No segundo semestre de 2014, foi confirmada por métodos laboratoriais, a autoctonia do Chikungunya (CHIKV) nos estados do Amapá e da Bahia, passando a conviver com uma segunda doença causada pelo *Aedes aegypti*. Atualmente, todas as Unidades da Federação (UF) registram transmissão autóctone deste arbovírus. Em 2015, foi identificado pela primeira vez no continente americano, em alguns estados da região Nordeste do Brasil, outro vírus transmitido pelo *Aedes aegypti*, o Zika vírus (ZIKV) e desde então se disseminou para todo o país (BRASIL, 2017).

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde, a dengue é a arbovirose de maior impacto quanto ao número de casos na Região das Américas, com ciclos epidêmicos entre 3 e 5 anos. Além disso, relata que no ano de 2022, foram notificados cerca de 2.811.433 casos, caracterizando esse ano como o terceiro maior em número de casos, ficando atrás apenas de 2016 e 2019.

Trazendo os dados para o panorama municipal de Fortaleza, nos 37 anos desde que a dengue é endêmica na capital cearense - sendo introduzido o sorotipo DENV-1 em 1986 - foram confirmados 358.208 casos e 295 óbitos. Em relação à Chikungunya, desde que os casos

autóctones foram confirmados a partir de 2015, em Fortaleza, foram confirmados 97.345 casos e 189 óbitos. Ademais, para a febre Zika, a doença foi incluída na lista de doenças de notificação compulsória a partir de 2016, quando foi associada aos casos de microcefalia, então, entre 2016 e 2020 foram confirmados 1.662 casos em residentes da cidade (FORTALEZA, 2022).

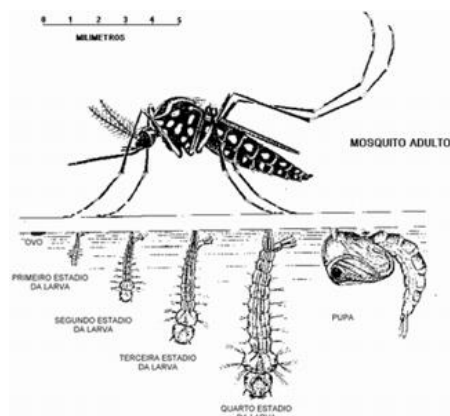
Desse modo, essas arboviroses ainda são bastante prevalentes no panorama de saúde do nosso país, representando um desafio para controle, vigilância epidemiológica e manejo clínico.

### 3.1.1 *Aedes aegypti*

A espécie *Aedes aegypti* é originária do continente africano, considerado atualmente um mosquito cosmopolita, encontrado principalmente em regiões onde existem atividades humanas intensas, pois apesar de se proliferarem em orifícios de árvores e outros recipientes naturais com água acumulada, são os recipientes artificiais criados por essas atividades, como pneus, baldes, resíduos plásticos, vasos de plantas e outros que possam acumular água, os preferidos para a proliferação dessa espécie (OLIVEIRA, 2017; ACIOLY, 2006).

O ciclo evolutivo desse gênero compreende 5 fases imaturas após eclosão do ovo (metamorfose completa), sendo 4 larvárias e 1 de pupa, até a fase adulta, como demonstrado na Figura 1. As fêmeas da espécie são hematófagas, necessitando do sangue para desenvolvimento ovariano adequado e maturação dos ovos, sendo observada preferência antropofágica (OLIVEIRA, 2017).

**Figura 1:** Ciclo de vida do *Aedes aegypti*



Fonte: BRASIL, 2008.

Desse modo, a competência que o *A. aegypti* tem como vetor (adaptação ambiental e às medidas de controle) e a transmissão vertical (transmissão viral para a prole), fazem dessa espécie, um ótimo meio de transmissão para algumas das principais arboviroses existentes no Brasil (CONSOLI; OLIVEIRA 1994).

O *A. aegypti* também pode ser considerado como uma espécie tropical ou subtropical, pois não suporta invernos muito rigorosos, desse modo, apesar da grande dimensão do Brasil, o país demonstra-se como um habitat favorável para o mosquito (ACIOLY, 2006). Além disso, é notável que condições sociais (densidade populacional, atividade econômica etc.) e ambientais (umidade, temperatura etc.) são fortemente determinantes da sua capacidade reprodutiva e dentre as condições climáticas, destaca-se a precipitação pluviométrica (ACIOLY, 2006). Desse modo, observa-se que quando há aumento das chuvas em determinada região, há conseqüente aumento da densidade populacional do mosquito, visto que ocorre o acúmulo de água nos recipientes ao redor dos domicílios (EDMAN *et al.*, 1998).

#### *3.1.1.1 Medidas de controle vetorial*

O controle do *A. aegypti* representa um desafio, pois apesar de haver políticas direcionadas a isso, como a disponibilização de recursos, implementação de programas como as ações dos agentes de endemias, entre outros, existem fatores como os problemas de infraestrutura das cidades (baixas coberturas das coletas de lixo; intermitência no abastecimento e distribuição de água, etc.) e a deficiência de participação da população que comprometem a efetividade das medidas tradicionais de controle (COELHO, 2008). Além disso, apesar de haver uma vacina contra a dengue disponível no Brasil (Dengvaxia), a qual é fabricada pelo laboratório francês Sanofi Pasteur, o imunizante é vendido na rede privada, não está disponível no Programa Nacional de Imunizações e apresenta algumas restrições de uso, como a faixa etária e a aplicação ser recomendada somente em pacientes que já contraíram a doença (PEIXOTO, 2022). No entanto, vale destacar a mais recente aprovação da ANVISA ao registro da vacina Qdenga, da empresa Takeda Pharma Ltda., a qual é composta por quatro diferentes sorotipos do vírus causador da doença, conferindo assim uma ampla proteção contra a dengue (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2023), contribuindo como uma medida de prevenção com menos restrições do que o imunizante anteriormente mencionado.

Como estratégias de controle do mosquito, três mecanismos gerais podem ser destacados: o controle físico, o qual consiste na adoção de práticas capazes de eliminar o vetor e os recipientes criadouros e/ou diminuir o contato do vetor com o ser humano; o controle biológico, que é baseado na utilização de predadores ou patógenos capazes de reduzir a população do vetor; e o controle químico, que utiliza substâncias capazes de matar o *A. aegypti* na fase larvária ou de mosquito adulto (ZARA *et al.*, 2016).

Na eliminação das larvas de *A. aegypti* são utilizados inseticidas sintéticos, tais como organofosforados, piretroides e carbamatos, que são altamente tóxicos (SILVÉRIO *et al.*, 2020). Dito isso, vale destacar que o uso desses inseticidas pode resultar em resistência aos inseticidas, nos quais se incluem a diminuição da taxa de penetração pela cutícula, detoxificação metabólica aumentada e diminuição da sensibilidade do sítio-alvo (BRAGA; VALLE, 2007) além de poluição ambiental, sendo problemas que podem constituir uma barreira para o controle do vetor (SILVA *et al.*, 2019), os quais somam-se com outros já mencionados.

#### 3.1.1.2 Agentes vegetais como medida de controle

É notável a contribuição que o reino vegetal oferece ao fornecer uma variedade enorme de substâncias com valor agregado às suas possíveis aplicações como medicamentos, cosméticos, agroquímicos etc. Deste modo, os importantes metabólitos secundários existentes na grande biodiversidade brasileira, e até mais especificamente, nordestina, se apresentam como componentes vegetais de interesse para a pesquisa da atividade larvicida e inseticida objetivando o controle do *A. aegypti*.

Além da possibilidade de atividade larvicida intrínseca dos metabólitos secundários vegetais, características como a segurança frente à população e ao meio ambiente aumentam o interesse na investigação desses componentes para uso no controle vetorial das arboviroses (ZARA *et al.*, 2016). Segundo um estudo realizado por Santos *et al.* (2010 *apud* ZARA *et al.*, 2016) cerca de 21 compostos naturais apresentaram atividade larvicida contra *A. aegypti*. Dito isso, a investigação quanto a outros desses compostos pode aumentar os recursos disponíveis para o controle vetorial do mosquito, como larvicidas à base de extratos vegetais, óleos essenciais e metabólitos secundários isolados, os quais representam opções alternativas à utilização de larvicidas sintéticos.

### 3.2 Óleos essenciais

A Resolução da Diretoria Colegiada nº2 de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2007) define os óleos essenciais (OE) como produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico, como hidrodestilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado. De acordo com a *International Organization for Standardization* (ISO, 1997), os óleos essenciais possuem entre 20 e 60 componentes em concentrações diferentes, o que contribui com potencial sinérgico entre esses componentes.

Os OE podem ser biossintetizados em diferentes partes das plantas na forma de metabólitos secundários (substâncias não essenciais, como para mecanismos de proteção, entre outros), como em flores, brotos, folhas, frutas, galhos, casca, sementes e raízes (EL ASBAHANI *et al.*, 2015). Por conseguinte, os OE podem ser armazenados em células secretoras de tricomas glandulares, cavidades e células epidérmicas e sua produção, ou seja, a composição dos mesmos, pode variar de acordo com diversos fatores, como o método de extração, época de colheita, parte da planta usada na extração, região geográfica, diferenças genéticas, estágio de maturação e condições experimentais (DHIFI *et al.*, 2016). Além disso, possuem natureza hidrofóbica, e, geralmente, apresentam densidade menor que a da água, boa solubilidade em diversos solventes orgânicos, aspecto incolor ou levemente amarelado e odor característico.

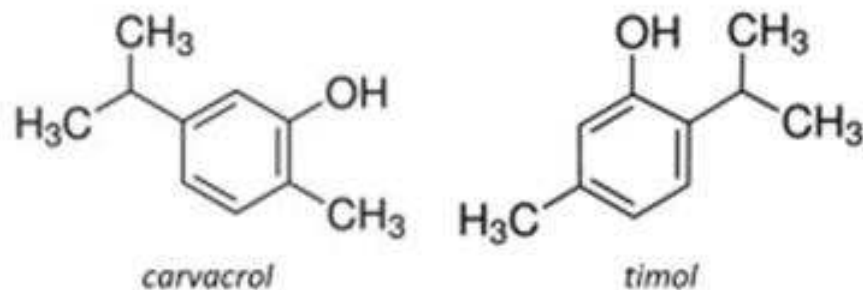
Os OE compreendem uma mistura complexa de compostos voláteis, representados principalmente pelos terpenos e terpenoides. Os terpenos dividem-se majoritariamente em monoterpenos, que representam mais de 80% da composição dos óleos essenciais, e sesquiterpenos, enquanto os terpenoides, também designados de isoprenoides, consistem em derivados oxigenados dos terpenos, como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, fenóis, éteres e ésteres (EL ASBAHANI *et al.*, 2015). A principal estrutura dos terpenos é o isopreno, representado pela fórmula estrutural  $(C_5H_8)_n$ , onde “n” representa o número de unidades de isopreno ligadas. Desse modo, uma das classificações desse grupo de substâncias é baseada na quantidade de unidades de isopreno que formam a molécula, sendo, por exemplo, os monoterpenos formados por duas unidades de isopreno ( $C_{10}H_{16}$ ), enquanto os sesquiterpenos são formados por três unidades ( $C_{15}H_{22}$ ) (KHAYYAT; ROSELIN, 2018).

### 3.2.1 Óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth

*Lippia origanoides* Kunth, de sinonímia *Lippia sidoides* Cham., popularmente conhecida como alecrim-pimenta, é uma planta pertencente à família Verbenaceae e é relatada na literatura como de maior ocorrência na região Nordeste do país (BRASIL, 2018). O óleo essencial oriundo de suas folhas é rico em timol e carvacrol (MELO *et al.*, 2011).

Apesar de, como já mencionado, muitas variáveis determinarem a composição dos óleos essenciais extraídos de uma mesma espécie, ainda mais em um país de dimensões tão grandes quanto as do Brasil (diferenças de solo, temperatura e clima entre as regiões), a revisão realizada por Pereira Morão *et al.* (2020), demonstrou que os principais constituintes em estudos realizados com óleos essenciais de *L. origanoides* (OELO) em diferentes períodos eram o timol e o carvacrol (estruturas químicas demonstradas na Figura 2), sendo, nos estudos cearenses, maior a presença de timol.

**Figura 2:** Estruturas químicas do carvacrol e do timol



Fonte: SOUZA; FERRAS-FREITAS; OLIVERIA, 2016.

Além disso, alguns estudos já foram realizados visando a investigação da atividade larvicida do OELO, como o realizado por Costa *et al.* (2005), ao observar o comportamento biológico de larvas de *Aedes aegypti* e registrar a mortalidade de 100% das larvas em período de apenas 10 minutos de tratamento. Além do estudo feito por Carvalho *et al.* (2003), que demonstrou que a eficácia larvicida do óleo foi maior que a do inseticida organofosforado Temefós.

Contudo, é importante destacar que, apesar das vantagens oferecidas pelos óleos essenciais, como sua baixa ou nenhuma toxicidade observada em mamíferos em condições

experimentais e sua característica biodegradável (SILVÉRIO *et al.*, 2020), algumas características de instabilidade podem ser atribuídas a eles. Esses problemas ocorrem devido a fatores tanto externos quanto internos, os quais favorecem reações químicas de degradação, como a presença de oxigênio durante o armazenamento levando à oxidação e a exposição à luz podendo levar a mudanças significativas na estrutura das substâncias (EL ASBAHANI *et al.*, 2015; KHAYYAT; ROSELIN, 2018), além da própria volatilidade a temperaturas mais amenas e da pouca solubilidade em água.

Desse modo, pode-se destacar opções para contornar esses problemas de estabilidade, como a utilização da tecnologia farmacêutica, como a nano e microencapsulação (SILVÉRIO *et al.*, 2020). Então, estratégias de formulação demonstram-se como essenciais para o uso seguro e eficaz dos OE como larvicida, além de possibilitarem uma liberação lenta dos componentes, com possível diminuição da necessidade de reaplicação constante do produto larvicida.

### **3.3 Encapsulação de óleos essenciais**

Entende-se como encapsulação, uma tecnologia de aprisionamento de substâncias sólidas, líquidas ou sólidas, baseada em envolvê-las com uma parede de revestimento ou em incorporá-las em matrizes com a utilização de um ou mais materiais de parede, para a obtenção de partículas (NAZZARO *et al.*, 2012), havendo possibilidade da aplicação dessa estratégia em diversas áreas, como a farmacêutica, cosmética, alimentícias, agroquímica, entre outras.

Ao encapsular as substâncias, pode-se observar vantagens como melhora no manuseio, na estabilidade física, química e biológica, proteção contra degradação pela luz ou oxigênio, melhor distribuição, possibilidade de controle da desintegração das partículas, entre outros (MARTINS, 2022). Desse modo, a utilização dessa estratégia é de bastante interesse para a melhora das características dos OE.

As técnicas de encapsulação, geralmente, determinam as propriedades físico-químicas das partículas obtidas, como o tamanho e a forma das partículas, a solubilidade, a eficiência de encapsulação e os mecanismos de liberação, desse modo, é de suma importância a escolha de uma técnica de encapsulação adequada às propriedades requeridas das partículas, ao material a ser aprisionado e ao material de parede a ser utilizado (EZHILARASI *et al.* 2012).

Assim, o encapsulamento de um OE envolve importantes etapas de escolha da técnica de encapsulação e do material de parede adequado às finalidades requeridas (MARTINS, 2022).

Pela possibilidade da produção de cápsulas na faixa de nanômetros, técnicas como, emulsificação, coacervação, complexação de inclusão, emulsificação-evaporação de solvente, nanoprecipitação e técnica de fluido supercrítico são consideradas de nanoencapsulação (EZHILARASI *et al.*, 2012), sendo processos mais comumente apresentados na literatura os de: coacervação complexa, gelificação iônica, *layer-by-layer* (LBL), emulsificação e secagem por pulverização.

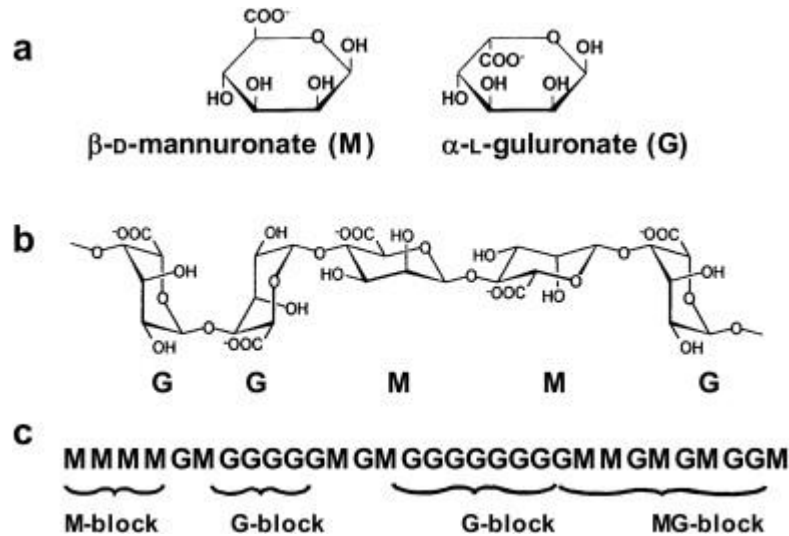
### **3.3.1 Gelificação iônica**

A gelificação iônica é uma técnica físico-química de produção de partículas, que consiste na formação de estruturas gelatinosas, geralmente de formato esférico e em dimensões nanométricas, que tem por base a interação entre as cargas opostas de um polímero e contra-íons de um agente reticulante (MARTINS, 2022). Por ser atóxica, livre de solventes orgânicos, simples, não requer altas temperaturas ou pH extremo, a técnica de gelificação iônica torna-se de baixo custo em comparação com outras técnicas, como as citadas no tópico 3.3, e pode ser empregada em diversas aplicações (VALLE *et al.*, 2021), inclusive, destacam-se características favoráveis à aplicação da encapsulação de OE, como o fato de não ser necessário o aquecimento.

Os encapsulantes mais comumente empregados nos estudos de microencapsulação são hidrocoloides de gomas vegetais, gelatina, amido modificado, dextrinas, lipídeos, emulsificantes e algumas fontes alternativas como quitosana, obtida a partir da quitina, extraída da casca de crustáceos (PEREIRA, 2007).

### **3.3.2 Alginato de sódio**

Os alginatos são moléculas oriundas, principalmente, das paredes celulares de algas marinhas marrons pertencentes à classe Phaeophyceae, das quais são extraídas para diversas aplicações. No entanto, apesar de menos frequente, também podem ser obtidos como produtos de microrganismos dos gêneros *Pseudomonas* e *Azotobacter* (MULLER, *et al.* 2011).

**Figura 3:** Características estruturais do alginato

**Fonte:** Adaptado de DRAGET; TAYLOR, 2011)

**Legenda:** (a) monômeros; (b) conformação da cadeia; (c) distribuição dos blocos.

São classificados como polissacarídeos de conformação linear, compostos por monômeros de ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G), os quais são unidos por ligações do tipo  $\alpha(1\rightarrow4)$  glicosídicas, podendo possuir blocos homopoliméricos (GG e MM) e heteropoliméricos (GM) nas suas cadeias (DRAGET; TAYLOR, 2011), como demonstrado na figura 3.

O alginato em presença de cátions bivalentes como o de cálcio formam hidrogéis, filmes, esferas, micro e nanopartículas, onde os monômeros formadores do polissacarídeo se conformam de modo a criar uma estrutura tridimensional ao redor do íon bivalente (reticulação), fazendo “zig-zags” ao longo da estrutura, sendo esse modelo proposto por Morris e colaboradores e denominado de Modelo da Caixa de Ovo (Egg-box model) (GRANT *et al.*, 1973). Desse modo, há possibilidade para o encapsulamento de uma série de substâncias, tais quais os óleos essenciais. Matrizes de ALG/Ca (microesferas) têm sido também empregadas para a liberação de inseticidas (PAULA, *et al.* 2010).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Local da pesquisa**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Federal do Ceará.

### **4.2 Materiais**

Os materiais utilizados para produção das esferas foram: o polímero Alginato de sódio; Cloreto de cálcio como substância reticulante e o Tween 20 (Polissorbato 20) como agente emulsionante. O OELO foi fornecido pela PRONAT - Produtos Naturais LTDA. Para construção da curva de calibração de timol, extração, solubilização e diluição para as leituras espectrofotométricas, foram utilizados Timol, Etanol, Lauril sulfato de sódio (L.S.S.) e Tween 20 como reagentes para análise (PA).

### **4.3 Métodos**

O timol foi escolhido como o marcador das análises referentes ao OELO e a técnica de espectrofotometria UV-Vis (Espectrofotômetro UV-Vis SHIMADZU, modelo UV-1203) foi o método analítico de escolha para as análises realizadas no trabalho, sendo as leituras realizadas no comprimento de onda de 275 nm (NORWITZ; NATARO; KELIHER, 1986).

#### ***4.3.1 Curva de calibração de timol***

Para a construção da curva de calibração, o timol puro foi dissolvido em etanol absoluto e diluído em solução de L.S.S. na concentração 0,1% (p/v), sendo preparadas soluções com as concentrações finais de timol de 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 µg/mL, as quais foram submetidas à leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 275 nm. Os resultados foram tabulados em Excel para obtenção da equação da reta e do coeficiente de correlação ( $R^2$ ).

Outra curva de calibração foi construída pela dissolução de timol puro em etanol absoluto e diluição em solução de Tween 20 0,1% (p/v), sendo preparadas soluções com as

concentrações finais de timol de 5, 30 e 60  $\mu\text{g/mL}$ , as quais foram submetidas à leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 275 nm. Os resultados foram tabulados em Excel para obtenção da equação da reta e do coeficiente de correlação ( $R^2$ ).

#### **4.3.2 Determinação do teor de timol no OELO**

Uma amostra de OELO também obtido de PRONAT - Produtos Naturais LTDA foi enviada à Universidade Federal de Sergipe para análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS), realizada em cromatógrafo GCMS\_QP 2010 ULTRA/SHIMADZU.

Além disso, o OELO foi submetido à determinação de teor de timol por espectrofotometria no Laboratório de Farmacotécnica (UFC). Iniciou-se com a dissolução de 0,05g de OELO em 100 mL de etanol absoluto (balão volumétrico) e diluição em mesmo solvente para obtenção de uma solução com concentração de 40  $\mu\text{g/mL}$  de OELO, a qual foi analisada em espectrofotômetro UV-Vis em 275 nm, utilizando-se da equação da reta obtida com a curva de calibração para cálculo de concentração.

#### **4.3.3 Produção das esferas/beads com OELO**

Para a produção das esferas, o método foi adaptado de Paula *et al.* (2010). Foram preparadas 3 formulações com concentrações de alginato de sódio (ALG) diferentes. Desse modo, preparou-se 3 soluções de ALG nas concentrações de 1,5%, 2% e 2,5% em água destilada. Seguiu-se para a preparação das respectivas emulsões com a mistura de 0,1% de OELO, 5% do tensoativo Tween 20 e as soluções de ALG em quantidade suficiente para 100 g, como disposto na Tabela 1.

Continuou-se com a emulsão por meio de agitador mecânico por 15 minutos. As emulsões foram gotejadas por meio de bomba peristáltica com saída acoplada à ponteira de micropipeta (200  $\mu\text{L}$ ), cada uma separadamente, em 500 mL de soluções de cloreto de cálcio a 5% sob agitação magnética e as esferas formadas foram deixadas por 15 minutos nessas soluções. Por conseguinte, foram lavadas por 3 vezes com água destilada, acondicionadas em recipiente vazado e postas para secagem dinâmica com corrente forçada de ar em temperatura

ambiente. Após perder parte da umidade, as formulações foram dispostas em placas de Petri e postas para secagem em dessecador acoplado à bomba à vácuo por 48 horas.

**Tabela 1:** Composição das formulações preparadas

Componentes	Quantidades utilizadas		
	ALG 1,5%	ALG 2%	ALG 2,5%
OELO	0,1004 g	0,1017 g	0,1015 g
Tween 20	5,03 g	5,02 g	5,01 g
Alginato de sódio 1,5% (q.s.p.)	100 mL	-	-
Alginato de sódio 2% (q.s.p.)	-	100 mL	-
Alginato de sódio 2,5% (q.s.p.)	-	-	100 mL

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 4.3.4 Determinação de tamanho das esferas

Para a determinação de tamanho das esferas produzidas, foi utilizado o software *Image J*, assim como uma impressora HP Deskjet Ink Advantage 2546. Cada formulação foi disposta em placas de Petri e as imagens foram digitalizadas pela máquina impressora, padronizando uma resolução de 200 dpi (pontos por polegada). As esferas tiveram suas áreas medidas pelo software na unidade de pixels, a qual foi convertida para mm<sup>2</sup> utilizando o fator de correção obtido pela realização de calibração com tamanhos conhecidos e digitalização também padronizada em 200 dpi e posteriormente foram calculados os diâmetros das esferas (mm). Os resultados foram submetidos à análise de variância (*One way ANOVA*) no programa *GraphPad Prism 6* para verificação de significância da diferença entre os tamanhos das formulações.

#### 4.3.5 Eficiência de encapsulação das esferas/beads

Foi coletada uma amostra de 250 mg de cada formulação produzida, sendo realizadas triturações com 5 mL de etanol absoluto por 5 vezes para cada amostra com gral e pistilo. Os respectivos volumes retirados a cada trituração foram colocados em balões volumétricos de 25 mL e completados também com etanol absoluto. De cada balão volumétrico, foi feita uma diluição de 1:10, adicionado solução de Tween 20 a 0,1% como diluente.

Alíquotas dessa última solução foram filtradas com seringa acoplada a um filtro com membrana de abertura de 0,45 µm e analisadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 275 nm, sendo calculados as concentrações a partir da equação da reta obtida pela curva de calibração.

#### **4.3.6 Ensaio de liberação das esferas/beads**

O ensaio de liberação *in vitro* das esferas foi adaptado do estudo de Paula *et al.* (2010). Em triplicata, foram colocadas amostras de 200 mg de cada formulação em frascos de vidro e adicionados 10 mL de solução de Tween 20 a 0,1 % (meio de liberação), os quais foram mantidos em agitador orbital durante todo o processo. Foram retiradas alíquotas de 5 mL nos tempos de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos, sendo diluídas para 10 mL em balão volumétrico com a mesma solução de Tween 20. O volume retirado de cada frasco era repostado com nova solução de Tween 20 a 0,1%. As soluções finais foram analisadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 275 nm.

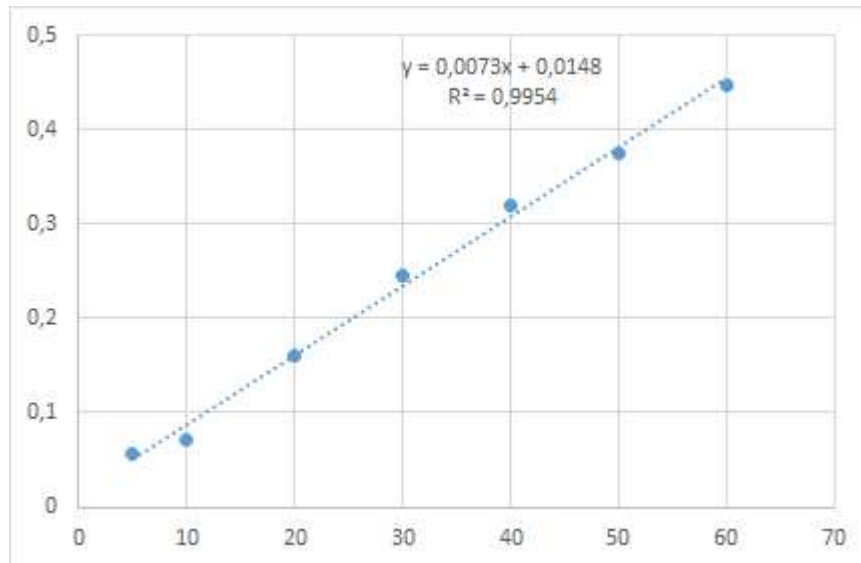
Com o objetivo de analisar os tipos de liberação das esferas, foram calculados os parâmetros de cinética de liberação, por meio do suplemento DDSolver da ferramenta Excel. Os modelos cinéticos analisados foram: ordem zero (Equação 1); primeira ordem; Higuchi; Korsmeyer-Peppas e Hixson-Crowell (DASH *et al.*, 2010).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Curva de calibração de tímolo

Após realizadas as leituras espectrofotométricas, foram obtidas as curvas de calibração ilustrada nos Gráficos 1 e 2.

**Gráfico 1:** Curva de calibração de tímolo em L.S.S. 0,1 % em 275 nm.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Equação 2:** Equação linear da reta obtida pela curva de calibração de tímolo.

$$y = 0,0073x + 0,0148$$

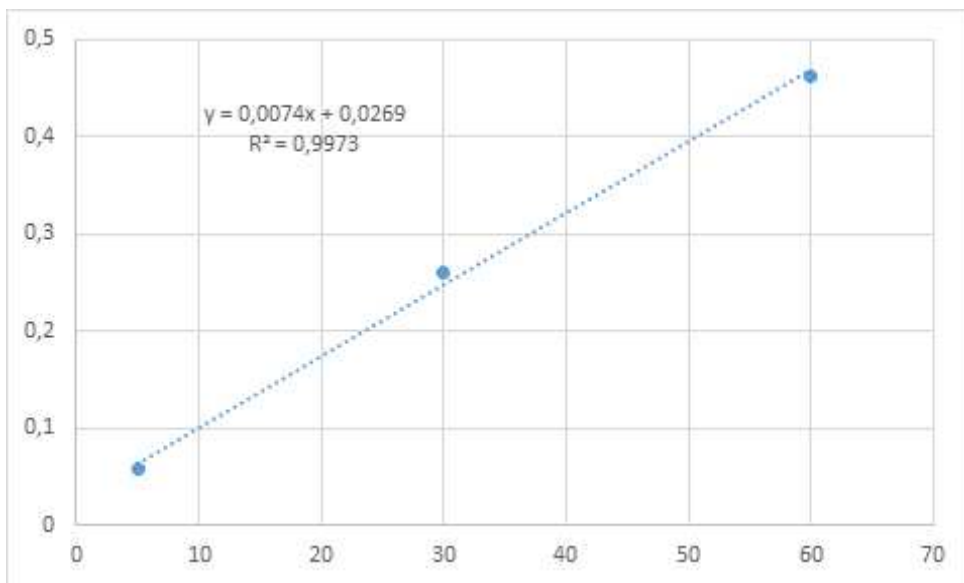
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para as curvas de calibração construídas, foram obtidas as equações das retas (Equação 2 e 3, respectivamente) e valores de coeficiente de correlação ( $R^2$ ) correspondentes de 0,9954 e 0,9973. Desse modo, segundo à Resolução da Diretoria Colegiada nº 166 de 2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2017), a qual dispõe sobre a validação de métodos analíticos, o valor de  $R^2$  obtido na curva encontra-se dentro das especificações do quesito de linearidade disposto na RDC (acima de 0,990).

A segunda curva de calibração (Gráfico 2) foi construída, pois foi testada uma formulação em que se utilizava L.S.S. como tensoativo previamente e foi observada turvação

das amostras em testes de eficiência de encapsulação e de liberação, que pode se dar pela interação do tensoativo aniônico com os íons de cálcio de carga oposta. Desse modo, substituiu-se o L.S.S. da formulação por Tween 20, o qual é não-iônico e percebeu-se a necessidade da construção da nova curva para melhorar a compatibilidade entre o método analítico e a formulação produzida.

**Gráfico 2:** Curva de calibração de timol em Tween 20 0,1 % em 275 nm.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Equação 3:** Equação linear da reta obtida pela curva de calibração de timol.

$$y = 0,0074x + 0,0269$$

Fonte: Elaborado pelo autor.

## 5.2 Determinação do teor de timol no OELO

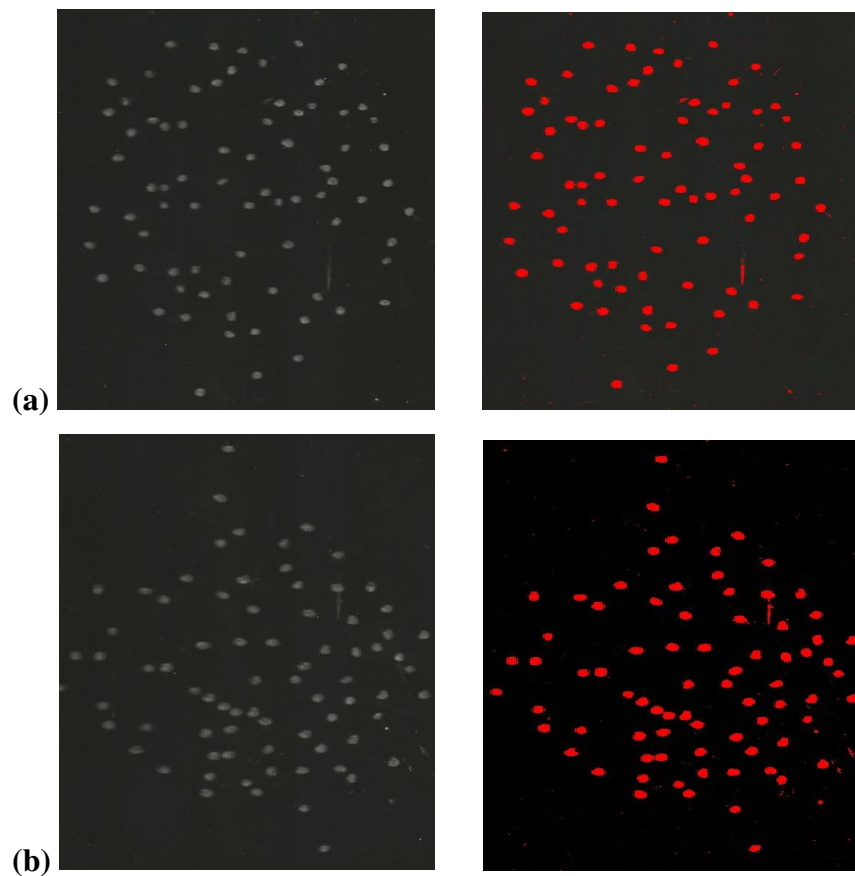
Foi recebido um laudo de análise da amostra enviada à Universidade de Sergipe, o qual evidenciou o timol como componente majoritário do OELO na concentração de 71,31%, seguido de p-Cimeno (24,80%) e de cariofileno (3,73%). O teor de timol encontrado corrobora com os resultados da revisão realizada por Pereira Morão *et al.* (2020) não só quanto ao componente majoritário como na faixa de concentrações de timol em espécies de *Lippia origanoides* Kunth originárias do estado do Ceará.

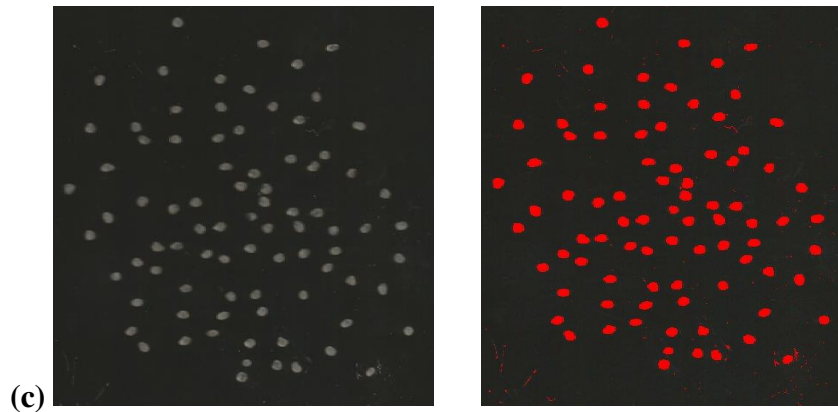
A partir da leitura realizada com a solução preparada com o OELO, foi estimado o teor de timol como sendo de 79,17%, que é superior ao teor encontrado por CG-MS. O método espectrofotométrico por UV não é específico e outros terpenos certamente estão interferindo a ponto de ter tornado mais elevado o teor de timol estimado por este método, no entanto, ainda está dentro da faixa de concentrações encontradas no estudo de Pereira Morão *et al*, (2020) antes mencionado.

### 5.3 Determinação tamanho das esferas/beads produzidos

As figuras 4a, 4b e 4c demonstram as esferas produzidas para as diferentes concentrações de ALG após o processo de secagem, sendo observada uma morfologia esferoide para as três formulações.

**Figura 4:** Esferas produzidas e respectivas imagens processadas no software *Image J*.





**Fonte:** Elaborado pelo autor.

**Legenda:** (a) ALG 1,5%; (b) ALG 2%; (c) ALG 2,5%.

As esferas foram preparadas com concentrações diferentes de alginato de sódio, mas mantendo as concentrações dos outros componentes, assim, pode-se analisar o efeito dessas diferenças de concentração no tamanho médio das esferas. Com a metodologia utilizada, foi possível obter uma média das áreas das esferas, assim como o desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV), os quais estão sumarizados no Tabela 2.

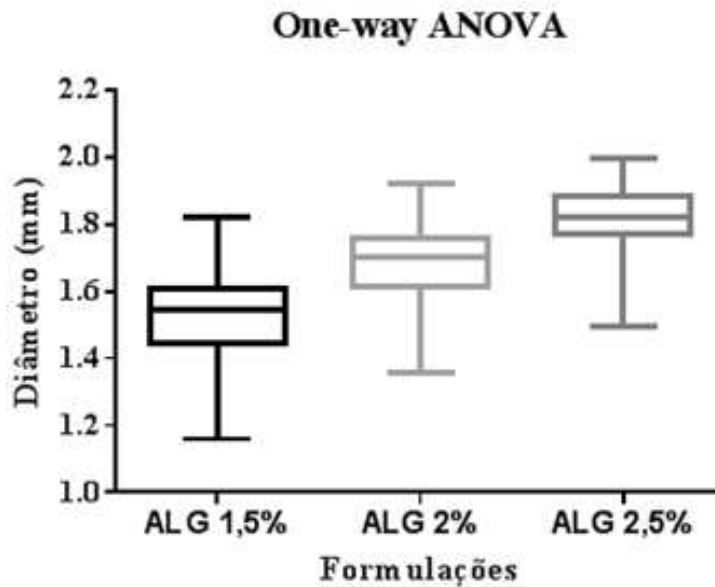
**Tabela 2:** Parâmetros do tamanho das partículas produzidas

Parâmetros medidos	Formulações		
	ALG 1,5%	ALG 2%	ALG 2,5%
Média (mm)	1,5318	1,6769	1,8202
DP (mm)	0,1199	0,2220	0,0905
CV (%)	7,8288	13,2416	4,9739

Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao analisar os valores de média de diâmetro obtidos, foi notada uma proporcionalidade entre as concentrações de alginato de sódio e o tamanho médio das esferas produzidas, visto que à medida que se aumenta essas concentrações nas formulações, também é observado um aumento no diâmetro. A hipótese dessa relação foi testada pela análise de variância (*one way ANOVA* –  $p < 0,05$ ), com gráfico demonstrado no Gráfico 3, sendo verificado que há diferença estatisticamente significativa, com valor de  $p < 0,001$ . Essa relação também foi observada no estudo de Paula *et al.* (2010), em esferas com óleo essencial de *Croton zehntneri* Pax et Hoffm com concentrações de ALG de 1,5%, 2,5% e 5%.

**Gráfico 3:** Gráfico de Tamanho das esferas *versus* Concentração de ALG nas formulações



Fonte: Elaborado pelo autor.

Além disso, apesar de o estudo de Paula *et al.* (2010) comparar concentrações de ALG diferentes (1,5%; 2,5% e 5%), os resultados coincidiram com menor desvio padrão no tamanho das partículas para as esferas com 2,5% de ALG, o que corrobora como um critério para escolha dessa formulação para estudos futuros a esse trabalho.

#### 5.4 Eficiência de encapsulação das esferas/beads

Calculando uma quantidade teórica de sólidos após a secagem das esferas para as formulações com 1,5%, 2% e 2,5%, consegue-se obter os respectivos valores teóricos de 3.063,48 µg, 2.832,26 µg e 2624,82 µg de timol. Desse modo, pode-se calcular a eficiência de encapsulação (EE) a partir da seguinte equação:

$$(EE) = (Concentração\ obtida \div Concentração\ teórica) * 100$$

Após as leituras espectrofotométricas, foram calculadas as concentrações de timol obtidas e corrigidas quanto às diluições, sendo os valores reais tabulados na Tabela 3, junto às

concentrações teóricas de timol para as amostras analisadas e com os respectivos valores de eficiência de encapsulação para cada formulação.

**Tabela 3:** Quantidades de timol (reais e teóricos) e valores de Eficiência de encapsulação (EE) para as diferentes formulações.

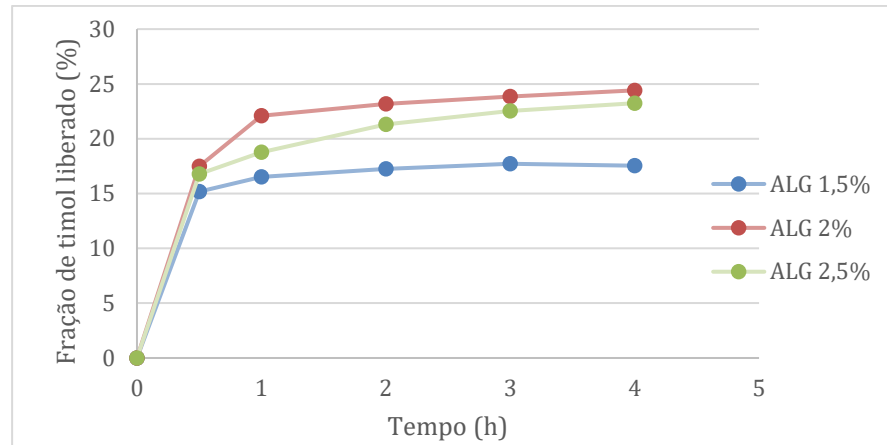
Parâmetros medidos	Formulações		
	ALG 1,5%	ALG 2%	ALG 2,5%
Timol real (g)	1513,69	1273,97	1650,68
Timol teórico (g)	3063,48	2832,26	2624,82
EE (%)	49,41	44,98	62,88

Fonte: Elaborado pelo autor.

Segundo Martins (2022), de maneira geral, a eficiência de encapsulação pode ser influenciada por variados fatores, como a proporção de polímero e óleo, a concentração de polímero e parâmetros do processo (agitação, pH etc.). Desse modo, como tentou-se manter condições de preparo semelhantes variando apenas as concentrações do polímero, foi percebido que há uma melhor recuperação do ativo vegetal para a formulação com 2,5% de ALG, que pode se dar por uma maior velocidade de reticulação quando são aplicadas maiores concentrações do polissacarídeo formador da parede das esferas. No entanto, não foi observada tendência de relação de linearidade entre o aumento de concentração de ALG nas formulações e as respectivas EE.

### 5.5 Ensaio de liberação in vitro

Para o ensaio de liberação, os resultados possibilitam a construção de um gráfico que relaciona a fração de timol liberado (%) das esferas *versus* o tempo (h) de liberação do ensaio, que está ilustrado na Gráfico 4. Após análise de 4h de teste, pode-se verificar que a formulação em que se obteve liberação mais lenta foi aquela com concentração de ALG 1,5%, sendo liberado cerca de 17% do timol encapsulado. As esferas com ALG a 2% e 2,5% apresentaram, no fim das 4h, frações liberadas semelhantes de 24,41 % e 23,24 %.

**Gráfico 4:** Perfil de liberação de timol *versus* tempo

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados de liberação foram submetidos à análise pelo DDSolver, possibilitando definir em qual modelo matemático de cinética se encaixa melhor o perfil de liberação das esferas produzidas. Os valores dos coeficientes de correlação ( $r^2$ ) para os respectivos modelos analisados estão descritos na Tabela 4. Assim, ao analisar os valores dos coeficientes, verificou-se que o modelo de Korsmeyer-Peppas é o que se apresenta com melhor perfil de linearidade, variando entre 0,9272 e 0,9973. Esse modelo é regido pela Equação 3, onde “ $M_t/M_\infty$ ” é a fração de óleo liberada em um tempo “ $t$ ”, “ $K$ ” é uma constante de liberação característica do sistema e “ $n$ ” o expoente difusional (DASH *et al*, 2010), sendo este último um indicativo do mecanismo de liberação do sistema analisado.

$$M_t/M_\infty = Kt^n \quad (\text{Equação 3})$$

Fonte: DASH *et al*, 2010.

**Tabela 4:** Coeficientes de correlação ( $r^2$ ) para os diferentes modelos cinéticos para as diferentes formulações.

Formulações	Coeficientes de correlação ( $r^2$ )				
	Ordem 0	Ordem 1	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixson-Crowell
ALG 1,5%	0,8576	0,8724	0,9159	0,9562	0,8677
ALG 2,0%	0,8345	0,8525	0,8912	0,9272	0,8469
ALG 2,5%	0,9583	0,9691	0,9873	0,9973	0,9658

Fonte: Elaborado pelo autor.

O estudo realizado por Paula *et al.* (2010) relata que as esferas de alginato produzidas apresentaram boa linearidade tanto para o modelo de Higuchi quanto para o de Korsmeyer-Peppas.

Segundo a teoria cinética de liberação de substâncias de amostras esféricas elaborada por Ritger e Peppas (1987), que leva em consideração o valor do expoente difusional ( $n$ ) obtido, quando  $n < 0,43$ , o mecanismo de liberação se dá por um fenômeno fickiano (Caso I), que ocorre quando a liberação é governada por um processo de difusão (pelo gradiente de concentração). Quando o valor de “ $n$ ” estiver entre 0,43 e 0,89, o fenômeno é não-fickiano (Anômalo), ou seja, a liberação é governada por mecanismos conjuntos de difusão e relaxação (mudança na estrutura macromolecular do polímero para acomodar o fluido). Ademais, quando  $n > 0,89$ , o fenômeno encaixa-se na liberação Caso II, quando a liberação é governada por mecanismo de relaxação. Os parâmetros cinéticos obtidos pela análise no DDSolver estão sumarizados na Tabela 5.

**Tabela 5:** Parâmetros cinéticos para as formulações produzidas.

Formulações	Parâmetros cinéticos	
	N	K
ALG 1,5%	0,0719	16,21
ALG 2,0%	0,1477	20,49
ALG 2,5%	0,1605	18,81

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Verificou-se um padrão de liberação para as três formulações, para as quais os valores de “ $n$ ” ficaram abaixo de 0,43, caracterizando a liberação por fenômeno fickiano, ou seja, por um mecanismo de difusão. Os valores de K estão em concordância com o observado no gráfico do perfil de liberação (Figura 8), visto que para a formulação de liberação mais lenta (ALG 1,5%) há o menor valor de K correspondente (16,21), assim como para a formulação de liberação mais rápida (ALG 2%) há um respectivo valor mais alto de K (20,49). Portanto, não foi observada uma linearidade que relacione o aumento da proporção do polímero com a diminuição de fração liberada pelo tempo durante o teste.

## 6 CONCLUSÃO

A partir da síntese dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que foi possível utilizar o método analítico empregado pela avaliação da linearidade das curvas de calibrações construídas.

O óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunt (OELO) foi analisado quanto ao seu teor de timol, demonstrando-se dentro de faixa adequada para a planta de origem do estudo, podendo ser utilizado para a produção das esferas/*beads*.

Além disso, conseguiu-se confeccionar as esferas/*beads* pretendidos no estudo, empregando três concentrações diferentes de alginato de sódio (ALG). Dito isso, foi observado uma proporcionalidade que relaciona o aumento de proporção de ALG com o aumento do tamanho das esferas obtidas. Também foi verificada a eficiência de encapsulação para as três formulações, com a observação de melhor recuperação do ativo vegetal para aquela com 2,5% de ALG, corroborando como um critério sua possível escolha para estudos futuros e possível aplicação.

As cinéticas de liberação das formulações foram analisadas e verificou-se que se enquadram no modelo de Korsmeyer-Peppas, concluindo-se que o mecanismo é regido por um processo de difusão para as três formulações. A formulação com menor concentração de ALG (ALG 1,5%) apresentou-se com uma liberação de timol mais lenta, no entanto, foi observada um valor de coeficiente de determinação melhor para ALG 2,5%. Desse modo, esta última demonstra mais um critério favorável à sua escolha para a realização de estudos futuros, como de avaliação de estabilidade das formulações (por exemplo, pelo acompanhamento do doseamento em períodos determinados) e de eficiência larvicida (testes de avaliação *in vivo*).

Portanto, o presente estudo cumpriu com os seus principais objetivos almejados, contribuindo com a possibilidade de aplicação de medidas de controle vetorial contra o mosquito transmissor de doenças ainda tão prevalente como a Dengue, a Zika e a Chikungunya que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente e aos organismos não-alvo. Ademais, demonstrou a possibilidade tanto de proteção quanto de controle de liberação do ativo vegetal escolhido.

## REFERÊNCIAS

- ACIOLY, R.V. **O uso de armadilhas de Oviposição (ovitrampas) como ferramenta para monitoramento populacional do Aedes spp em bairros do Recife**. 2006. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/3956>>. Acesso em: 22 set. 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Anvisa aprova nova vacina contra a dengue. 2023. **ANVISA**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-nova-vacina-para-a-dengue>>. Acesso em: 03 jun. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada** – RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. 2007. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0002\\_15\\_01\\_2007.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0002_15_01_2007.html)>. Acesso em: 07 out. 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada** – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre “Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências”. 2017. Disponível em: <[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC\\_166\\_2017\\_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401)>. Acesso em: 07 out. 2022.
- BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 16, n. 4, p. 179-293, dez. 2007. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742007000400006&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742007000400006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 01 out. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vigilância em saúde: dengue, esquistossomose, hanseníase, malária, tracoma e tuberculose**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 195p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral do Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de vigilância em saúde: volume único** [Internet]. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_3ed.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_3ed.pdf)>. Acesso em: 30 set. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS: Lippia sidoides Cham., Verbenaceae (Alecrim-pimenta)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/informacoes\\_sistematizadas\\_relacao\\_nacional\\_plantas\\_medicinais\\_interesse\\_sus\\_alecrim\\_pimenta.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/informacoes_sistematizadas_relacao_nacional_plantas_medicinais_interesse_sus_alecrim_pimenta.pdf)>. Acesso em: 01 out. 2022.
- CARVALHO, A.F.U. *et al.* Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* cham. against *Aedes aegypti* linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** [online]. 2003, v. 98, n. 4,

p. 569-571. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000400027>>. Acesso em: 02 out. 2022.

COELHO, G.E. Dengue: desafios atuais. *Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília*, v. 17, n. 3, p. 231-233, set. 2008. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742008000300008&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742008000300008&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 01 out. 2022.

CONSOLI, R.A.G.B.; OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994. 228p. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0007137>>. Acesso em: 22 set. 2022.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E.C.; SILVA, M. R.; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; CARDOSO, A. L. H.; LEMOS, T. L. G. Estudo químicobiológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 304-309, out./dez. 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400008>>. Acesso em: 02 out. 2022.

COSTA, P. J. C. . Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 2, p. 141–153, jun. 2002. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1516-93322002000200003> >. Acesso em: 04 jun. 2023.

DASH, S.; MURTHY, P. A.; NATH, L.; CHOWDHURY, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, 67, 217-223, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20524422/>>. Acesso em: 03 de jun. 2023.

DHIFI, W. *et al.* Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v.3, p.1-16, 2016. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2305-6320/3/4/25/htm>>. Acesso em: 01 out. 2022.

DÓRIA, G. A. A.; SILVA, W. J.; CARVALHO, G. A.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H. A study of the larvicidal activity of two *Croton* species from Northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 615-620, 2010. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880200903222952>>. Acesso em: 01 out. 2022.

DRAGET, Kurt I.; TAYLOR, Catherine. Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications. *Food Hydrocolloids*, v. 25, n. 2, p. 251-256, 2011.

EDMAN, J. D., *et al.* *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) movement influenced by availability of oviposition sites. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 35, p. 578-583, 1998. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jme/article/35/4/578/860723?login=false>>. Acessado em: 22 set. 2022.

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

[sciencedirect.ez11.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0378517314009661](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517314009661)>. Acesso em: 01 out. 2022.

EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. **Food and bioprocess technology**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 628-647, 12 ago. 2012. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <[https://link.springer-com.ez11.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11947-012-0944-0](https://link.springer.com.ez11.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11947-012-0944-0)>. Acesso em: 02 out. 2022.

FORTALEZA, Secretaria Municipal de Saúde. **Informe Semanal – Dengue, Chikungunya e Zika**. 38º semana epidemiológica. 2022. Disponível em: <<https://ms.dados.sms.fortaleza.ce.gov.br/BoletimArbovirose2022/>>. Acesso em: 30 set. 2022.

GRANT, G. T.; MORRIS; E. R., REES, D. A.; SMITH, P. J.; & Thom, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. **FEBS letters**, v. 32, n. 1, p. 195-198, 1973. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7) >. Acesso em: 03 jun. 2023.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Aromatic natural raw materials – Vocabulary: ISO 9235. Genebra, 8p, 1997.

KHAYYAT, S.A.; ROSELIN, L.S. Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils. *Journal of Saudi Chemical Society*, v.22, n.7, p.855-875, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610318300164?via%3Dihub>>. Acesso em: 02 out. 2022.

MARTINS, Q. **Funcionalização de tecidos com óleo essencial de cravo encapsulado em matrizes de quitosana e alginato**. 2022. 70 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Têxtil) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau, Blumenau, 2022. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/233258>>. Acesso em: 02 out. 2022.

MELO, M.T.P *et al.* Produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) em diferentes espaçamentos de plantio. 2011. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** [online]. 2011, v. 13, n. 2, pp. 230-234. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200016>>. Acesso em: 02 out. 2022.

NAZZARO, F; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion In Biotechnology**, Itália, p.182-186, abr. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166911006847>>. Acesso em: 02 out. 2022.

NORWITZ, G.; NATARO, N.; KELIHER, P. N. Study of the steam distillation of phenolic compounds using ultraviolet spectrometry. **Analytical Chemistry**, 58(3), 639–641. 1986. Disponível em: < <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac00294a034#> >. Acesso em: 09 jun. 2023.

OLIVEIRA, A.A. **Estudo comparativo sobre a eficácia de dois substratos de oviposição em armadilhas de ovitrampas para vigilância de vetores de dengue no município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro**. 2017. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2017. Disponível em:

<<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/22934>>. Acesso em: 20 set. 2022.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Atualização Epidemiológica Dengue na Região das Américas. OPAS/OMS**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-nova-vacina-para-a-dengue>>. Acesso em: 03 jun. 2023.

PAULA, H. C. B. *et al.* Esferas (beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri Pax et Hoffm. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p. 112–120, abr. 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/po/a/BdqvRqvw9PdxsFBSwqQ8HcB/?lang=pt>> Acesso em: 09 jun. 2023.

PEIXOTO, R. Dengue tem vacina? Veja imunizantes disponíveis e o que esperar da pesquisa do Butantan. 2022. **G1**. Disponível em:

<<https://g1.globo.com/saude/noticia/2022/05/02/dengue-x-vacina-veja-imunizantes-disponiveis-e-o-que-esperar-da-pesquisa-do-butantan.ghtml>>. Acesso em: 26 out. 2022.

PEREIRA, T. **Microencapsulação do óleo eugenol pelo método de spray drying**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química). Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/105202>>. Acesso em: 02 out. 2022.

PEREIRA MORÃO, R.; DE ALMEIDA, A. C.; RONIE MARTINS, E.; BICALHO PRATES, J. P.; DIAS DE OLIVEIRA, F. Constituintes Químicos e Princípios Farmacológicos do Óleo Essencial de Alecrim Pimenta (*Lippia Origanoides*). **Revista Unimontes Científica**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 74–81, 2020. Disponível em:

<<https://www.periodicos.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/1906>>. Acesso em: 2 out. 2022.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable. *Journal of Controlled Release*, 5, 37–42, 1987.

SILVA, P. T.; SANTOS, H. S.; TEIXEIRA, A. M. R.; BANDEIRA, P. N.; HOLANDA, C. L.; VALE, J. P. C.; PEREIRA, E. J. P.; MENEZES, J. E. S. A.; RODRIGUES, T. H. S.; SOUZA, E. B.; DA SILVA, H. C.; SANTIAGO, G. M. P. Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 329-332, 2019.

Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629919304399>>. Acesso em: 04 out. 2022.

SILVÉRIO, M. R. S.; ESPINDOLA, L. S.; LOPES, N. P.; VIEIRA, P. C. Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: the main vector of important arboviroses.

**Molecules**, 25, 3484, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/15/3484/htm>>. Acesso em: 01 out. 2022.

TEDJOU, A.N.; KAMGANG, B.; YOUNGANG, A. P.; NJIOKOU, F.; WONDJI, C. S. Update on the geographical distribution and prevalence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), two major arbovirus vectors in Cameroon. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. V. 13, e0007137, 2019. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0007137> >. Acesso em: 22 set. 2022.

VALLE, D.; PIMENTA, D.N.; AGUIAR, R. Zika, dengue e chikungunya: desafios e questões. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 419-422, jun. 2016. Disponível em <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742016000200419&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000200419&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 22 set. 2022.

VALLE, J.A.B; VALLE, R.C.S.; BIERHALZ, A.C.K.; BEZERRA, F.M.; HERNANDEZ /,A.L.; ARIAS, M.J.L. Chitosan microcapsules: methods of the production and use in the textile finishing. **Journal of applied polymer science**, [S.L.], v. 138, n. 21, p. 50482, 18 jan. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary-wiley.ez11.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1002/app.50482>>. Acesso em: 02 out. 2022.

ZARA, A.L.S.A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 391-404, jun. 2016. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742016000200391&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000200391&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 01 out 2022.