



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

TAYANE CRISLEY DA CONCEIÇÃO SILVA

**POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Zingiber officinale Roscoe NO CONTROLE DE LARVAS DE
Aedes aegypti: UM ESTUDO QUÍMICO E DE DOCKING
MOLECULAR.**

Macapá

2022

TAYANE CRISLEY DA CONCEIÇÃO SILVA

**POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* Roscoe NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes aegypti*:
UM ESTUDO QUÍMICO E DE DOCKING MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, do Campus Marco Zero, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciada em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alex Bruno Lobato Rodrigues.

Co-orientador: Prof. Dr. Ryan da Silva Ramos.

Macapá

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Thalita Ferreira – CRB-2 / 1557

S586p Silva, Tayane Crisley da Conceição.
Potencial inseticida do óleo essencial de *Zingiber Officinale Roscoe* no controle de larvas de *Aedes Eegypti* : um estudo químico e de *docking* molecular / Tayane Crisley da Conceição Silva. - 2022.
1 recurso eletrônico. 53 folhas.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Amapá, Curso de Licenciatura em Química, Macapá, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Alex Bruno Lobato Rodrigues.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. *Zingiber officinale Roscoe* - Análise. 2. *Aedes aegypti*. 3. Óleos Essenciais. I. Rodrigues, Alex Bruno Lobato, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 615.321

SILVA, Tayane Crisley da Conceição. **Potencial inseticida do óleo essencial de *Zingiber Officinale Roscoe* no controle de larvas de *Aedes Eegypti*** : um estudo químico e de *docking* molecular. Orientador: Prof. Dr. Alex Bruno Lobato Rodrigues. 2022. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Amapá, Curso de Licenciatura em Química, Macapá, 2022.

TAYANE CRISLEY DA CONCEIÇÃO SILVA

**POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* Roscoe NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes aegypti*:
UM ESTUDO QUÍMICO E DE DOCKING MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, do Campus Marco Zero, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciada em Química. Aos 21 dias do mês de março de dois mil e vinte e dois, às 15 horas, via on-line (<https://meet.google.com/qpw-upui-owg>) na cidade de Macapá-AP, realizou-se a defesa de Trabalho de Conclusão de Curso – TCC sendo **APROVA** pela Comissão Examinadora

Data de Aprovação: 21/03/2022.

Alex Bruno Lobato Rodrigues

Prof. Dr. Alex Bruno Lobato Rodrigues
Universidade Federal do Amapá
Orientador

Ryan da Silva Ramos

Prof. Dr. Ryan da Silva Ramos
Universidade do Estado do Amapá
Co-orientador

Lizandra Lima Santos

Profa. Ma. Lizandra Lima Santos
Universidade do Estado do Amapá
Avaliadora

Lethicia Barreto Brandão

Profa. Ma. Lethicia Barreto Brandão
Universidade Estácio de Sá/Macapá
Avaliadora

A Deus, aos meus pais, Benedita e José Roberto e aos meus irmãos Taís Clisley e Taylan Cristian, pelo exemplo de coragem, cumplicidade, simplicidade, resiliência e apoio incondicional durante todo o período da graduação.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar os agradecimentos, primeiramente, à DEUS e OGUM pela saúde, bênção, força e sabedoria para que eu jamais desistisse do meu sonho. Deram-me também coragem para vencer todos os obstáculos, que me socorreu espiritualmente, dando serenidade e resiliência para lidar as dificuldades enfrentadas durante o curso, ainda mais em tempos pandêmicos quando eu não tinha mais esperança.

À minha mãe, Benedita Serrão da Conceição, ao meu pai, José Roberto dos Santos Silva, aos meus irmãos, Taylan Cristyan da Conceição Silva e Taís Clisley da Conceição Silva, ao meu cunhado, Anderson Douglas dos Santos Ferreira pelos incentivos e apoio em todos os momentos durante minha vida e da graduação para eu ser, então, a primeira da família a se formar no nível superior o que por muitas vezes pareceu ser um sonho tão distante.

À minha madrinha, Ana Maria dos Santos Silva, ao meu tio Antônio Carlos dos Santos Silva e minha tia Luiza Maria do Santos Silva pelo incentivo, apoio e orientações necessárias para o início da vida acadêmica bem como ser minha referência estudantil e motivacional como exemplo de resiliência e persistência sobre os sonhos.

As minhas afilhadas, Luana da Silva e Marcia Victória pelo apoio, por serem minha fonte de inspiração e por me motivarem a seguir o caminho da graduação mesmo em tempos difíceis, em certos momentos obscuros e de incerteza como o pandêmico de COVID-19.

À minha tia Maria Raimunda Serrão dos Santos, Dulcinéia Mendes Serrão e Ted Max dos Santos Quaresma, Maria das Graças, respectivamente, *in memoriam*, pelo apoio, disponibilidade e amor que sempre tiveram em vida comigo, colocando-se à disposição para ajudar em qualquer adversidade.

À minha amiga fora da Universidade, Rosana Pires da Gama Rocha, que foi minha fiel incentivadora mesmo antes da entrada no âmbito universitário, pela troca de afeto, cumplicidade e experiência como uma irmã, foram essenciais e que me

fortaleceram mais e mais a cada dia. A sua mãe, Marilene Pires pela acolhida em dias difíceis e por todos os momentos bons compartilhados.

As minhas amigas fora da UNIFAP: Chiara Machado, Débora Machado e Alana Patrícia, ao meu amigo Edieldson Cardoso pelos inúmeros momentos de descontração, apoio e incentivo que sempre tiveram comigo com grande parcela de contribuição na minha graduação e na vida pessoal, logo, sempre serei muito grata por isso.

As minhas amigas e amigos dentro da Universidade: Ilmara Lobato, João Cleiton, David Maia, Dionísia Pelaes, Gleicy Kelly, Raqueline Machado, Ana Maria, Marcelo Cardoso e Romário Balieiro, pelo apoio acadêmico e companheirismo durante o caminho acadêmico construídas na UNIFAP, tanto no cotidiano quanto em congressos, feiras de ciências, viagens, com a certeza que estas, irei cultivar após esse ciclo universitário.

Ao meu orientador, professor Alex Bruno e ao meu Co-orientador professor Ryan Ramos pelas sugestões e diálogos que me fizeram encontrar o melhor caminho bem como, suas orientações, esclarecimentos, incentivos, correções e disponibilidade necessários além terem acreditado na possibilidade da realização deste trabalho com sugestões que foram preciosas para a concretização deste.

À professora Joaquina Barboza Malheiros, por ter feito parte dessa jornada pela disponibilidade dispensada e sugestões que foram preciosas e por incentivar a não para na graduação. Ao professor David Esteban Quintero por ter me dado a oportunidade de ser meu orientador de Iniciação Científica e sempre pela disponibilidade para esclarecimento de qualquer dúvida.

Ao Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica e o Laboratório de Modelagem e Química Medicinal da Universidade Federal do Amapá por ceder o espaço para execução da metodologia proposta e pelos resultados obtidos.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram e me apoiaram nessa jornada

Esforça-te, faz tua obra que EU serei contigo por onde quer que andares.

(Josué 1:9)

A dengue é uma doença de grande relevância e virulência para saúde populacional do Brasil, pois é transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*, um vetor de quatro sorotipos do flavivírus causador da dengue clássica e da febre hemorrágica. No estado do Amapá, em 2021, a partir do Boletim Epidemiológico da Superintendência de Vigilância em Saúde (SVS), apontou-se um aumento no número de casos de dengue de 121% em 2021 comparação com o mês de julho de 2020. Assim, o objetivo é executar um estudo químico e de *docking* molecular para avaliar o potencial inseticida do óleo essencial de *Zingiber officinal* Roscoe (Gengibre) no controle de larvas de *Aedes Aegypti*. Assim, foram feitos estudos químicos através de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas e docagem molecular na região dos ligantes do Hormônio Juvenil. O rendimento m/m foi de 0,042% em 3 horas de extração. Os constituintes químicos majoritários encontrados para o óleo essencial de rizomas de gengibre foram: Carvacrol (31.70%), Thymol (16.52%), γ -Terpinene (15.93), σ -Cymene (10.27%). O *docking* molecular demonstrou potencial de inibição do hormônio juvenil de *Aedes aegypti* oriundo da ação sinérgica de seus contistituíntes fitoquímicos minoritários: Thymol Acetate, Carvacryl Acetate e Caryophillene. Desse modo, este estudo permitiu concluir que os óleos essenciais a partir do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe podem apresentar atividade inseticida para ser aplicado no controle de *Aedes aegypti*.

Palavras-Chave: *Zingiber officinale* Roscoe; Gengibre; Óleos Essenciais, Inseticidas, *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Dengue is a disease of great importance for population health in Brazil, as it is transmitted by the *Aedes aegypti* mosquito, a vector of four flavivirus serotypes that cause classic dengue and hemorrhagic fever. In the state of Amapá, in 2021, from the Epidemiological Bulletin of the Superintendence of Health Surveillance (SVS), an increase in the number of dengue cases of 121% compared to the month of July 2020 was pointed out. The objective is to perform a chemical and molecular *docking* study to evaluate the insecticidal potential of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger) essential oil in the control of *Aedes Aegypti* larvae. Chemical studies were carried out through Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry and molecular *docking* in the region of Youth Hormone ligands. The m/m yield was 0.042% in 3 hours of extraction. The major chemical constituents found for the essential oil of ginger rhizomes were: Carvacrol (31.70%), Thymol (16.52%), γ -Terpinene (15.93), σ -Cymene (10.27%). Molecular *docking* demonstrated the potential to inhibit the juvenile hormone of *Aedes aegypti* from the synergistic action of its minor phytochemical constituents: Thymol Acetate, Carvacryl Acetate and Caryophyllene. Thus, this study allowed us to conclude that essential oils from the rhizome of *Zingiber officinale* Roscoe can present insecticidal activity to be applied in the control of *Aedes aegypti* larvae.

Keywords: *Zingiber officinale* Roscoe, Ginger; Essential Oils, Insecticides, *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Zingiber officinale</i> Roscoe: visão geral da espécie.....	25
Figura 2: Alguns componentes encontrados no óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Gengibre).....	26
Figura 3: Ciclo evolutivo do <i>Aedes aegypti</i>	29
Figura 4: Rizomas do Gengibre	37
Figura 5: Rizoma em porções menores	37
Figura 6: Rizoma triturado	38
Figura 7: Aparelho Clevenger	38
Figura 8: Óleo extraído dos rizomas do Gengibre.....	39
Figura 9: Cor e aparência.....	44
Figura 10: Cromatograma da amostra do óleo essencial do <i>Zingiber Officinale</i> Roscoe	45
Figura 11: Superposição das poses cristalográficas (verde) com o modelo de docking molecular (vermelho) do JHIII, e seus valores de RMSD e ΔG	47
Figura 12: Resultados das interações com a proteína de ligação ao hormônio juvenil do mosquito: (A) JH3, (B) Thymol Acetate (15), (C) Carvacryl Acetate (16) e (D) Caryophyllene 17.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados de protocolos usados aqui para validação de <i>docking</i> molecular..	41
Tabela 2: Dados de protocolos usados aqui para validação de <i>docking</i> molecular individualmente dos constituintes fitoquímicos.....	42
Tabela 3: Parâmetros físico-químicos do óleo essencial.....	43
Tabela 4: Compostos identificados na amostra de <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....	45
Tabela 5: Valores de ΔG do acoplamento entre controle e constituintes fitoquímicos com o hormônio juvenil	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%R	Rendimento obtido
ΔG	Energia Livre
μL	microlitro
μm	micrômetro
Å	Angstrom
<i>A. aegypti</i>	<i>Aedes Aegypti</i>
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
°C	Celsius
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CG	Cromatografia Gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Dr.	Doutor
eV	elétron volt
FUNASA	Fundação Nacional da Saúde
g	gramas
IV	Espectroscopia de Ultravioleta
JHIII	Hormônio Juvenil III
kPa	kilopascal
L	Litro
LRI	Índice de Retenção Linear

m	metros
m	massa
m_1	massa do óleo extraído
m_2	massa do material vegetal
Ma.	Mestra
MEC	Massa de ar Equatorial Continental
min	minutos
mL	mililitro
mm	milímetro
OEs	Óleos Essenciais
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
PMs	Plantas Medicinais
ppm	Parte por milhão
Prof.	Professor
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S	Entropia
SVS	Superintendência de Vigilância em Saúde
T	Temperatura
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
T_R	Tempo de Retenção
U	Energia interna
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá
UV	Espectroscopia de Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

C	Carbono
H	Hidrogênio
O	Oxigênio
P	Fósforo
S	Enxofre

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	22
2.1 GERAL.....	22
2.2 ESPECÍFICOS	22
3 CAPÍTULO 1	23
3.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
3.1.1. Óleos essenciais	23
3.1.2. <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Gengibre)	24
3.1.3. Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Gengibre)	25
3.1.4. Técnicas analíticas	26
3.1.5. Aspectos sobre o <i>Aedes aegypti</i>	28
4 CAPÍTULO 2	31
POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Zingiber officinale</i> Roscoe NO CONTROLE DE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> : UM ESTUDO QUÍMICO E DE DOCKING MOLECULAR	31
4. 1. INTRODUÇÃO.....	31
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.2.1. Preparação do gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	36
4.2.2. A extração do óleo essencial	38
4.2.3. Caracterização do perfil fitoquímico óleo essencial	39
4.2.4 Determinação dos constituintes químicos	40
4.2.5. Análise de <i>Docking</i> molecular na região do Hormônio Juvenil	41
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.3.1. Rendimento do óleo essencial	43
4.3.2. Determinação do perfil fitoquímico	43
4.3.3. Características químicas dos óleos essenciais obtidos o Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas (CG-EM)	44
4.3.4. Análise do docking molecular na região do Hormônio Juvenil	47
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	51
6. REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

A Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela são doenças arbovirais importantes tendo como vetor o *Aedes aegypti*, assolam o Brasil no quesito de saúde pública nacional e mundial. Conhecido por sua grande capacidade de adaptação em várias regiões e alto poder de transmissibilidade da virulência da cepa infectante, o *A. aegypti*, proveniente da África, disseminou-se pelo mundo a partir do século XVII. A partir então, dessa essa época, foram documentados casos de doenças provocadas pelo vetor em quase todos os continentes, com exceção da Antártida (GARCEZ, 2013).

Dentre as doenças citadas, a infecção que mais chama atenção pelo fato da sua suscetibilidade ainda em pleno século XXI e da evolução de seus quadros clínicos evoluírem de uma hemorragia para um choque séptico, podendo ter o êxito letal, é a dengue, uma doença febril aguda, de etiologia viral. Sua evolução é benigna na forma clássica, e grave, quando se apresenta na forma hemorrágica.

Assim, a dengue, a mais importante arbovirose (doença transmitida por artrópodes) ainda estudada no século XXI, pois, afeta diretamente o homem e seu meio, além de se constituir em um sério problema de saúde pública no mundo, especialmente nos países tropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem sua a reprodução, o seu desenvolvimento e a sua proliferação do principal mosquito vetor, o *Aedes aegypti*. (BRASIL, 2022).

Na fase adulta, as fêmeas dos mosquitos necessitam de altos níveis de hormônio juvenil para prepará-las para a digestão do sangue (NORIEGA, 2004). O termo hormônio juvenil refere-se a classe de hormônios reguladores da muda e da reprodução ao grupo dos sesquiterpenóides, sintetizados e liberados por um par de glândulas endócrinas conectadas ao cérebro (LI *et al*, 2003; NORIEGA, 2004; WILSON, 2004).

Quanto à suscetibilidade ao *A. aegypti*, é de suma importância estudarmos meios para o controle de sua propagação, pois, ainda não existem vacinas para a doença, e a melhor forma de combater é atacando diretamente o vetor, principalmente

eliminando os locais onde ocorre a oviposição e o desenvolvimento das larvas do mosquito. (BRASIL, 2009).

No Brasil, o controle desse vetor é feito a partir das aplicações de inseticidas organofosforados e piretróides (BRASIL, 2009). Em contrapartida, estes compostos apresentam desvantagens como alto custo, resistência populacional dos mosquitos e toxicidade para humanos, delimitando, assim, seu uso e recomendação (Dias e Moraes, 2014; Rosa *et al.*, 2016; Workman *et al.*, 2020). Os inseticidas organofosforados incluem uma ampla gama de produtos agrícolas e sanitários, desde os extremamente tóxicos até aqueles com baixa toxicidade.

Já os inseticidas piretróides, foram descobertos a partir de estudos que procuravam modificar a estrutura química das piretrinas naturais com uma maior capacidade letal para os insetos, propriedades físicas e químicas muito superiores, maior estabilidade à luz e calor e menor volatilidade.

Devido a essa problemática, pesquisadores vêm trabalhando em alternativas mais seguras, de baixo custo e mais seguras para controlar esse vetor, logo, é de suma importância estudar métodos eficazes para o controlar sua propagação e ecologicamente mais benignos desse vetor (Achee *et al.*, 2019; Dias e Moraes, 2014; Benelli, 2015; Silva *et al.*, 2020; Pavela *et al.*, 2019a).

No entanto, no decorrer dos anos, os agentes da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), utilizam uma concentração de 100 ppm do inseticida temefós nos locais que servem de criadouros para larvas do mosquito *A. aegypti*, onde se obtém taxa de mortalidade de 100% (TELES, 2009).

Os inseticidas temefós são do grupo químico dos organofosforados temephos com fórmula molecular $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$ e possuem formulação líquida, emulsionada, miscível com a maioria dos solventes orgânicos comuns, fotoestável, agem por contato e ingestão, ligando-se ao centro esteárico da Acetilcolinesterase (AChE), impossibilitando de exercer sua função, ou seja, hidrólise do neurotransmissor Acetilcolina (ACh), em colina e ácido acético.

O organofosforado temephos já foi o larvicida exclusivo usado no Brasil para o controle do *A. aegypti* por mais de 30 anos (BARRETO, 2005). Todavia, vem sendo substituído devido o desenvolvimento de grande resistência das larvas, que não estavam sendo adequadamente controladas por este produto químico que pode ser

um derivado de ésteres, amidas ou tiol dos ácidos de fósforo (ácido fosfórico, ácido tiosfosfórico, ácido ditiosfosfórico e outros), contendo várias combinações de carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre e nitrogênio.

Estes compostos químicos apresentam desvantagens como alto custo além da resistência populacional dos mosquitos e toxicidade para humanos, delimitando, assim, seu uso e recomendação (Dias e Moraes, 2014; Rosa *et al.*, 2016; Workman *et al.*, 2020). Por serem biodegradáveis, sua persistência no solo é curta e dura em média 1 a 3 meses, com meio de degradação no ambiente ocorrendo por hidrólise sob condições de alcalinidade e instáveis em pH menor que 2, sendo a maioria mais estável na faixa de pH do ambiente (pH 3-6).

Outro fator importante é que estes compostos sejam estáveis em pH neutro, por causa de suas formulações em óleos concentrados, solventes miscíveis em água, grânulos inertes, para aplicação direta ou após dispersão em água. Em algumas circunstâncias do processo de oxidação de fosforotioatos, por serem mais voláteis e tóxicos, podem transformar-se em fosfatos, resultando em composto potencialmente perigoso. Isto pode ocorrer quando os praguicidas são armazenados sob altas temperaturas.

Em regiões, como no Estado do Amapá com maior pluviosidade e com o clima, predominantemente, equatorial úmido ou tropical super úmido, devido à influência da Floresta Amazônica em seu território em consonância com os intensos raios solares, produzem grande quantidade de umidade no território amapaense gerando chuvas irregulares e altas temperaturas durante todo o ano. Há um fator climático predominante no Amapá, que é a influência da Massa de ar Equatorial Continental (MEC), responsável pelas intensas chuvas entre os meses de janeiro a julho, caracterizando, assim, a estação do inverno. Já, o verão, predomina nos meses de agosto a dezembro, notando que em regiões do litoral, como em Macapá.

Essas mudanças climáticas aliadas com outros fatores vêm trazendo consequências para a população do Amapá, pois, entre os períodos de seca e chuva, observa-se a diminuição e aumento da taxa de infecção pelo *A. aegypti*, respectivamente. (VIANA; IGNOTTI, 2013). Uma delas é o aumento de 177% dos casos de dengue no Estado em 2021 comparado com o mesmo período de 2020, de acordo com o boletim epidemiológico divulgado pela Superintendência de Vigilância em Saúde (SVS). Esses são locais mais afetados pela doença, pois, há — nestas

localidades — um ambiente mais propício à disseminação do mosquito (LIMA *et al.*, 2020).

Na época de menor pluviosidade e altas temperaturas, ficam mais propensa à diminuição, nos quintais domésticos, quanto aos reservatórios de água favoráveis à reprodução do mosquito da dengue. Em contrapartida, na estação mais chuvosa, época de maior pluviosidade, será mais propícia ao aumento da proliferação dos referidos artrópodes. (FORATTINI; KAKITANI; UENO, 2001).

Os dados na literatura mostram que, o clima isoladamente, não determina a incidência das arboviroses de modo geral. No entanto, quando são associadas questões sociais, educacionais, de gestão pública (coleta e descarte adequados do lixo, por exemplo) pode ser um importante fator na dinâmica de incidência de doenças como a dengue (SILVA *et al.*, 2020).

Ao tratar da fundamentação do problema de investigação do presente trabalho, faz-se necessário resgatar o aconselhamento da Organização Mundial de Saúde (OMS) nos últimos anos, estudos com extratos de plantas consideradas medicinais, principalmente das plantas tendo como base o conhecimento popular (OMS, 2021). Nessa perspectiva, questiona-se: quais produtos naturais podem ser usados como larvicidas contra o *Aedes aegypti* no controle no tratamento da dengue?

Outro fator que será levado em consideração para a escolha do material vegetal que possuem substâncias cuja as moléculas possuem ação fagoinibidora, repelente, inseticida, além de serem capazes de alterar a regulação do crescimento, com produtos para serem utilizados no controle e redução de riscos epidêmicos como as plantas com atividade inseticida e larvicida (PAVELA *et al.*, 2019a), tornando-se uma alternativa promissora.

Dentre os produtos obtidos das plantas, encontram-se os óleos essenciais (OEs) de algumas espécies de plantas aromáticas, os quais já são largamente utilizados na indústria química para a produção de sabonetes, perfumes e outros produtos. Esses óleos, produzidos no metabolismo secundário das plantas, são apresentados como fontes de materiais com atividade inseticidas, larvicidas e repelentes. (COSTA, 2005; MURUGAN *et al.*, 2007).

Os OEs de algumas espécies de Plantas Medicinais (PMs) e aromáticas são usadas na medicina tradicional devido a seu grande efeito terapêutico (Gonçalves,

2017) e produzem compostos bioativos funcionando em sinergia, tornando necessários testes de toxicidades contra organismos não alvos e não visados (Luz *et al.*, 2020).

Assim, para que a dengue não assuma proporções de uma epidemia bem como o descontrole da densidade populacional do mosquito e com o crescimento da doença e os prejuízos causados, especificamente em Macapá, tornando-se relevante estudos de produtos naturais e de baixo custo como os OEs com a finalidade de desenvolver métodos contra esse vetor.

Desse modo, na busca por métodos seguros e relativamente baratos, os extratos de planta têm recebido muito interesse como potenciais agentes bioativos contra larvas de mosquitos (CHUNG *et al.*, 2010), uma vez que, as doenças arbovirais apresentam uma séria ameaça à sociedade (Senthil-Nathan, 2020). Portanto, o objetivo desse Projeto de Conclusão de Curso visa desenvolver um estudo químico e de *docking* molecular para avaliar o potencial inseticida do óleo essencial extraído dos rizomas da planta da flora brasileira denominada de *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre) no controle do *Aedes Aegypti*.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Apresentar um estudo químico e de *docking* molecular para o potencial inseticida do óleo essencial extraído dos rizomas da planta da flora brasileira *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre) no controle de larvas do *Aedes Aegypti*.

2.2 ESPECÍFICOS

São objetivos específicos de pesquisa:

- Extrair o óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe por hidrodestilação;
- Caracterizar quimicamente e quantificar o perfil fitoquímico do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM);
- Avaliar o potencial inseticida com inibição do hormônio juvenil pelos constituintes fitoquímicos do óleo essencial de *Z. officinale* por *docking* molecular.

3.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Química é uma ciência exata que está inserida no cotidiano de todos, por isso, ela é uma ciência ampla que pode ser trabalhada em diversos campos, como por exemplo, no estudo de produtos naturais. Atualmente, têm-se bons resultados dos efeitos biológicos de produtos naturais de fontes vegetais capaz de alterar a regulação do crescimento de uma população como os óleos essenciais (OEs).

3.1.1. Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são obtidos através das plantas aromáticas e seus componentes, tendo uma ampla gama de aplicações em etno-medicina, preservação, aromatização de alimentos e fragrâncias e nas indústrias de perfumaria (SHEN *et al.*, 2015). Desse modo, os OEs possuem propriedades biológicas e farmacológicas, como antimicrobiana, inseticida, analgésica e anti-inflamatória.

Essas propriedades são atribuídas aos diversos compostos químicos voláteis, tais como, os ácidos, aldeídos e terpenos, possuindo assim, grande importância por serem considerados compostos altamente bioativos, também denominados fitoalexinos (ALMEIDA, 2015). Além destes, existem os terpenos e fenilpropanóides que são sintetizados por espécies vegetais que podem apresentar propriedades inseticidas e/ou atrativas (alimentação e polinização e alimentação) (VORIS *et al.* 2017).

Os OEs ou óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, quimicamente, se diferem dos óleos vegetais e dos minerais, pois, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas de terpenos e compostos oxigenados junto com outros tipos de substâncias (SIMÕES *et al.*, 2007). Quanto ao, os vegetais são ésteres da glicerina com ácidos graxos de cadeias longas e os minerais são parafinas líquidas misturadas a outros hidrocarbonetos.

As características físico-químicas que esses OEs podem apresentar são: a aparência oleosa, aroma, densidade e viscosidade, além de serem líquidos voláteis e solúveis em solventes apolares, como o éter. No entanto, em água, eles apresentam

solubilidade limitada, mas o suficiente para aromatizar soluções aquosas denominadas de hidrolatos (TELES, 2003).

Os métodos de extração dos OEs variam de acordo com a região em que a planta é cultivada bem como a finalidade dos OEs. De acordo com o autor Mouchrek, os mais comuns são de enfloração, arraste de vapor d'água, extração com solventes orgânicos, prensagem e extração por CO₂ supercrítico. (MOUCHREK, 2000).

No método por arraste de vapor, o material vegetal é colocado em um balão de hidrodestilação, a certa distância do fundo do extrator. A água entra em ebulição no seu estado puro, o vapor percorre o material arrastando somente o óleo e segue na condensação e separação como na hidrodestilação (SILVA *et al.* 2010).

Na hidrodestilação o material a ser destilado fica em contato direto com a água, e quando esta entra em ebulição, arrasta os compostos voláteis consigo inclusive o óleo, e quando condensa, forma uma mistura heterogênea, com duas fases, devido à diferença de polaridade e densidade entre a água e o óleo. (OLIVEIRA; SOUZA, 2012)

Quanto aos constituintes químicos do OEs, segundo o autor Simões e seus colaboradores, variam de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas até compostos contendo enxofre, tendo na mistura, diferentes concentrações (SIMÕES *et al.*, 2010).

3.1.2. *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre)

Descrito pela primeira vez em 1807, pelo botânico inglês William Roscoe, o gengibre foi cientificamente reconhecido como *Zingiber officinale* Roscoe, pertencente à família Zingiberaceae, englobando mais de 1.200 espécies, 53 gêneros, dentre elas o Zingiber.

Sua planta herbácea, perene e produz um rizoma cremoso articulado, revestido de epiderme rugosa e de cor pardacenta, perene, de cultivo anual, com cerca de 1 m de altura, apresentado folhas lineares e sésseis, verdes-amareladas, rizomas com várias gemas, sabor picante e odor aromático (LAMAS, 2011).

No Brasil, o cultivo do gengibre teve início logo após a colonização europeia, mas somente nas últimas décadas, depois que agricultores japoneses trouxeram

rizomas gigantes, tendo a Índia, China e Nigéria como os produtores mundiais de gengibre (ELPO, 2004).

Figura 1: *Zingiber officinale* Roscoe: visão geral da espécie



Fonte: Elpo, 2004.

As plantas possuem mecanismos contra a ação de insetos capazes de sintetizar a partir de diversas vias metabólicas, compostos de defesas, como os metabólicos secundário que agem com potencial repelente e inseticida e se dividem em metabólitos primários e secundários (SANTOS *et al.* 2013).

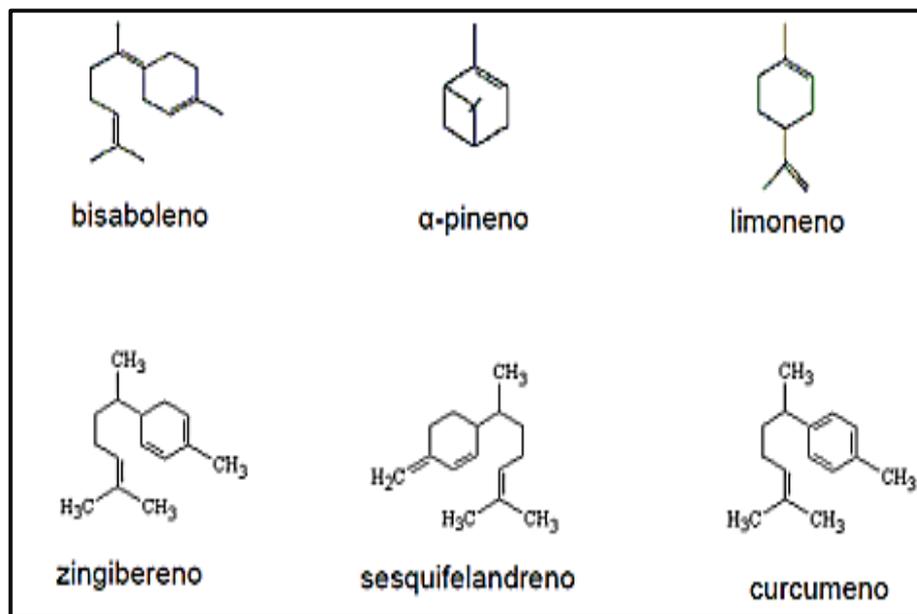
O metabolismo primário compreende várias reações químicas envolvidas na transformação de moléculas em unidades constitutivas essenciais das células. No entanto, o metabolismo secundário não se relaciona diretamente à manutenção de vida do organismo produtor (SANTOS, 2019).

3.1.3. Óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre)

Segundo Zerate e seus colaboradores, a composição do óleo essencial de gengibre pode variar de acordo com a origem geográfica, secagem, época de colheita e tipo de adubação (ZERATE *et al.*,1992). Dentre a composição química dos constituintes do componente, o majoritário é o zingibereno (C₁₅H₂₄) estando presente no óleo, cerca de 30% (ARAUJO, 1999).

No entanto, pode-se encontrar outros grupos constituintes do óleo essencial de gengibre, tais como, os monoterpenos: (α)-pineno, limoneno,; sesquiterpenos, zingibereno, curcumento, bisaboleno, sesquifelandreno; álcoois: 2-butanol, 2-metil-but-3-em-2-ol, citronelol, zingerenol, β -eudesmol; aldeídos: biutanal, 2-metil-butanal, pentanal, citronelal, neral, geranial; cetonas: gingerona, criptona, carvotanacetona e óxidos: 1,8-cineol.

Figura 2: Alguns componentes encontrados no óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre).



Fonte: Afzal *et al.*, 2001.

3.1.4. Técnicas analíticas

Com o advento da globalização e a constante atualização da tecnologia, métodos foram desenvolvidos visando determinar a quantidade de vários componentes desejados dentro de uma amostra, bem como, seus constituintes químicos, aumentando assim, sua segurança na utilização, permitindo a avaliação qualitativa e a quantitativa de uma estrutura. Dentre essas técnicas tem-se a Cromatografia Gasosa (CG), técnica usada neste trabalho.

3.1.4.1. Cromatografia Gasosa (CG)

Para realizar a separação das misturas individuais, uma das técnicas utilizadas para determinar, quantitativamente e qualitativamente, as frações individuais das

substâncias dos componentes dos OEs é a Cromatografia Gasosa (CG). Ela é mais utilizada devido a função do seu alto poder de diferenciação e por ser um método simples utilizado e eficiente. Mas, há outros métodos como a Cromatografia de Camada Delgada (CCD), a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Espectroscopia de Ultravioleta (UV), Infravermelho (IV) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (^1H e ^{13}C) (SIMÕES et al, 2007).

3.1.4.2 Técnica de Ancoragem Molecular

As técnicas de ancoragem molecular (*docking* molecular) fornecem estimativas da energia livre de ligação entre a proteína e o ligante, antes mesmo que esses sejam sintetizados. É uma técnica computacional que permite identificar quais estruturas apresentam maior chance de se ligarem a um determinado alvo. Esta importante ferramenta tem sido usada para filtrar compostos que não servem para serem designados como alvo, e desenhar os possíveis candidatos que apresentariam uma boa interação com o sítio ativo do receptor (RODRIGUES *et al.*, 2012).

A partir de cada conformação espacial, são obtidas energias livres de ligação (entre ligante e alvo), onde a menor energia é considerada a mais provável para justificar a conformação da interação (KITCHEN, 2004). O preparo das estruturas químicas a serem testadas, compreende uma das partes mais importantes nas propostas de novos ligantes, pois as moléculas devem ser projetadas com cuidado.

Assim, o principal objetivo destes métodos é o cálculo da energia livre (ΔG) entre as moléculas. A energia livre de ligação pode ser obtida por:

$$\Delta G_{\text{Ligação}} = G_{\text{Proteína-Ligante}} - G_{\text{Proteína}} - G_{\text{Ligante}}$$

A contribuição da energia livre é expressa como:

$$G = U - TS$$

Sendo U a energia interna da molécula, T a temperatura absoluta do sistema (309K) e S a entropia da molécula estudada (SMITH, 2007). Existem vários tipos de funções para avaliar a energia livre de ligação do receptor-ligante utilizadas pelos pacotes computacionais de ancoragem (RODRIGUES *et al.*, 2012).

Para classificá-las, pode-se agrupá-las em três classes principais: primeira, funções baseadas em campos de força, que através de simulações computacionais, o campo de força cria uma representação física do sistema estudado, e suas equações procuram mimetizar o potencial de interação entre os átomos.

Segundo, funções empíricas, onde as equações utilizam coeficientes pré-otimizados vindos de dados experimentais de interações proteína-ligante. E por fim, funções baseadas em conhecimento, que utilizam informações vindas de estruturas determinadas experimentalmente, para se basear e criar possíveis geometrias assumidas pelos ligantes no sítio ativo (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

3.1.5. Aspectos sobre o *Aedes aegypti*

No Brasil, a dengue vem causando a morte de muitas pessoas todos os anos ou a incapacidade de trabalho por um período de aproximadamente 10 dias devido aos sintomas geralmente severos. Para acessar outros tecidos do corpo e infectá-los, o vírus invade a corrente sanguínea pela picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* que se contamina mediante o ciclo de transmissão homem-mosquito-homem. (BURGOS *et al.*, 2019).

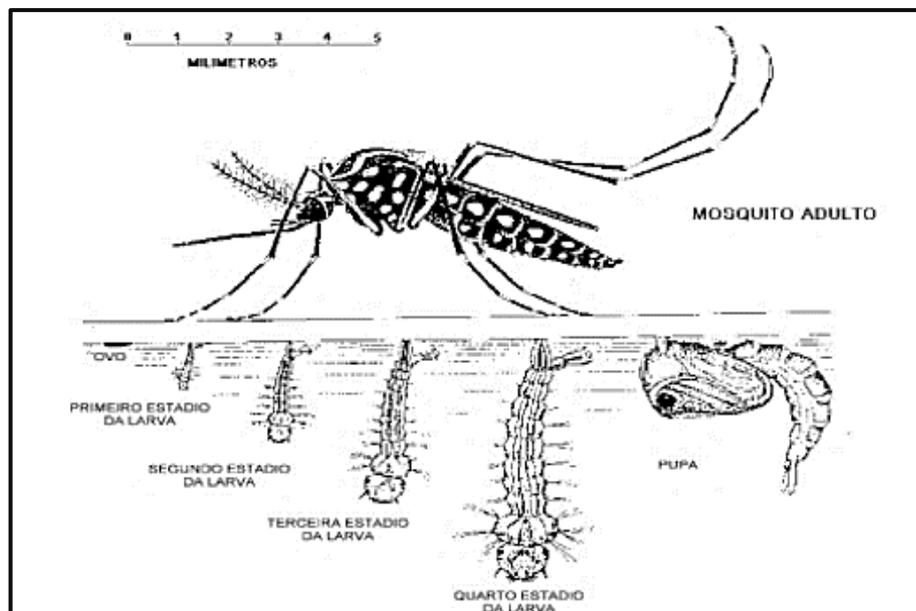
No Estado do Amapá, em 2020, a partir dos dados do relatório epidemiológico apresentado pela Superintendência de Vigilância em Saúde (SVS, 2020) sobre casos de dengue, chikungunya e zika vírus, apontou para um aumento no número de casos de dengue no estado do Amapá de 121% em comparação com o mês de julho de 2020, passando de 14 para 31 casos. Em 20 de fevereiro de 2021, os casos confirmados foram de 177% de dengue no comparativo com o mesmo período do ano passado, tendo alta de 31% das notificações compulsórias.

O *Aedes aegypti* é uma espécie pertencente à família Culicidae, subfamília Culicinae e subgênero Stegomyia, é considerado um mosquito cosmopolita de regiões tropicais e subtropicais. Sendo uma espécie de mosquito nativa da África e atualmente distribuído em todo o mundo (KRAEMER *et al.*, 2015), onde se domesticou e se adaptou no ambiente urbano, tornando-se antropofílico, com preferência em infectar humanos (COSTA, 2001). A sua propagação ocorre, de forma passiva, já que seus ovos podem resistir a mais de um ano sem água (CARVALHEIRO, 2006).

Seu ciclo de vida tem duração média, em condições favoráveis com oferta de alimentos e temperatura, é aproximadamente 10 dias a partir da ovoposição até a fase adulta (USP, 2011). No entanto, para o autor Varejão *et al.* (2005) o ciclo aquático do *A. aegypti* depende da qualidade do reservatório de água disponível, pois, sabe-se hoje que o mosquito se adapta as mais diversas situações, utilizando como criadouros desde bromélias, poças de água, até ambientes com elevado grau de poluição como esgotos domésticos e esgotos a céu aberto (BEZERRA *et al.*, 2009).

Além disso, o seu ciclo é desenvolvido em duas fases ecológicas distintas e independentes: as aquáticas com três etapas, o ovo, a larva e a pupa; e a terrestre: mosquito adulto. Durante a estação chuvosa, a densidade populacional do mosquito *A. aegypti* é aumentada, embora ele consiga manter sua população também nas estações secas. Este fato pode ser evidenciado pelo número de infecções as quais o *A. aegypti* atua como vetor (VIANA; IGNOTTI, 2013).

Figura 3: Ciclo evolutivo do *Aedes aegypti*



Fonte: Carvalho, 2015.

Na fase adulta, as fêmeas dos mosquitos necessitam de altos níveis de hormônio juvenil para prepara-las para a digestão do sangue ingerido (NORIEGA,

2004). Uma fêmea, em condições ideais, pode chegar a pôr até cerca de 270 ovos (BESERRA et al, 2006).

Somente as fêmeas são hematofágicas, fazendo seu pasto sanguíneo em horários diurnos, ao amanhecer e pouco antes do crepúsculo vespertino, podendo atacar a noite por proximidade do homem ao seu abrigo. A cópula acontece nos ambientes domiciliares e peridomiciliares, assim como a postura dos ovos.

O termo hormônio juvenil refere-se a classe de hormônios reguladores da muda e da reprodução ao grupo dos sesquiterpenóides, sintetizados e liberados por um par de glândulas endócrinas conectadas ao cérebro (LI *et al*, 2003; NORIEGA, 2004; WILSON, 2004).

Quanto a sua morfologia é um mosquito de cor escura com escamas branco-prateadas distribuídas pelo seu corpo, formando listras. Sua característica marcante é a presença de um padrão de listras em seu mesonoto em forma de lira. As pernas são escuras com manchas claras em suas articulações.

POTENCIAL INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* Roscoe NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes aegypti*: UM ESTUDO QUÍMICO E DE DOCKING MOLECULAR

4. 1. INTRODUÇÃO

A Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela são doenças arbovirais importantes tendo como vetor o *Aedes aegypti*, assolam o Brasil no quesito de saúde pública nacional e mundial. Conhecido por sua grande capacidade de adaptação em várias regiões e alto poder de transmissibilidade da virulência da cepa infectante, o *A. aegypti*, proveniente da África, disseminou-se pelo mundo a partir do século XVII. A partir então, dessa essa época, foram documentados casos de doenças provocadas pelo vetor em quase todos os continentes, com exceção da Antártida (GARCEZ, 2013).

Dentre as doenças citadas, a infecção que mais chama atenção pelo fato da sua suscetibilidade ainda em pleno século XXI e da evolução de seus quadros clínicos evoluírem de uma hemorragia para um choque séptico, podendo ter o êxito letal, é a dengue, uma doença febril aguda, de etiologia viral. Sua evolução é benigna na forma clássica, e grave, quando se apresenta na forma hemorrágica.

Assim, a dengue, a mais importante arbovirose (doença transmitida por artrópodes) ainda estudada no século XXI, pois, afeta diretamente o homem e seu meio, além de se constituir em um sério problema de saúde pública no mundo, especialmente nos países tropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem sua a reprodução, o seu desenvolvimento e a sua proliferação do principal mosquito vetor, o *Aedes aegypti*. (BRASIL, 2022).

Na fase adulta, as fêmeas dos mosquitos necessitam de altos níveis de hormônio juvenil para prepará-las para a digestão do sangue (NORIEGA, 2004). O termo hormônio juvenil refere-se a classe de hormônios reguladores da muda e da reprodução ao grupo dos sesquiterpenóides, sintetizados e liberados por um par de

glândulas endócrinas conectadas ao cérebro (LI *et al*, 2003; NORIEGA, 2004; WILSON, 2004).

Quanto à suscetibilidade ao *A. aegypti*, é de suma importância estudarmos meios para o controle de sua propagação, pois, ainda não existem vacinas para a doença, e a melhor forma de combater é atacando diretamente o vetor, principalmente eliminando os locais onde ocorre a oviposição e o desenvolvimento das larvas do mosquito. (BRASIL, 2009).

No Brasil, o controle desse vetor é feito a partir das aplicações de inseticidas organofosforados e piretróides (BRASIL, 2009). Em contrapartida, estes compostos apresentam desvantagens como alto custo, resistência populacional dos mosquitos e toxicidade para humanos, delimitando, assim, seu uso e recomendação (DIAS; MORAES, 2014; ROSA *et al.*, 2016; WORKMAN *et al.*, 2020). Os inseticidas organofosforados incluem uma ampla gama de produtos agrícolas e sanitários, desde os extremamente tóxicos até aqueles com baixa toxicidade.

Já os inseticidas piretróides, foram descobertos a partir de estudos que procuravam modificar a estrutura química das piretrinas naturais com uma maior capacidade letal para os insetos, propriedades físicas e químicas muito superiores, maior estabilidade à luz e calor e menor volatilidade.

Devido a essa problemática, pesquisadores vêm trabalhando em alternativas mais seguras, de baixo custo e mais seguras para controlar esse vetor, logo, é de suma importância estudar métodos eficazes para o controlar sua propagação e ecologicamente mais benignos desse vetor (ACHEE *et al.*, 2019; DIAS; MORAES, 2014; BENELLI, 2015; SILVA *et al.*, 2020; PAVELA *et al.*, 2019a).

No entanto, no decorrer dos anos, os agentes da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), utilizam uma concentração de 100 ppm do inseticida temefós nos locais que servem de criadouros para larvas do mosquito *A. aegypti*, onde se obtém taxa de mortalidade de 100% (TELES, 2009).

Os inseticidas temefós são do grupo químico dos organofosforados temephos com fórmula molecular $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$ e possuem formulação líquida, emulsionada, miscível com a maioria dos solventes orgânicos comuns, fotoestável, agem por contato e ingestão, ligando-se ao centro esteárico da acetilcolinesterase (AChE),

impossibilitando de exercer sua função, ou seja, hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh), em colina e ácido acético.

O organofosforado temephos já foi o larvicida exclusivo usado no Brasil para o controle do *A. aegypti* por mais de 30 anos (BARRETO, 2005). Todavia, vem sendo substituído devido o desenvolvimento de grande resistência das larvas, que não estavam sendo adequadamente controladas por este produto químico que pode ser um derivado de ésteres, amidas ou tiol dos ácidos de fósforo (ácido fosfórico, ácido tiofosfórico, ácido ditiofosfórico e outros), contendo várias combinações de carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre e nitrogênio.

Estes compostos químicos apresentam desvantagens como alto custo além da resistência populacional dos mosquitos e toxicidade para humanos, delimitando, assim, seu uso e recomendação (Dias e Moraes, 2014; Rosa *et al.*, 2016; Workman *et al.*, 2020). Por serem biodegradáveis, sua persistência no solo é curta e dura em média 1 a 3 meses, com meio de degradação no ambiente ocorrendo por hidrólise sob condições de alcalinidade e instáveis em pH menor que 2, sendo a maioria mais estável na faixa de pH do ambiente (pH 3-6).

Outro fator importante é que estes compostos sejam estáveis em pH neutro, por causa de suas formulações em óleos concentrados, solventes miscíveis em água, grânulos inertes, para aplicação direta ou após dispersão em água. Em algumas circunstâncias do processo de oxidação de fosforotioatos, por serem mais voláteis e tóxicos, podem transformar-se em fosfatos, resultando em composto potencialmente perigoso. Isto pode ocorrer quando os praguicidas são armazenados sob altas temperaturas.

Em regiões, como no Estado do Amapá com maior pluviosidade e com o clima, predominantemente, equatorial úmido ou tropical super úmido, devido à influência da Floresta Amazônica em seu território em consonância com os intensos raios solares, produzem grande quantidade de umidade no território amapaense gerando chuvas irregulares e altas temperaturas durante todo o ano. Há um fator climático predominante no Amapá, que é a influência da Massa de ar Equatorial Continental (MEC), responsável pelas intensas chuvas entre os meses de janeiro a julho, caracterizando, assim, a estação do inverno. Já, o verão, predomina nos meses de agosto a dezembro, notando que em regiões do litoral, como em Macapá.

Essas mudanças climáticas aliadas com outros fatores vêm trazendo consequências para a população do Amapá, pois, entre os períodos de seca e chuva, observa-se a diminuição e aumento da taxa de infecção pelo *A. aegypti*, respectivamente. (VIANA; IGNOTTI, 2013). Uma delas é o aumento de 177% dos casos de dengue no Estado em 2021 comparado com o mesmo período de 2020, de acordo com o boletim epidemiológico divulgado pela Superintendência de Vigilância em Saúde (SVS). Esses são locais mais afetados pela doença, pois, há — nestas localidades — um ambiente mais propício à disseminação do mosquito (LIMA *et al.*, 2020).

Na época de menor pluviosidade e altas temperaturas, ficam mais propensa à diminuição, nos quintais domésticos, quanto aos reservatórios de água favoráveis à reprodução do mosquito da dengue. Em contrapartida, na estação mais chuvosa, época de maior pluviosidade, será mais propícia ao aumento da proliferação dos referidos artrópodes. (FORATTINI; KAKITANI; UENO, 2001).

Os dados na literatura mostram que, o clima isoladamente, não determina a incidência das arboviroses de modo geral. No entanto, quando são associadas questões sociais, educacionais, de gestão pública (coleta e descarte adequados do lixo, por exemplo) pode ser um importante fator na dinâmica de incidência de doenças como a dengue (SILVA *et al.*, 2020).

Ao tratar da fundamentação do problema de investigação do presente trabalho, faz-se necessário resgatar o aconselhamento da Organização Mundial de Saúde (OMS) nos últimos anos, estudos com extratos de plantas consideradas medicinais, principalmente das plantas tendo como base o conhecimento popular (OMS, 2021). Nessa perspectiva, questiona-se: quais produtos naturais podem ser usados como larvicidas contra o *Aedes aegypti* no controle no tratamento da dengue?

Outro fator que será levado em consideração para a escolha do material vegetal que possuem substâncias cuja as moléculas possuem ação fagoinibidora, repelente, inseticida, além de serem capazes de alterar a regulação do crescimento, com produtos para serem utilizados no controle e redução de riscos epidêmicos como as plantas com atividade inseticida e larvicida (PAVELA *et al.*, 2019a), tornando-se uma alternativa promissora.

Dentre os produtos obtidos das plantas, encontram-se os óleos essenciais (OEs) de algumas espécies de plantas aromáticas, os quais já são largamente utilizados na indústria química para a produção de sabonetes, perfumes e outros produtos. Esses óleos, produzidos no metabolismo secundário das plantas, são apresentados como fontes de materiais com atividade inseticidas, larvicidas e repelentes. (COSTA, 2005; MURUGAN *et al*, 2007).

Os OEs de algumas espécies de plantas medicinais (PMs) e aromáticas são usadas na medicina tradicional devido a seu grande efeito terapêutico (Gonçalves, 2017) e produzem compostos bioativos funcionando em sinergia, tornando necessários testes de toxicidades contra organismos não alvos e não visados (Luz *et al.*, 2020).

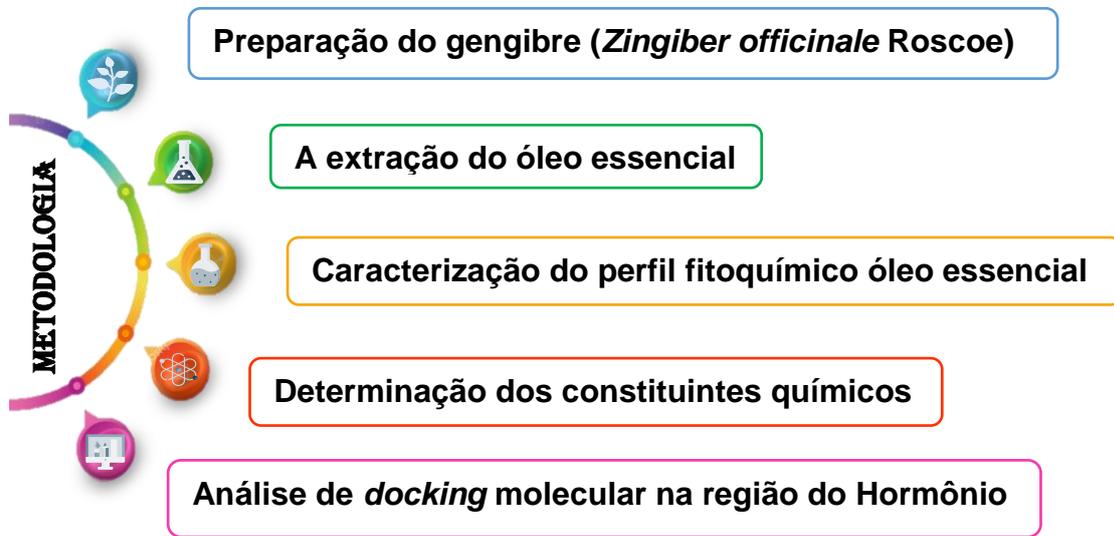
Assim, para que a dengue não assuma proporções de uma epidemia bem como o descontrole da densidade populacional do mosquito e com o crescimento da doença e os prejuízos causados, especificamente em Macapá, tornando-se relevante estudos de produtos naturais e de baixo custo como os OEs com a finalidade de desenvolver métodos contra esse vetor.

Desse modo, na busca por métodos seguros e relativamente baratos, os extratos de planta têm recebido muito interesse como potenciais agentes bioativos contra larvas de mosquitos (CHUNG *et al.*, 2010), uma vez que, as doenças arbovirais apresentam uma séria ameaça à sociedade (SENTHIL-NATHAN, 2020). Portanto, o objetivo desse Projeto de Conclusão de Curso visa desenvolver um estudo químico e de *docking* molecular para avaliar o potencial inseticida do óleo essencial extraído dos rizomas da planta da flora brasileira denominada de *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre) no controle do *Aedes Aegypti*.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada para extração do óleo essencial e para o estudo químico com a avaliação do potencial inseticida *Zingiber officinale* Roscoe (Gengibre), foi desenvolvida por meio de técnicas de hidrodestilação no Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica e a de *docking* molecular no Laboratório de Modelagem e Química Medicinal da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), localizado na Rodovia Josmar Chaves Pinto, km 02 - Jardim Marco Zero, Macapá - AP, 68903-419.

Nesse sentido, este trabalho seguirá a seguinte metodologia:



4.2.1. Preparação do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)

O rizoma de gengibre foi adquirido no comércio local de Macapá, Amapá, Brasil, para o processo de extração do óleo essencial conforme a Figura 7. Foram pesados 1000 g do material vegetal e depois foi realizado a desidratação, assim, deixou-se secar (secagem a temperatura ambiente 28°C) por 07 dias conforme esquema a seguir.

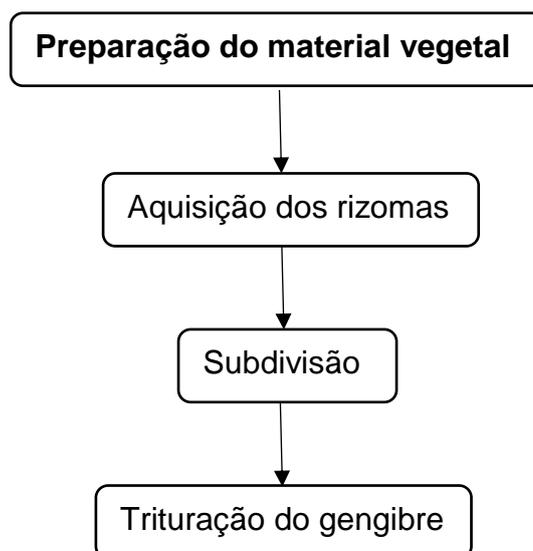


Figura 4: Rizomas do Gengibre



Fonte: Autora

Em seguida material vegetal foi subdividido em pequenas porções para diminuir a área de espessura e facilitar o processamento dele. O processo teve auxílio de uma faca para fazer os cortes da subdivisão conforme a Figura a seguir.

Figura 5: Rizoma em porções menores



Fonte: Autora

Posteriormente, foi triturado no liquidificador para reduzir em partes menores o rizoma com a adição de 1L de água destilada para facilitar o processamento e emulsificar da solução, em seguida, foi submetido à extração por hidrodestilação em aparelho Clevenger.

Figura 6: Rizoma triturado

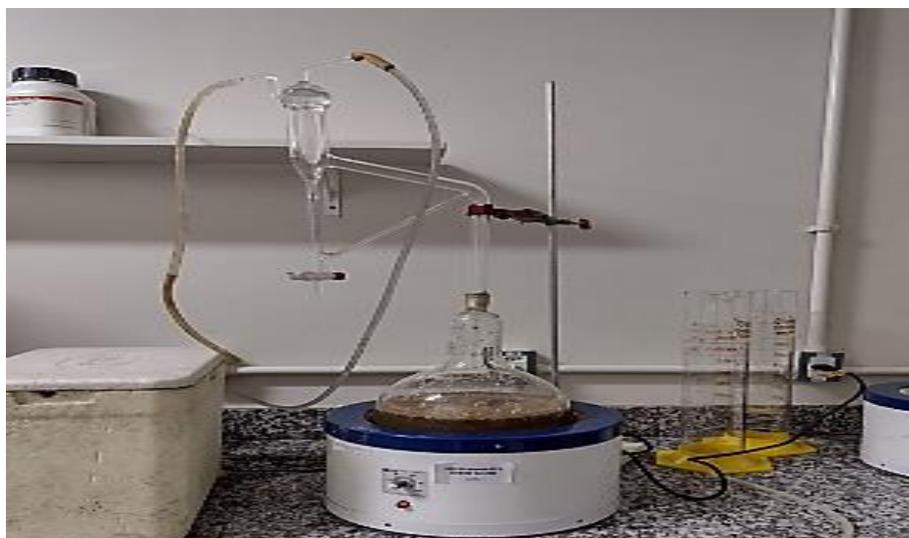


Fonte: Autora

4.2.2. A extração do óleo essencial

O processo se deu por meio de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger onde o material processado foi colocado em um balão de fundo chato de 5L com um funil para transferir para dentro.

Figura 7: Aparelho Clevenger



Fonte: Autora.

Após esse período, foi suspenso o aquecimento e realizada a coleta da amostra. O óleo essencial foi armazenado em um recipiente de vidro, previamente pesado antes e após a adição do óleo, em refrigeração com baixa temperatura para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis.

O rendimento do óleo essencial foi expresso em porcentagem na relação massa/massa, onde a massa do óleo é dividida pela massa total do gengibre conforme equação abaixo

$$\left[\% R = \frac{m1(g)}{m2(g)} \times 100 \right]$$

Onde:

%R: Rendimento obtido

m1= massa do óleo extraído

m2= massa em gramas do material vegetal

Figura 8: Óleo extraído dos rizomas do Gengibre



Fonte: Autora

4.2.3. Caracterização do perfil fitoquímico óleo essencial

A caracterização do perfil fitoquímico do óleo essencial de gengibre se deu meio da análise acerca das propriedades físico-química do perfil fitoquímico analisadas, tais como: a cor e aparência.

4.2.3.1. Cor e aparência

Para verificar a cor foi empregada a técnica visual sob um fundo branco comparando a cor do óleo essencial com cores conhecidas. E para verificar a aparência foi feita a inspeção do óleo no que diz respeito a sua transparência ou limpidez.

4.2.4 Determinação dos constituintes químicos

A composição química do óleo essencial foi determinada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (GC-MS) em equipamento da marca Shimadzu, modelo CGMS-QP 5050A, em coluna DB-5HT da marca J & W Scientific, coluna com comprimento de 30 m, diâmetro de 0,32 mm, espessura do filme 0,10 μm e nitrogênio como gás carreador, de acordo com Barbosa *et al.* (2006).

O aparelho foi operado sob pressão interna da coluna de 56,7 kPa, razão do split 1:20, fluxo do gás na coluna de 1,0 mL.min.⁻¹ (210°C), temperatura no injetor de 220°C, e no detector de 240°C. A temperatura inicial da coluna foi de 60°C com incremento de 3°C.min⁻¹, até atingir 240°C, mantida constante por 30 minutos.

O espectrômetro de massas foi programado para realizar leituras em uma faixa de 29 a 400 Da, em intervalos de 0,5 segundos, com energia de ionização de 70 eV. Foi injetado 1 μL de cada amostra com concentração de 10.000 ppm dissolvido em hexano.

Uma mistura padrão de n-Alcanos (Sigma-Aldrich C8-C40) foi utilizada para verificar o desempenho do sistema GC-MS e calcular o índice de retenção linear (LRI) de cada composto na amostra. O padrão (1 μL) desses alcanos foi injetado no sistema GC-MS operando nas condições descritas acima, e seus respectivos tempos de retenção foram usados como padrão externo de referência para o cálculo do LRI, juntamente, com os tempos de retenção de cada composto de interesse.

Para auxiliar na identificação e caracterização dos compostos voláteis, os valores de índice de retenção linear calculados serão comparados com valores encontrados na literatura para colunas de mesma polaridade (ADAMS, 2012).

4.2.5. Análise de *Docking* molecular na região do Hormônio Juvenil.

4.2.5.1. Seleção da estrutura da proteína e ligante

A estrutura cristalográfica do hormônio juvenil complexado com o methyl (2E,6E)-9-[(2R)-3,3-dimethyloxiran-2-yl]-3,7-dimethylnona-2,6-dienoate, (JHIII), foi baixada com o código PDB 5V13, com resolução de 1,87 Å. O JHIII foi utilizado como ligante de controle positivo nos estudos de *docking* molecular baseado em protocolo padrão estabelecido por Ramos et al. (2019).

4.2.5.2. Estudo de *docking* via PYRX

Os ligantes e a estrutura da proteína usados no *docking* molecular foram preparados usando o software Discovery Studio 5.0. A validação do *docking* molecular do ligante foi realizada mediante download da estrutura cristalina da proteína, a estrutura do PDB 5V13.

No estudo de *docking* do Hormônio Juvenil foram utilizados os ligantes complexados com o controle positivo JHIII (methyl (2E,6E)-9-[(2R)-3,3-dimethyloxiran-2-yl]-3,7-dimethylnona-2,6-dienoate) no AutoDock 4.2/Vina 1.1.2 e PyRx 0.8.30 (<https://pyrx.sourceforge.io>). A validação de *docking* molecular do ligante foi realizada por comparação entre o ligante cristalográfico e a melhor conformação obtida com *docking* molecular (estrutura do PDB ID: 1QON), com base no valor da distância entre os átomos da proteína sobreposta (RMSD).

As coordenadas x, y e z dos receptores foram determinadas de acordo com a região média do sítio ativo. As coordenadas usadas para o centro da grid podem ser observadas na tabela seguinte.

Tabela 1: Dados de protocolos usados aqui para validação de *docking* molecular

Enzima	Ligante	Coordenadas do centro do Grid	Dimensões do Grid (Points)
Juvenile hormone (PDB code: 5V13)	methyl(2E,6E)-9-[(2R)-3,3-dimethyloxiran-2-yl]-3,7-dimethylnona-2,6-dienoate (JHIII)	X= 213.483 Y= 2.850 Z= 353.222	42 x 40 y 24 z

Fonte: Autora

Todos os constituintes químicos identificados por GC-MS presentes no óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe foram docados individualmente fornecendo fragmentações dos compostos para avaliar a afinidade de ligação para inibir os receptores do hormônio juvenil de *Aedes aegypti*, de acordo com a Tabela seguinte:

Tabela 2: Dados de protocolos usados aqui para validação de *docking* molecular individualmente dos constituintes químicos

.	Molécula	PubChem CID
1	α -Phellandrene	319223196
2	β -Myrcene	348293176
3	(+)-2-Carene	78249
4	σ -Cymene	7463
5	Limonene	22311
6	Eucalyptol	2758
7	γ -Terpinene	348276756
8	4-thujanol	62367
9	β -Linalool	319064588
10	Terpinen-4-ol	11230
11	Thujen-2-one	91195
12	Thymol methyl ether	14104
13	Thymol	6989
14	Carvacrol	10364
15	Thymol acetate	68252
16	Carvacryl acetate	80792
17	Caryophyllene	5281515
18	Humulene	5281520
19	3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole	8456
20	Caryophyllene oxide	1742210

Fonte: Autora

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Rendimento do óleo essencial

A extração do óleo essencial estudado foi realizada em 3 horas, para a massa de 1000 g/amostra e volume de 5 litros a 100°C. Segundo Mouchrek Filho (2000), o tempo de extração do óleo essencial é um dos principais parâmetros físico-químicos da indústria de essências, no que se refere à qualidade e à natureza econômica.

Assim, o rendimento da extração foi calculado diante da quantidade de óleo essencial que foi obtido a partir de uma massa determinada do vegetal, onde partiu-se, cujo valor foi de 1000g dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe sendo obtido, em média, 0,42 mL de óleo.

O rendimento m/m foi de 0,042% conforme Tabela 3, valor este, inferior aos 1,79% para o óleo essencial de rizomas de gengibre usando o método de hidrodestilação (MESOMO *et al.*, 2013). Ao extrair o óleo essencial do rizoma do gengibre, Martins (2010), obteve o rendimento de 0,37% em 4 horas, Tripathi *et al.* (2008) obtiveram 0,8% e Maia *et al* (1991) em 7 horas obtiveram valores entre 0,56 e 0,92%.

Nesse sentido, podemos inferir que o nosso volume extraído bem como o rendimento do óleo essencial de gengibre em relação aos da literatura estão bem próximos, uma vez que, se usou apenas metade do tempo descrito na literatura por outros autores para a extração dos OEs.

Outro fator que pode ter interferido no rendimento é a variação de sazonalidade e a localização, pois, segundo Özcan e Chalchat (2002), a variação sazonal e a localidade são fatores importantes para diferentes variedades de plantas com relação aos rendimentos de extração encontrados na literatura.

4.3.2. Determinação do perfil fitoquímico

Para a determinação do perfil fitoquímico foram utilizados os parâmetros físico-químicos do óleo essencial de gengibre, importante para a determinação de controle e qualidade conforme mostra Tabela a baixo.

Tabela 3: Parâmetros físico-químicos do óleo essencial

Propriedades Físico-Químicas	Óleo essencial
Rendimento (%)	0,042

Cor	Amarelo
Aparência	Límpido

Fonte: Autora

No que diz respeito a cor e aparência, os valores obtidos para os respectivos parâmetros tiveram valores iguais aos encontrados na literatura. Em suma, pode-se observar pequenas diferenças nos valores encontrados e podem ter sofrido interferência a fatores como a fonte do material vegetal, época do ano, tipo de coleta, diferença de solo, pluviosidade, tempo e armazenamento.

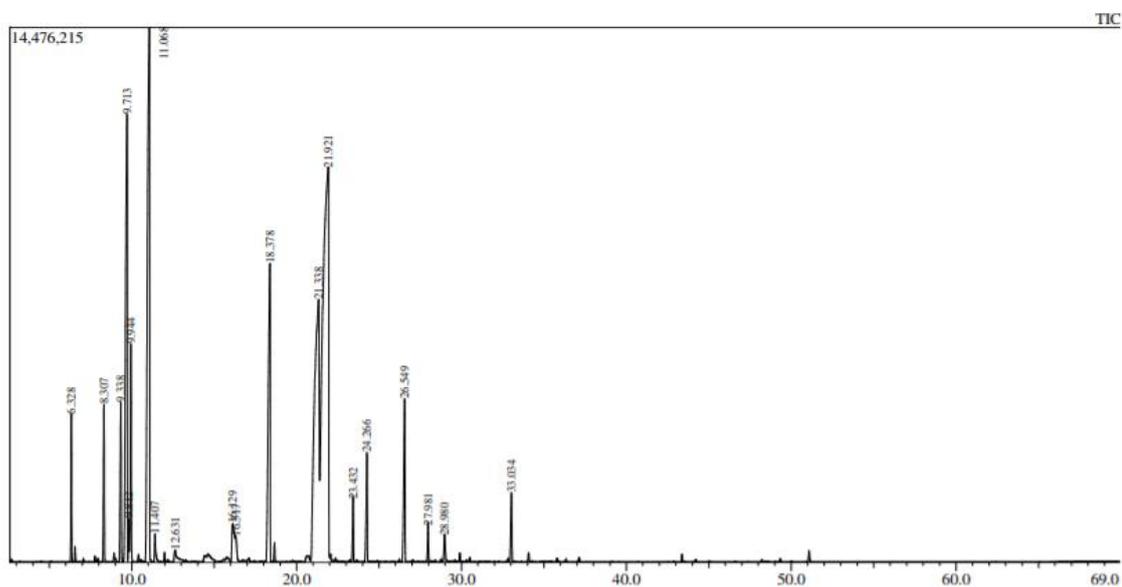
Figura 9: Cor e aparência



Fonte: Autora

4.3.3. Características químicas dos óleos essenciais obtidos o Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas (CG-EM)

O cromatograma a abaixo do óleo essencial de *Zingiber Officinale* Roscoe mostra os componentes majoritários e minoritários presentes a partir de espectros obtidos na Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas apresentando os picos selecionados e identificados através dos respectivos espectros de massa.

Figura 10: Cromatograma da amostra do óleo essencial do *Zingiber Officinale* Roscoe

Fonte: Autora

Os constituintes químicos majoritários encontrados nesta presente pesquisa para o óleo essencial de rizomas de gengibre revelaram que foram: Carvacrol (31.70%), Thymol (16.52%), γ -Terpinene (15.93) e σ -Cymene (10.27). A maior concentração de carvacrol e timol nos OEs explicam a maior atividade antimicrobiana de alguns deles (NOSTRO *et al*, 2007).

Em consonância, os estudos realizados por Yu *et al*, (2007) empregando a técnica cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa mostrou que os componentes majoritários do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe foram o β -felandreno e α -zingibereno com percentuais, respectivamente, de 22,84 e 15,48.

Tabela 4: Compostos identificados na amostra de *Zingiber officinale* Roscoe

Pico	Composto	TR (min.)	Área (%)	Índice de Retenção Linear
01	α -Phellandrene	6.328	1.33	969
02	β -Myrcene	8.307	1.82	958

03	(+)-2-Carene	9.338	2.19	948
04	σ-Cymene	9.713	10.27	1042
05	Limonene	9.812	0.38	1018
06	Eucalyptol	9.944	2.37	1059
07	γ-Terpinene	11.068	15.93	998
08	4-thujanol	11.407	0.40	1041
09	β -Linalool	12.631	0.22	1082
10	Terpinen-4-ol	16.129	1.22	1137
11	Thujen-2-one	16.317	0.53	1073
12	Thymol methyl ether	18.378	7.70	1231
13	Thymol	21.338	16.52	1262
14	Carvacrol	21.921	31.70	1262
15	Thymol acetate	23.432	0.86	1421
16	Carvacryl acetate	24.266	1.69	1421
17	Caryophyllene	26.549	2.75	1494
18	Humulene	27.981	0.53	1579
19	3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole	28.980	0.51	1417
20	Caryophyllene oxide	33.034	1.09	1507

T_R: Tempo de retenção dos compostos na coluna em minutos.

Fonte: Autora

A tabela apresenta os constituintes identificados nos óleos essenciais de *Zingiber officinale* Roscoe em ordem de tempo e retenção, tanto os compostos majoritários quanto os minoritários conforme prevê a literatura.

O óleo essencial de gengibre apresentou na composição substâncias denominadas terpenóides, α -Pino, β -Pino e α -terpineol que pode ocasionar efeito de toxicidade, agindo na inibição da acetilcolinesterase, podendo levar os insetos à morte por inanição ou toxicidade direta (VIEGAS JUNIOR, 2003).

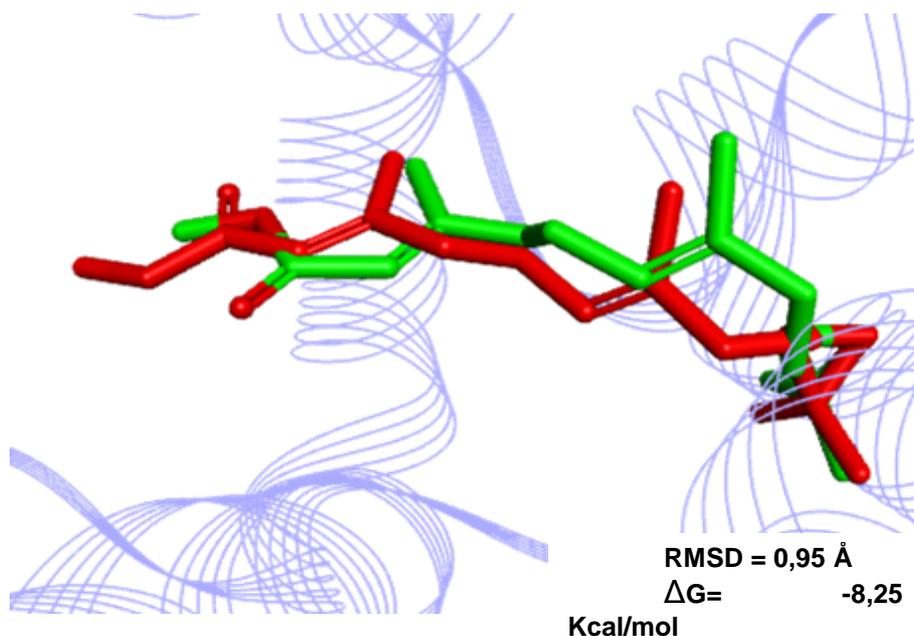
A ação inseticida de óleos essenciais pode ocorrer por ingestão, fumigação e contato, causando mortalidade em diferentes estádios larvais e reduzindo a viabilidade de ovos. Desse modo, os óleos essenciais podem atuar dificultando o crescimento e o desenvolvimento, interferindo no metabolismo celular e nas enzimas neurológicas (ISMAN, 2006).

4.3.4. Análise do docking molecular na região do Hormônio Juvenil.

A validação do protocolo de *docking* molecular foi feita através da similaridade de conformação da pose do modelo cristalográfico (verde) com o modelo virtual (vermelho). Os resultados demonstraram que o valor da distância entre os átomos da proteína sobreposta (RMSD) foi equivalente a 0,95 Å para o hormônio juvenil, como demonstra a Figura 11.

O RMSD indica medida de significância e precisão do acoplamento do hormônio juvenil com os ligantes e do algoritmo de subamostragem conformacional. Valores de RMSD inferiores a 2 Å apresentam protocolo otimizado com representatividade conformacional e acurácia na reprodução das poses de docagem molecular (RAMOS *et al.*, 2022). Desse modo, é possível concluir que o modelo proposto nesse estudo apresenta significância estatística

Figura 11: Superposição das poses cristalográficas (verde) com o modelo de docking molecular (vermelho) do JHIII, e seus valores de RMSD e G.



Fonte: Autora.

A afinidade de ligação (ΔG) do acoplamento entre os constituintes químicos do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe com o hormônio juvenil, assim como com o controle positivo (JHIII), estão indicados na Tabela abaixo.

Tabela 5: Valores de ΔG do acoplamento entre controle e constituintes químicos com o hormônio juvenil

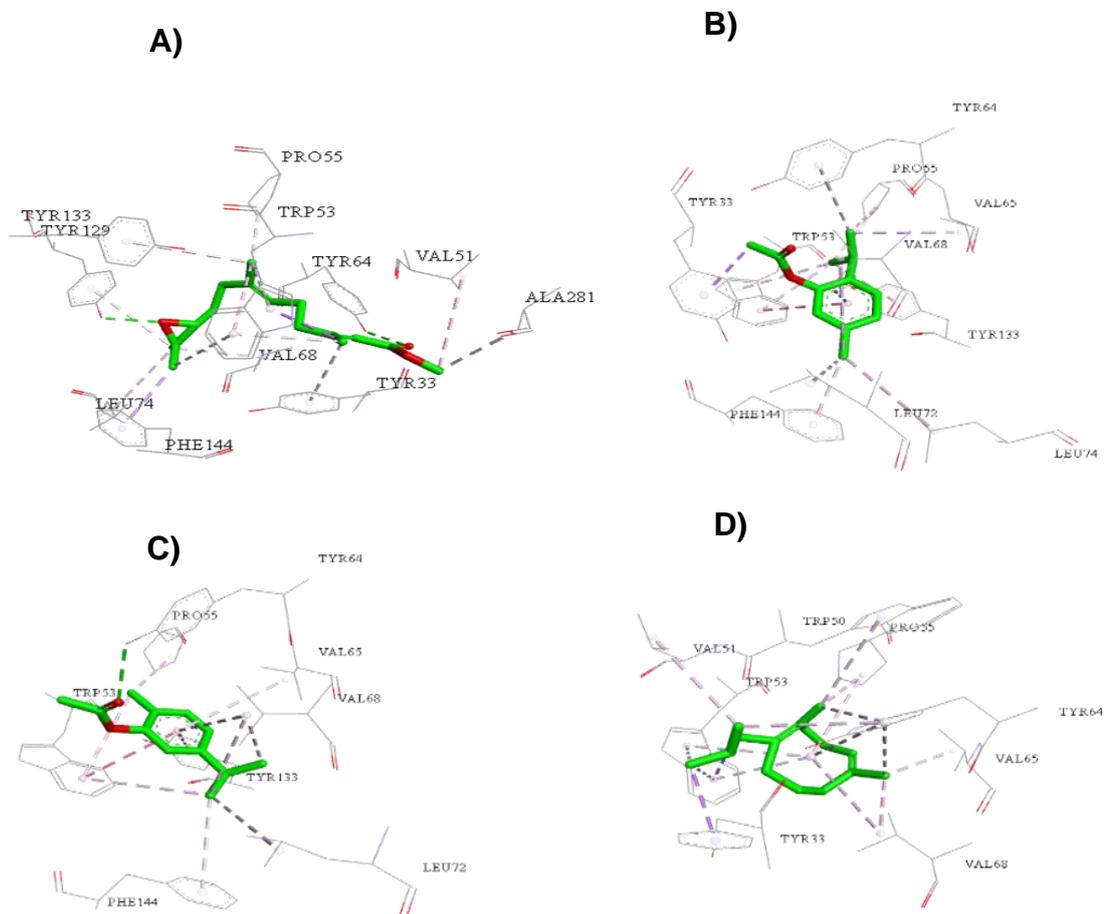
Molécula	Afinidade de Ligação (Kcal/mol)
JHIII	-8,8
01	-7,5
02	-7,5
03	-7,9
04	-7,4
05	-7,5
06	-7,4
07	-7,4
08	-7,2
09	-6,8
10	-7,5
11	-7,2
12	-7,3
13	-7,3
14	-7,3
15	-8,2
16	-8,0
17	-8,4
18	-8,0
19	-7,3
20	-7,7

Fonte: Autor

As interações entre o controle positivo (JHIII) e o hormônio juvenil foram observadas nas regiões da α -hélice (Tyr 33, Val 51, Trp 53, Tyr 64, Val 68, Tyr 129) e da β -folha (Leu 74, Phe 144) como demonstram os estudos de Ramos *et al.* (2019).

O Thymol Acetato (15) e Carvacryl Acetato reproduziram interações com o hormônio juvenil nas regiões da α -hélice e β -folha, enquanto Caryophyllene apresentou interações apenas na região da α -hélice, como demonstra a Figura abaixo.

Figura 12: Resultados das interações com a proteína de ligação ao hormônio juvenil do mosquito: (A) JH3, (B) Thymol Acetate (15), (C) Carvacryl Acetate (16) e (D) Caryophyllene 17.



Fonte: Autora

O composto Humule (18), apesar do valor de $\Delta G = -8,0$ Kcal/mol, não demonstrou interações significativas para ser selecionado com potencial atividade de inibição do hormônio juvenil.

A literatura também sugere a possibilidade de outros compostos serem responsáveis pela atividade larvicida do óleo essencial ou ainda a existência de sinergismo entre o composto majoritário e outro (s) componente (s) do óleo, existentes em menor fração.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Este estudo permitiu concluir que os óleos essenciais gengibre, especialmente as frações minoritárias, evidenciaram potencial inseticida e indica a possibilidade de outros compostos serem responsáveis pela atividade inseticida do óleo essencial ou ainda a existência de sinergismo entre o composto majoritário do óleo, existentes em menor fração.

E como já relatado neste estudo, a melhor forma de combater a doença é erradicar o mosquito através do uso de inseticida em seus locais de reprodução, por exemplo, o temephos que vem sendo utilizado pela Vigilância Sanitária. Entretanto, as larvas e os mosquitos já estão adquirindo resistência aos inseticidas sintéticos.

Desse modo, considera-se que os óleos essenciais das plantas é uma alternativa acerca da proposta por se tratarem de inseticida obtidos na natureza, possivelmente, tóxicos para os mosquitos, e menos agressivos ao meio ambiente, comparado ao principal larvicida utilizado no combate ao dengue, uma vez que o temephos, com o passar dos anos, perdeu a sua força frente ao mosquito, sendo necessárias doses cada vez maiores no seu combate (FURTADO *et al.*, 2005).

Prophiro (2008) estudou os efeitos do temephos sobre larvas do *Aedes aegypti* no terceiro estágio e verificou um processo de estabelecimento de resistência ao organofosforado em algumas cidades da região sul do Brasil. Diante desse panorama, os resultados alcançados com o óleo dos rizomas do *Zingiber officinale* Roscoe mostram a importância da necessidade de novas alternativas usando produtos de origem natural, especialmente se levarmos em conta que estes podem minimizar a dependência aos inseticidas químicos sintéticos.

Com os resultados alcançados e do princípio de que o óleo essencial dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe ser um produto natural e, portanto, menos nocivo à saúde das pessoas e dos animais domésticos (ISMAN, 2000), pode-se afirmar que o óleo essencial é um promissor agente inseticida natural em locais de crescimento do *Aedes aegypti* como acontece no Estado do Amapá.

Nesse sentido, é possível concluir que o óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe apresenta potencial de inibição do hormônio juvenil de *Aedes aegypti* oriundo

da ação sinérgica de seus constituintes fitoquímicos majoritários Thymol Acetate, Carvacryl Acetate e Caryophillene.

E como perspectivas futuras, almeja-se a atividade inseticida do óleo essencial extraído dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e testar em concentrações diferentes no mosquito *Aedes aegypti*, para assim, serem utilizadas no ensaio biológico do inseticida para cada concentração e a toxicologia para que não afete outros seres não-alvos.

6. REFERÊNCIAS

AFZAL, M. *et al.* **Ginger na etnomedical and pharmacological review.** Drug Metabolism and Drug interactions, v.18, n 3-4, p. 160-190, 2001.

ALMEIDA, M. P.; ROMERO, R. B., ROMERO, A. L.; CRESPIAN, E. R. Explorando a uímica e a atividade antifúngica de óleos essenciais: Uma proposta de projeto para a Educação Básica. **Latin American Journal of Science Education**, v. 2, 2015

ARAUJO, J. M. A. **A Química de Alimentos: teoria e prática.** 2 ed. Viçosa, MG: UFV, 1999.

ARBOVIRUS. **Aedes aegypti: Ciclo evolutivo.** Disponível em: >http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/areas/arbovirus/mosquit/photos/aedes_aeg < Acesso em 15/092021.

BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* - resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 62-73. 2005.

BRANDÃO, L. B. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LARVICIDA NO CONTROLE DE *Aedes aegypti* DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATOS BRUTOS ETANÓLICO E AQUOSO DAS FOLHAS DE *Tridax procumbens* L.** Dissertação, Programa de Pós-graduação, Universidade Federal do Amapá, 2019.

BRASIL. **Expressão cultural amapaense, o Marabaixo é reconhecido como Patrimônio Cultural do Brasil.** IPHAN.2018. Acesso em:13 jun.2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento.** Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica. **Programa Nacional de Controle da Dengue.** Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico.** Secretaria de Vigilância em Saúde, v. 52, n. 3, 2021.

BESERRA EB, CASTRO JFP, SANTOS JW, SANTOS TS, FERNANDES CRM. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, vol.35, p. 853-860; 2006.

BURGOS, B. *et al.* Fisiopatología del dengue. **Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento, Milagro**, v. 3, n. 3, p. 622-642, 2019.

CARVALHEIRO, José da Rocha. Biogeografia dos triatomíneos e as cerejeiras da Europa. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n.6, p.1001-1003, 2006.

CARVALHO, D. O. *et al.* Mass production of Genetically Modified *Aedes aegypti* for Field Releases in Brazil. **Journal of Visualized Experiments**, n. 83, p. 1-10, 2014.

COSTA *et al.* Estudo químico –biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n4, p.304-309, 2005.

COSTA, C, S. **ANCESTRALIDADE E CULTURA AFRO NA DANÇA DO MARABAIXO DO MARUANUM-AMAPÁ**. São Paulo, 2018.

ELPO, E. R. S. **Cadeia produtiva do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) no Estado do Paraná: análise e recomendações para melhoria da qualidade**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

FABROWSKI, F. J. R. T. BAKER. *Eucaliptus smithii* como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil. Tese de Doutorado em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2002.

FARMACOPEIA BRASILEIRA IV – **PARTE 1**. 4. ed. Editora Atheneu, 1.320p, São Paulo, 1996.

FORFORATTI O. P.; KAKITANI, I.; UENO, H. M. Emergência de *Aedes albopictus* em recipientes artificiais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 456-460, 2001.

GABRIEL, A. F. B. *et al.* **Avaliação de impacto à saúde da incidência de dengue associada à pluviosidade no município de Ribeirão Preto, São Paulo**. Cad. Saúde colet., Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 446-452, 2018.

GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L.M. G. E. Substâncias de origem vegetal com atividade larvívora contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, Rio De Janeiro, 2013.

GONÇALVES, F. C. M. ***Mentha (Mentha x piperita L.) cultivada com aplicação de ácido salicílico: avaliações fotossintéticas e bioquímicas***. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, p.129, Botucatu, 2017.

GUBLER, D. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. **Clinical Microbiology Reviews, Philadelphia**, v. 3, n. 11, p. 480–496, 1998.

HOFFMANN, K. H.; LORENZE, M.W. Recent advances in hormones in pest control. **Phytoparasitica**, v. 26, n.4, p. 1-8, Bel Dragan, 1998.

KRAEMER MUG, SINKA ME, DUDA KA, MYLNE A, SHEARER FM, BRADY OJ, MESSINA JP, BARKER CM, MOORE CG, CARVALHO RG, COELHO GE, VAN BORTEL W, HENDRICKX G, SCHAFFNER F, WINT GRW, ELYAZAR IRF, TENG HJ, HAY SI. **The global compendium of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* occurrence**. Sci Data, vol.2,; 2015.

KITCHEN, D. B.; DECORNEZ, H.; FURR, J. R.; BAJORATH, J., Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews**, v. 3, p. 935-949, 2004.

LAMAS, A. M. **Floricultura tropical: tecnologia da produção**. Curso: floricultura tropical. Técnicas de cultivo. Disponível em: <<http://75.152.37~floriu/curso%20floricultura%20tropical-%20vs%29Nov-2004.pdf>> Acesso em: 20/11/2021.

LEMOS, T. L. G. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytotherapy Research**, v. 4, n. 2, p. 82-84, 1990.

LIMA, S.; BARROZO, L. V.; MATAVELI, G. A. V. Limiares de temperatura de superfície e pluviosidade como indicador de risco de proliferação de *Aedes aegypti* no município de São Paulo. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 21, n. 73, p. 356-367, 9 mar. 2020.

LUNA, J. E. D. *et al.* Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas *temephos* e *cipermetrina*, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, n. 38, p. 842-843, 2004.

LI, Y.; UNNITHAN, G. C.; VEENSTRA, J.A.; FEYEREISEN, R.; NORIEGA, F. Simulation of JH biosynthesis by corpora allata of adult female *Aedes aegypti* in vitro: effect of farnesoic acid and *Aedes* allatroidin. **The Journal of Experimental Biology, Cambridge**, p.1825-1832, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Indicadores de morbidade e fatores de risco. Rede internacional de informações para a saúde**. Disponível em > <http://tabnet.datasus.gov.br> <. Acesso em 08/09/2021.

MOUCHREK FILHO, V.E. **Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie Pimenta *dioica* Lindl.** Tese de Doutorado em Química, Programa de Pós-graduação em Química, UFSCar, São Carlos, 2000

MURUGAN, K. *et al.* Larvicidal and repellent potential of *Albizzia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta:Diptera:Culicidae). **Bioresource Technology**, v.98, p. 198–201, 2007.

NORIEGA, F. G. Nutritional regulation of HJ synthesis: a mechanism to control reproductive maturation in mosquitoes?. **Insect Biochemistry and Molecular Biology, Oxford**, v. 34, p. 687-693, 2004.

OLIVEIRA, F. G.; SANT'ANNA, C. M. R. CAFFARENA, E. R.; DARDENNE, L. E.; BARREIRO, E. J., Molecular docking study and development of an empirical binding free energy model for phosphodiesterase 4 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 6001-6011, 2006.

OLIVEIRA, W. P; SOUZA, M. E. A. **COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ARRASTE A VAPOR E HIDRODESTILAÇÃO UTILIZANDO CASCA DE MANGA NOS ESTADOS DE DESIDRATAÇÃO E IN NATURA**. VIII CONNEPI, Tocantins, 2012.

Organização Mundial da Saúde, OMS. **OMS apoia estudo com plantas medicinais**. https://www.google.com/search?q=%3Chttp%3Awww.+drashi...%2Ffitoterapia_oms_apoia_estudos_com_+plantas_+medicinais.ht&oq=%3Chttp%3Awww.++drashi...%2

Ffitoterapia_oms_apoia_estudos_com_+plantas_++medicinalis.ht&aqs=chrome..69i57&sourceid=chrome&ie=UTF-8. Acesso em 05/08/2021.

PINHEIRO, P. F *et al.* Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, carvacrol and thymol in plantbioassays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 8981-8990, 2015

POLANCZYK, R.A. *et al.* Potencial de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, n. 37, p. 813-816, 2003.

RAMOS, R. S. *et al.* Identification of potential inhibitors from pyriproxyfen with insecticidal activity by virtual screening. **Pharmaceuticals**, v. 12, n. 1, p. 20, 2019.

RAMOS, Ryan S. *et al.* Identification of Potential Antiviral Inhibitors from Hydroxychloroquine and 1, 2, 4, 5-Tetraoxanes Analogues and Investigation of the Mechanism of Action in SARS-CoV-2. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1781, 2022.

RODRIGUES, R. P. *et al.*, Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p.739- 736, 2012.

REED L.J.; MUENCH H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. **American Journal of Hygiene**, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.

SILVA C.A.; LIMA, C.A.; COSTA D.S. **Caracterização química do óleo essencial da casca do *citrus sinensis* obtido por hidrodestilação em aparelho clevenger.** Belém, 2010.

SANTOS, L. L. **Estudo fitoquímico e biológico do óleo essencial e extrato bruto etanólico das folhas de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.** Dissertação, Programa de Pós-graduação, Universidade Federal do Amapá, 2019.

SANTOS, M. R. A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius Raddi* (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. **Revista Brasileira de plantas med.**, v. 15, n. 4. 2013.

SILVA, N. S. *et al.* Avaliação da Relação Entre a Climatologia, as Condições Sanitárias (Lixo) e a Ocorrência de Arboviroses (Dengue e Chikungunya) em Quixadá-CE no Período Entre 2016 e 2019. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 35, n. 3, 485-492. 2020.

SILVA, A, L, S. **CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DO *Zingiber officinale* Roscoe (GENGIBRE) FRENTE AO MOSQUITO *Aedes aegypti*.** Dissertação, São Luiz, 2012.

SHEN, S *et al.* Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane. **Food Control**. v.47, p.196–202, 2015.

SIMÕES *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre, UFRGS, 2007.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOTT, M. M., **Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química**, Editora LTC, 2007.

TAVARES, L. C. QSAR: a abordagem de hansch. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 631-639, São Paulo, 2004.

SZERWIESKI, L. L. D. et al. Use of medicinal plants by primary care elderly. **Revista Eletrônica de Enfermagem**. v. 19, n. 4, 2017.

TELES, R.M. **Caracterização química, avaliação térmica e análise larvicida do óleo de *Aniba duckei Kostermans* contra *Aedes aegypti***. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, p.110, João Pessoa, 2009.

USP, Universidade de São Paulo. **Darvin Futuro: histórico da doença**. Disponível em: > http://darwin.futuro.usp.br/site/finlay/quadroteorico/c_historicodoenca.htm< Acesso em 28/07/2021.

VAREJÃO JBM, SANTOS CB, REZENDE HR, BEVILACQUA LC, FALQUETO A. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na Cidade de Vitória, ES. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 38, p. 238-240, 2005.

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

VIDEIRA, Piedade Lino. O Marabaixo do Amapá: encontro de saberes, histórias e memórias afro-amapaenses. **Revista Palmares: cultura afro-brasileira**, Ano X, ed. 08, Novembro 2014.

VORIS, Diego G. da R. *et al.* Estudos Etnofarmacológicos de Óleos Essenciais com Atividade Larvicida contra o mosquito *Aedes Aegypti*. **Semioses**, v. 11, n. 1, p. 86-94, 2017.

YU, Y. et al. Development of gas chromatography-mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid-phase microextraction for rapid determination of volatile constituents in ginger. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 43, n. 1, p. 24-31, 2007.