



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

PRISCILA SOARES DA SILVA

**ATIVIDADE LARVICIDA E PUPICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DA *PIPER*
MARGINATUM FRENTE AO *AEDES AEGYPTI***

Recife

2023

PRISCILA SOARES DA SILVA

**ATIVIDADE LARVICIDA E PUPICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DA *PIPER*
MARGINATUM FRENTE AO *AEDES AEGYPTI***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Licenciatura em
Química da Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito parcial para
obtenção do título de Licenciatura em
Química.

Orientador (a): Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro

Coorientador (a): Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Priscila Soares da Silva.

Atividade larvicida e pupicida do óleo essencial da *Piper marginatum* frente
ao *Aedes aegypti* / Priscila Soares da Silva. - Recife, 2023.

53 p. : il., tab.

Orientador(a): Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro Navarro

Coorientador(a): Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar Aguiar

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Química - Licenciatura,
2023.

Inclui referências.

1. *Aedes aegypti*. 2. *Piper marginatum*. 3. óleo essencial. 4. bioensaio
larvicida e pupicida. 5. cromatografia gasosa. I. Navarro, Daniela Maria do
Amaral Ferraz Navarro. (Orientação). II. Aguiar, Júlio César Ribeiro de
Oliveira Farias de Aguiar. (Coorientação). IV. Título.

540 CDD (22.ed.)

PRISCILA SOARES DA SILVA

**ATIVIDADE LARVICIDA E PUPICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DA *PIPER*
MARGINATUM FRENTE AO *AEDES AEGYPTI***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Licenciatura em
Química da Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito parcial para
obtenção do título Licenciatura em
Química.

Aprovado em: 02/10/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Ana Carla Da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Camila Soledade de Lira Pimentel (Examinador Externo)
Secretaria de Educação do Estado de Alagoas

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro e a Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar, gostaria de expressar minha gratidão pela compreensão e companheirismo nos momentos difíceis. Agradeço também pelas valiosas orientações e coorientações que recebi durante a realização deste trabalho, bem como pelos ensinamentos e pela ajuda prestada ao longo do processo.

Gostaria de dedicar um agradecimento especial à minha família, em particular ao meu esposo, Josinaldo Henrique, pela paciência e compreensão diante dos momentos em que estive ausente para me dedicar à elaboração deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia Química do Departamento de Química Fundamental, meu sincero agradecimento pelo apoio durante a realização dos experimentos e no âmbito das disciplinas.

Cada planta tem centenas de substâncias e uma delas pode ser mais importante do que uma galáxia. (Otto R. Gottlieb).

RESUMO

Os óleos essenciais são obtidos a partir de partes específicas das plantas, utilizando técnicas de hidrodestilação. Pesquisas recentes têm comprovado a eficácia dos óleos essenciais no combate a arboviroses, através de testes que demonstram suas propriedades inseticidas capazes de interromper o ciclo de vida de vetores como *Aedes aegypti*. O objetivo deste estudo, portanto, é realizar uma investigação aprofundada do potencial do óleo essencial da planta *Piper marginatum* em relação aos estágios iniciais do mosquito *Aedes aegypti*. Através de análises em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-EM) e a cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas (CG-DIC), foram identificados e quantificados os principais compostos majoritários que apresentam atividades inseticidas, sendo eles o (Z)-Asarone (17,26 %), α -pinene (14,82 %) e β -pinene (14,19 %). Bioensaios larvicida e pupicida também foram realizados e as concentrações letais para a mortalidade de 50% (CL₅₀) dos estágios larvais L₁, L₂, L₃ e pupa foram determinadas. A CL₅₀ para o estágio de larva L₁ foi igual a 5,0182 ppm, para o estágio L₂, 5,5449 ppm e para o estágio L₃ foi de 10,94 ppm. Já para o bioensaio pupicida o CL₅₀ foi igual a 60,3446 ppm. Essas descobertas têm grande relevância no desenvolvimento de estratégias para o controle dos mosquitos transmissores de doenças, oferecendo uma alternativa promissora com base nos óleos essenciais da planta *Piper marginatum*.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, *Piper marginatum*, óleo essencial, bioensaio larvicida, bioensaio pupicida, cromatografia gasosa.

ABSTRACT

Essential oils are obtained from specific parts of plants, using hydrodistillation techniques. Recent research has proven the effectiveness of essential oils in combating arboviruses, through tests that demonstrate their insecticidal properties capable of interrupting the life cycle of vectors such as *Aedes aegypti*. The objective of this study, therefore, is to carry out an in-depth investigation of the potential of the essential oil of the *Piper marginatum* plant in relation to the early stages of the *Aedes aegypti* mosquito. Through analyzes using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-EM) and gas chromatography with flame ionization detector (CG-DIC), the main major compounds that present insecticidal activities were identified and quantified, namely (Z)-Asarone (17,26 %), α -pinene (14,82 %) and β -pinene (14,19 %). Larvicidal and pupicidal bioassays were also carried out and lethal concentrations for 50% mortality (LC₅₀) of larval stages L₁, L₂, L₃ and pulp were determined. The LC₅₀ for the L₁ larval stage was equal to 5.0182 ppm, for the L₂ stage, 5.5449 ppm and for the L₃ stage it was 10,94 ppm. For the pupicide bioassay, the LC₅₀ was equal to 60.3446 ppm. These discoveries are of great relevance in the development of strategies for controlling disease-transmitting mosquitoes, offering a promising alternative based on the essential oils of the *Piper marginatum* plant.

Keywords: *Aedes aegypti*, *Piper marginatum*, essential oil, larvicidal bioassay, pupicidal bioassay, gas chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura1 –	Distribuição dos locais afetados pelo <i>A. aegypti</i> .	17
Figura 2 –	Mosquito <i>Aedes aegypti</i> .	18
Figura 3 –	Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i> .	19
Figura 4 –	Diferença entre macho e fêmea do mosquito <i>A. aegypti</i> .	20
Figura 5 –	<i>Piper marginatum</i> .	23
Figura 6 –	Hidrodestilação <i>P. marginatum</i> .	37
Figura 7 –	Cromatograma do óleo essencial da <i>Piper marginatum</i> .	39
Figura 8 –	Estrutura química dos compostos majoritários do óleo essencial da <i>Piper marginatum</i> .	40
Figura 9 –	Espectro de massa (Z)-Asarone	40
Figura 10 –	Espectro de massa (Z)-Asarone literatura.	41
Figura 11 –	Espectro de massa (E)-Asarone	41
Figura 12 –	Espectro de massa (E)-Asarone literatura	41
Figura 13 –	Íon molecular referente ao pico 208 do espectro de massas.	42
Figura 14 –	Íons com a perda de uma metila referente ao pico 193 no espectro de massas	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Levantamento e principais informações acerca dos artigos selecionados.	23
Tabela 2 – Categorias e subcategorias dos artigos publicados sobre a <i>Piper marginatum</i>	30
Tabela 3 – Principais resultados obtidos a partir dos artigos selecionados na Tabela 1	31
Tabela 4 – Identificação da composição química do óleo essencial de <i>P. marginatum</i>	38
Tabela 5 – Resultado para a Concentração Letal de 50% das larvas do <i>A. aegypti</i> nos estágios larvais L ₁ , L ₂ e L ₃ .	43
Tabela 6 – Resultado para a Concentração Letal de 50% das pupas do <i>A. aegypti</i> .	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS	Agentes Comunitários de Saúde
ACE	Agentes de Combate a Endemias
CG- EM	Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas
CG-DIC	Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector de Ionização de Chamas
CL ₅₀	Concentração letal que ocasiona 50% de mortalidade dos organismos alvo
DENV	Dengue
ISO	International Organization for Standardization
OE's	Óleos Essenciais
PA	Para análise
PPM	Partes por milhão
TWEEN®80	Monooleato de Sorbitan Etoxilado 20
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1	<i>Arbovirose (dengue, chikungunya e zika vírus)</i>	15
2.2	<i>Aedes aegypti</i>	16
2.3	<i>Óleos essenciais</i>	20
2.4	<i>Piper marginatum</i>	22
2.5	<i>Uso de óleos essenciais como proposta didática para o ensino das funções orgânicas e isomeria</i>	32
3	HIPÓTESE E OBJETIVO	33
3.1	<i>Hipótese</i>	33
3.2	<i>Objetivo geral</i>	33
3.3	<i>Objetivo específico</i>	33
4	METODOLOGIA	34
4.1	<i>Da extração do material vegetal</i>	34
4.2	<i>Da extração do óleo essencial</i>	34
4.3	<i>Da análise Cromatográfica e Espectrometria de Massas</i>	34
4.4	<i>Da realização dos bioensaios</i>	35
4.4.1	<i>Do bioensaio larvicida</i>	35
4.4.2	<i>Do bioensaio pupicida</i>	36
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	37
5.1	<i>Extração e composição química do óleo essencial da Piper marginatum</i>	37
5.2	<i>Atividade Larvicida</i>	43
5.3	<i>Atividade Pupicida</i>	44
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
7	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* é o vetor responsável pela transmissão de arboviroses causadoras de várias doenças como Chikungunya, Dengue, Zika e Febre Amarela. Esses vírus possuem RNA de fita simples, ou seja, possuem altas taxas de mutações, favorecendo a sua rápida adaptação e evolução para replicar em diferentes hospedeiros (Calvo *et al.*, 2016).

Uma das maneiras de diminuir os casos dessas doenças é por meio do controle vetorial. Alguns óleos essenciais têm apresentado resultados satisfatórios em relação à toxicidade frente ao *A. aegypti* dos quais pode-se citar o da *P. marginatum*. Em testes de larvicida e oviposição apresentou um bom potencial como inseticida natural, apresentando CL₅₀ de 19,9 - 23,8 ppm (para o larvicida de estágio larval L₄) e impedimento da proliferação de ovos do mosquito entre as concentrações de 50 e 100 ppm em que menos de 50% dos ovos foram colocados pelas fêmeas em comparação com a solução controle (Autran *et al.*, 2009).

O óleo essencial é uma mistura complexa de substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas, possuindo vários componentes extraídos de materiais vegetais. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. As funções químicas presentes no óleo essencial são compostas por principalmente hidrocarbonetos terpênicos e álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e compostos contendo enxofre (Bizzo *et al.*, 2020). Entre as técnicas de extração do óleo, destaca-se a hidrodestilação, pois é uma técnica de baixo custo, considerada como uma técnica verde pois não há uso de solventes orgânicos. Essa técnica consiste em colocar o material vegetal em contato com a água destilada que é aquecida e por meio do vapor d'água o óleo essencial é recolhido por um extrator de Clevenger modificado (Boukhatem, 2022).

Este presente trabalho, portanto, tem como objetivo avaliar o potencial uso do óleo essencial de *Piper marginatum* frente aos estágios aquáticos de *A. aegypti*, permitindo assim um estudo mais aprofundado da interrupção do ciclo de vida do mosquito por meio do uso do óleo essencial desse espécime.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Arbovirose (dengue, chikungunya e zika vírus)

Arboviroses são doenças causadas por vírus que são transmitidas por mosquitos. As mais conhecidas em meios urbanos são a dengue, chikungunya e a zika vírus que tem como vetor o mosquito *Aedes aegypti* o qual se adaptou muito bem aos centros urbanos e geram milhões de prejuízos sociais e econômicos anualmente (Ministério da Saúde, s/d.).

A dengue é uma doença causada pelo vírus do gênero *Flavivirus*, que tem como principal característica a febre alta (39°C - 40°C) com início rápido. Outros sintomas que identificam a doença são: dor de cabeça severa, dor atrás dos olhos, dores musculares e articulares, náusea, vômitos, glândulas inchadas e irritação na pele. Nos casos de dengue mais grave destacam-se os sintomas como dor abdominal intensa, respiração rápida, sangramento nas gengivas ou nariz, aumento do fígado e sangramento no vômito ou fezes, podendo levar a morte. Esses sintomas variam de acordo com o sorotipo do vírus (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4). Os sintomas têm duração de sete dias. Até o momento não existe um tratamento específico para a dengue, somente a utilização de medicação para reduzir as dores e mal estar gerados pelos sintomas (Zara *et al.*, 2016). Porém, de acordo com a notícia divulgada pelo Portal do Butantan a vacina em combate à dengue teve eficácia de 79,6% na fase 3 de seu desenvolvimento. A vacina em estudo é tetravalente, ou seja, é desenvolvida para proteger contra os quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) (Butantan, 2022). Entretanto, a mesma ainda não se encontra disponível para uso em grande escala na rede pública de vacinação. Atualmente, a Anvisa autorizou a comercialização das vacinas Qdenga e Dengvaxia, essas vacinas são encontradas na rede privada do país, em que a Qdenga pode ser usada por pessoas entre a faixa etária de quatro a sessenta anos (ANVISA, 2023) e a Dengvaxia tem a restrição de uso somente por pessoas soropositivas para o vírus da dengue (ANVISA, 2022). de forma que a eliminação de focos desse vetor é fundamental para o combate dessa doença.

Já a Chikungunya é uma doença causada pelo vírus do gênero *Alphavirus*, que tem como sintomas a febre, dores fortes principalmente nas articulações, dor

atrás dos olhos, manchas vermelhas na pele, dor de cabeça, cansaço, inchaço nas articulações, calafrios, diarreia e vômitos, podendo ocasionar a morte. Após receber a picada do mosquito transmissor, os sintomas levam em torno de 2 a 12 dias para aparecer e podem durar até sete dias. No momento não existe uma forma específica para o tratamento da doença, a não ser o alívio dos sintomas e não existe vacina aprovada para uso no Brasil. A sua principal prevenção é a erradicação do mosquito *A. aegypti* (Honório *et al.*, 2015).

O Zika vírus é uma doença aguda causada pelo vírus do gênero *Flavivirus*. Os principais sintomas são febre baixa, manchas vermelhas na pele que podem apresentar coceiras, vermelhidão nos olhos e dor de cabeça. Quando um indivíduo leva a picada do mosquito, leva em torno de 02 a 07 dias para apresentarem os sintomas. Até o presente momento não existe tratamento específico para o Zika vírus, além do alívio dos sintomas, que podem levar à morte. Até a escrita deste trabalho não existem vacinas para o Zika vírus, fazendo com que sua prevenção seja com a erradicação do mosquito que transmite a doença (Yadav; Mohite, 2020).

Está associado ao Zika vírus, uma síndrome congênita que causa má formação em embriões ou fetos quando durante a gestação a mãe é infectada pelo vírus por meio da picada do vetor. Essa síndrome congênita que está relacionada ao Zika faz alterações visuais e neurológicas nos embriões ou fetos. Se a gravidez acontecer após a infecção, o embrião/feto não correm riscos de serem infectados. O diagnóstico é realizado por meio de exame de ultrassom (quando o bebê está no período gestacional) e após o nascimento quando apresenta alterações físicas. Em relação ao neurológico e motor somente com o desenvolvimento da criança que é diagnosticada. Não existe tratamento prévio para essa síndrome relacionada ao zika vírus, o recomendando é a procura de serviços de saúde que facilitem o modo do desenvolvimento da criança. A principal prevenção da síndrome é o combate ao mosquito *Aedes aegypti* (Chibueze *et al.*, 2017).

2.2 *Aedes aegypti*

O mosquito *Aedes aegypti* é um mosquito pertencente à família *Culicidae*. Sua primeira ocorrência registrada foi no Egito por Linnaeus, em 1762. Desde seu aparecimento até o atual momento, este vetor encontra-se nas regiões dos trópicos e subtropicais, como exemplo Sudeste da Ásia e no Brasil, se adaptando

perfeitamente às temperaturas dessas regiões, Figura 1 (Ministério da Saúde, 2009).

Figura 1 - Distribuição dos locais afetados pelo *A. aegypti*.



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Dengue#/media/Ficheiro:Dengue.png>

A. aegypti (Figura 2) é uma espécie tropical e subtropical que adaptou muito bem ao convívio humano nos centros urbanos, o seu desenvolvimento é através de metamorfose completa e o seu ciclo de vida é dividido em quatro fases: ovos, larvas (que possuem quatro estágios), pupas e adultos. É o vetor responsável por epidemias como a dengue, chikungunya, zika vírus e febre amarela urbana. Porém, desde 1942 não ocorre epidemia da febre amarela urbana no Brasil. Essas doenças trazem grandes impactos econômicos à população brasileira (Zara *et al.*, 2016). O principal meio de controle do *Aedes aegypti* no Brasil é através dos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e Agentes de Combate a Endemias (ACE) em parceria com a população que é responsável pelo controle mecânico (práticas capazes de eliminar o vetor, os criadouros ou reduzir o contato do *A. aegypti* com o homem) e químico (uso de inseticidas naturais ou sintéticos) (Brasil, 2009).

Figura 2. Mosquito *Aedes aegypti*.



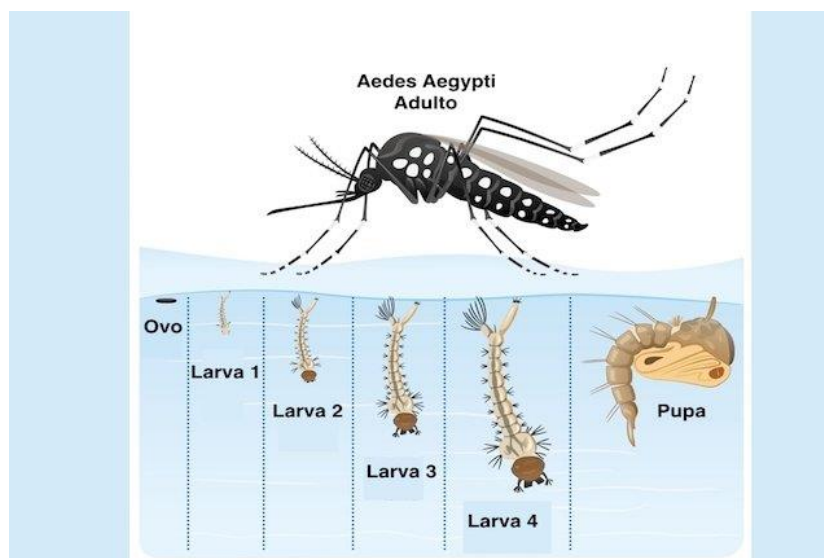
Fonte: <https://drauziovarella.uol.com.br/infectologia/doencas-transmitidas-por-aedes-aegypti-e-aedes-albopictus/>

O ciclo de vida desse mosquito é dividido em duas fases: aquática e aérea. Constituindo quatro etapas distintas (Figura 3) ovo, larva, pupa e mosquito; as três primeiras etapas fazem parte da fase aquática, a última fase é a aérea, considerada fase adulta. O ciclo de vida do *Aedes aegypti* está relacionado com a disponibilidade de criadouros apropriados para o desenvolvimento do *Aedes*, os quais ofereçam condições abióticas e bióticas favoráveis tais como a disponibilidade de matéria orgânica e temperaturas adequadas. A proliferação é mais comum ocorrer em dias chuvosos no Brasil que ocorrem nas estações de outono e inverno (de março até agosto) (Brasil, 2001).

Cada fase do ciclo de vida do *A. aegypti* tem suas características particulares. Os ovos, por exemplo, têm aparência alongada e são difíceis de serem analisados a olho nu. As fêmeas têm a capacidade de pôr em média cerca de 100 a 150 ovos por vez e durante a vida faz isso por 3 vezes. Ao serem colocados nos depósitos que servem como criadouros, os ovos podem sobreviver por até um ano, resistindo a períodos de dessecação esperando ter o contato com a água para a sua evolução. Devido a essa resistência é o principal modo de dispersão do inseto (dispersão passiva) em que podem ser transportados a longa distância em recipientes secos. Em condições favoráveis de umidade e temperatura, a fecundação inicia com a postura dos ovos e o desenvolvimento do embrião em 48 horas. Quando as fêmeas do *Aedes aegypti* estiverem infectadas com os vírus da dengue, chikungunya e zika vírus ao depositarem seus ovos esses futuros mosquitos já serão vetores dessas arboviroses (Fundação Nacional de Saúde, 2001; Aguiar, 2021).

As larvas do *A. aegypti* desenvolvem na água entre 5 a 7 dias, dependendo da temperatura, disponibilidade de alimento e densidade das larvas nos criadouros. São divididas em quatro estágios em que no último estágio pode ser prolongado por semanas antes da transformação para pupa. São sensíveis à luz e movimentam-se em formato de “S” ao se deslocar. Período de alimentação (materiais orgânicos) e crescimentos. As larvas do *A. aegypti* são compostas por cabeça, tórax e abdômen que é dividido em oito segmentos. Nessa fase aplicam-se os compostos larvicidas uma vez que nas fases seguintes não há a alimentação deste inseto. As pupas do *Aedes aegypti* são a transição entre a fase das larvas e a fase adulta (mosquito). Nesse período não se alimentam e sobrevivem em média de 2 a 3 dias em água (Fundação Nacional de Saúde, 2001; Aguiar, 2021).

Figura 3 - Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: <https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/>

Os adultos vivem na natureza em média de 30 a 35 dias. A estrutura corporal, anteriormente nas larvas, é vista claramente nessa fase. Onde, na cabeça encontram-se os órgãos dos sentidos, como as antenas, no tórax situa-se as pernas e asas e no abdômen localiza-se os órgãos internos (aparelhos digestivo, excretor e reprodutor). A diferença entre o macho e a fêmea é possível ser visualizada na fase adulta (Figura 4). Em tamanho a fêmea é maior que o macho, além disso, suas antenas possuem plumas (Beserra *et al.*, 2009; Aguiar, 2021).

Figura 4 - Diferença entre macho e fêmea do mosquito *A. aegypti*.



Fonte: Marques, (2018).

O principal meio de combate a esse vetor é por meio da ação conjunta da população e secretarias municipais. O papel da comunidade é a conscientização de eliminar locais onde possa desenvolver a água parada como em pneus e garrafas devem estar cobertos; caixa d'água, galões, poços e tonéis devem ser vedados. O governo por meio das secretarias deve ser o responsável em ações regulares para evitar a água parada como a coleta de lixo, abastecimento de água adequado e ações conscientizadoras nas escolas e bairros (Victor, 2023).

Outra maneira de combate ao mosquito é por meio do controle químico por meio de inseticidas sintéticos, porém vem causando danos ao meio ambiente e ao ser humano. Além disso, existe uma resistência do mosquito *Aedes aegypti* a compostos químicos sintéticos (Saavedra; Romanelli; Duchowicz, 2018). Dessa forma, produtos de origem vegetal, como os óleos essenciais, são ótimas alternativas na prevenção do *A. aegypti* devido às propriedades medicinais, antibacteriana e inseticida sendo seguro para a população e o meio ambiente (Ministério da Saúde, 2001).

2.3 Óleos Essenciais

Organização Internacional de Normalização (Do inglês: International Organization for Standardization - ISO) define os óleos essenciais como produtos obtidos a partir de determinadas partes das plantas, por meio de técnicas de destilação, principalmente arraste a vapor (Baser, Buchbauer, 2015). Os óleos essenciais são substâncias voláteis, extraídas de plantas aromáticas, sendo matéria-

prima na indústria farmacêutica, medicinal e cosméticos que são usados como fixadores, fragrâncias, aromas e condimentos. Apresentam em sua composição monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular (Bruno, Almeida, 2021). Os fatores que influenciam a composição dos óleos essenciais extraído da mesma parte de uma mesma espécie vegetal são: localização do órgão da planta, a época de colheita, condições de temperatura, umidade relativa e composição química do solo e regime de exposição ao sol (Bakkali *et al.*, 2008).

As pesquisas e estudos comprovam que os óleos essenciais possuem uma ação medicinal, bem como importante função antibacteriana, além desses fatores também afirmam que certos óleos essenciais possuem características larvicidas (Zara *et al.*, 2016). Como exemplo pode-se citar o óleo essencial extraído de plantas da família *Piperaceae* que possui compostos bioativos larvicida (Albuquerque *et al.*, 2022), antifúngica (Vieira *et al.*, 2011) e outras atividades biológicas. O estudo do potencial larvicida é determinado por meio dos dados obtidos nos bioensaios de concentrações do óleo essencial junto com as larvas de mosquitos. A classificação é de acordo com a Concentração Letal (CL) que na maioria dos bioensaios consideram 50% das larvas mortas (CL_{50}). Dessa forma, se um óleo obtém $CL_{50} < 50$ ppm é altamente ativo, $CL_{50} < 100$ ppm é ativo e $CL_{50} > 100$ ppm é não ativo (Silvério *et al.*, 2020; Cheng *et al.*, 2003).

O processo de extração do óleo essencial que se pode ser destacado é a técnica de hidrodestilação. A hidrodestilação é uma técnica que não se utiliza solventes orgânicos para obtenção do óleo essencial, sendo considerada uma técnica verde (Boukhatem, 2022). Essa técnica consiste em colocar o material vegetal em contato com a água destilada que é aquecida. Como sabe-se que a água e óleo são imiscíveis, nessa extração temos a formação de duas fases, onde realizamos a separação do óleo essencial da água, através do aparelho cleverger modificado. Na água é possível encontrar alguns componentes do óleo essencial, o que chamamos de hidrolato. A água que se encontra no balão juntamente com o material vegetal denominamos de extrato bruto (Boukhatem, 2022).

A caracterização do óleo e a identificação dos componentes do OE's é realizada pela Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM). Assim, o CG realiza a separação e o EM realiza a identificação dos

componentes, proporcionando uma análise qualitativa e quantitativa de uma mistura (Bizzo *et al.*, 2020). O funcionamento do CG-EM ocorre a partir do instante em que o eluente entra em contato com a coluna, atravessando primeiro o capilar, devendo está aquecido promovendo a vaporização da amostra (grande parte do gás de baixa massa atômica), bombardeando para fora do capilar. Enquanto isso, as moléculas do analito mantêm-se em fluxo linear e penetram na coluna, onde componentes são separados por partição diferencial cujo ritmo e grau dependem da pressão de vapor do analito e de sua afinidade química pela fase estacionária. Portanto, o gás de arraste conduz o analito para a fonte de íons do espectrômetro de massas. Por fim, a fase móvel com o analito na forma iônica passa por um detector gerando um sinal elétrico que é registrado na forma de um cromatograma (Schuler, 2010).

Na literatura existem vários estudos com o uso de óleo essenciais extraídos de plantas aromáticas presentes na mata atlântica brasileira, que apresentaram atividades biológicas contra vetores causadores de arboviroses. Como exemplo pode-se citar a *Piper marginatum* (Autran *et al.*, 2009).

2.4 *Piper marginatum*

Desde os primórdios da história da humanidade, os seres humanos fazem uso de plantas para a sua alimentação e para uso fitoterápico. De acordo com os avanços científicos foi estabelecido um ramo de estudos sobre a química dos produtos naturais (Pinto *et al.*, 2002). Assim, com os estudos fitoquímicos foram identificadas potencialidades das plantas, como os seus óleos essenciais que contribuíram para a qualidade de vida e o desenvolvimento humano (Bessa *et al.*, 2013).

Conforme o banco de dados da Flora Brasil, portal desenvolvido para identificar as plantas nativas do país, existem cerca de 46.975 espécies de plantas, onde encontra-se as plantas do gênero *Piper*, que pertencem a família *Piperaceae* possuindo em média 2.000 espécies encontradas na região da Amazônia (Gonçalves *et al.*, 2019). Dentre as plantas desse gênero pode-se destacar a *Piper marginatum*. A *Piper marginatum* jaq (Figura 5) é popularmente conhecida como capeba, malvarisco, pimenta-do-mato, capeba-cheirosa e nhandi. Popularmente é

utilizada como fitoterápico (produtos obtidos de plantas medicinais que são usadas como profilática, curativa ou paliativa) (Brđ, Guzman, 2016).

Figura 5 - *Piper marginatum*.



Fonte: https://en.wikipedia.org/wiki/Piper_marginatum

Por meio do levantamento bibliográfico realizado para o presente estudo, de acordo com os 17 artigos encontrados sobre a *Piper marginatum*, no banco de dados da Scifinder (Tabela 1).

Tabela 1 - Levantamento e principais informações acerca dos artigos selecionados.

Nº	Título/Autor/Ano	Veículo de Publicação	Objetivos	Conclusões
1	Antimicrobial Activity of <i>Piper marginatum</i> Jacq and <i>Ilex guayusa</i> Loes on Microorganisms Associated with Periodontal Disease. Gamboa, Muñoz, Numpaque, Gonzalo, Castañeda, Gutierrez e Tellez	International Journal of Microbiology	Determinar a atividade antimicrobiana de extratos e frações obtidos de <i>Piper marginatum</i> Jacq e <i>Ilex guayusa</i> Loes sobre microrganismos reconhecidos pela doença periodontal.	Os extratos e frações etanólicas totais de <i>Piper marginatum</i> Jacq e <i>Ilex guayusa</i> Loes apresentaram excelente atividade antimicrobiana contra <i>P. gingivalis</i> ATCC 33277, <i>P. intermedia</i> ATCC 25611 e <i>F. nucleatum</i> ATCC 25586.

	(2018).			
2	Piperaceae extracts for controlling <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> growth in commercial orange juice. Pascoli, dos Anjos, Silva, Lorenzetti, Cortez, Mikcha, Nakamura, Nakamura e Abreu Filho (2018).	Industrial Crops & Products	Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos brutos de <i>P. marginatum</i> e <i>P. peltatum</i>, suas frações e compostos puros, e avaliar seu uso sinérgico no controle do crescimento de <i>A. acidoterrestris</i> em suco de laranja.	Os extratos e frações de Piperaceae e o composto puro 4-NC foram eficazes contra as células vegetativas e esporulantes de <i>A. acidoterrestris</i>, e baixas concentrações efetivamente eliminaram a carga biológica. Eficazes como agentes antibacterianos para uso em alimentos.
3	Piper Essential Oils Inhibit <i>Rhizopus oryzae</i> Growth, Biofilm Formation, and <i>Rhizopus</i> pepsin Activity. Almeida, Azevedo, Chaves, Oliveira, Rodrigues, Bizzo, Gama, Alviano e Alviano (2019).	Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology	Avaliar a atividade antifúngica de <i>Piper aduncum</i>, <i>P. hispidinervum</i>, <i>P. callosum</i>, <i>P. hispidum</i>, <i>P. tuberculatum</i>, <i>P. marginatum</i> e <i>Piper sp.</i>	O estudo mostrou a atividade antifúngica promissora de <i>Piper tuberculatum</i>, <i>P. hispidum</i> e <i>Piper sp.</i> contra células planctônicas, formação de biofilme e rizopuspepsina, o que torna esses óleos essenciais úteis na formulação de estratégias para limitar o crescimento de <i>R. oryzae</i>.
4	Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of <i>Piper marginatum</i>. Brú e Guzman (2019).	Brazilian Journal of Pharmacognosy	Identificar as lacunas de pesquisa para futuras investigações e avaliar o potencial de aplicação da espécie na medicina e na	<i>P. marginatum</i> possui uma gama de aplicações biológicas e farmacológicas, que de acordo com a potência relatada, o efeito larvicida contra <i>A. aegypti</i>, a atividade antifúngica contra fungos

			agricultura.	fitopatogénicos e o potencial hemostático e antitumoral, merecem destaque para futuras investigações.
5	Essential Oils from Five Brazilian Piper Species as Antimicrobials Against Strains of <i>Aeromonas hydrophila</i>. Majolo, Monteiro, Nascimento, Chaves, Gama, Bizzo e Chagas (2019).	Journal of Essential Oil Bearing Plants	Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cinco espécies brasileiras de <i>Piper</i> (<i>Piper aduncum</i>, <i>Piper callosum</i>, <i>Piper hispidinervum</i>, <i>Piper hispidum</i> e <i>Piper marginatum</i>) contra cepas de <i>Aeromonas hydrophila</i>, isoladas de tambaqui	A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi confirmada contra dez cepas de <i>Aeromonas hydrophila</i>. O melhor efeito foi obtido com óleo essencial da <i>P. marginatum</i>.
6	Morphological and immunohistochemical study of the midgut and fat body of <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: noctuidae) treated with essential oils of the genus <i>Piper</i>. Dutra, Teixeira, Assunção, Ferreira, Monteiro, Agra Neto, Lapa Neto, Teixeira e Navarro (2019).	Biotechnic & Histochemistry	Determinar a atividade larvicide dos óleos extraídos de <i>Piper corcovadensis</i>, <i>P. marginatum</i> e <i>P. arboreum</i> sobre larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>.	Óleos essenciais de <i>P. corcovadensis</i>, <i>P. marginatum</i> e <i>P. arboreum</i> apresentaram atividade larvicide, causando alterações deletérias no intestino médio de larvas de <i>S. frugiperda</i>.
7	Evaluation of <i>Piper</i>	Journal of	Avaliar os efeitos	O óleo de <i>P.</i>

	<i>marginatum</i> Piperales: <i>Piperaceae</i>) Oil and Geraniol on the Embryonic development of <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) in Comparison to Formulated products. Guedes, Teixeira, Dutra, Navarro, Cruz, Clóvis, Lapa Neto, Correia, Sandes, Brayner, Alves e Teixeira (2019).	Economic Entomology	do óleo de <i>P. marginatum</i> e Geraniol sobre o desenvolvimento embrionário de <i>S. frugiperda</i> , comparando a atividade com produtos sintéticos.	<i>marginatum</i> e o geraniol ótimos inseticidas, causando danos significativos em baixas concentrações.
8	Effects of Essential Oils from Two Species of <i>Piperaceae</i> on <i>Parasitized</i> and <i>Unparasitized Eggs</i> of <i>Oeobalus insularis</i> (Heteroptera: Pentatomidae) by <i>Telenomus podisi</i> (Hymenoptera: Platygasteridae). Zachrisson, Santana e Gupta (2019).	Natural Product Communications	Determinar o efeito causado por <i>P. jacquemontianum</i> e <i>P. marginatum</i> sobre ovos (atividade ovicida) de <i>O. insularis</i> não parasitados ou parasitados por <i>T. podisi</i> .	As duas espécies apresentaram atividade ovicida para os ovos de <i>O. insularis</i> não parasitados e parasitados por <i>T. podisi</i> .
9	Chemical Composition and Schistosomicidal Activity of Essential Oils of Two <i>Piper Species</i> from the Amazon Region.	Journal of Essential Oil Bearing Plants	Determinar a atividade antiparasitária dos óleos essenciais de <i>P. marginatum</i> e <i>P. collosum</i> sobre o verme	Os óleos essenciais de <i>P. marginatum</i> e <i>P. callosum</i> podem ser utilizados no tratamento de indivíduos acometidos pelo verme <i>Schistosoma</i>

	Gonçalves, Ayres, Magalhães, Crotti, Corrêa, Guimarães e Takeara (2019).		<i>Schistosoma mansoni</i> .	<i>mansoni</i> .
10	Leishmanicidal activity of <i>Piper marginatum</i> Jacq. from Santarém-PA against <i>Leishmania amazonensis</i> . Macêdo, Fonseca, Caldeira, Castro, Pacienza-Lima, Borsodi, Sartoratto, Silva, Salgado, Rossi-Bergmann e Castro (2020).	Experimental Parasitology	Investigar o potencial <i>leishmanicida</i> (atividade antiparasitária) do óleo essencial de <i>P. marginatum</i> contra <i>Leishmania amazonenses</i> .	Óleo essencial de <i>P. marginatum</i> e frações apresentaram atividade antiparasitária contra <i>Leishmania amazonenses</i> .
11	Chemical composition of essential oils of selected species of <i>Piper</i> and their insecticidal activity against <i>Drosophila suzukii</i> and <i>Trichopria anastrephae</i> . Souza, Souza, Bernardi, Krinski, Melo, Oliveira, Rakes, Zarbin, Maia e Zawadneak (2020).	Springer Nature	Identificar a composição química dos óleos essenciais, avaliar a toxicidade dos óleos contra <i>T. anastrephae</i> e <i>D. suzukii</i> (atividade inseticida), bem como os efeitos sobre sua oviposição.	Os óleos essenciais apresentaram atividade inseticida contra <i>T. anastrephae</i> e <i>D. suzukii</i> e efeito deterrente sobre a oviposição das fêmeas de <i>D. suzukii</i> .
12	Evaluation of <i>Piper marginatum</i> (<i>Piperales</i> : <i>Piperaceae</i>) Oil and Geraniol on the Embryonic	Journal of Economic Entomology	Detectar os efeitos do óleo essencial de <i>P. marginatum</i> sobre o desenvolvimento embrionário de	As substâncias utilizadas prejudicaram o desenvolvimento embrionário de <i>S. frugiperda</i> , o óleo essencial de <i>P.</i>

	Development of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) in Comparison to Formulated Products. Guedes, Teixeira, Dutra, Navarro, Cruz, Lapa Neto, Correia, Sandes, Brayner, Alves e Teixeira (2020).		<i>S. frugiperda.</i>	<i>marginatum</i> se constituiu como bom inseticida.
13	Toxicity of Essential Oils of Leaves of Plants from the Genus <i>Piper</i> with Influence on the Nutritional Parameters of Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Dutra, Teixeira, Guedes, Cruz, Navarro, Monteiro, Agra, Lapa Neto e Teixeira (2020).	Journal of Essential Oil Bearing Plants	Determinar a atividade toxicológica e influência sobre os parâmetros nutricionais dos óleos de <i>P. marginatum</i> , <i>P. corcovadenses</i> e <i>P. arboreum</i> sobre <i>S. frugiperda</i> .	Os óleos essenciais da espécie <i>P. corcovadensis</i> , <i>P. marginatum</i> e <i>P. arboreum</i> mostraram-se eficientes em termos de toxicidade e influência em parâmetros nutricionais para <i>S. frugiperda</i> .
14	In vitro mineral apposition analysis of two Colombian plant extracts on Amelogenesis imperfecta teeth. Prieto, Castañeda, Jaramillo, Nieto, Cáceres, Abello, Rincón, Jaimes e	Clinical and Experimental Dental Reserach	Determinar se os extratos de <i>P. marginatum</i> e <i>I. guayusa</i> são capazes de permitir aposição mineral no esmalte dos dentes.	Os extratos permitiram a aposição de fosfato e ortofosfato no esmalte dos dentes com efeito duradouro. <i>P. marginatum</i> apresentou melhor comportamento que <i>I. guayusa</i> .

	Caicedo (2021).			
15	Larvicidal Activity of Essential Oils From <i>Piper</i> Species Against Strains of <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) Resistant to Pyrethroids. Filho, Pessoa, Yamaguchi, Stanton, Serravite, Pereira, Neves e Kato (2021).	Frontiers in Plant Science	Determinar a atividade larvica de óleos essenciais do gênero <i>Piper</i> sobre cepa de larvas do <i>Aedes Aegypti</i> resistentes a inseticidas sintéticos – piretórídes.	Os óleos essenciais se constituíram como larvicidas de cepas resistentes do <i>A. aegypti</i> .
16	Chemical composition and insecticidal activity of the essential oils of <i>Piper marginatum</i>, <i>Piper callosum</i> and <i>Vitex agnus-castus</i>. Ayres, Oliveira, Baldin, Corrêa, Guimarães e Takeara (2021).	Crop Science	Realizar a caracterização química dos óleos essenciais de <i>P. marginatum</i>, <i>P. callosum</i> e <i>V. agnus-castus</i>, determinar a atividade inseticida sobre <i>Zabrotis Subfasciatus</i>.	Os óleos essenciais apresentaram atividade fumigante contra <i>Z. subfasciatus</i> .
17	Essential oil of <i>Piper callosum</i>, <i>Piper hispidum</i> and <i>Piper marginatum</i> (Piperaceae) possesses in vitro efficacy Against monogeneans of <i>Colossoma macropomum</i> (tambaqui). Alves, Nogueira, Luz, Chaves e Dias (2021).	Aquaculture Reserach	Determinar a eficácia dos óleos essenciais de <i>P. callosum</i>, <i>P. marginatum</i> e <i>P. hispidum</i> contra monogeneas (atividade antiparasitária) e a tolerância do tambaqui a esses óleos.	Os óleos essenciais exibiram alta atividade antiparasitária in vitro contra monogeneas e apresentaram efeitos anestésicos no tambaqui.

Por meio da pré-análise, constituída pelo levantamento e seleção dos artigos, bem como da exploração do material, realizada no momento da leitura e organicidade das informações foi possível categorizar, conforme apresentado na Tabela 2, os artigos reunidos.

Tabela 2 - Categorias e subcategorias dos artigos publicados sobre a *Piper marginatum*.

CATEGORIAS	SUBCATEGORIAS	QTD. DE ARTIGOS
Atividade Biológica	Antimicrobiana	2
	Antibacteriana	1
	Medicinal (Odontológico*)	1
	Antifúngica	1
	Larvicida	2
	Ovicida	1
	Antiparasitária	3
	Inseticida	5
Caracterização Química	Identificação e quantificação de compostos	13
	Identificação de compostos majoritários	13

Fonte: A autora (2023).

Na literatura encontram-se estudos atuais que mostram a eficácia da *Piper marginatum* sendo usada por comunidades nativas para fins terapêuticos, para o tratamento de diversas enfermidades, como exemplo distúrbios nos sistemas bioquímicos femininos (Brđ, Guzman, 2016). Além desses tratamentos pode-se encontrar estudos que apresentam o uso da *Piper marginatum* para o tratamento de problemas dentários, frente ao combate de microrganismos associados à doença periodontal (Gutiérrez-Prieto *et al.*, 2021).

Outros estudos que se destacam-se é sobre as atividades biológicas que o óleo essencial da *P. marginatum* apresenta eficiência com potencial biológico no combate a organismos prejudiciais à saúde humana, como por exemplo frente ao *Aedes aegypti* (vetor transmissor de arboviroses) e a pragas que afetam a colheita e criações de animais como Monogeneas (parasitas que atacam criações de tambaqui) e até o *Schistosoma mansoni* (verme que causa a esquistossomose, doença que pode alcançar quadros graves e até mesmo ocasionar a morte). A partir das possíveis aplicações da *Piper marginatum* com o seu óleo essencial apresentando alta atividade biológica (atividade inseticida, larvicida, antimicrobiana, entre outras), além do seu potencial medicinal e farmacológico (Gonçalves *et al.*,

2019) foi possível destacar os principais resultados acerca do uso da *Piper marginatum* frente aos testes realizados sobre os micros e macroorganismos de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 - Principais resultados obtidos a partir dos artigos selecionados na Tabela 1.

Nº	Atividade Biológica	Espécime	Resultado
1	Antimicrobiana	<i>F. nucleatum</i> ATCC 25586 <i>P. gingivalis</i> ATCC 33277 <i>P. intermedia</i> ATCC 25611	Ação inibitória 12.3-14.3 mm Ação inibitória 21.7-30 mm Ação inibitória 12.3-15.7 mm
2	Antibacteriana	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Concentração inibitória mínima de 62,50 ug/mL
3	Antifúngica	<i>Rhizopus oryzae</i>	Concentração inibitória mínima de 78,12-1250 ug/mL
5	Antimicrobiana	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Concentração inibitória mínima de 234,4 ug/mL
6	Larvicida	<i>Spodoptera frugiperda</i>	CL ₅₀ – 10,91 mg/g
7	Larvicida	<i>Spodoptera frugiperda</i>	CL ₅₀ – 152,95 ppm
8	Ovicida	<i>Oebalus Insularis</i>	CL ₅₀ – 3.037 (24h) - 1.811(48h)
9	Antiparasitária	<i>Schistosoma mansoni</i>	CL ₁₀₀ – 50 ug/mL
10	Antiparasitária	<i>Leishmania amazonenses</i>	CL ₅₀ – 7,9 ug/mL
11	Inseticida	<i>Drosophila suzukii</i>	CL ₅₀ – 0,63 mg/L
12	Larvicida	<i>Spodoptera frugiperda</i>	CL ₅₀ – 152,95 ppm
15	Larvicida	<i>Aedes aegypti</i>	CL ₅₀ – 41,72 ppm
16	Inseticida	<i>Zabrotis Subfasciatus</i>	CL ₅₀ – 1,17 uL/L
17	Antiparasitária	<i>Monogeneas</i>	Concentração letal – 100-400 mg/L

Fonte: A autora (2023).

Assim, diante do estudo encontrado na literatura em relação à característica inseticida do óleo essencial de *Piper marginatum* frente a *A. aegypti*, é de grande interesse realizar uma investigação do potencial do óleo em outros estágios das larvas e pupas, através de bioensaios larvicidas e pupicida para a interrupção do ciclo de vida desse vetor.

2.5 Uso de óleos essenciais como proposta didática para o ensino das funções orgânicas e isomeria

A realidade vivenciada na educação básica em relação aos conteúdos de química é abordada, muitas vezes, de forma descontextualizada onde os alunos não conseguem relacionar o seu cotidiano com os fenômenos químicos estudados. Ou seja, apresentam dificuldades de compreender os processos que ocorre na natureza em relação desses com os homens e com a própria química. Diante desse contexto, é preciso que o professor busque alternativas que sejam atrativas e desenvolva nos educandos a curiosidade para a investigação científica, fazendo com que estes se tornem sujeitos no seu processo de ensino e aprendizagem (Ledur, 2021).

Contextualizar as aulas, não é simplesmente trazer uma metodologia ativa e aplicar em uma sala de aula, pois os estudantes já carregam um conhecimento prévio. Contextualizar é o professor modificar esse conhecimento e adequá-lo ao conhecimento científico, trazendo significado aos educandos sobre o conteúdo. Que de acordo com Chassot (2018), o conhecimento presente na disciplina de química só terá significado quando passar a ser relevante, quando estiver ligado a realidade da escola e dos alunos.

O uso dos óleos essenciais está presente no dia-a-dia da sociedade devido as suas propriedades medicinais e muitas vezes sendo usados na alimentação. Este trabalho de conclusão de curso tem como proposta pedagógica relacionar o ensino de química orgânica com os óleos essenciais, abordando conceitos de hidrocarbonetos (cadeia carbônica, nomenclatura e aromaticidade), funções orgânicas e isomeria geométrica. Abordando, também, sobre a propriedade inseticida presente nos óleos essenciais contra vetores responsáveis por arboviroses prejudiciais à saúde humana, utilizando como exemplo o óleo essencial da *Piper marginatum* e seu composto majoritário (Z)-Asarone com o seu isômero (E)-Asarone e o *Aedes aegypti*.

3 HIPÓTESE E OBJETIVO

3.1 Hipótese

O óleo essencial de *P. marginatum* apresenta atividade biológica contra o *A. aegypti* interrompendo o seu ciclo de vida.

3.2 Objetivo geral

Avaliar o potencial do óleo essencial de *Piper marginatum* em combate ao mosquito *Aedes aegypti* nas fases iniciais, larvas (estágios L₁, L₂ e L₃) e pupas.

3.3 Objetivo específico

- Extrair e caracterizar o óleo essencial de *Piper marginatum*.
- Avaliar a atividade larvicida do óleo da *Piper marginatum* frente às larvas do *A. aegypti* nos estágios L₁, L₂ e L₃ (bioensaio preliminares).
- Avaliar a atividade pupicida do óleo essencial da *P. marginatum* frente as pupas do *A. aegypti*.
- Obter a CL₅₀ do óleo essencial da *P. marginatum* frente aos estados testados do *Aedes aegypti* realizando o tratamento estatístico dos dados proveniente dos bioensaios, utilizando o programa StatPlus2006.

4 METODOLOGIA

4.1 Da coleta do material vegetal

A coleta da planta *P. marginatum* foi realizada no Jardim Botânico do Recife, localizado no bairro do Curado, Recife-PE, no mês de dezembro do ano de 2022. Com as folhas frescas o óleo essencial foi extraído no mesmo dia da coleta.

4.2 Da extração do óleo essencial

O óleo essencial foi extraído pela técnica da hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado e condensador. Para a realização da extração do óleo essencial foi utilizado cerca de 605,00 g do material vegetal. Após a pesagem esse material foi triturado e colocado em contato diretamente com a água, dessa forma com o calor, os componentes do óleo foram volatilizados e, em seguida, condensados. Esse método é realizado durante três horas de extração, sendo uma forma barata, eficaz e verde de se obter o óleo. O óleo foi coletado e tratado com sulfato de sódio anidro P.A. para retirada da água remanescente, sendo mantido refrigerado até a realização dos bioensaios e/ou análise cromatográfica (Boukhatem, 2022).

4.3 Da análise Cromatográfica e Espectrometria de Massas

A análise do óleo foi realizada por meio do cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM) em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG-EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0.25 µm espessura da película). A temperatura do cromatógrafo gasoso foi ajustada em 60 °C por 3 minutos, sendo elevada em 2,5 °C min⁻¹ até alcançar 240 °C, e mantida nessa temperatura por 10 minutos. O fluxo do hélio foi conservado em pressão constante de 100 KPa. A interface da espectrometria de massas foi estabelecida em 200 °C e os espectros de massa registrada em 70 eV (em modo EI) com velocidade de escaneamento de de 0,5 scan-s de m/z 20-350.

Os compostos foram identificados por meio da análise dos espectros de massa de cada pico cromatográfico, comparação com padrões autênticos e cálculo

de índices de retenção. Foram calculados os índices de retenção linear dos componentes do óleo de cambuí utilizando-se os tempos de retenção de cada composto e os tempos de retenção de n-alcanos (C9 a C25) analisados sob as mesmas condições. Os valores calculados foram comparados com os índices de retenção publicados na literatura (Adams, 2007).

A mesma solução foi quantificada através da injeção em triplicata de 1 µL em modo splitless em um cromatógrafo gasoso equipado com coluna apolar VB-5 (thermo trace GC ultra, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). As amostras foram quantificadas sob as mesmas condições de programação do forno descritas anteriormente. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, a fluxo constante de 1 mL por minuto e a temperatura do injetor foi mantida a 250 °C. Os compostos eluídos da coluna cromatográfica foram detectados através de detectores de ionização em chama (DIC) a 250 °C.

4.4 Da realização dos bioensaios

Os bioensaios foram executados no insetário pertencente ao Laboratório de Ecologia Química, do Departamento de Química Fundamental – UFPE, local em que foi realizado este projeto.

4.4.1 Do bioensaio larvicida

O bioensaio larvicida foi realizado a partir de uma solução aquosa do óleo essencial da *P. marginatum*, com concentrações variadas de testes, realizados de forma duplicata e triplicata. Para observar o efeito do óleo na sobrevivência das larvas nos estágios L₁, L₂ e L₃ foi preciso coletar e selecionar as larvas do *A. aegypti* (de acordo com os estágios). Em um copo foram colocadas 20 larvas (em cada recipiente) juntamente com a solução do óleo e água destilada de modo que ao todo tivessem um volume de 20 mL. Em cada teste realizado tínhamos o controle, composto com água destilada e o co-solvente (Tween 80). A sobrevivência ou mortalidade das larvas foram verificadas em 48h de incubação à temperatura de 27 ± 2 °C, com umidade relativa de 70 ± e fotoperíodo de 14-h escuro / 10-h luz (Monte *et al.*, 2020).

4.4.2 Do bioensaio pupicida

O teste pupicida foi realizado com a coleta e seleção das pupas do *A. aegypti*, presentes no insetário. Foram colocadas 20 pupas em cada copo, que estiveram em contato com a solução do óleo essencial e água destilada de modo que ao todo tivessem um volume de 20 mL. O bioensaio pupicida foi realizado de em duplicata e triplicata. Em cada teste realizado obtivemos o controle que foi composto com água destilada e do cossolvente. A sobrevivência ou mortalidade das pupas e dos mosquitos que eventualmente poderiam eclodir das pupas foram verificados com 48h de incubação à temperatura de 27 ± 2 °C com umidade relativa de $70 \pm$ e fotoperíodo de 14-h escuro / 10-h luz (Monte *et al.*, 2020).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Extração e composição química do óleo essencial da *Piper marginatum*

Inicialmente realizou - se a coleta do material vegetal no Jardim Botânico do Recife para realizar a extração do óleo essencial com as folhas frescas. A escolha do método é baseada no desempenho quanto ao rendimento, qualidade, tempo de operação e custo; destacando a hidrodestilação. Nessa técnica de extração, o material encontra-se em contato com a água no momento da ebulição recebendo pressão e calor as moléculas de vapor d'água são condensadas (Figura 6).

Figura 6 - Hidrodestilação *P. marginatum*.



Fonte: A autora 2023.

A partir do óleo extraído foi possível calcular o rendimento percentual com valor igual a 0,11%. No artigo publicado no ano de 2009 o rendimento percentual do óleo essencial da *Piper marginatum* foi de 0,39%. Essa variação está relacionada a fatores como temperatura, época do ano e umidade do ar. Também foi possível realizar a identificação da composição química do óleo essencial para ter o conhecimento dos componentes majoritários para realização dos bioensaios.

O óleo essencial de *P. marginatum* foi analisado pelo equipamento CG -DIC e CG-EM do Laboratório de Ecologia Química – UFPE onde foram identificados 19 compostos químicos. Abaixo encontra-se a tabela com os componentes químicos presentes no óleo essencial de *Piper marginatum* (Tabela 4) e o cromatograma do óleo essencial (Figura 7).

Tabela 4 – Identificação da composição química do óleo essencial de *P. marginatum*

Composto ^a	RT calculado ^b	RT literatura ^c	%	S.D.
α -thujene	925	924	0,18	0,02
α-pinene	931	932	14,82	1,53
camphene	944	946	0,19	0,03
β-pinene	972	974	14,19	1,47
myrcene	991	988	1,40	0,13
α-phellandrene	1003	1002	12,07	1,26
p-cymene	1023	1020	0,45	0,06
β -phellandrene	1026	1025	3,66	0,37
δ -elemene	1337	1335	1,18	0,13
α -copaene	1374	1374	1,71	0,14
β -elemene	1391	1389	2,16	0,06
(E)-caryophyllene	1418	1417	7,53	0,16
aromadendrene	1438	1439	0,55	0,09
α -humulene	1452	1452	4,25	0,20
lshwarane	1460	1465	5,06	0,42
bicyclogermacrene	1496	1500	5,48	0,52
Guaiol	1597	1600	1,22	0,17
(Z)-Asarone	1628	1616	17,26	2,10
(E)-asarone	1683	1675	5,37	1,26
			98,72	

a Picos listados em ordem de eluição de uma coluna capilar DB-5 não polar de 30 m, detector GC-FID.

b Índices de retenção calculados em relação a uma série de n-alcanos C9-C30.

c Valores retirados de Adams (2007).

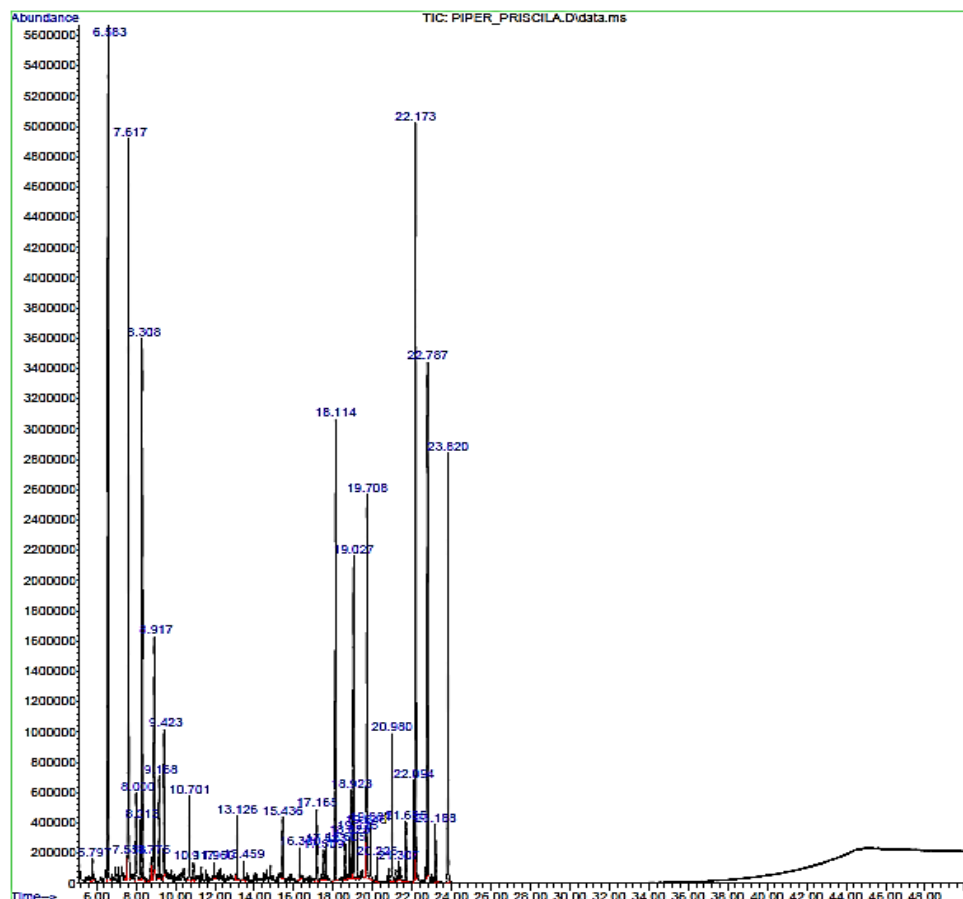
Fonte: A autora (2023).

Na literatura já tem um estudo com o óleo essencial de *Piper marginatum* em que foi realizada a identificação dos componentes químicos do óleo essencial com 40 componentes representando 99,6%, 99,7% e 99,1% do óleo da folha, caule e inflorescência, os mais abundantes foram (Z)- ou (E)-asarone e patchouli álcool (Autran *et al.*, 2009).

A composição Química do óleo essencial é determinada geneticamente através de um determinado órgão e característica do seu estado de

desenvolvimento. Assim, diversos fatores podem influenciar na composição química dos óleos voláteis entre eles o ciclo vegetativo, fatores climáticos, tipo de solo e método de obtenção (Simões *et al.*, 2010).

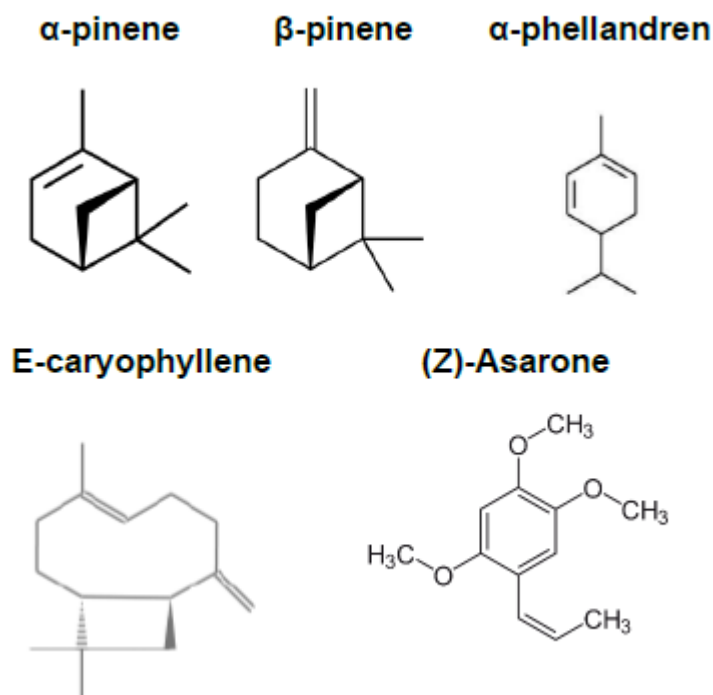
Figura 7 – Cromatograma do óleo essencial da *Piper marginatum*.



Fonte: A autora (2023).

Na análise cromatográfica deste trabalho foram identificados como majoritários (Z)-Asarone (17,26%) (Autran *et al.*, 2009), α -pinene (14,82%) (Sarma *et al.*, 2019), β -pinene (14,19%) (Autran *et al.*, 2009), α -phellandrene (12,07%) (Huong *et al.*, 2020) e E-caryophyllene (7,53%) (Autran *et al.*, 2009) (Figura 8). Todos os compostos majoritários são reportados na literatura como inseticidas.

Figura 8 – Estrutura química dos compostos majoritários do óleo essencial da *Piper marginatum*.

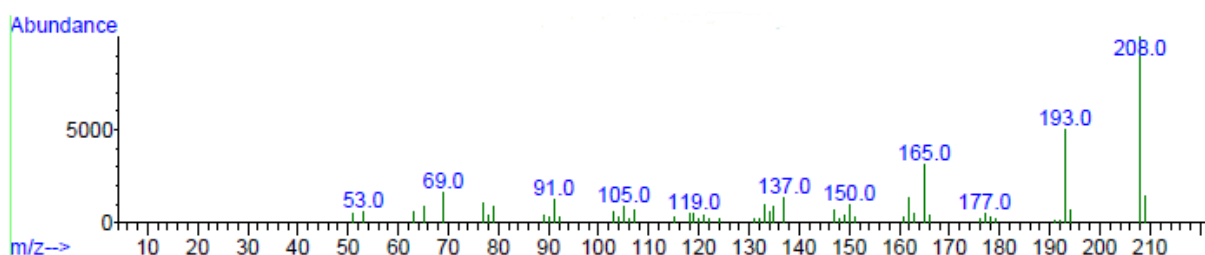


Fonte: A autora (2023).

Por meio da Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) foi possível identificar e quantificar os compostos que estão presentes na amostra através dos espectros das massas. A análise dos espectros de massas foi realizada por meio da comparação com a literatura do Adams (2017). Assim pode-se comparar os picos e identificar os constituintes químicos listados na Tabela 4.

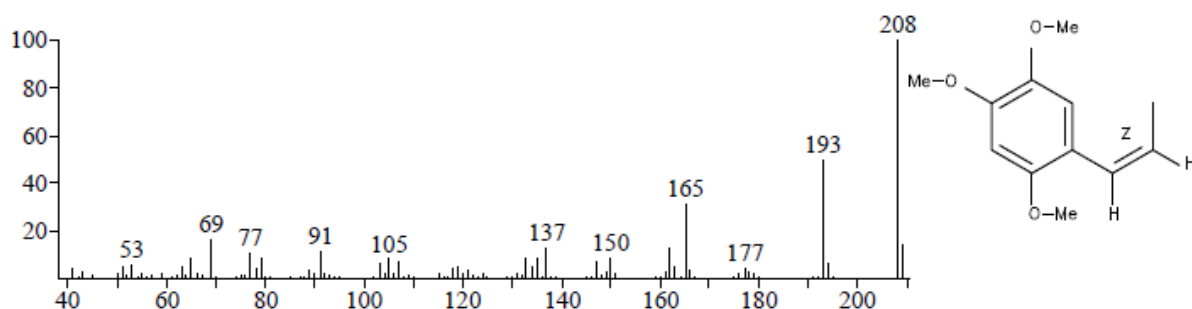
Um dos compostos majoritários é o (Z)-Asarone que constitui 17,26% do óleo essencial da *P. marginatum*. Na análise cromatográfica também foi identificado o isômero (E)-Asarone (5,37%) que podem ser observado seus respectivos espectros de massa na Figura 9 e 11 com o referencial da literatura (Figuras 10 e 12).

Figura 9 – Espectro de massa (Z)-Asarone.



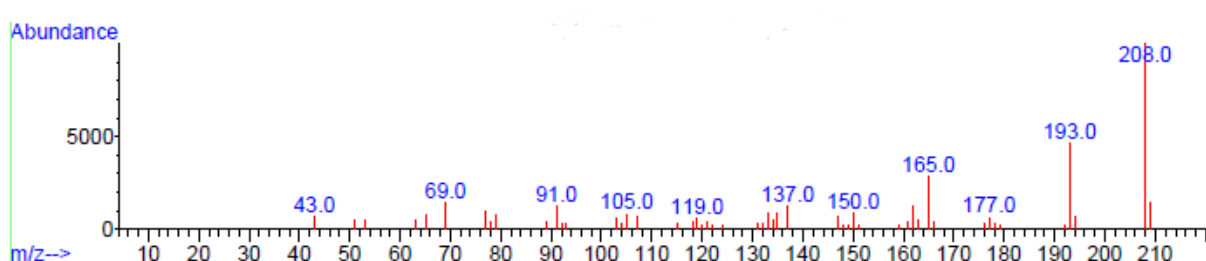
Fonte: A autora (2023).

Figura 10 – Espectro de massa (Z)-Asarone literatura.



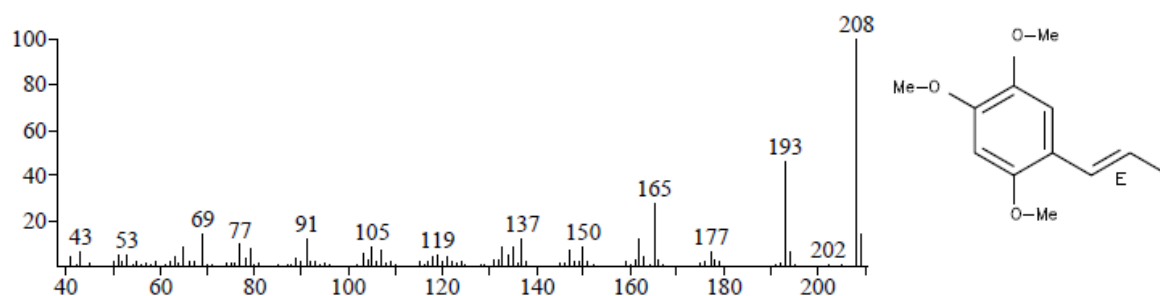
Fonte: Adams, 2017.

Figura 11 – Espectro de massa (E)-Asarone.



Fonte: A autora (2023).

Figura 12- Espectro de massa (E)-Asarone literatura.

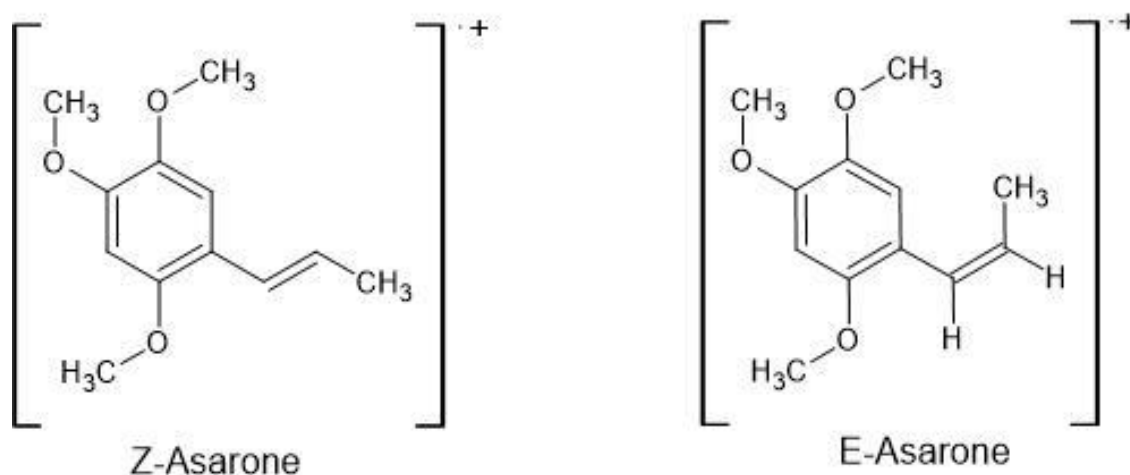


Fonte: Adams, 2017.

Na química, os isômeros são compostos químicos que apresentam a mesma fórmula molecular, mas diferentes fórmulas estruturais (Solomons, Fryhle, Snyder, 2018). O que se pode notar por meio dos espectros de massa do (Z)-Asarone e (E)-Asarone. Onde são isômeros geométricos *cis* e *trans*. O isômero *cis* é o (Z)-Asarone e o *trans* é o (E)-Asarone. Porém estes apesar de terem espectros de massas muito semelhantes possuem índices bastante diferentes onde a forma Z (CIS) tem um

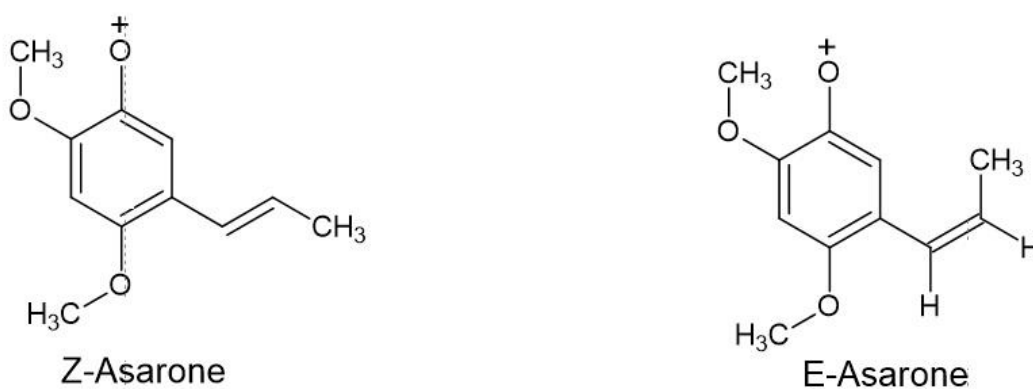
índice de Kratz de 1616 enquanto a forma E (trans) tem índice de 1675 possibilitando a distinção entre eles na ordem de eluição na coluna. Observa-se que as estruturas obtidas pelos impactos de elétrons são estáveis devidas as suas ressonâncias, onde os íons majoritários (193 e 208) presente nas Figuras 9, 10, 11 e 12 em que o pico 208 refere-se ao íon molecular (Figura 13) que de acordo com o espectro de massas é o pico base. O pico 193 é referente a perda de uma das metilas presente na molécula (Figura 14).

Figura 13 - Íon molecular referente ao pico 208 do espectro de massas.



Fonte: A autora (2023).

Figura 14 – Íons com a perda de uma metila referente ao pico 193 no espectro de massas.



Fonte: A autora (2023).

5.2 Atividade Larvícida

Os bioensaios foram realizados no insetário do Laboratório de Ecologia Química, no Departamento de Química Fundamental - UFPE, onde encontra-se disponível a colônia do mosquito *A. aegypti* da cepa *Rockefeller*. A solução teste foi composta por água destilada e o óleo essencial da *P. marginatum* dissolvido no cossolvente tween 80. As larvas do *A. aegypti* foram selecionadas e separadas de acordo com cada estágio de teste (L₁, L₂ e L₃). A observação do potencial do óleo essencial foi realizada em um período de 48 horas e as larvas que não possuíam mobilidade e alteração morfológicas foram consideradas como mortas. Os resultados obtidos para o CL₅₀ estão disponíveis na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultado para a Concentração Letal de 50% das larvas do *A. aegypti* nos estágios larvais L₁, L₂ e L₃.

Estágio	N ^a	GL ^b	CL ₅₀ (95% IC) ^{c,d} (LCL-UCL) ^e	CL ₉₀ (95% IC) ^{c,d} (LCL-UCL) ^e
L1	440	3	5,02 ±2,26 ppm (3,34-18,48)	21,68 ± 0,84 ppm (18,18-24,39)
L2	500	3	5,54 ±0,52ppm (4,42-6,37)	20,53 ± 0,80ppm (16,97-23,29)
L3	500	3	10,94±0,49ppm (10,12-12,08)	19,93 ± 0,80ppm (18,07-21,37)

Fonte: A autora (2023).

Como relatado na literatura, o óleo essencial da *Piper marginatum* apresenta atividade larvícida interrompendo o ciclo de vida das larvas do mosquito *A. aegypti* para o estágio larval L₄ que obteve CL₅₀ com uma variação de 19,9 - 23,8 ppm (Autran *et al.*, 2009). Neste estudo comprova-se que o óleo essencial da *Piper marginatum* apresenta potencial larvícida contra os estágios iniciais (L₁, L₂ e L₃), pois para o bioensaio L₁ o CL₅₀ foi igual a 5,0182 ppm, para o L₂ o CL₅₀ 5,5449 ppm e para o L₃ o CL₅₀ foi de 10,94 ppm. Essas concentrações para os estágios larvais testados estão dentro do intervalo de concentração para o temefhos encontrado conforme Oliveira, 2020. Assim, de acordo com Silvério, Espindola, Lopes e Vieira (2020) o óleo essencial da *P. marginatum* é muito ativo, pois apresenta CL₅₀ menor que 50 ppm.

5.3 Atividade Pupicida

Os bioensaios pupicidas foi realizado na mesma localização que os bioensaios larvicidas e com a mesma cepa. A solução teste foi composta por água destilada e o óleo essencial da *P. marginatum* dissolvido no cossolvente tween 80. As pupas do mosquito *A. aegypti* foram separadas e selecionadas para a realização do bioensaio que durou cerca de 48 horas. A mortalidade das pupas foi considerada quando observada não apresentava mobilidade e os mosquitos já se encontravam mortos em solução. O resultado obtido da realização dos bioensaios estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultado para a Concentração Letal de 50% das pupas do *A. aegypti*.

Estágio	N ^a	GL ^b	CL ₅₀ (95% IC) ^{c,d} (LCL-UCL) ^e	CL ₉₀ (95% IC) ^{c,d} (LCL-UCL) ^e
pupa	700	3	60,34 ± 1,58 ppm (57,32-63,50)	101,15 ± 1,62 ppm (92,62-107,76)

Fonte: A autora (2023).

Com as análises dos resultados, o CL₅₀ em relação as pupas do mosquito *A. aegypti* foi de 60,3446 ppm. Resultados publicado por Oliveira (2020) ressalta que os óleos essenciais da *Piper alatipetiolatum* e *Piper purusanum* possuíram CL₅₀ para as pupas do *Aedes aegypti* iguais a 66,17 ppm e 85,68 ppm, respectivamente. Assim, o resultado obtido neste trabalho está de acordo com os parâmetros relacionados a família *Piperaceae*. A classificação óleo essencial da *Piper marginatum* é classificado como ativo para o pupicida, que de acordo com Silvério et al., (2020) o CL₅₀ é maior que 50 ppm e menor que 100 ppm.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio de análises de bioensaios com as larvas dos mosquitos do *A. aegypti* o potencial do óleo essencial da planta *Piper marginatum* foi considerado bastante ativo pois apresentou CL₅₀ para os estágios larvais L₁, L₂ e L₃ iguais a 5,0182 ppm 5,5449 ppm e 10,94 ppm, respectivamente, pois a concentração letal foi inferior a 50 ppm. Em consideração as pupas deste vetor, o óleo essencial demonstrou ser ativo pois apresentou CL₅₀ igual a 60,3446 ppm, pois a concentração foi maior que 50 ppm e menor que 100 ppm. Assim, este trabalho complementa o potencial do óleo essencial da *P. marginatum* com o artigo publicado por Autran *et al.*, 2009, englobando todo ciclo aquático do *Aedes aegypti*. Desta maneira, o óleo essencial da *P. marginatum* é uma opção natural eficiente para a controle do mosquito *Aedes aegypti* pois tem potencial para interromper o seu ciclo de vida nas fases iniciais. A perspectiva deste trabalho é a realização do ensaio enzimático com os estágios larvais testados e a pupa para a publicação do artigo.

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **IDENTIFICATION OF ESSENTIAL OIL COMPONENTS BY GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY**. 4.1 United States Of America: Allured Publishing, 2017.

AGUIAR, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de. **Caracterização e avaliação dos óleos essenciais de *Artemisia judicia* e *Ziziphura teniour* nas atividades larvicida e de oviposição sobre *Aedes aegypti***. 2021. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

ALBUQUERQUE, B. N. L.; SILVA, M. F. R. da; SILVA, P. C. B. da; PIMENTEL, C. S. de L.; ROCHA, S. K. L. da; AGUIAR, J. C. R. de O. F. de; AGRA NETO, A. C.; PAIVA, P. M. G.; GOMES, M. G. M.; SILVA-JÖNIOR, E. F. da; NAVARRO, D. M. A. F. Dissuasão de oviposição, atividade larvicida e docking de β -germacreno-D-4-ol obtido de folhas de *Piper corcovadensis* (Piperaceae) contra *Aedes aegypti*. **Industrial Crops And Products**, Recife, v. 182, p. 1-11, ago. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669022003132>. Acesso em: 06 out. 2023.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária -. **Vacina da dengue terá alteração de bula**: estudos atualizados mostram que o produto só deve ser indicado para quem já teve a doença provocada por algum dos quatro tipos de vírus alguma vez.. Estudos atualizados mostram que o produto só deve ser indicado para quem já teve a doença provocada por algum dos quatro tipos de vírus alguma vez.. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/vacina-da-dengue-tera-alteracao-de-bula>. Acesso em: 05 out. 2023.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária -. **Anvisa aprova nova vacina contra a dengue**: a vacina qdenga, da empresa takeda, está indicada para uso entre quatro e 60 anos de idade.. A vacina Qdenga, da empresa Takeda, está indicada para uso entre quatro e 60 anos de idade.. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-nova-vacina-para-a-dengue>. Acesso em: 05 out. 2023.

AUTRAN, E; NEVES, I; DASILVA, C; SANTOS, G; CAMARA, C; NAVARRO, D. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 100, n. 7, p. 2284-2288, abr. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.055>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096085240800936X?via%3Di> hub. Acesso em: 18 set. 2023.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Manual de Óleos Essenciais**: ciência, tecnologia e aplicações. Boca Raton: Crc Press, 2015. 1109 p. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20163380803>. Acesso em: 06 fev. 2023.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food And Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 446-475, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691507004541>. Acesso em: 05 abr. 2023.

BESERRA, E. B.; FREITAS, E. M.; SOUZA, J. T.; FERNANDES, C. R. M.; SANTOS, K. D. Ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) em águas com diferentes características. **Iheringia. Série Zoologia**, [S.L.], v. 99, n. 3, p. 281-285, set. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0073-47212009000300008>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/isz/a/3nMMHFFhmDrTVMQgtdbg8Nd/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 05 abr. 2023.

BESSA, N.G.F.; BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U; QUIRINO, M.S; CHAGAS JUNIOR, A. F. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [S.L.], v. 15, n. 41, p. 692-707, 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722013000500010>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbpm/a/Y5gdnf3KkGRdTX6GpbND7Nk/abstract/?lang=pt>.

Acesso em: 15 abr. 2023.

BIZZO, H.; BARBOZA, E.; SANTOS, M.; GAMA, P. Um conjunto de planilhas eletrônicas para identificação e quantificação de constituintes de óleos essenciais.

Química Nova, [S.L.], p. 98-105, jan. 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170458>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/tJX3Dg7vpF6Q6Dt9xdzKZmF/?format=html#>. Acesso

em: 18 set. 2023.

BRASIL, Ministerio Da Saude. Fundacao Nacional De Saude. Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. Brasília: Ministerio da Saude, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue. Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BOLZANI, V. S. Ao grande cientista Otto Richard Gottlieb, um pequeno ensaio de despedida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 21, n. 3, jun. 2011.

Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2011000300002>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/YT8fczwWXd89kwR9wXmnyYG/?lang=pt>. Acesso em: 18 set. 2023.

BOUKHATEM, M. Scientific Findings: the amazing use of essential oils and their related terpenes as natural preservatives to improve the shelflife of food. **Food Science & Nutrition Technology**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 1-12, 4 mar. 2022. Medwin Publishers.

<http://dx.doi.org/10.23880/fsnt-16000215>. Disponível em:

<https://medwinpublishers.com/FSNT/FSNT16000215.pdf>. Acesso em: 18 set. 2023.

BRÐ, J.; GUZMAN, J. D. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 767-779, nov. 2016. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.014>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X16300564?via%3Dihub>.
 Acesso em: 08 fev. 2023.

BRUNO, C.; ALMEIDA, M. ÓLEOS ESSENCIAIS E VEGETAIS: matérias-primas para fabricação de bioprodutos nas aulas de química orgânica experimental. **Química Nova**, [S.L.], v. 44, n. 7, p. 899-907, 18 fev. 2021. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170722>. Disponível em: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/ED2021-0003.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2023.

BUTANTAN, Portal do. **Vacina da dengue do Butantan tem eficácia de 79,6%, mostram primeiros resultados da fase 3:** em meio à explosão de casos de dengue no Brasil, dados trazem uma nova perspectiva para o combate da doença. Em meio à explosão de casos de dengue no Brasil, dados trazem uma nova perspectiva para o combate da doença. 2022. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/vacina-da-dengue-do-butantan-tem-eficacia-de-796-mostram-primeiros-resultados-da-fase-3>. Acesso em: 25 jan. 2023.

CALVO, E. P.; SÁNCHEZ-QUETE, F.; DURÁN, S.; SANDOVAL, I.; CASTELLANOS, J. E Easy and inexpensive molecular detection of dengue, chikungunya and zika viruses in febrile patients. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 163, p. 32-37, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.07.021>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X16303400>. Acesso em: 18 set. 2023.

CHASSOT, A. **Para que(m) é útil o ensino**. Ijuí – RS: Editora Unijui, 2018.

CHIBUEZE, E. C.; TIRADO, V.; LOPES, K. S.; BALOGUN, O. O.; TAKEMOTO, Y.; SWA, T.; DAGVADORJ, A.; NAGATA, C.; MORISAKI, N.; MENENDEZ, C. Zika virus infection in pregnancy: a systematic review of disease course and complications. **Reproductive Health**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-8, 28 fev. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12978-017-0285-6>.

CHENG, Sen-Sung; CHANG, Hui-Ting; CHANG, Shang-Tzen; TSAI, Kun-Hsien; CHEN, Wei-June. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, Taiwan, v. 89, n. 1, p. 99-102, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852403000087>. Acesso em: 06 out. 2023.

Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. - 3. ed., **Rev. - Brasília**: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2001. 84 p.: il. 30 cm.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3. ed., rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. 84 p.

GONÇALVES, R.; AYRES, V. F. S.; MAGALHÃES, L. G.; CROTTI, A. E. M.; CORRÊA, G. M.; GUIMARÃES, A. C.; TAKEARA, R. Chemical Composition and Schistosomicidal Activity of Essential Oils of Two Piper Species from the Amazon Region. **Journal Of Essential Oil Bearing Plants**, [S.L.], v. 22, n. 3, p. 811-820, 4 maio 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060x.2019.1631720>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2019.1631720>. Acesso em: 15 abr. 2023.

GUTIÉRREZ-PRIETO, S. J.; SEQUEDA-CASTAÑEDA, L. G.; PENEDO-JARAMILLO, G. M.; CHACÍN-NIETO, A. V.; CONTRERAS-CÁCERES, D. R.; MORENO-ABELLO, G. C.; GALVIS-RINCÓN, M. P.; GAMBOA-JAIMES, F. O.; LUENGAS-CAICEDO, P. E. In vitro mineral apposition analysis of two Colombian plant extracts on Amelogenesis imperfecta teeth. **Clinical And Experimental Dental Research**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 336-349, 9 set. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cre2.485>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cre2.485>. Acesso em: 15 abr. 2023.

HONÓRIO, N. A.; CÂMARA, D. C. P.; CALVET, G. A.; BRASIL, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 906-908, maio 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311xpe020515>.

HUONG, L. T.; SAM, L. N.; GIANG, C. N.; DAI, D. N.; OGUNWANDE, I. A. Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oil from the Rhizomes of *Amomum rubidum* Growing in Vietnam. **Journal Of Essential Oil Bearing Plants**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 405-413, 3 mar. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060x.2020.1756425>. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2020.1756425?casa_token=ehOOSbRLQ70AAAAA:nOBBL0toKba9GGNt4UqduLiMQ56vx84sV4ZYSQkBT1ORuIVN1ox3hxMMYbTXT7Ph5gLzVbSZJJMbZRE. Acesso em: 06 out. 2023.

LEDUR, S. M. **PLANTAS MEDICINAIS E ÓLEOS ESSENCIAIS: UMA SEQUÊNCIA DIDÁTICA PARA O TEMA FUNÇÕES ORGÂNICAS NO ENSINO MÉDIO**. 2021. 147 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Utfpr), Medianeira - Pr, 2021. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/26210/1/plantasmedicinaisoleosessenciais.pdf>. Acesso em: 22 set. 2023.

MARQUES, L. Dossiê do mosquito. Disponível em: <http://luizamarques2015.blogspot.com.br/2015/09/amplie-os-cuidados-contrao-mosquito.html>. Acesso em: 15 abr. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia de Vigilância em Saúde. In: Arboviroses urbanas causadas por vírus transmitidos pelo Aedes: dengue, chikungunya e zika. 5a ed. s/d. Disponível em: <http://plataforma.saude.gov.br/anomalias-congenitas/guia-vigilancia-saude-5ed-rev-atual.pdf>. Acesso em: 21 set. 2023

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue. Brasília: Ministério da Saúde; 2009. (Série A. Normas e Manuais Técnicos.)

MONTE, Z.; NAVARRO, D.; AGUIAR, J.; NASCIMENTO, J.; SCOTTI, M.; SCOTTI, L.; BARROS, R.; SANTOS, A.; PEREIRA, V.; FALCÃO, E. Pyrimidine Derivatives: qsar studies of larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], p. 1531-1540, jul. 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200039>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/qmyv9htgRkdtCPfjZqhj7dm/?format=html&lang=en#>.

Acesso em: 18 set. 2023.

OLIVEIRA, A. C. de. **NANOEMULSÕES CARREADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper alatipetiolatum* E *Piper purusatum* (PIPERACEAE): EFICIENTES BIODIFENSIVOS NO CONTROLE DOS VETORES DA DENGUE E MALÁRIA**. 2020. 141 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020. Disponível em: https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/7973/8/Tese_Andr%c3%a9Oliveira_PPGIF.pdf. Acesso em: 06 out. 2023.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, [S.L.], v. 25, p. 45-61, maio 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000800009>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/svZbbwdj9zcn7jjk8YdW7rL/?lang=pt>. Acesso em: 15 ago. 2023.

RAMOS, C. S.; SILVA, R. R.; SILVA, M. F. F. Isomerization of (Z)-asarone to (E)-asarone from *Piper marginatum* leaves by the *Quadrus u-lucida* larvae. **Phytochemistry Letters**, [S. l.], p. 164–167, 8 jan. 2022. DOI 10.1016/j.phytol.2021.12.011. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1874390021002743?token=020B89BDBC60B70383BCA62D14BD1D0BCC0BE605462E6C1F85D9B92495CB09FE760C8DD91B32A85392932A8F2C6DF986&originRegion=us-east-1&originCreation=20230424185717>. Acesso em: 24 abr. 2023.

SALEME, Isabelle; BERNARDES, Gabriela. **Campanha de combate ao *Aedes aegypti* custará R\$ 15 milhões**. 2022. Disponível em:

<https://www.cnnbrasil.com.br/nacional/campanha-de-combate-ao-aedes-aegypti-custara-15-milhoes/?hidemenu=true>. Acesso em: 05 out. 2023.

SAAVEDRA, Laura M; ROMANELLI, Gustavo P; DUCHOWICZ, Pablo R. Quantitative structure–activity relationship (QSAR) analysis of plant-derived compounds with larvicidal activity against Zika *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae) vector using freely available descriptors. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 74, n. 7, p. 1608-1615, 2 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.4850>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ps.4850?src=getfr>. Acesso em: 06 out. 2023.

SARMA, R.; ADHIKARI, K.; MAHANTA, S.; KHANIKOR, B. Combinations of Plant Essential Oil Based Terpene Compounds as Larvicidal and Adulticidal Agent against *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-12, 1 jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45908-3>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-45908-3>. Acesso em: 06 out. 2023.

SCHULER, A. **Cromatografia a gás e a líquido**: (teoria, detectores, tratamento de dados, validação, cromatografia preparativa, aplicações). 12. ed. [S. l.: s. n.], 2010.

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 arboviruses. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 15, p. 3484, 31 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25153484>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/15/3484>. Acesso em: 09 set. 2023.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.(Orgs). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, 2010.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. A. **Química Orgânica**. 12. ed. Rio de Janeiro: LTC- Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda, 2018.

TEICH, V.; ARINELLI, R.; FAHHAM, L. *Aedes aegypti* e sociedade: o impacto econômico das arboviroses no Brasil. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 267-276, dez. 2017. *Jornal Brasileiro de Economia da Saúde*. <http://dx.doi.org/10.21115/jbes.v9.n3.p267-76>.

USGS, Led By The. **Integrated Taxonomic Information System (ITIS)**. 2013. Disponível em: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=18318&print_version=PRT&source=to_print#null. Acesso em: 08 fev. 2023.

VICTOR, N. **Dez minutos contra o Aedes: saiba como eliminar focos do mosquito da dengue**. Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2023/janeiro/dez-minutos-contra-o-aedes-saiba-como-eliminar-focos-do-mosquito-da-dengue>; . Acesso em: 29 de jan. 2023.

VIEIRA, Silvia Cristina Heredia; PAULO, Luis Fernando de; SVIDZINSKI, Terezinha Inez Estivaleti; DIAS FILHO, Benedito Prado; NAKAMURA, Celso Vataru; SOUZA, Amanda de; YOUNG, Maria Cláudia Marx; CORTEZ, Diógenes Aparício Garcia. Antifungal activity of *Piper diospyrifolium* Kunth (Piperaceae) essential oil. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 1001-1006, set. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-83822011000300020>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/F3zPvRFvgqkHHq6nNcVxxcz/?lang=en>. Acesso em: 06 out. 2023.

YADAV, A. R.; MOHITE, S. K. A review on zika virus infection. **Research Journal Of Pharmaceutical Dosage Forms And Technology**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 295-297, 2020. A and V Publications. <http://dx.doi.org/10.5958/0975-4377.2020.00048.8>.

ZARA, A. L. S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 1-2, jun. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000200017>.