

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 18/01/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Campus de Araraquara

MATHEUS BACELAR PAIXÃO IGNACIO

**EFEITO REPELENTE DE NANOEMULSÕES CONTENDO
ÓLEOS DE *Melaleuca alternifolia* E *Azadirachta indica*
FRENTE À *Lutzomyia longipalpis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE)**

Araraquara, SP

2024

MATHEUS BACELAR PAIXÃO IGNACIO

**EFEITO REPELENTE DE NANOEMULSÕES CONTENDO
ÓLEOS DE *Melaleuca alternifolia* E *Azadirachta indica*
FRENTE À *Lutzomyia longipalpis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Parasitologia.

Orientadora: Dra. Mara Cristina Pinto

Coorientador: Dr. Marlus Chorilli

Araraquara, SP

2024

I24e

Ignacio, Matheus Bacelar Paixão.

Efeito repelente de nanoemulsões contendo óleos de *Melaleuca alternifolia* e *Azadirachta indica* frente à *Lutzomyia longipalpis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE) / Matheus Bacelar Paixão Ignácio – Araraquara, 2024.

57 f. : il.

Orientador(a): Mara Cristina Pinto

Coorientador(a): Marlus Chorilli

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Concentração: Parasitologia.

1. Flebotomíneos. 2. Hematófagos. 3. Inseto. 4. *Lutzomyia longipalpis*. 5. Óleos essenciais. 6. Repelente. I. Pinto, Mara Cristina. orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030081P7

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeito repelente de nanoemulsões contendo óleos de *Melaleuca alternifolia* e *Azadirachta indica* frente à *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae)

AUTOR: MATHEUS BACELAR PAIXÃO IGNACIO

ORIENTADORA: MARA CRISTINA PINTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARA CRISTINA PINTO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. FERNANDA ISADORA BONI (Participação Virtual)
Departamento de Farmácia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP)

Prof. Dr. FREDY GALVIS OVALLOS (Participação Virtual)
Departamento de Epidemiologia / Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (USP)

Araraquara, 18 de julho de 2024

Agradecimentos

Com muita gratidão, gostaria de demonstrar meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que tornaram possível a realização desta jornada acadêmica e de pesquisa.

Inicialmente, a minha família em especial minha mãe e minha tia Mônica pelo apoio, carinho, compreensão, ao incentivo e pelos conselhos por toda a minha trajetória até a momento e por muito mais.

Aos meus amigos, Jociel, Isabel e Tulio que foram meu porto seguro, alívio emocional e pela confiança durante toda essa jornada.

A minha orientadora, Dra Mara Cristina Pinto pela oportunidade, pelos conselhos e pela paciência.

Ao meu Coorientador Dr Marlus Chorilli pelas ideias, pelo conhecimento e por me apresentar a um novo mundo de conhecimento da área da Farmácia.

Aos meus colegas de laboratório de Parasitologia, pela paciência, pelo apoio, pelas trocas de ideias e pelas histórias.

Aos voluntários pelo tempo e paciência.

Ao Dr. Jonatas Lobato Duarte pela ajuda no preparo das formulações, pelas ideias e pela paciência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante o mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Os flebotomíneos são insetos hematófagos, pertencentes à Ordem Diptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, que podem transmitir bactérias, vírus e também protozoários como os causadores das leishmanioses. As leishmanioses fazem parte das doenças negligenciadas, que se caracterizam por atingir populações de vulnerabilidade, assim como apresentam lacunas em pesquisas que consigam trazer avanços na terapia, diagnóstico e profilaxia. Um dos métodos de controlar os vetores é a utilização de inseticidas. Outras estratégias, individuais, incluem a utilização de telas ou a aplicação de repelentes. Os óleos de plantas possuem atividades inseticidas que podem ocorrer de diversas formas: causando morte, deformações em qualquer estágio de desenvolvimento, além de ter função de repelência, em especial os óleos essenciais. Para flebotomíneos há poucos estudos que avaliem a eficácia de óleos como potenciais repelentes. O óleo de *Azadirachta indica* apresentou indícios de repelência para espécies de flebotomíneos do Velho Mundo, enquanto para *Melaleuca alternifolia* há poucos estudos nessa área. Ressalta-se ainda que um limitante para o uso de óleos essenciais como repelentes é o reduzido tempo de eficácia devido à alta volatilidade. Neste contexto, A nanotecnologia se apresenta como uma ferramenta interessante como abordagem para liberar os voláteis de forma mais lenta. Avaliou-se dois óleos, *M. alternifolia* e *A. indica*, e formulação de nanoemulsões que contenham esses óleos, para avaliar sua possível ação de repelência frente à espécie *Lutzomyia longipalpis*, principal vetor da leishmaniose visceral. O hidrogel de *M. alternifolia* apresentou no início do teste a maior porcentagem de repelência, igualando-se ao DEET, de aproximadamente 71%, em comparação com o hidrogel de *A. indica* que obteve no início uma média de porcentagem de repelência de aproximadamente 44%. Nos dois hidrogéis houve um decaimento de efetividade ao longo do tempo. Uma nova formulação foi desenvolvida na tentativa de prolongar o efeito repelente da *M. alternifolia*. Essa formulação apresentou uma média de porcentagem de repelência de aproximadamente 87%, no início do teste, sendo maior que o DEET, e igualou-se a ele na primeira hora, mas apresentou o padrão de perda de atividade ao longo do tempo.

Palavras-chave: Flebotomíneos; hematófagos; inseto; *Lutzomyia longipalpis*; óleos essenciais; repelente.

ABSTRACT

Sandflies are blood-sucking insects, belonging to the Order Diptera, Family Psychodidae, Subfamily Phlebotominae, which can transmit bacteria, viruses and also protozoa such as those that cause leishmaniasis. Leishmaniasis is one of the neglected diseases, which are characterized by affecting vulnerable populations, as well as presenting gaps in research that can bring advances in therapy, diagnosis and prophylaxis. One of the methods of controlling vectors is the use of insecticides. Other individual strategies include the use of screens or the application of repellents. Plant oils have insecticidal activities that can occur in different ways: causing death, deformation at any stage of development, in addition to having a repellent function, especially essential oils. For sand flies, there are few studies that evaluate the effectiveness of oils as potential repellents. *Azadirachta indica* oil showed signs of repellency for Old World sand fly species, while for *Melaleuca alternifolia* there are few studies in this area. It should also be noted that a limiting factor for the use of essential oils as repellents is the reduced effectiveness time due to high volatility. In this context, nanotechnology presents itself as an interesting tool as an approach to release volatiles more slowly. Two oils, *M. alternifolia* and *A. indica*, and the formulation of nanoemulsions containing these oils were evaluated to evaluate their possible repellency action against the species *Lutzomyia longipalpis*, the main vector of visceral leishmaniasis. The *M. alternifolia* hydrogel presented the highest percentage of repellency at the beginning of the test, equal to DEET, at approximately 71%, compared to the *A. indica* hydrogel, which obtained an average repellency percentage of approximately 44% at the beginning. In both hydrogels there was a decline in effectiveness over time. A new formulation was developed in an attempt to prolong the repellent effect of *M. alternifolia*. This formulation presented an average repellency percentage of approximately 87% at the beginning of the test, being higher than DEET, and was equal to it in the first hour, but showed a pattern of loss of activity over time.

Keywords: Essential oils; hematophagous; insect; *Lutzomyia longipalpis*; repellent; sandflies.

Lista de Figuras

Figura 1 – Ciclo de vida de flebotomíneos.....	11
Figura 2 – Comparação entre fêmea e macho de Flebotomíneos.....	12
Figura 3 – Imagem da árvore pertencente a espécie <i>Melaleuca alternifolia</i>	15
Figura 4 – Imagem da árvore pertencente a espécie <i>Azadirachta indica</i>	16
Figura 5 – Exemplo teórico de nanoemulsões do tipo óleo em água ou tipo água em óleo.....	18
Figura 6 – As duas nanoemulsões depois do acréscimo e da agitação do polímero.....	23
Figura 7 – Gaiola feita com tecido <i>voil</i> usada nos testes.....	25
Figura 8 – Luvas feitas com tecido <i>voil</i> usada nos testes.....	26
Figura 9 – Nanoemulsões contendo óleo de <i>Melaleuca alternifolia</i> com valor de EHL 15, 16 e 16,7 após 24h.....	27
Figura 10 – Nanoemulsões contendo óleo de <i>Azadirachta indica</i> com valor de EHL 15, 16 e 16,7 após 24h.....	29
Figura 11 – Reologia de fluxo dos Hidrogéis.....	32
Figura 12 – Reologia oscilatória dos Hidrogéis.....	33
Figura 13 – Porcentagem média de repelência do óleo de <i>M. alternifolia</i> diluído com álcool 70% referente ao pouso de <i>Lu. longipalpis</i>	35
Figura 14 – Porcentagem média de repelência do óleo de <i>A. indica</i> diluído com álcool 70% referente ao pouso de <i>Lu. longipalpis</i>	35
Figura 15 – Porcentagem média de repelência da formulação contendo <i>M. alternifolia</i> referente ao pouso de <i>L. longipalpis</i>	37
Figura 16 – Porcentagem média de repelência da formulação contendo <i>A. indica</i> referente ao pouso de <i>L. longipalpis</i>	37
Figura 17 – Porcentagem média de repelência da nova formulação contendo <i>M. alternifolia</i> referente ao pouso de <i>Lu. longipalpis</i>	39
Figura 18 – Comparação entre as formulações contendo <i>M. alternifolia</i> referente	

ao pouso de *Lu. longipalpis*.....40

**Figura 19 – Comparação entre as formulações contendo *A. indica* referente ao
pouso de *Lu. longipalpis*.....41**

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Equilíbrio Hidrófilo Lipofílico (EHL) das formulações preparadas.....	22
Tabela 2 – Tamanhos de gotícula, Índice de polidispersidade e potencial zeta da nanoemulsão contendo <i>Melaleuca alternifolia</i> depois de 24h e depois de 30 dias.....	28
Tabela 3 – Tamanhos de gotícula, Índice de polidispersidade e potencial zeta da nanoemulsão contendo <i>Azadirachta indica</i> depois de 24h e depois de 30 dias.....	30
Tabela 4 – Tamanhos de gotícula, Índice de polidispersidade e potencial zeta da nanoemulsão de Melaleuca 2x depois de 24h e depois de 30 dias.....	30
Tabela 5 – Índice de consistência (K) e Comportamento de fluxo (n) para os Hidrogéis.....	32
Tabela 6 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 06 voluntários com álcool 70%.....	34
Tabela 7 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 07 voluntários com o óleo de <i>M. alternifolia</i> diluído com álcool 70%.....	34
Tabela 8 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 07 voluntários com o óleo de <i>A. indica</i> diluído com álcool 70%.....	34
Tabela 9 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 07 voluntários com o Hidrogel contendo <i>M. alternifolia</i>	36
Tabela 10 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 07 voluntários com o Hidrogel contendo <i>A. indica</i>	36
Tabela 11 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 07 voluntários com o produto comercial contendo DEET.....	36
Tabela 12 – Porcentagem de repelência dos testes realizados em 07 voluntários com o Hidrogel contendo Melaleuca 2x.....	38

SUMÁRIO

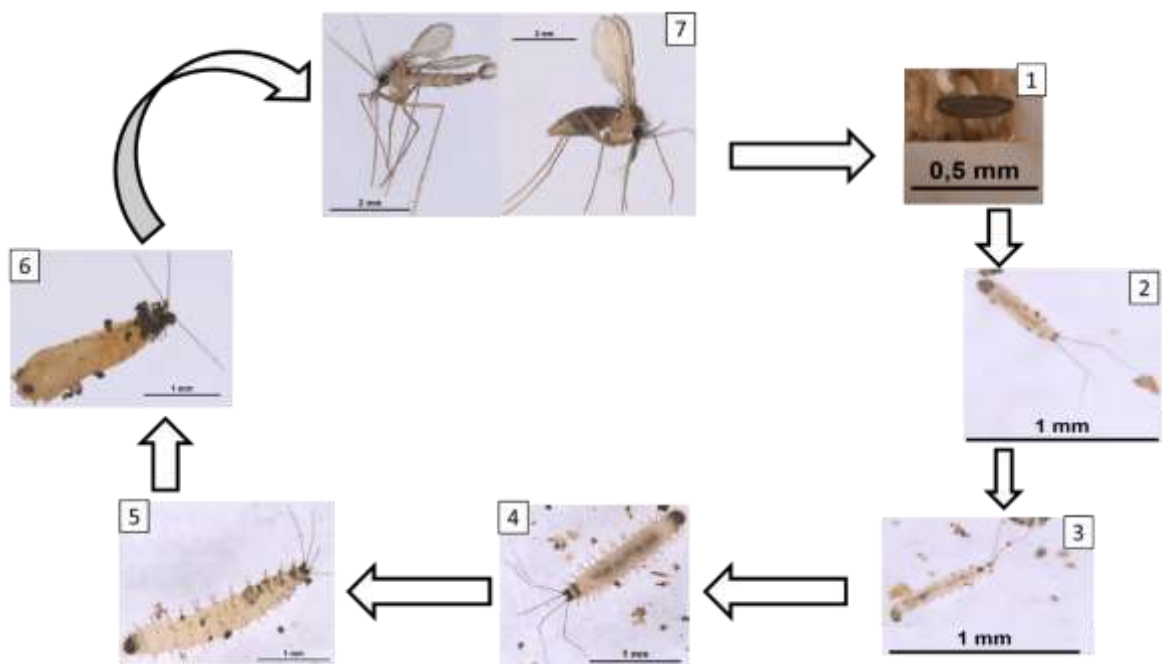
1. Introdução.....	11
1.1 <i>Melaleuca alternifolia</i> e <i>Azadirachta indica</i>	14
1.2 Nanotecnologia e Nanoemulsões.....	17
1.3 Nanoemulsões e Repelente.....	19
2. Justificativa.....	20
3. Objetivos.....	20
3.1 Objetivo Geral.....	20
3.2 Objetivos Específicos.....	20
4. Material e Métodos.....	20
4.1 Listas de materiais.....	21
4.2 Preparo das nanoemulsões contendo óleos <i>Melaleuca alternifolia</i> e <i>Azadirachta indica</i>	21
4.3 Caracterização das nanoemulsões.....	22
4.3.1 Aspecto visual.....	22
4.3.2 Diâmetro hidrodinâmico médio, IPD e potencial zeta.....	23
4.3.3 Preparo dos Hidrogéis.....	23
4.3.4 Reologia de fluxo.....	24
4.3.5 Reologia oscilatória.....	24
4.4 Teste de Repelência dos óleos.....	24
4.4.1 Aspecto éticos.....	24
4.4.2 Testes de repelência.....	24
5. Resultados e Discussão.....	27
5.1 Obtenção e caracterização das nanoemulsões.....	27
5.2 Reologia de fluxo.....	30
5.3 Reologia oscilatória.....	32

5.4 Teste de repelência.....	33
6. Conclusão.....	42
Referências.....	43
ANEXO.....	49
ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA.....	49
ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	53
ANEXO C - LAUDO DE QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Azadirachta indica</i>	55
ANEXO D - LAUDO DE QUALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Melaleuca alternifolia</i>	55

1. INTRODUÇÃO

Os flebotomíneos são insetos pertencentes à Ordem Díptera, Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae. Esses dípteros apresentam cores que podem ser de castanho claro a negro com cerdas no corpo todo e possuem o tamanho de 0,3 a 0,4 cm. Quando em descanso, apresentam as asas eretas em forma de lança. Possuem mais de 500 espécies descritas nas Américas (Monteiro *et al.*, 2012; Galati, 2018). Os flebotomíneos são holometábolos, apresentando quatro estágios larvais, pupa e adultos. A eclosão do ovo pode ocorrer de 7 a 17 dias após a postura e o seu desenvolvimento completo pode ocorrer de 30 a 100 dias (Figura 1). Essa variação ocorre de acordo com a espécie e das condições de temperatura e umidade (Monteiro *et al.*, 2012).

Figura 1 – Ciclo de vida de flebotomíneos. 1- Ovo; 2- Larva estágio 1; 3- Larva estágio 2; 4- Larva estágio 3; 5- Larva estágio 4; 6- Pupa; e 7- Adultos.



Fonte: Santana e Ignacio (2024)

Os machos são fitófagos, já as fêmeas além de serem fitófagas também são hematófagas (Figura 2). As fêmeas precisam da alimentação sanguínea para obter proteína para a maturação dos ovos (Oliveira *et al.*, 2013). Por possuírem hábitos hematófagos podem ser transmissores de bactérias que causam a bartonelose, vírus como as arboviroses e também protozoários como os causadores das leishmanioses (Monteiro *et al.*, 2012).

Figura 2 – Comparação entre fêmea e macho de Flebotomíneos. **A:** macho e **B:** fêmea.



Fonte: Santana e Ignacio (2024)

Nas Américas, a espécie *Lutzomyia longipalpis* é o principal vetor do agente etiológico da leishmaniose visceral, sendo o vetor mais importante da *Leishmania infantum* (Oliveira *et al.*, 2013).

Dependendo da espécie de *Leishmania*, a doença pode se apresentar como leishmaniose tegumentar e visceral. A leishmaniose tegumentar apresenta-se com diferentes manifestações clínicas sendo leishmaniose cutânea caracterizada por úlceras cutâneas, por vezes acompanhadas de lesões satélites e/ou linfangite nodular; leishmaniose mucocutânea envolvendo mucosa e tecidos conjuntivos subjacentes, tais como estruturas cartilaginosas, em combinação com leishmaniose cutânea e leishmaniose difusa com pápulas que se espalham pelo corpo. A leishmaniose visceral afeta órgãos internos, como fígado, baço e medula óssea podendo ser letal (De Vries; Schallig, 2022). Essas doenças são endêmicas em mais de 98 países nos trópicos, subtropicais e na bacia do Mediterrâneo, com aproximadamente um milhão de novos casos de infecção e 20.000 a 30.000 mortes ocorrendo anualmente e associadas, principalmente, à leishmaniose visceral. Mais de 90% da carga global de leishmaniose visceral ocorre no Brasil, Eritreia, Sudão do Sul, Sudão, Etiópia, Quênia, Somália e Índia, enquanto no Brasil, Peru, Venezuela, Bolívia, Colômbia, Argélia,

Síria, Irã, Afeganistão e Paquistão observa-se a maior morbimortalidade causada por leishmaniose cutânea (Balaska *et al.*, 2021).

Uma das maneiras de controlar os vetores se dá pelo uso de inseticidas, sendo seu sucesso dependente do comportamento dos insetos. Apesar de sua praticidade, o uso de inseticidas, apresenta problemas que podem limitar o controle de flebotomíneos como o surgimento de resistência, o abandono de programas de combate ao vetor, os altos custos, além de afetarem a saúde humana, dos animais e a biosfera em geral (Nieves *et al.*, 2010).

Dessa forma, é necessário que outras alternativas sejam utilizadas para evitar a aplicação de inseticidas e, ao mesmo tempo, diminuir a transmissão das leishmanioses. Dentre as possibilidades, estratégias que impeçam o contato entre o vetor e o ser humano, tais como a utilização de telas ou a aplicação de repelentes se destacam, sendo relevantes para impedir a transmissão. Os repelentes, como medida de proteção individual, se apresentam como uma boa alternativa preventiva para evitar o contato dos vetores (Nieves *et al.*, 2010).

Os repelentes devem ser aplicados sobre a pele, roupas e superfícies onde irão afastar os vetores. Os mais usados ao redor do mundo são os repelentes químicos. Para o repelente ter sua maior efetividade, é necessário que possua algumas características, sendo elas: ter uma eficácia de longo prazo contra vários tipos de artrópodes; não causar irritações na pele; não causar danos às roupas; não danificar plásticos de uso cotidiano; resistir à água e ao suor e não deixar a pele oleosa; não ser tóxico; ter preço acessível para uma utilização frequente; e não causar danos ao meio ambiente (Ribas; Carreno, 2010).

Os óleos essenciais de plantas se apresentam como possibilidades interessantes, pois possuem atividades inseticidas que podem ocorrer de diversas formas: causando morte, deformações em qualquer estágio de desenvolvimento, além de ter função de repelência. A procura por substância com menor toxicidade, e que tenham ação repelente para flebotomíneos, é uma área que necessita ser amplamente explorada (Lima *et al.*, 2008). A extração dos óleos essenciais para uso como repelente vem sendo feita a partir de extratos da planta inteira ou de órgãos específicos, como folha, fruto, flor, raiz e casca (Paula *et al.*, 2004).

Segundo a Farmacopeia Europeia, um óleo essencial é um produto odorífero, geralmente de composição complexa, obtido a partir de uma matéria-prima vegetal extraída por hidrodestilação, destilação a vapor ou por um processo mecânico adequado. Os óleos essenciais são misturas complexas de metabólitos secundários de plantas aromáticas e também são líquidos, solúveis em solventes orgânicos e solúveis em lipídios, alguns deles são incolores e outros variam do amarelo claro ao laranja avermelhado (Haro-gonzález *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais compreendem compostos orgânicos voláteis e semivoláteis que determinam o aroma, sabor e fragrância específicos das plantas. Eles são voláteis e instáveis à temperatura ambiente. Por outro lado, os óleos vegetais consistem em ésteres de glicerol e ácidos graxos e são não voláteis e estáveis à temperatura ambiente. Além de serem comestíveis na sua forma refinada ou virgem, os óleos vegetais desempenham um papel crucial na prevenção terapêutica e profilática de doenças como inflamação, diabetes e outras (Lammari *et al.*, 2021).

Para a repelência de uma espécie de flebotomíneo das Américas, *Migonemyia migonei*, alguns óleos essenciais foram avaliados: *Hyptis suaveolens*, *Pimenta racemosa*, *Piper marginatum*, *Monticaria albobrunnea*, *Pseudognaphalium caeruleum*, *Espeletia shultzei*, *Plectranthus amboinicus* e *Cinnamomum zeylanicum*. Destes, *P. caeruleum* e *C. zeylanicum* apresentaram uma proteção de três horas (Nieves *et al.*, 2010). Um dos entraves para a utilização de óleos essenciais como repelentes para flebotomíneos é o curto período de atividade dos compostos (Pugliese *et al.*, 2021).

1.1 Melaleuca alternifolia e Azadirachta indica

Melaleuca alternifolia (Figura 3) é uma espécie arbórea pertencente à família Myrtaceae mais conhecida pelo nome “tea tree”; é originária da Austrália, Ilhas do Oceano Índico e China (Oliveira *et al.*, 2012). É encontrada em regiões tropicais e subtropicais, florescendo em áreas de pântano e próximo de rios. A espécie *M. alternifolia* pode alcançar até 5 metros de altura, possui ritidoma fino, leve e flexível, folhas alongadas, pontiagudas, estreitas e alternas, além de flores sésseis com coloração branca. São pertencentes ao grupo das Angiospermas e são Eudicotiledôneas (Nepomoceno; Pietrobon, 2020).

Figura 3 – Imagem da árvore pertencente a espécie *Melaleuca alternifolia*.



Fonte: Jardineiros.net (2022)

Uma das utilizações da *M. alternifolia* está na extração do óleo essencial, retirado das diversas partes vegetativas, mas principalmente das folhas. Essa planta é valorizada pelo potencial de suas propriedades bactericida, antiviral, antifúngica, inseticida e antitumoral (Nepomoceno; Pietrobon, 2020); além de possuir uma forte atividade repelente contra mosquitos, como *Aedes aegypti*, mosca do mato australiana, mosquito-pólvora, barata americana e alemã, percevejos, pulgas e piolhos (Silva; Mejia, 2011; Ajmal *et al.*, 2022). Segundo Ajmal *et al.* (2022) a substância encontrada na tea tree conhecida, como terpinen-4-ol, possui um poder forte de repelência contra adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, entretanto, até o momento, existem poucos estudos avaliando seu efeito repelente para flebotomíneos.

O óleo essencial de *M. alternifolia* é obtido através do processo de destilação a vapor e contém por volta de 100 componentes químicos. Encontram-se nele duas substâncias que se destacam, sendo o cineol que é um monoterpeno éter cíclico com limite máximo estabelecido de 15% de concentração e o terpinen-4-ol que é um monoterpeno álcool monocíclico, principal responsável por suas propriedades medicinais, especialmente as antimicrobianas, com concentração acima de 30%. Para o óleo essencial ser considerado de qualidade superior, é necessário que contenha entre 2 a 5% de cineol e 40 a 47% de terpinen-4-ol (Silva; Mejia, 2011).

Azadirachta indica, também chamada por “neem”, pertence à Família Meliaceae e tem sido usada por séculos no Oriente como: planta medicinal, repelente, material para construção, combustível, adubo e praguicida. Cresce em regiões que possuem clima tropical e subtropical. A árvore pode chegar entre 15 a 20 m de altura, possui tronco semi-reto a reto, de 30 a 80 cm de diâmetro, de coloração marrom-avermelhada (Mossini; Kemmelmeier, 2005).

A árvore de neem (Figura 4) possui como metabólito secundário o composto azadiractina, que é um tetranortriterpenóide, e apresenta elevada ação inseticida e acaricida, com mínima toxicidade ao homem e animais domésticos, além de não prejudicar o ambiente. Há uma facilidade na extração dos compostos, pois não há uma necessidade de destruir a planta, já que se usa as sementes e as folhas para a extração (Brito *et al.*, 2006).

Figura 4 – Imagem da árvore pertencente a espécie *Azadirachta indica*.



Fonte: Blog o botânico aprendiz na terra dos espantos (2022)

Azadiractina presente na *A. indica* é formada por um grupo de isômeros relacionados que são denominados AZ-A. A azadiractina apresenta efeito negativo na metamorfose dos insetos, ação repelente, inibição do crescimento, redução da fertilidade, mortalidade, esterilização, mudanças na aptidão biológica, e bloqueando o desenvolvimento de patógenos transmitidos por vetores (De Souza Chagas; Da Silva

Vieira, 2007; Zatelli *et al.*, 2022). Espécies como *Heliothis virescens* (Lagarta-das-maçãs) (Viegas Júnior, 2003), *Locusta migratoria* (Gafanhoto-migratório), *Spodoptera littoralis* (Lagarta do algodão), *Ephestia kuehniella* (Traça da farinha), *Apis mellifera* (Abelha-europeia) e *Epilachna varivestis* (Besouro do feijão mexicano) são exemplos de insetos que sofrem com os efeitos da azadirachtina (Gonzales, 1992). O efeito de inibição de crescimento, causado pela azadiractina é observado em insetos pertencente às ordens Orthoptera, Heteroptera, Homoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Lepidoptera e Diptera (Gonzales, 1992).

Segundo Zatelli *et al.* (2022) alguns estudos que utilizaram produtos com óleo de neem mostram uma eficácia na redução da tentativa de alimentação dos flebotomíneos do gênero *Phlebotomus* sp. em humanos, sendo acima de 90% por períodos que variam entre sete e nove horas após a aplicação de produtos em concentrações variáveis.

O efeito repelente de *A. indica* para flebotomíneos foi demonstrado em alguns estudos com espécies do Velho Mundo, mas nada há ainda para as espécies das Américas. Segundo Mota *et al.* (2022) o óleo de *A. indica* mostrou repelência para *Phlebotomus orientalis*, tanto em laboratório quanto no campo. Já em relação às espécies de flebotomíneos do Novo Mundo, óleos de neem e *Eucalyptus* spp. mostraram atividades larvicida e adulticida para *Lu. longipalpis*. No entanto, são escassas as informações sobre sua atividade repelente contra espécies de flebotomíneos do novo mundo, especialmente o *Lu. longipalpis*.

Na Índia, o óleo de neem mostrou repelência contra *Phlebotomus papatasi* e *Phlebotomus argentipes* quando comparado com outros repelentes químicos como DEET (Kebede; Gebre-michael; Balkew, 2010).

Os óleos de *A. indica* e de *Melia azedarach* em um nível de concentração baixa apresentaram atividade de repelência contra *P. orientalis* no laboratório. Já no campo, o óleo *A. indica* mostrou atividade de repelência alta contra *P. orientalis* e *Phlebotomus bergeroti* em Melka-Worer, na Etiópia Oriental (Kebede; Gebre-michael; Balkew, 2010).

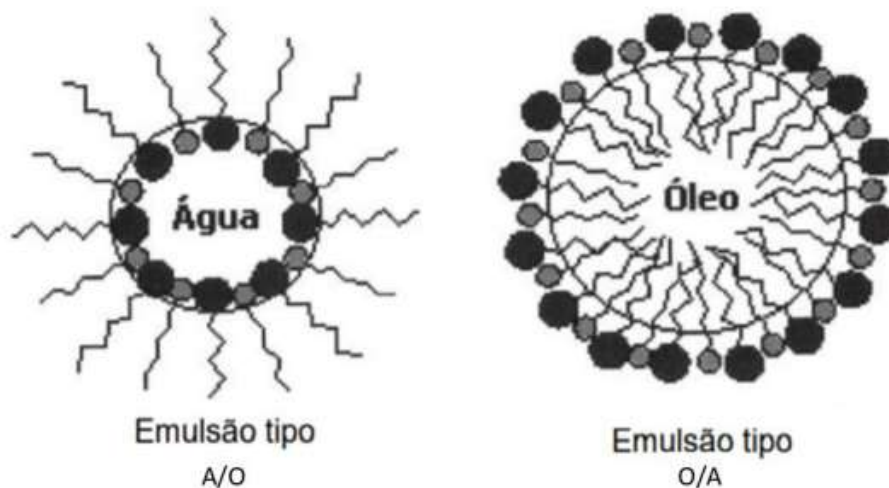
1.2 NANOTECNOLOGIA E NANOEMULSÕES

A nanotecnologia tem várias aplicações, principalmente na área médica e farmacêutica. Envolve a manipulação e investigação de materiais e fenômenos que

se encontram em escala nanométrica (De Villiers *et al.*, 2009). Devido às suas propriedades fundamentais e à variedade de sistemas nanométricos, a nanotecnologia é utilizada em diversas áreas do conhecimento, com destaque para sistemas que utilizam nanoemulsões.

As nanoemulsões são uma classe de emulsões cujo tamanho da gotícula se encontra na escala nanométrica, particularmente em torno de 20 – 500 nm. Podem apresentar aparência translúcida quando o tamanho da gotícula é inferior a 200 nm, ou leitosa quando o tamanho está entre 200 – 500 nm. Elas são misturas de pelo menos dois líquidos imiscíveis que são estabilizadas por um tensoativo, também são sistemas termodinamicamente instáveis, mas que possuem estabilidade cinética. São forçadamente formados e suas propriedades dependem de condições termodinâmicas e do método de preparo (Oliveira, 2008). Nanoemulsões podem ser do tipo óleo em água ou tipo água em óleo (Figura 5) dependendo se o óleo é divergido como gotículas em água ou vice-versa (McClements, 2012).

Figura 5 – Exemplo teórico de nanoemulsões do tipo óleo em água (O/A) ou tipo água em óleo (A/O).



Fonte: Blog fármaco técnico (2010)

No caso da aplicação de nanoemulsões em compostos com ação repelente para insetos, a vantagem é o tempo prolongado de liberação dos compostos voláteis. Os dados da literatura apontam os esforços da associação de possíveis óleos com ação repelentes em nanopartículas, especialmente voltados para os mosquitos (Mattos da Silva e Ricci-junior, 2020).

Uma das maneiras de controlar a liberação dos voláteis de óleos essenciais de plantas para testes de repelência é encapsulando os óleos essenciais em nanoemulsões (Mohd narawi *et al*, 2020).

Para flebotomíneos, não existem trabalhos que tenham investigado esse tema.

1.3 NANOEMULSÕES E REPELENTE

No trabalho de Mohd narawi *et al* (2020) foi testado óleo essência de *Myristica fragrans* para *Aedes aegypti*; foi feita uma formulação contendo surfactante Montanov 82, co-solvente que era o glicerol, água destilada e óleo essencial a 20%. A formulação apresentou uma média de porcentagem de repelência de 54,57% em 8h para *Ae. aegypti*.

Um dos problemas de repelentes a base de óleos essenciais é a necessidade de repetição da aplicação, pois esses repelentes fornecem uma eficiência curta em comparação com os químicos. Portanto, o desenvolvimento de formulações com produtos que controlam a liberação, como creme, gel, loção, polímeros ou microcápsulas, é importante para prolongar a repelência de produtos derivados de plantas (Junkum *et al*, 2021).

No trabalho realizado por Junkum *et al* (2021) foi utilizado óleo essencial de *Ligusticum sinense* para *Aedes aegypti*, *Anopheles minimus*, e *Culex quinquefasciatus*. Foi feita uma formulação contendo o óleo, um fixador (vanilina), surfactante (Tween 20), co-surfactante (glicerol) e o dobro de água destilada. Na formulação também era incorporado um gel. A formulação apresentou média de tempo de proteção de 5,5 h para *Ae. aegypti*, 11,5 h para *An. minimus* e 11,25 h para *Cx. quinquefasciatus*.

No trabalho realizado por Sakulku *et al* (2009) foi utilizado óleo essencial de citronela para *Ae. aegypti*. Foram preparadas nanoemulsões contendo 20% de óleo de citronela, glicerol (0%, 50%, 75% e 100%) e surfactante (Montanov 82) em concentração de 2,5%, 5% e 10%. A formulação denominada de F6 que continha 50% de glicerol e 10% do surfactante foi o que apresentou a melhor média de tempo de proteção de 2,8 +/- 0,6 h para *Ae. aegypti*.

2. JUSTIFICATIVA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJMAL, L. *et al.* Repellent activity of trans-anethole and tea tree oil against *Aedes aegypti* and their interaction with OBP1, a protein involved in olfaction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Sidra-Ajmal2/publication/359933267_Repellent_activity_of_transanethole_and_tea_tree_oil_against_Aedes_aegypti_and_their_interaction_with_OBP1_a_protein_involved_in_olfaction/links/626a78e42e2cf87c348554d0/Repellent-activity-of-trans-anethole-and-tea-tree-oil-against-Aedes-aegypti-and-their-interaction-with-OBP1-a-protein-involved-in-olfaction.pdf. Acesso em: 12 jan. 2023.
- ANSARI, S. *et al.* Measurement of the flow behavior index of Newtonian and shear-thinning fluids via analysis of the flow velocity characteristics in a mini-channel. **SN Applied Sciences**, v. 2, p. 1-15, 2020. 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42452-020-03561-w>. Acesso em: 06 mar. 2024.
- BALASKA, S. *et al.* Chemical control and insecticide resistance status of sand fly vectors worldwide. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009586, 2021. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0009586>. Acesso em: 26 maio 2024.
- BRITO, H. M. *et al.* Toxicidade de formulações de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro-rajado e a *Euseius alatus* De Leon e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae). **Neotrop. Entomol.**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 500-505, Aug. 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2006000400012&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 08 dez. 2020.
- BONGIORNO, G. *et al.* Antifeeding activity of *Azadirachta indica* (Neem) extract against sand fly bites on dogs. 2012. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20163376267>. Acesso em: 06 mar. 2024.
- BORGES, L. M. F. *et al.* Identification of non-host semiochemicals for the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae), from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. **Ticks Tick Borne Dis.** v. 6, n. 5, p. 676-82, 2015.
- CALIXTO, G. M. F. *et al.* Polyethyleneimine and chitosan polymer-based mucoadhesive liquid crystalline systems intended for buccal drug delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, p. 820-836, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1208/s12249-017-0890-2>. Acesso em: 06 mar. 2024.
- DE SOUZA CHAGAS, A. C.; DA SILVA VIEIRA, L. Ação de *Azadirachta indica* (Neem) em nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 1, p. 49-55, 2007. Disponível

em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26661/28444>. Acesso em: 08 dez. 2020.

DE VILLIERS M.N., ARAMWIT, P., KWON, G.S. (Editors). **Nanotechnology in Drug Delivery**. Springer & AAPS Press. NY, USA. 2009, 663p

DE VRIES, H. JC; SCHALLIG, H. D. Cutaneous leishmaniasis: a 2022 updated narrative review into diagnosis and management developments. **American journal of clinical dermatology**, v. 23, n. 6, p. 823-840, 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9472198/pdf/40257_2022_Article_726.pdf. Acesso em: 26 maio 2024.

DUARTE, J. L. Nanoemulsões contendo terpenos como potenciais larvicidas e repelentes contra *Aedes aegypti* (linnaeus, 1762). 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/14ba00b4-442c-4e8e-a8a9-30da00801da9>. Acesso em: 06 mar. 2024.

FONSECA-SANTOS, B. *et al.* An effective mosquito-repellent topical product from liquid crystal-based tea tree oil. *Industrial Crops and Products*, v. 128, p. 488-495, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669018309956>. Acesso em: 06 mar. 2024.

GALATI, E. A. B. **Morfologia e terminologia de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). Classificação e identificação de táxons das Américas**. Vol I. Apostila da Disciplina Bioecologia e Identificação de Phlebotominae do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo. p. 132. 2018. Disponível em: <http://www.fsp.usp.br/~egalati/>. Acesso em: 11 dez. 2020.

GONZALES, M. S. **Efeito da Azadiractina no desenvolvimento do Trypanossoma cruzi (CLONE DM-28C) EM Rhodnius prolixus STAL, 1859 (HEMIPTERA, REDUVIIDAE)**. 1992. 166 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 1992. Disponível em: <https://tede.ufrrj.br/jspui/handle/jspui/3944>. Acesso em: 29 nov. 2021.

HARO-GONZÁLEZ, J. N. *et al.* Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6387, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8588428/pdf/molecules-26-06387.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2024.

JUNKUM, A. *et al.* Ligusticum sinense nanoemulsion gel as potential repellent against *Aedes aegypti*, *Anopheles minimus*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Insects**, v. 12, n. 7, p. 596, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/12/7/596>. Acesso em: 24 mar. 2024.

KEBEDE, Y.; GEBRE-MICHAEL, T.; BALKEW, M. Laboratory and field evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and Chinaberry (*Melia azedarach* L.) oils as repellents against *Phlebotomus orientalis* and *P. bergeroti* (Diptera: Psychodidae) in

Ethiopia. **Acta tropica**, v. 113, n. 2, p. 145-150, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X09003295>. Acesso em: 16 jan. 2023.

LAMMARI, N. *et al.* Plant oils: From chemical composition to encapsulated form use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 601, p. 120538, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517321003434?via%3Dihub>. Acesso em: 06 jun. 2024.

LIMA, R. *et al.* Composição dos óleos essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Avaliação do Efeito Repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **BioAssay**, v. 3, 2008. Disponível em: <http://www.seb.org.br/biosay/arquivos/journals/1/articles/56/public/56-266-1-PB.pdf>. Acesso em: 20 out. 2020.

MATTOS DA SILVA, M. R.; RICCI-JÚNIOR, E. An approach to natural insect repellent formulations: From basic research to technological development. **Acta tropica**, p. 105419, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X19311970>. Acesso em: 29 nov. 2021.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, p. 1719-1729, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/David_Mcclements/publication/255765585_Nanoemulsions_versus_microemulsions_Terminology_differences_and_similarities/links/54d37e490cf28e06972844d6.pdf. Acesso em: 14 dez. 2020.

MOHD NARAWI, M. *et al.* Biocompatible nutmeg oil-loaded nanoemulsion as phyto-repellent. **Frontiers in pharmacology**, v. 11, p. 214, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32256345/>. Acesso em 24 mar. 2024.

MONTEIRO, C. C. *et al.* **O papel da microbiota intestinal na competência vetorial do *Lutzomyia longipalpis* para a *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e a transmissão do parasito ao vertebrado pela da picada.** 2012. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/5502/1/Disserta%3Aa7%3Aa3o%20Carolina%20Cunha%20Monteiro.pdf>. Acesso em: 20 out. 2020.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos usos. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.24, p.139-148, 2005. Disponível em: [https://www.semanticscholar.org/paper/A-arvore-nim-\(Azadirachta-indica-A.-Juss\)%3A-usos-Kemmelmeier-Mossini/bb350cb994eca72415ebe220020ab1675817a880#references](https://www.semanticscholar.org/paper/A-arvore-nim-(Azadirachta-indica-A.-Juss)%3A-usos-Kemmelmeier-Mossini/bb350cb994eca72415ebe220020ab1675817a880#references). Acesso em: 08 dez. 2020.

MOTA, T. F. *et al.* Screening organic repellent compounds against *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) present in plant essential oils: Bioassay plus an in silico approach. **Acta Tropica**, v. 229, p. 106367, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X22000663?via%3Dihub>. Acesso em: 16 jan. 2023.

NEPOMOCENO, T. A. R.; PIETROBON, A. J. MELALEUCA ALTERNIFOLIA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA BRASILEIRA. **REVISTA UNINGÁ REVIEW**, v. 35, p. eRUR3409-eRUR3409, 2020. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/3409/2207>. Acesso em: 08 dez. 2020.

NIEVES, E. *et al.* Actividad repelente de aceites esenciales contra las picaduras de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). **Rev. biol. trop**, San José, v. 58, n. 4, p. 1549-1560, Dec. 2010. Disponível em: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000400038&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 out. 2020.

OLIVEIRA, D. F. *et al.* **Identificação dos criadouros naturais de *Lutzomyia longipalpis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE) em área endêmica para a Leishmaniose Visceral, do estado da Bahia, Brasil.** 2013. Tese de Doutorado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/7139/1/Diego%20Ferreira%20de%20Oliveira.%20Identifica%c3%a7%c3%a3o%20criadouro...pdf>. Acesso em: 20 out. 2020.

OLIVEIRA, B. R. **Desenvolvimento e avaliação de nanoemulsões com óleos de *Carapa guianensis* e *Copaifera* sp. e estudo da ação repelente frente a *Aedes aegypti*.** 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-31032009-132918/publico/Dissertacao.pdf>. Acesso em: 08 dec. 2020.

OLIVEIRA, Y. *et al.* Influência do ácido indol butírico e de diferentes alturas de coleta de estacas apicais no enraizamento de *Melaleuca alternifolia* [maiden & betche] cheel. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 18, n. 3, 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/2644/2401>. Acesso em: 08 dez. 2020.

ORTAN, A. *et al.* Rheological study of a liposomal hydrogel based on carbopol. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 16, n. 1 SUPPL., p. 47–54, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Alina-Ortan/publication/228371448_Rheological_Study_of_a_Liposomal_Hydrogel_Based_On_Carbopol/links/55b219f908ae092e96501889/Rheological-Study-of-a-Liposomal-Hydrogel-Based-On-Carbopol.pdf. Acesso em: 06 mar. 2024.

ORTIZ-ZAMORA, L. *et al.* Preparation of non-toxic nano-emulsions based on a classical and promising Brazilian plant species through a low-energy concept. **Industrial Crops and Products**, v. 158, p. 112989, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669020309067>. Acesso em: 20 fev. 2024.

PAULA, J. P. *et al.* Atividade repelente do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.(variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas. **Acta farmaceutica bonaerense**, v. 23, p. 376-378, 2004. Disponível em: http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/3/LAJOP_23_3_2_4_Y3B8WWZ07F.pdf. Acesso em: 20 out. 2020.

PUGLIESE, M.; GAGLIO, G.; PASSANTINO, A.; BRIANTI, E.; Napoli, E. Natural Products against Sand Fly Vectors of Leishmaniasis: A Systematic Review. **Vet. Sci.** 2021, 8, 150. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/>. Acesso em: 15 jun. 2022.

RIBAS, J.; CARRENO, A. M. Avaliação do uso de repelentes contra picada de mosquitos em militares na Bacia Amazônica. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 1, p. 33-38, Feb. 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962010000100004&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 20 out. 2020.

TEMEYER, K. B. *et al.* In Vitro Evaluation of Essential Oils and Saturated Fatty Acids for Repellency against the Old-World Sand Fly, *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) (Diptera: Psychodidae). **Insects**, v. 15, n. 3, p. 155, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/15/3/155>. Acesso em: 06 mar. 2024.

SAKULKU, U. *et al.* Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion. **International journal of pharmaceutics**, v. 372, n. 1-2, p. 105-111, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19162149/>. Acesso em: 24 mar. 2024.

SILVA, P. A. A.; MEJIA, D. P. M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) para uso como coadjuvante em antissépticos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011. Disponível em: https://portalbiocursos.com.br/ohs/data/docs/39/08_-_Atividade_antimicrobiana_do_oleo_essencial_de_Melaleuca_alternifolia_-_tea_tree.pdf. Acesso em: 08 dez. 2020.

SINCURÁ, Y. R. Ação inseticida de extratos de folhas e cascas de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). 2018. Disponível em: http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/bitstream/1/1770/1/yrllan_ribeiro_sincura.pdf. Acesso em: 20 out. 2020.

SONEBI, M.; YAHIA, A. Mix design procedure, tests, and standards. In: **Self-compacting concrete: Materials, properties and applications**. Woodhead Publishing, 2020. p. 1-30. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128173695000015>. Acesso em: 06 mar. 2024.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/LfHYRBBPMkjtn9sYpNkdpHb/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 29 nov. 2021.

ZANESCO-FONTES, I.; SILVA, A. C. L.; SILVA, P. B.; DUARTE, J. L.; FILIPPO, L. D.; CHORILLI, M.; COMINETTI, M. R.; MARTIN, A. C. B. M. [10]-gingerol-loaded nanoemulsion and its biological effects on triple negative breast cancer cells. **AAPS PHARMSCITECH**, v. 22, p. 157, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1208%2Fs12249-021-02006-w>. Acesso em: 29 nov. 2021.

ZATELLI, A. *et al.* The knowns and unknowns of the efficacy of neem oil (*Azadirachta indica*) used as a preventative measure against *Leishmania* sand fly vectors (*Phlebotomus* genus). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 202, p. 105618, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167587722000514>. Acesso em: 12 jan. 2023.