

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 20/10/2024.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Campus de Araraquara  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



**Nanoemulsões contendo terpenos como potenciais larvicidas e repelentes  
contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)**

Jonatas Lobato Duarte

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli  
Coorientadora: Prof. Dra. Mara Cristina Pinto

**Araraquara - SP**

**2023**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Campus de Araraquara  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



**Nanoemulsões contendo terpenos como potenciais larvicidas e repelentes  
contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)**

Jonatas Lobato Duarte

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas como requisito para a obtenção do título de doutor em Ciências Farmacêuticas

**Orientador:** Prof. Dr. Marlus Chorilli  
**Coorientadora:** Prof. Dra. Mara Cristina Pinto

**Araraquara – SP**  
**2023**

---

**D813n** Duarte, Jonatas Lobato.  
Nanoemulsões contendo terpenos como potenciais larvicidas e repelentes contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) / Jonatas Lobato Duarte. – Araraquara: [S.n.], 2023.  
110 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Marlus Chorilli.  
Coorientadora: Mara Cristina Pinto.

1. Monoterpenos. 2. p-cimeno. 3. Mirceno. 4. Hidrogel. 5. Docking molecular. I. Chorilli, Marlus, orient. II. Pinto, Mara Cristina, coorient. III. Título.

---

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

**CAPES: 33004030078P6**  
**Esta ficha não pode ser modificada**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Nanoemulsões contendo terpenos como potenciais larvicidas e repelentes contra o *Aedes aegypti*

**AUTOR: JONATAS LOBATO DUARTE**

**ORIENTADOR: MARLUS CHORILLI**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Virtual)  
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Prof. Dr. JOSEAN FECHINE TAVARES (Participação Virtual)  
Laboratório de Tecnologia Farmacêutica / Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Prof. Dr. LEONARDO FERNANDES FRACETO (Participação Virtual)  
Departamento de Engenharia Ambiental / Instituto de Ciência e Tecnologia do Campus de Sorocaba da Unesp

Prof. Dr. MATHEUS DE FREITAS FERNANDES PEDROSA (Participação Virtual)  
Centro de Ciências da Saúde / Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Profa. Dra. FERNANDA NERVO RAFFIN (Participação Virtual)  
Centro de Ciências da Saúde / Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

Araraquara, 20 de outubro de 2023

## **Agradecimentos**

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

Primeiramente, minha família merece uma menção especial. Seu amor, apoio e encorajamento ao longo de todo o meu percurso acadêmico foram inestimáveis. Vocês foram a minha fonte constante de inspiração e motivação, impulsionando-me a alcançar meus objetivos e superar desafios. Cada conquista obtida é, em grande parte, resultado do seu apoio incansável.

Ao Leonardo e ao meu fiel companheiro de quatro patas, José Farofa, minha gratidão também se estende a vocês. As horas de pesquisa muitas vezes eram aliviadas pela presença e alegria de vocês. O amor de vocês, suas brincadeiras e carinho trouxeram equilíbrio e felicidade aos meus dias.

Aos meus amigos, em especial à Família Souza, ao Lucas e a Carol minha profunda gratidão por todo apoio sendo a minha família em Araraquara. A todos os meus amigos que ficaram em Macapá, em especial a Anna Eláyne, Ana Cássia e Adriene. Sua amizade e apoio contínuo foram um farol nos momentos mais desafiadores e uma fonte de alegria nas comemorações mais felizes. Compartilhar essa jornada com todos vocês tornou-a significativa e memorável.

À Anna Eliza, desejo expressar minha sincera gratidão. Seu apoio, paciência, leituras críticas e correções detalhadas foram fundamentais para a qualidade deste trabalho. Sou imensamente grato por sua generosidade e dedicação.

Ao meu orientador, Professor Marlus Chorilli, agradeço do fundo do coração. Sua orientação sábia, conhecimento vasto e inabalável dedicação foram os pilares deste trabalho. Suas orientações moldaram meu percurso acadêmico e profissional, e sou profundamente grato por tê-lo como mentor.

A minha coorientadora Prof. Mara Cristina por todas as conversas e dicas. Suas contribuições foram valiosas na construção deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de farmacotécnica, agradeço por compartilhar ideias, conhecimento e experiências. Em especial a Andreia Meneguim, a Suzana e a Aline Martins por todas as conversas e dicas durante essa jornada que foi o doutorado. Sua colaboração e apoio foram essenciais para o sucesso deste projeto.

Aos estimados professores da FCFAR-UNESP, em especial as Professoras Rosemeire e Leila bem como ao pessoal da seção técnica, agradeço por sua

contribuição à minha formação acadêmica e por tornar minha jornada de pesquisa possível.

Ao Dr. Vincent Corbel, meu supervisor no BEPE, e a todos no IRD, especialmente ao Stéphane Duchon, minha gratidão por proporcionar oportunidades de crescimento profissional e aprendizado valioso.

À Professora Cristiane Duque, pelo auxílio precioso nos experimentos de citotoxicidade.

Agradeço ao Professor José Carlos Tavares pela mentoria desde o início da minha carreira. Seus conselhos e sua amizade foram fundamentais para a minha formação. A Adriana Maciel e a Gisele Custódio pelo suporte essencial nos experimentos com o Zebrafish.

À Lorane Hage Melim, pela expertise nos experimentos de docking, e ao Gabriel Marena e à Professora Thais Bauab, pela colaboração nos experimentos com a Galleria.

A Professora Estela Sasso Cerri pelo auxílio na histologia das larvas, muito obrigado.

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

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado no País (Proc .2019/25125-7) e pela Bolsa Estágio de pesquisa no exterior - BEPE (Proc. 2021/11487-9), as quais viabilizaram esta pesquisa e meu desenvolvimento como pesquisador.

A cada um de vocês, meu mais sincero e profundo agradecimento. Seu apoio, dedicação e presença ao longo desta jornada foram inestimáveis. Cada desafio superado e conquista obtida é reflexo do compartilhamento de conhecimento e colaboração de todos vocês. Minha gratidão é eterna.

## RESUMO

O *Aedes aegypti* L. é um inseto de extrema importância médica, sendo o vetor de diversas doenças que representam um grave problema para a saúde pública em todo o mundo, incluindo a dengue, a zika, a chikungunya e a febre amarela. A prevenção dessas arboviroses é fundamental, e repelentes e agentes larvicidas são ferramentas essenciais nesse esforço. Historicamente, compostos derivados de plantas medicinais, notadamente os óleos essenciais (OEs), têm sido utilizados como inseticidas e repelentes. Os OEs são ricos em terpenos, como os monoterpenos e sesquiterpenos, que são substâncias de baixo peso molecular e alta volatilidade. Entre os monoterpenos, o mirceno e o p-cimeno destacam-se pelas suas propriedades inseticidas e repelentes. No entanto, esses compostos apresentam baixa solubilidade em água e instabilidade, o que limita sua aplicação prática. Nesse contexto, a nanotecnologia surge como uma estratégia promissora para melhorar a solubilidade desses terpenos em água, além de proteger e entregar esses ativos de maneira eficaz. A presente tese concentrou-se no desenvolvimento de nanoemulsões contendo p-cimeno e mirceno, com o objetivo de avaliar sua atividade larvicida e repelente frente ao *Aedes aegypti* L. Um método analítico robusto foi desenvolvido por cromatografia líquida para a quantificação precisa desses terpenos. As nanoemulsões apresentaram tamanho de gotícula em torno de 120 nm e estabilidade mantida por até 60 dias após a obtenção. Além disso, demonstraram ser citocompatíveis com a linhagem celular HaCat, indicando baixa toxicidade para as células humanas. Os testes de toxicidade em larvas de *Galleria mellonella* e Zebrafish também revelaram baixa toxicidade aguda, consolidando a segurança dessas formulações. Os hidrogéis desenvolvidos a partir das nanoemulsões apresentaram pelo estudo reológico comportamento pseudoplástico e tixotropia, tornando-os adequados para aplicação tópica. Dentre os hidrogéis, o constituído de carboximetilcelulose (CMC) foi escolhido para testes repelentes devido às suas características sensoriais favoráveis e propriedades bioadesivas. Os hidrogéis exibiram liberação controlada e baixa permeação de p-cimeno e mirceno, demonstrando uma atividade repelente significativa contra mosquitos adultos. Nos experimentos de repelência espacial os ativos livres apresentaram respostas opostas, o p-cimeno apresentou atividade atrativa e o mirceno apresentou atividade repelente. Por outro lado, os hidrogéis contendo estes mesmos ativos apresentaram um potencial promissor como repelentes, com evidências de ancoragem molecular em um receptor odorante, um alvo tradicional de atividade repelente. Esses resultados indicam que as formulações desenvolvidas neste estudo têm um potencial notável para o controle eficaz do *A. aegypti*, contribuindo para a prevenção de doenças transmitidas por mosquitos. A aplicação bem-sucedida da nanotecnologia na formulação de nanoemulsões e hidrogéis não apenas melhorou a eficácia dessas formulações, mas também a sua segurança e aceitabilidade. Em conjunto, este estudo representa uma abordagem promissora para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes e seguras no combate às doenças transmitidas por mosquitos, com aplicações significativas na saúde pública global.

**Palavras-chave:** monoterpenos; p-cimeno; mirceno; hidrogel; docking molecular.

## ABSTRACT

*Aedes aegypti* L. is a medically significant insect, serving as the vector for various diseases that pose a serious global public health challenge, including dengue, Zika, chikungunya, and yellow fever. Preventing these arboviruses is paramount, with repellents and larvicidal agents being essential tools in this endeavor. Historically, compounds derived from medicinal plants, notably essential oils (EOs), have been used as insecticides and repellents. EOs are rich in terpenes, such as monoterpenes and sesquiterpenes, which are low-molecular-weight, highly volatile substances. Among monoterpenes, myrcene and cymene stand out for their insecticidal and repellent properties. However, these compounds have low water solubility and stability, limiting their practical application. In this context, nanotechnology emerges as a promising strategy to enhance the water solubility of these terpenes and effectively deliver and protect these active agents. This thesis focused on developing nanoemulsions containing cymene and myrcene, with the aim of evaluating their larvicidal and repellent activity against *Ae. aegypti* L. A robust analytical method was developed using liquid chromatography for precise quantification of these terpenes. The nanoemulsions exhibited particle sizes around 120 nm and stability maintained for up to 60 days post-preparation. Furthermore, they demonstrated cytocompatibility with the HaCat cell line, indicating low toxicity to human cells. Toxicity tests on *Galleria mellonella* and Zebrafish larvae also revealed low acute toxicity, reaffirming the safety of these formulations. Hydrogels developed from the nanoemulsions exhibited pseudoplastic behavior and thixotropy according to rheological studies, making them suitable for topical application. Among the hydrogels, the one composed of carboxymethylcellulose (CMC) was selected for repellent tests due to its favorable sensory characteristics and bioadhesive properties. The hydrogels demonstrated controlled release and low permeation of cymene and myrcene, showing significant repellent activity against adult mosquitoes. In spatial repellency experiments, the free active agents yielded contrasting responses; cymene exhibited attractive activity, whereas myrcene demonstrated repellent activity. Conversely, hydrogels containing these same active agents displayed promising potential as repellents, with evidence of molecular anchoring in an odorant receptor, a traditional target for repellent activity. These findings indicate that the formulations developed in this study have notable potential for the effective control of *Ae. aegypti* L., contributing to the prevention of mosquito-borne diseases. The successful application of nanotechnology in formulating nanoemulsions and hydrogels not only improved the efficacy of these formulations but also their safety and acceptability. In combination, this study represents a promising approach for the development of more effective and safer strategies in combating mosquito-borne diseases, with significant applications in global public health.

**Keywords:** monoterpenes; cymene; myrcene; hydrogel; molecular docking.

# Sumário

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b>   | <b>4</b>  |
| <b>2.1 Aedes (Stegomyia) aegypti L. e arboviroses</b>   | <b>4</b>  |
| <b>2.2 ESTRATÉGIAS PARA O CONTROLE DO Aedes aegypti</b>   | <b>6</b>  |
| <b>2.3 NANOEMULSÕES</b>   | <b>10</b> |
| 2.3.1. Óleos essenciais e monoterpenos associados a nanoemulsões como agentes larvicidas contra o <i>Ae. aegypti</i>    | 11        |
| 2.3.2. Óleos essenciais e monoterpenos associados a nanoformulações como agentes repelentes contra o <i>Ae. aegypti</i> | 13        |
| <b>3. OBJETIVOS</b>   | <b>15</b> |
| <b>3.1. GERAL</b>   | <b>15</b> |
| <b>3.2. ESPECÍFICOS</b>   | <b>15</b> |
| <b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>  | <b>16</b> |
| <b>4.1. OBTENÇÃO DOS MONOTERPENOS</b>   | <b>16</b> |
| <b>4.2 METODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DOS TERPENOS POR CROMATOGRAFIA EM FASE LIQUIDA</b>                           | <b>16</b> |
| 4.2.1 Determinação do comprimento máximo de absorção por UV-vis   | 16        |
| 4.2.2 Condições cromatográficas   | 16        |
| 4.2.3 Adequabilidade  | 16        |
| 4.2.4 Validação do método   | 16        |
| 4.2.5 Linearidade   | 16        |
| 4.2.6 Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)  | 17        |
| 4.2.7 Precisão  | 17        |
| 4.2.8 Acurácia  | 17        |
| 4.2.9 Seletividade  | 18        |
| 4.2.10 Robustez   | 18        |
| <b>4.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES</b>  | <b>18</b> |
| 4.3.1 Determinação do Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico requerido (EHLr) dos terpenos                                   | 18        |
| <b>4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOEMULSÕES</b>  | <b>18</b> |
| 4.4.1 Aspecto visual  | 18        |
| 4.4.2 Diâmetro hidrodinâmico médio, IPD e potencial zeta  | 19        |
| 4.4.3 Análise de Rastreamento de Nanopartículas (NTA)   | 19        |
| 4.4.4 Microscopia eletrônica de transmissão criogênica (Cryo-TEM)   | 19        |
| 4.4.5 Determinação do teor de monoterpenos nas nanoemulsões   | 19        |
| 4.4.6 Liberação <i>in vitro</i> das nanoemulsões contendo os terpenos   | 20        |
| <b>4.5 ATIVIDADE LARVICIDA DAS NANOEMULSÕES</b>   | <b>20</b> |
| 4.5.1 Cepas utilizadas  | 20        |
| 4.5.2 Atividade larvicida e avaliação da resistência cruzada  | 20        |
| 4.5.3 Interações de monoterpenos  | 21        |
| 4.5.4 Atividade larvicida residual das nanoemulsões   | 21        |
| 4.5.5 Análise histológica das larvas  | 21        |
| <b>4.6 DOCKING MOLECULAR DOS ATIVOS EM POSSÍVEIS ALVOS LARVICIDAS</b>   | <b>22</b> |
| 4.6.1 Docking molecular entre as moléculas e a acetilcolinesterase de <i>Drosophila melanogaster</i>                    | 22        |
| 4.6.2 Predição de Atividade   | 23        |

|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| <b>4.7</b>  | <b>AVALIAÇÃO DA BIOCAMPATIBILIDADE DAS NANOEMULSÕES.....</b>                                   | <b>23</b> |
| 4.7.1       | Citotoxicidade em queratinócitos humanos (HaCAT) das nanoemulsões.....                         | 23        |
| 4.7.2       | Toxicidade aguda em zebrafish.....   | 24        |
| 4.7.3       | Toxicidade aguda em <i>Galleria mellonella</i> .....   | 26        |
| <b>4.8</b>  | <b>OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS CONTENDO NETs .....</b>                             | <b>26</b> |
| 4.8.1       | Reologia de fluxo.....   | 27        |
| 4.8.2       | Reologia oscilatória.....  | 27        |
| 4.8.3       | Análise de perfil de textura (TPA).....  | 27        |
| 4.8.4       | Determinação <i>in vitro</i> da bioadesão dos hidrogéis .....                                  | 28        |
| 4.8.5       | Liberção <i>in vitro</i> do p-cimeno e do mirceno a partir dos hidrogéis.....                  | 28        |
| 4.8.6       | Permeação e retenção cutânea <i>in vitro</i> do p-cimeno e do mirceno a partir dos hidrogéis29 |           |
| <b>4.9</b>  | <b>ATIVIDADE REPELENTE DOS MONOTERPENOS E HIDROGEL.....</b>                                    | <b>29</b> |
| 4.10.1      | Repelência espacial dos monoterpénos .....   | 29        |
| 4.10.2      | Teste comportamental com o alimentador artificial .....  | 31        |
| 4.10.3      | Docking molecular em possível alvo repelente .....   | 32        |
| <b>5</b>    | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>4.1.</b> | <b>MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DOS TERPENOS.....</b>                                   | <b>33</b> |
| 5.1.1       | Adequabilidade do sistema.....   | 33        |
| 5.1.2       | Linearidade.....   | 33        |
| 5.1.3       | Sensibilidade .....  | 34        |
| 5.1.4       | Precisão .....   | 35        |
| 5.1.6       | Exatidão.....  | 35        |
| 5.1.7       | Robustez.....  | 36        |
| 5.1.8       | Seletividade.....  | 36        |
| <b>5.2</b>  | <b>OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NETS .....</b>  | <b>37</b> |
| 5.2.1       | Determinação do Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo requerido (EHLr).....                            | 37        |
| 5.2.2       | Análise de rastreamento de nanopartículas.....   | 42        |
| 5.2.3       | Criomicroscopia eletrônica de transmissão.....   | 43        |
| 5.2.4       | Determinação do teor de monoterpénos nas NETs .....  | 44        |
| 5.2.5       | Liberção <i>in vitro</i> das nanoemulsões.....   | 44        |
| <b>5.3</b>  | <b>ATIVIDADE LARVICIDA DAS NANOEMULSÕES .....</b>  | <b>46</b> |
| 5.3.1       | Interações entre monoterpénos.....   | 49        |
| 5.3.2       | Atividade larvicida residual .....   | 51        |
| 5.3.3       | Análise histológica das larvas.....  | 52        |
| <b>5.4</b>  | <b>AVALIAÇÃO DA BIOCAMPATIBILIDADE DAS NANOEMULSÕES.....</b>                                   | <b>53</b> |
| 5.4.1       | Citotoxicidade das NETs em queratinócitos humanos .....  | 53        |
| 5.4.2       | Toxicidade aguda em zebrafish.....   | 54        |
| 5.4.3       | Toxicidade aguda das NEs contra as larvas de <i>Galleria mellonella</i> .....                  | 56        |
| <b>5.5</b>  | <b>DOCKING MOLECULAR PARA O ALVO LARVICIDA ACETILCOLINESTERASE .....</b>                       | <b>57</b> |
| 5.5.1       | Predição de atividade .....  | 59        |
| <b>5.6</b>  | <b>HIDROGÉIS CONTENDO AS NEs .....</b>   | <b>60</b> |
| 5.6.1       | Reologia de fluxo.....   | 61        |
| 5.6.2       | Reologia oscilatória.....  | 64        |
| 5.6.3       | Perfil de textura dos hidrogéis.....   | 66        |
| 5.6.4       | Bioadesão <i>in vitro</i> dos hidrogéis.....   | 68        |
| 5.6.5       | Ensaio de liberção <i>in vitro</i> dos hidrogéis .....   | 69        |
| 5.6.6       | Permeação e retenção <i>in vitro</i> .....   | 71        |
| <b>5.7</b>  | <b>ATIVIDADE REPELENTE.....</b>  | <b>72</b> |
| 5.7.1       | Ensaio de repelência espacial .....  | 72        |
| 5.7.2       | Teste comportamental com o alimentador artificial.....   | 73        |
| 5.7.3       | Docking molecular em possível alvo repelente .....   | 74        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÕES.....</b>                  | <b>80</b> |
| <b>7</b> | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b> | <b>81</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> - Ciclo de vida do <i>Ae. (Stegomyia) aegypti</i> L. ....   | 4  |
| <b>Figura 2</b> - Desenho esquemático do sistema de peneiramento de <i>high-throughput screening (HITS)</i> usado no ensaio de repelência espacial. ....  | 29 |
| <b>Figura 3</b> - Representação esquemática do teste repelente com alimentador artificial. Created with BioRender.com. ....   | 31 |
| <b>Figura 4</b> - Cromatogramas obtidos para o teste de linearidade do p-p-cimeno (A) e mirceno (B) e curvas analíticas obtidas pela avaliação da linearidade de p-p-cimeno (C) e mirceno (D) .....   | 34 |
| <b>Figura 5</b> - Cromatograma de (a) nanoemulsão de p-p-cimeno e nanoemulsão de mirceno e (b) solução de tensoativos. ....   | 37 |
| <b>Figura 6</b> - Aspecto visual das formulações contendo p-cimeno na escala de EHL de 10 a 16,7. ....  | 38 |
| <b>Figura 7</b> - Aspecto visual das formulações contendo mirceno na escala de EHL de 10 a 16,7. ....   | 40 |
| <b>Figura 8</b> - Imagem de crio-TEM da A – Cim-NE e B – Mir-NE. ....   | 43 |
| <b>Figura 9</b> - Teor de monoterpene (%) em nanoemulsões ao longo de 60 dias. ....   | 44 |
| <b>Figura 10</b> – Perfil de liberação <i>in vitro</i> de NETs (Cim-NE, Mir-NE) e terpenos livres (Cim-Sol e Mir-Sol). ....   | 45 |
| <b>Figura 11</b> - Gráficos concentração-resposta de terpenos contra Larvas de <i>Ae aegypti</i> : A – Cepa de Bora com Cim e Cim-NE; B – Cepa Bora com Mir e Mir-NE; C – Cepa da Guiana com Cim e Cim-Ne e D – Cepa da Guiana com Mir e Mir-NE. ....   | 47 |
| <b>Figura 12</b> - Curvas de efeito das concentrações da combinação de A - Mirceno:p-p-cimeno (1:1) e B -Mir-NE:Cim-NE (1:1) e Curvas de interação entre C - Mirceno:p-p-cimeno (1:1) e D -Mir-NE:Cim-NE (1:1) .....  | 50 |
| <b>Figura 13</b> - Atividade residual de Cim-NE e Mir-NE contra larvas suscetíveis de <i>Ae. Aegypti</i> . ....   | 51 |
| <b>Figura 14</b> - Fotomicrografias das larvas expostas ao controle negativo, Cim-NE e Mir-NE com destaque para o tubo digestivo no centro, aumento de 10x .....  | 52 |
| <b>Figura 15</b> - Secção histológica de intestino (A e B), fígado (C e D) e rins (E e F) de zebrafish, mostrando as principais alterações histopatológicas registradas. Índice de alteração histopatológica (IAH) no intestino (G), fígado (H) e rins (I) de Zebrafish ( <i>Danio rerio</i> ) adulto, no teste de toxicidade aguda oral com Cim-NE (1750 e 2000 mg/kg) e Mir-NE (2000 mg/kg). .... | 55 |
| <b>Figura 16</b> - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier de larvas de <i>G. mellonella</i> para os grupos analisados em diferentes concentrações. Legenda: (A): Cim, (B):Mir, (C):Cim-NE, (D): Mir-NE; CD: Controle de óbito (metanol 100%); SC: Controle de solventes (etanol 5%); C .....  | 56 |
| <b>Figura 17</b> - Docking molecular (Representações 2D e 3D) do alvo AChE (PDB ID: 1QON) e as moléculas selecionadas. ....   | 58 |
| <b>Figura 18</b> - Aspecto visual dos hidrogéis contendo as NEs. A – Hidrogel de carbopol (3% p/p), hidrogel com quitosana (3% p/p) e hidrogel com carboximetilcelulose (3%). ....  | 61 |
| <b>Figura 19</b> - Reologia de fluxo dos Hidrogéis contendo as NETs. A – Hidrogéis contendo a Cim-NE, B – Hidrogéis contendo a Mir-NE. Símbolos não preenchidos: ida, símbolos preenchidos: volta. ....   | 62 |
| <b>Figura 20</b> - Reologia oscilatória dos Hidrogéis contendo as NETs. A – Hidrogéis contendo a Cim-NE e B – Hidrogéis contendo a Mir-NE. Símbolos preenchidos – G' e símbolos não preenchidos – G'' .....   | 65 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 21</b> – Perfil de liberação <i>in vitro</i> dos hidrogéis contendo as NETs.....  | 70 |
| <b>Figura 22</b> - Índice de repelência espacial de DEET e monoterpenos .....   | 73 |
| <b>Figura 23</b> – Porcentagem de mosquitos alimentados através do alimentador artificial.....  | 74 |
| <b>Figura 24</b> - Posição das melhores poses dos ligantes (p-cimeno, mirceno e DEET) e do ligante cristalográfico (ácido araquidônico), destacado em laranja, no sítio da proteína AeOBP22. .... | 75 |
| <b>Figura 25</b> - Simulação do docking molecular do DEET, p-cimeno mirceno no alvo AeOBP22, nas dimensões 2D e 3D.....   | 78 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> - Parâmetros de adequação do sistema para p-p-cimeno e mirceno  | 33 |
| <b>Tabela 2</b> - Análise estatística da linearidade  | 34 |
| <b>Tabela 3</b> - Resultados de precisão para os diferentes níveis de mirceno e p-p-cimeno  | 35 |
| <b>Tabela 4</b> - Resultados de exatidão para as concentrações de mirceno e p-p-cimeno recuperadas da matriz de formulação.   | 35 |
| <b>Tabela 5</b> - Efeito das mudanças nas condições cromatográficas na quantificação de p-p-cimeno e mirceno na concentração de 35 µg/mL (n = 3)  | 36 |
| <b>Tabela 6</b> - Quantidade em porcentagem (%) e em massa dos constituintes das formulações preparadas com mirceno e p-cimeno.   | 37 |
| <b>Tabela 7</b> - Tamanhos de gotícula, Índice de polidispersidade e potencial zeta das melhores formulações contendo p-cimeno.   | 39 |
| <b>Tabela 8</b> - Tamanhos de gotícula, Índice de polidispersidade e potencial zeta das melhores formulações contendo mirceno.  | 41 |
| <b>Tabela 9</b> - Tamanho de partícula e concentração de partículas das NETs.   | 43 |
| <b>Tabela 10</b> - Propriedades moleculares/físico-químicas <i>in silico</i> dos monoterpenos p-cimeno e mirceno  | 45 |
| <b>Tabela 11</b> - Modelos matemáticos para a cinética de liberação de NETs (Cim-NE, Mir-NE) e terpenos livres (Cim-Sol e Mir-Sol)  | 46 |
| <b>Tabela 12</b> - Atividade larvicida de monoterpenos livres e em nanoemulsões, contra <i>Ae. aegypti</i> L. (cepa Bora).  | 47 |
| <b>Tabela 13</b> - Atividade larvicida de monoterpenos, livres e em nanoemulsões contra <i>Aedes aegypti</i> resistente a inseticidas (cepa Guayana).   | 48 |
| <b>Tabela 14</b> - Concentrações inibitórias 50 (IC <sub>50</sub> ) das NETs (Cim-NE, Mir-NE), terpenos livres (P-cimeno e Mirceno) e solução de tensoativos (Cim-Branco e Mir-Branco) em queratinócitos humanos. | 53 |
| <b>Tabela 15</b> - Efeito do tratamento oral com Ne-Cym e Ne-Myr e controle (água) sobre o comportamento e mortalidade de zebrafish.  | 54 |
| <b>Tabela 16</b> - Interações proteína-ligante identificadas usando o Discovery Visualizer para a melhor solução de docking de cada composto estudado na AChE   | 57 |
| <b>Tabela 17</b> - Valores de probabilidade de Pa   | 60 |
| <b>Tabela 18</b> - Índice de consistência (K) e Comportamento de fluxo (n) para os Hidrogéis contendo as NETs   | 63 |
| <b>Tabela 19</b> - Parâmetros mecânicos dos hidrogéis contendo as NETs  | 67 |
| <b>Tabela 20</b> - Propriedades bioadesivas dos hidrogéis contendo as NETs.   | 68 |
| <b>Tabela 21</b> - Perfil de permeação e retenção cutânea <i>in vitro</i> dos monoterpenos livres, NETs e hidrogéis contendo as nanoemulsões após 8 horas de experimento  | 72 |
| <b>Tabela 22</b> - Interações e os tipos de interações realizadas entre os ligantes p-cimeno, mirceno, DEET e o alvo OBP22.   | 76 |

## LISTA DE EQUAÇÕES

|  |    |
|--|----|
| <b>Equação 1</b> – Fórmula para o cálculo do limite de detecção (LOD) .....      | 17 |
| <b>Equação 2</b> – Fórmula para o cálculo do Limite de quantificação (LOQ) ..... | 17 |
| <b>Equação 3</b> - Fórmula para o cálculo do EHL.....                            | 18 |
| <b>Equação 4</b> - Cálculo do Índice de alterações histológicas (IAH) .....      | 25 |
| <b>Equação 5</b> - Fórmula para o cálculo do comportamento de fluxo .....        | 27 |
| <b>Equação 6</b> - Cálculo do índice de atividade espacial.....                  | 30 |

## 1. INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* é um vetor de doenças graves, como dengue, zika, chikungunya e febre amarela, representando um desafio significativo para a saúde pública em regiões tropicais e subtropicais. O controle eficaz desses mosquitos, tanto na forma larval quanto adulta, é crucial para prevenir a disseminação dessas doenças e reduzir seu impacto na saúde da população (ROIZ et al., 2018).

A distribuição do *Aedes* sp. tem aumentado recentemente devido às mudanças climáticas globais (KRAEMER et al., 2015) e pode ser mais prevalente em regiões temperadas, como a Europa, devido à presença de condições adequadas para o estabelecimento (CORBEL et al., 2019).

Os métodos convencionais de controle de mosquitos geralmente envolvem o uso de inseticidas químicos. No entanto, o uso excessivo e indiscriminado desses produtos químicos pode levar ao desenvolvimento de resistência nos mosquitos, além de ter efeitos adversos no meio ambiente e na saúde humana. Por exemplo, estudos têm demonstrado um aumento na resistência do *Ae. aegypti* a piretroides (AMELIA-YAP et al., 2018; MELO COSTA et al., 2020) e organofosfatos (BADOLO et al., 2019; CAMPOS et al., 2020; RODRÍGUEZ et al., 2001), devido à presença de modificações no sítio-alvo (por exemplo, mutações kdr para piretróides) e aumento da detoxificação por meio da superexpressão de genes de P450, GST e esterases (CATTEL et al., 2019, 2021; FAUCON et al., 2015) .

A ocorrência de mosquitos *Ae. aegypti* "super" resistentes a inseticidas já foi relatada até mesmo no Sudeste Asiático devido à presença de três mutações Kdr diferentes nos mesmos indivíduos (KASAI et al., 2022). Esse aumento rápido e global da resistência dos mosquitos torna mais difícil controlar populações em campo com os pesticidas e pode potencialmente agravar o impacto das doenças transmitidas por artrópodes em todo o mundo. Além disso, produtos químicos podem ser tóxicos para organismos não alvo e o meio ambiente (ABE et al., 2014; VIEIRA SANTOS et al., 2017), e, como tal, estão enfrentando restrições regulatórias crescentes e aversões da população.

Nesse contexto, as nanoemulsões surgem como uma nova abordagem promissora para o controle de mosquitos. Elas consistem em sistemas coloidais compostos por uma fase aquosa e uma fase oleosa, estabilizadas por um agente

emulsificante. Essas formulações apresentam diversas vantagens, como tamanho de gotícula reduzido, maior área de superfície, estabilidade física e capacidade de incorporar diferentes compostos ativos (JAISWAL; DUDHE; SHARMA, 2015; SINGH et al., 2017).

O p-cimeno e o mirceno são compostos encontrados em óleos essenciais de plantas, que têm sido amplamente estudados por suas propriedades larvicidas e repelentes contra mosquitos. O p-cimeno é um monoterpene presente em várias plantas, como o tomilho e a erva-doce, enquanto o mirceno é um terpeno encontrado em plantas como a erva-cidreira e a manga. Esses compostos têm mostrado atividade inseticida contra várias espécies de mosquitos, incluindo o *Aedes aegypti* (BALAHBIB et al., 2021; MARCHESE et al., 2017; SURENDRAN et al., 2021; XANTHIS et al., 2021).

No entanto, a baixa solubilidade desses compostos em água e sua rápida degradação limitam sua aplicação direta como larvicidas e repelentes. Portanto, a formulação desses compostos em nanoemulsões pode aumentar sua estabilidade, solubilidade e eficácia como agentes de controle de mosquitos.

As nanoemulsões contendo p-cimeno ou mirceno podem representar uma alternativa promissora aos inseticidas químicos convencionais, ajudando a reduzir a propagação de doenças transmitidas por mosquitos e melhorar a qualidade de vida das comunidades afetadas.

A necessidade urgente de desenvolver estratégias de controle de mosquitos mais seguras, eficazes e ambientalmente sustentáveis é de extrema importância para a saúde pública. A utilização de nanoemulsões contendo p-cimeno ou mirceno como larvicidas e repelentes pode oferecer uma abordagem inovadora e sustentável para combater a propagação de doenças transmitidas por mosquitos, contribuindo para a melhoria das condições de vida das comunidades afetadas.

Diante do exposto esta tese teve como objetivo principal desenvolver e otimizar nanoemulsões à base de terpenos (NETs) contendo p-p-cimeno e mirceno e avaliar sua eficácia larvicida contra mosquitos *Ae. aegypti* suscetíveis e altamente resistentes a inseticidas. O estudo também investigou mecanismos de resistência cruzada com inseticidas convencionais que possa afetar a eficácia das NETs e a avaliação a toxicidade aguda dessas nanoemulsões em organismos não alvo, especificamente zebrafish e *Galleria mellonella*. Em uma segunda etapa hidrogéis contendo as

nanoemulsões foram desenvolvidos e caracterizados e sua atividade repelente foi avaliada.

## 6 CONCLUSÕES

Esta tese representa um marco significativo no campo da pesquisa de monoterpenos para o controle de *Aedes aegypti*, um vetor de doenças transmitidas por mosquitos de importância global. Nossos estudos se concentraram em vários aspectos, desde o desenvolvimento de métodos analíticos até a avaliação do potencial de formulações de nanoemulsões e hidrogéis, além de investigações sobre a atividade repelente e tóxica dos monoterpenos p-cimeno e mirceno.

Em primeiro lugar, desenvolveu-se um método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) que demonstrou ser linear, preciso, exato, seletivo e robusto para a quantificação precisa dos monoterpenos p-cimeno e mirceno. Isso estabeleceu uma base sólida para a análise desses compostos em nossos estudos subsequentes.

Além disso, determinou-se o Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) necessário para ambos os monoterpenos, p-cimeno e mirceno, utilizando o par de tensoativos Tween 20 e Span 80. Essa informação foi fundamental para o desenvolvimento das nanoemulsões.

As nanoemulsões obtidas foram altamente promissoras, com tamanho de gotícula em torno de 100 nm e estabilidade mantida por 60 dias, conforme confirmado por técnicas de análise de tamanho de gotícula (DLS) e análise por rastreamento de nanopartículas (NTA). A liberação controlada e sustentada dos monoterpenos a partir dessas nanoemulsões por um período de 24 horas é uma característica crucial para aplicações de controle de mosquitos.

A avaliação da citocompatibilidade em queratinócitos humanos e a ausência de toxicidade aguda contra larvas de *Galleria* e Zebrafish demonstraram a segurança dessas formulações, um fator fundamental quando se trata de produtos para controle de vetores.

Além disso, as nanoemulsões apresentaram eficácia larvicida tanto em cepas suscetíveis quanto resistentes de *Ae. aegypti*, embora em doses mais elevadas em comparação com o temephos, um inseticida organofosforado recomendado pela OMS para o controle de *Aedes*.

A ausência de resistência cruzada entre terpenóides e temephos e a falta de interações positivas entre o mirceno e o p-cimeno na toxicidade larval indicam a viabilidade desses compostos como ferramentas adicionais no controle de mosquitos. As nanoemulsões mostraram atividade larvicida após 45 dias de armazenamento, o que sugere sua eficácia na prevenção da volatilização dos monoterpenos.

A partir das nanoemulsões, desenvolveu-se com sucesso hidrogéis com propriedades reológicas e mecânicas adequadas para aplicação tópica, bem como propriedades bioadesivas em pele de orelha suína *ex vivo*. Os hidrogéis também exibiram baixas taxas de liberação e permeação, o que é desejável para formulações repelentes.

Além disso, observou-se que o mirceno apresentou uma atividade repelente espacial semelhante à do DEET, enquanto o p-p-cimeno exerceu um efeito atrativo nos mosquitos, um achado que requer investigações adicionais. Finalmente, através de estudos de docking molecular, confirmou-se a atividade repelente dos hidrogéis, semelhante à do DEET.

Em resumo, esta pesquisa abre caminho para o desenvolvimento de formulações baseadas em monoterpenos para o controle eficaz de *Aedes aegypti*, um vetor de doenças de grande relevância em saúde pública. As nanoemulsões e hidrogéis apresentaram uma série de propriedades e atividades promissoras, destacando seu potencial como ferramentas complementares no combate a doenças transmitidas por mosquitos. As descobertas desta tese contribuem para o avanço da pesquisa em controle de vetores e representam um passo importante na busca por estratégias mais seguras e eficazes.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, F. R. et al. Ecotoxicity and Environmental Risk Assessment of Larvicides Used in the Control of *Aedes aegypti* to *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 77, n. 1–3, p. 37–45, 20 fev. 2014.
- ADHIKARI, K. et al. Repellent Activity of Citrus Essential Oils and Two Constituent Compounds Against *Aedes aegypti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, v. 92, n. 3, p. 621–628, 2022.
- AGUIAR, R. W. S. et al. Insecticidal and Repellent Activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLOS ONE**, v. 10, n. 2, p. e0116765, 3 fev. 2015.
- ALLEGRA, E. et al. *Galleria mellonella* larvae allow the discrimination of toxic and non-toxic chemicals. **Chemosphere**, v. 198, p. 469–472, 1 maio 2018.
- ALMADIY, A. A.; NENAAH, G. E. Essential oil of *Origanum vulgare*, its nanoemulsion and bioactive monoterpenes as eco-friendly novel green pesticides for controlling *Aedes aegypti*, the common vector of Dengue virus. **Journal of Essential Oil Research**, v. 34, n. 5, p. 424–438, 2022a.
- ALMADIY, A. A.; NENAAH, G. E. Essential oil of *Origanum vulgare*, its nanoemulsion and bioactive monoterpenes as eco-friendly novel green pesticides for controlling *Aedes aegypti*, the common vector of Dengue virus. **Journal of Essential Oil Research**, v. 34, n. 5, p. 424–438, 3 set. 2022b.
- ALMEHMADI, R. M. Larvicidal, Histopathological and Ultra-structure Studies of *Matricharia chamomella* Extracts Against the Rift Valley Fever Mosquito *Culex*

- quinquefasciatus (Culicidae: Diptera). **Journal of Entomology**, v. 8, n. 1, p. 63–72, 15 dez. 2010.
- AL-MEHMADI, R. M.; AL-KHALAF, A. A. Larvicidal and histological effects of Melia azedarach extract on Culex quinquefasciatus Say larvae (Diptera: Culicidae). **Journal of King Saud University - Science**, v. 22, n. 2, p. 77–85, abr. 2010.
- ALMEIDA, K. B. et al. In vitro release and anti-herpetic activity of Cymbopogon citratus volatile oil-loaded nanogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 495–502, 2018.
- AMELIA-YAP, Z. H. et al. Pyrethroid resistance in the dengue vector Aedes aegypti in Southeast Asia: present situation and prospects for management. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 332, 4 dez. 2018.
- AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION (AVMA). **Guidelines for the euthanasia of animals**. 2020. ed. Schaumburg: [s.n.].
- 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, n. 11, p. 1–15, 1 nov. 2020.
- ANZALI, S. et al. Discriminating between Drugs and Nondrugs by Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 15, p. 2432–2437, jul. 2001.
- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. Disponível em: <<https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>>. Acesso em: 23 set. 2023.
- ARANCIBIA, C. et al. Application of CMC as thickener on nanoemulsions based on olive oil: Physical properties and stability. **International Journal of Polymer Science**, v. 2016, 2016.
- ARUNACHALAM, N. et al. Community-based control of Aedes aegypti by adoption of eco-health methods in Chennai City, India. <https://doi.org/10.1179/2047773212Y.0000000056>, v. 106, n. 8, p. 488–496, dez. 2013.
- ASWIN JENO, J. G.; NAKKEERAN, E. Histological changes in the Dengue vector, Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) larvae treated with neem oil loaded niosomes. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 25, n. 3, p. 101943, set. 2022.
- AZEVEDO, R. DO S. DA S.; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. DA C. Chikungunya risk for Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 49, 2015.
- BABY, D. K. **Rheology of hydrogels**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.
- BÄCK, A. T.; LUNDKVIST, Å. Dengue viruses – an overview. <http://dx.doi.org/10.3402/iee.v3i0.19839>, v. 3, n. 1, p. 19839, jan. 2013.
- BADOLO, A. et al. Insecticide resistance levels and mechanisms in Aedes aegypti populations in and around Ouagadougou, Burkina Faso. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 5, p. e0007439, 23 maio 2019.
- BALAHBIB, A. et al. Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. **Food and Chemical Toxicology**, v. 153, p. 112259, 1 jul. 2021.
- BALASUBRAMANI, S. et al. Development of nanoemulsion from Vitex negundo L. essential oil and their efficacy of antioxidant, antimicrobial and larvicidal activities (Aedes aegypti L.). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 17, p. 15125–15133, 2017.
- BARBOSA, J. A. C. et al. Using zeta potential to study the ionisation behaviour of polymers employed in modified-release dosage forms and estimating their pKa. **International Journal of Pharmaceutics: X**, v. 1, p. 100024, dez. 2019.
- BARRADAS, T. N. et al. Hydrogel-thickened nanoemulsions based on essential oils for topical delivery of psoralen: Permeation and stability studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 116, p. 38–50, 1 jul. 2017.

- BARRADAS, T. N.; DE HOLANDA E SILVA, K. G. Nanoemulsions of essential oils to improve solubility, stability and permeability: a review. **Environmental Chemistry Letters** **2020** **19:2**, v. 19, n. 2, p. 1153–1171, 23 nov. 2020.
- BASHIR, S. et al. Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. **Polymers**, v. 12, n. 11, p. 2702, 16 nov. 2020.
- BATTAGLIA, L. et al. Piper aduncum Essential Oil Rich in Dillapiole: Development of Hydrogel-Thickened Nanoemulsion and Nanostructured Lipid Carrier Intended for Skin Delivery. 2022.
- BEDINI, S. et al. Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus* L.) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. **Journal of Pest Science**, v. 88, n. 3, p. 583–592, 20 set. 2015.
- BENELLI, G.; JEFFRIES, C. L.; WALKER, T. Biological Control of Mosquito Vectors: Past, Present, and Future. **Insects** **2016**, Vol. 7, Page 52, v. 7, n. 4, p. 52, 3 out. 2016.
- BJÖRN, A. et al. Rheological Characterization. Em: KUMAR, S. (Ed.). **Biogas**. [s.l: s.n.].
- BONACUCINA, G. et al. Rheological, adhesive and release characterisation of semisolid Carbopol/tetraglycol systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 129–140, jan. 2006.
- BORGES, R. S. et al. Anti-inflammatory and antialgic actions of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and a molecular docking study of its major chemical constituents. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 1, 2018.
- BOSE, A. HPLC Calibration Process Parameters in Terms of System Suitability Test. **Austin Chromatography**, v. 1, n. 2, 2014.
- BOTAS, G. et al. *Baccharis reticularia* DC. and Limonene Nanoemulsions: Promising Larvicidal Agents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control. **Molecules**, v. 22, n. 11, p. 1990, 17 nov. 2017.
- BOURTZIS, K.; VREYSEN, M. J. B. Sterile Insect Technique (SIT) and Its Applications. **Insects**, v. 12, n. 7, p. 638, 13 jul. 2021.
- BOYD, R. D.; PICHAIMUTHU, S. K.; CUENAT, A. New approach to inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements; using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 387, n. 1–3, p. 35–42, ago. 2011.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 179–293, dez. 2007.
- CABRAL, C. et al. Essential oil of *juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) Čelak needles: Chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 9, p. 1352–1357, set. 2012.
- CALIXTO, G. M. F. et al. Polyethyleneimine and Chitosan Polymer-Based Mucoadhesive Liquid Crystalline Systems Intended for Buccal Drug Delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 2, p. 820–836, 10 fev. 2018.
- CAMPOS, K. B. et al. Assessment of the susceptibility status of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations to pyriproxyfen and malathion in a nation-wide monitoring of insecticide resistance performed in Brazil from 2017 to 2018. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2020.
- CARVALHO, J. C. T. et al. Effects of *Bothrops alternatus* venom in zebrafish: a histopathological study. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 1, p. 273–284, 1 fev. 2018.
- CATTEL, J. et al. Combining genetic crosses and pool targeted DNA-seq for untangling genomic variations associated with resistance to multiple insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*. **Evolutionary applications**, v. 13, n. 2, p. 303–317, 1 fev. 2019.
- CATTEL, J. et al. Impact of selection regime and introgression on deltamethrin resistance in the arbovirus vector *Aedes aegypti* – a comparative study between contrasted situations in

<sc>New Caledonia</sc> and <sc>French Guiana</sc>. **Pest Management Science**, v. 77, n. 12, p. 5589–5598, 26 dez. 2021.

CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH (CDER). **Reviewer Guidance' Validation of Chromatographic Methods**. [s.l.: s.n.].

CHAMUNDEESWARI, M.; JESLIN, J.; VERMA, M. L. Nanocarriers for drug delivery applications. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 2, p. 849–865, 21 jun. 2019.

CHANDAK, N. et al. Dual evaluation of some novel 2-amino-substituted coumarinylthiazoles as anti-inflammatory–antimicrobial agents and their docking studies with COX-1/COX-2 active sites. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 476–484, 1 ago. 2014.

CHANG, Y.; MCLANDSBOROUGH, L.; MCCLEMENTS, D. J. Physicochemical Properties and Antimicrobial E ffi cacy of Carvacrol Nanoemulsions Formed by Spontaneous Emulsi fi cation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 61, p. 8906–8913, 2013.

CHEN, J. et al. Natural Terpenes as Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 1709, 11 dez. 2016.

CHEN, T.; LI, M.; LIU, J.  $\pi$ - $\pi$  Stacking Interaction: A Nondestructive and Facile Means in Material Engineering for Bioapplications. **Crystal Growth and Design**, v. 18, n. 5, p. 2765–2783, 2018.

CHONG, W.-T. et al. Optimization of process parameters in preparation of tocotrienol-rich red palm oil-based nanoemulsion stabilized by Tween80-Span 80 using response surface methodology. 2018.

CHOU, T.-C.; TALALAY, P. Analysis of combined drug effects: a new look at a very old problem. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 4, p. 450–454, jan. 1983.

CHRISTOPHERS, S. R. **Aedes aegypti (L.) The yellow fever mosquito: Its life history, bionomics and structure**. 1. ed. Londres: [s.n.].

COLE, J. C. et al. Comparing protein-ligand docking programs is difficult. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 60, n. 3, p. 325–332, 3 jun. 2005.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 1998. v. 11

CORBEL, V. et al. International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 278, 2 dez. 2017.

CORBEL, V. et al. Second WIN International Conference on “Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in vectors of arboviruses”, October 2018, Singapore. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 331, 3 dez. 2019.

DA SILVA, M. R. M.; RICCI-JÚNIOR, E. An approach to natural insect repellent formulations: from basic research to technological development. **Acta Tropica**, v. 212, p. 105419, 1 dez. 2020.

DARRIET, F.; CORBEL, V. Laboratory Evaluation of Pyriproxyfen and Spinosad, Alone and in Combination, Against *Aedes aegypti* Larvae. **Journal of Medical Entomology**, v. 43, n. 6, p. 1190–1194, 1 nov. 2006.

DE OLIVEIRA, J. L. et al. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1550–1561, 2014.

DE SOUZA, A. A. et al. Acute Toxicity and Anti-Inflammatory Activity of *Trattinnickia rhoifolia* Willd (Sucuruba) Using the Zebrafish Model. **Molecules** 2022, Vol. 27, Page 7741, v. 27, n. 22, p. 7741, 10 nov. 2022.

DE SOUZA, G. C. et al. Reproductive toxicity of the hydroethanolic extract of the flowers of *Acmella oleracea* and *spilanthol* in zebrafish: In vivo and in silico evaluation. **Human & experimental toxicology**, v. 39, n. 2, p. 127–146, 1 fev. 2020.

- DE VILLIERS, M. M.; ARAMWIT, P.; KWON, G. S. (EDS.). **Nanotechnology in Drug Delivery**. New York, NY: Springer New York, 2009.
- DEBBOUN, M.; FRANCES, S. P.; STTRICKMAN, D. **Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007.
- DHINAKARAN, S. R.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Synergistic terpene combinations as larvicides against the dengue vector *Aedes aegypti* Linn. **Drug development research**, v. 80, n. 6, p. 791–799, 1 set. 2019.
- DIAZ, J. H. Chemical and Plant-Based Insect Repellents: Efficacy, Safety, and Toxicity. **Wilderness & Environmental Medicine**, v. 27, n. 1, p. 153–163, 1 mar. 2016.
- DICKENS, J. C.; BOHBOT, J. D. Mini review: Mode of action of mosquito repellents. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 106, n. 3, p. 149–155, 1 jul. 2013.
- DUARTE, J. L. et al. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *rosmarinus officinalis* essential oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 2, p. 189–192, 2015a.
- DUARTE, J. L. et al. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 2, p. 189–192, mar. 2015b.
- DUARTE, J. L. et al. Botanical insecticide-based nanosystems for the control of *Aedes (Stegomyia) aegypti* larvae. **Environmental Science and Pollution Research**, 27 maio 2020a.
- DUARTE, J. L. et al. Novel bioadhesive polycarbophil-based liquid crystal systems containing *Melaleuca alternifolia* oil as potential repellents against *Aedes aegypti*. **Journal of Molecular Liquids**, v. 314, p. 113626, set. 2020b.
- DUARTE, J. L. et al. Nanotechnology as a tool for detection and treatment of arbovirus infections. **Acta Tropica**, v. 216, 2021.
- DUBEY, A. K.; MOSTAFAVI, E. Phyto-insect repellents: A nanotechnology-based approach of sustainability towards synthetic insect repellents. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 41, p. 100827, 1 jun. 2023.
- EPELBOIN, Y. et al. CYP450 core involvement in multiple resistance strains of *Aedes aegypti* from French Guiana highlighted by proteomics, molecular and biochemical studies. **PLOS ONE**, v. 16, n. 1, p. e0243992, 11 jan. 2021.
- EVERDS, N. E. et al. Interpreting Stress Responses during Routine Toxicity Studies. **Toxicologic Pathology**, v. 41, n. 4, p. 560–614, 7 jun. 2013.
- FAUCON, F. et al. Identifying genomic changes associated with insecticide resistance in the dengue mosquito *Aedes aegypti* by deep targeted sequencing. **Genome Research**, v. 25, n. 9, p. 1347–1359, set. 2015.
- FAUSTINO, C. G. et al. Larvicide Activity on *Aedes aegypti* of Essential Oil Nanoemulsion from the *Protium heptaphyllum* Resin. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5333, 16 nov. 2020.
- FDA/CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH. **Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products**. Disponível em: <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm>>. Acesso em: 25 dez. 2022.
- FERNANDES, C. P. et al. HLB value, an important parameter for the development of essential oil phytopharmaceuticals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 108–114, jan. 2013.
- FERREIRA, R. M. DOS A. et al. Nano-emulsification Enhances the Larvicidal Potential of the Essential Oil of *Siparuna guianensis* (Laurales: Siparunaceae) Against *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 3, p. 788–796, 4 maio 2020.

- FONSECA-SANTOS, B. et al. An effective mosquito-repellent topical product from liquid crystal-based tea tree oil. **Industrial Crops and Products**, v. 128, n. October 2018, p. 488–495, 2019.
- FORGIARINI, A. et al. Studies of the relation between phase behavior and emulsification methods with nanoemulsion formation. **Progress in Colloid and Polymer Science**, v. 115, p. 36–39, 2000.
- GAO, J. et al. Volume-based size distribution of accumulation and coarse particles (PM<sub>0.1–10</sub>) from cooking fume during oil heating. **Building and Environment**, v. 59, p. 575–580, 1 jan. 2013a.
- GAO, Y. et al. In Vitro Release Kinetics of Antituberculosis Drugs from Nanoparticles Assessed Using a Modified Dissolution Apparatus. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013b.
- GONZALEZ-COLOMA, A. et al. Natural Product-Based Biopesticides for Insect Control. Em: **Comprehensive Natural Products II**. [s.l.] Elsevier, 2010. v. 3p. 237–268.
- GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, S. DE S. **ARBOVIROSES URBANAS: DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA**. Disponível em: <[http://saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/boletim/boletim\\_epidemiase0131\\_deng\\_chikun\\_zika.pdf](http://saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/boletim/boletim_epidemiase0131_deng_chikun_zika.pdf)>. Acesso em: 31 ago. 2023.
- GRIECO, J. P. et al. A novel high-throughput screening system to evaluate the behavioral response of adult mosquitoes to chemicals. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 21, n. 4, p. 404–411, 2005.
- GRIFFIN, W. C. CLASSIFICATION OF SURFACE-ACTIVE AGENTS BY “HLB”. **The Official Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 01, n. 05, p. 311–326, 1949.
- GUBLER, D. J.; HALSTEAD, S. B. Is Dengvaxia a useful vaccine for dengue endemic areas? **Bmj**, v. 5710, n. October, p. 15710, 2019.
- GUPTA, S.; MOHAN, C. G. Dual Binding Site and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors Derived from Integrated Pharmacophore Models and Sequential Virtual Screening. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–21, 2014.
- GUTOWSKA, I.; MACHOY, Z.; MACHALIŃSKI, B. The role of bivalent metals in hydroxyapatite structures as revealed by molecular modeling with the HyperChem software. **Journal of biomedical materials research. Part A**, v. 75, n. 4, p. 788–793, 15 dez. 2005.
- HERRADA-MANCHÓN, H.; FERNÁNDEZ, M. A.; AGUILAR, E. Essential Guide to Hydrogel Rheology in Extrusion 3D Printing: How to Measure It and Why It Matters? **Gels** **2023, Vol. 9, Page 517**, v. 9, n. 7, p. 517, 26 jun. 2023.
- HEVENER, K. E. et al. Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropteroate Synthase. **J Chem Inf Model**, v. 49, n. 2, p. 444–460, 2009.
- HILBIG, J. et al. Physical and antimicrobial properties of cinnamon bark oil co-nanoemulsified by lauric arginate and Tween 80. **International Journal of Food Microbiology**, v. 233, p. 52–59, 2016.
- HOLANDA, F. H. et al. Anti-inflammatory potential of baicalein combined with silk fibroin protein in a zebrafish model (*Danio rerio*). **Biotechnology Letters** **2022 45:2**, v. 45, n. 2, p. 235–253, 22 dez. 2022.
- HOLYŃSKA-IWAN, I.; SZEWCZYK-GOLEC, K. Pyrethroids: How They Affect Human and Animal Health? **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 582, 30 out. 2020.
- HOU, J. et al. Nanoparticle tracking analysis versus dynamic light scattering: Case study on the effect of Ca<sup>2+</sup> and alginate on the aggregation of cerium oxide nanoparticles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 360, p. 319–328, out. 2018.

- HU, Y. et al. A double-layer hydrogel based on alginate-carboxymethyl cellulose and synthetic polymer as sustained drug delivery system. **Scientific Reports** 2021 **11:1**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 28 abr. 2021.
- HUANG, Y. J. S.; HIGGS, S.; VANLANDINGHAM, D. L. Biological Control Strategies for Mosquito Vectors of Arboviruses. **Insects**, v. 8, n. 1, 1 mar. 2017.
- ICH. ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. **International Conference on Harmonization**, v. 1994, n. November 1996, p. 17, 2005.
- ITURBE-ORMAETXE, I.; WALKER, T.; O'NEILL, S. L. Wolbachia and the biological control of mosquito-borne disease. **EMBO reports**, v. 12, n. 6, p. 508–518, 1 jun. 2011.
- IZQUIERDO, P. et al. The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the pit method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 285, n. 1, p. 388–394, 2005.
- JAISWAL, M.; DUDHE, R.; SHARMA, P. K. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. **3 Biotech**, v. 5, n. 2, p. 123, 1 abr. 2015.
- JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; DJOKIC, J. Texture profile analysis of bioadhesive polymeric semisolids: Mechanical characterization and investigation of interactions between formulation components. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 61, n. 12, p. 2229–2234, 19 set. 1996.
- JORGENSEN, W. L. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, 15 jul. 1983.
- K. GURPRET; S. K. SINGH. Review of Nanoemulsion Formulation and Characterization Techniques. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 5, 2018.
- KASAI, S. et al. Discovery of super-insecticide-resistant dengue mosquitoes in Asia: Threats of concomitant knockdown resistance mutations. **Science Advances**, v. 8, n. 51, 23 dez. 2022.
- KAWAKAMI, M. Y. M. et al. Efficacy of nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel oleoresin for topical treatment of cutaneous leishmaniasis. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 134, 2021.
- KHUMPIRAPANG, N. et al. Self-microemulsifying drug delivery system and nanoemulsion for enhancing aqueous miscibility of *Alpinia galanga* oil. **PLOS ONE**, v. 12, n. 11, p. e0188848, 30 nov. 2017.
- KIM, Y. et al. Azobenzene-grafted carboxymethyl cellulose hydrogels with photo-switchable, reduction-responsive and self-healing properties for a controlled drug release system. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 824–832, 15 nov. 2020.
- KLANG, V. et al. Electron microscopy of nanoemulsions: An essential tool for characterisation and stability assessment. **Micron**, v. 43, n. 2–3, p. 85–103, fev. 2012.
- KRAEMER, M. U. G. et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **eLife**, v. 4, n. JUNE2015, 30 jun. 2015.
- KRISNAMURTI, G. C.; RATIH, D.; SARI, T. Unveiling the Potency of *Coriandrum sativum* as Repellent for Antimalarial : In silico Study. p. 563–567, 2023.
- KUMAR, M. et al. Techniques for Formulation of Nanoemulsion Drug Delivery System: A Review. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 24, n. 3, p. 225–234, 30 set. 2019.
- LAGUNIN, A. et al. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. **Bioinformatics**, v. 16, n. 8, p. 747–748, 1 ago. 2000.
- LEAL, W. S. The enigmatic reception of DEET — the gold standard of insect repellents. **Current Opinion in Insect Science**, v. 6, p. 93–98, 1 dez. 2014.
- LEE, D. C.; AHN, Y. J. Laboratory and Simulated Field Bioassays to Evaluate Larvicidal Activity of *Pinus densiflora* Hydrodistillate, Its Constituents and Structurally Related Compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* in Relation to

- Their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity. **Insects**, v. 4, n. 2, p. 217–229, 2013.
- LEE, J. H. et al. Anti-invasive effect of  $\beta$ -myrcene, a component of the essential oil from *Pinus koraiensis* cones, in metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 563–569, 30 ago. 2015.
- LI, Y.-C. et al. Structures of Prostacyclin Synthase and Its Complexes with Substrate Analog and Inhibitor Reveal a Ligand-specific Heme Conformation Change. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 5, p. 2917–2926, fev. 2008.
- LOPES ROCHA CORREA, V. et al. Melatonin loaded lecithin-chitosan nanoparticles improved the wound healing in diabetic rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 1465–1475, 1 nov. 2020.
- LÓPEZ-CAMACHO, E. et al. A new multi-objective approach for molecular docking based on rmsd and binding energy. **Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)**, v. 9702, p. 65–77, 2016.
- LUCIA, A.; ZERBA, E.; MASUH, H. Knockdown and larvicidal activity of six monoterpenes against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and their structure-activity relationships. **Parasitology Research**, v. 112, n. 12, p. 4267–4272, 8 dez. 2013.
- MACIEL-DE-FREITAS, R. et al. Undesirable Consequences of Insecticide Resistance following *Aedes aegypti* Control Activities Due to a Dengue Outbreak. **PLOS ONE**, v. 9, n. 3, p. e92424, 27 mar. 2014.
- MALEKJANI, N.; JAFARI, S. M. Modeling the release of food bioactive ingredients from carriers/nanocarriers by the empirical, semiempirical, and mechanistic models. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 1, p. 3–47, 29 jan. 2021.
- MARAFON, P. et al. Development, physico-chemical characterization and in-vitro studies of hydrogels containing rosmarinic acid-loaded nanoemulsion for topical application. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 71, n. 8, p. 1199–1208, 3 jul. 2019.
- MARCHESE, A. et al. Update on Monoterpenes as Antimicrobial Agents: A Particular Focus on p-Cymene. **Materials**, v. 10, n. 8, p. 947, 15 ago. 2017.
- MARCOMBE, S. et al. Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti*: A case study in Martinique Island (French West Indies). **BMC Genomics**, v. 10, p. 494, 2009.
- MARCOMBE, S. et al. Field Efficacy of New Larvicide Products for Control of Multi-Resistant *Aedes aegypti* Populations in Martinique (French West Indies). **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 1, p. 118–126, 5 jan. 2011.
- MARENA, G. D. et al. *Galleria mellonella* for systemic assessment of anti-*Candida auris* using amphotericin B loaded in nanoemulsion. **Science of The Total Environment**, v. 807, p. 151023, 10 fev. 2022.
- MARTINS, M. M.; PRATA-BARBOSA, A.; CUNHA, A. J. L. A. DA. Arboviral diseases in pediatrics†. **Jornal de Pediatria**, n. xx, out. 2019.
- MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719–1729, 2012.
- MELO COSTA, M. et al. Kdr genotyping in *Aedes aegypti* from Brazil on a nation-wide scale from 2017 to 2018. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.
- MIASTKOWSKA, M.; SLIWA, P. Influence of Terpene Type on the Release from an O/W Nanoemulsion: Experimental and Theoretical Studies. **Molecules**, v. 25, n. 12, 1 jun. 2020.

- MORADI, M. et al. CMC-based hydrogels loaded with *Hypericum perforatum* nanoemulsion for potential wound dressing applications. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 37, n. 4, p. 316–331, 1 jul. 2022a.
- MORADI, M. et al. CMC-based hydrogels loaded with *Hypericum perforatum* nanoemulsion for potential wound dressing applications. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 37, n. 4, p. 316–331, 1 jul. 2022b.
- MÜLLER, G. C. et al. Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. **Journal of Vector Ecology**, v. 34, n. 1, p. 2–8, 1 jun. 2009.
- MUSSO, D.; CAO-LORMEAU, V. M.; GUBLER, D. J. Zika virus: Following the path of dengue and chikungunya? **The Lancet**, v. 386, n. 9990, p. 243–244, 2015.
- MUSTAFA, I. F.; HUSSEIN, M. Z. Synthesis and Technology of Nanoemulsion-Based Pesticide Formulation. **Nanomaterials 2020, Vol. 10, Page 1608**, v. 10, n. 8, p. 1608, 17 ago. 2020.
- NAZARZADEH, E.; ANTHONYPILLAI, T.; SAJJADI, S. On the growth mechanisms of nanoemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 397, p. 154–162, 2013.
- OLIVEIRA, A. E. M. F. M. et al. Development of ? larvicidal nanoemulsion with pterodon emarginatus Vogel oil. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, 2016.
- OLIVEIRA, A. E. M. F. M. et al. Essential oil from *Pterodon emarginatus* as a promising natural raw material for larvicidal nanoemulsions against a tropical disease vector. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 6, p. 1–9, 2017a.
- OLIVEIRA, A. E. M. F. M. et al. *Pterodon emarginatus* oleoresin-based nanoemulsion as a promising tool for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) control. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 15, n. 1, 2017b.
- OLIVEIRA, F. M. et al. Histological, histochemical and energy disorders caused by R-limonene on *Aedes aegypti* L. larvae (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica**, v. 221, p. 105987, set. 2021.
- ORAFIDIYA, L. O.; OLADIMEJI, F. A. Determination of the required HLB values of some essential oils. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 237, n. 1–2, p. 241–249, abr. 2002.
- ORLANDO, B. J.; MALKOWSKI, M. G. Substrate-selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Fenamic Acid Derivatives Is Dependent on Peroxide Tone. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 29, p. 15069–15081, jul. 2016.
- 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.
- 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, dez. 2020.
- OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 388, n. 1, p. 95–102, 2012.
- PARENTE, M. E. et al. Bioadhesive hydrogels for cosmetic applications. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 5, p. 511–518, out. 2015.
- PARISOTTO-PETERLE, J. et al. Healing activity of hydrogel containing nanoemulsified  $\beta$ -caryophyllene. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 148, p. 105318, maio 2020.
- PAVELA, R. et al. Understanding Synergistic Toxicity of Terpenes as Insecticides: Contribution of Metabolic Detoxification in *Musca domestica*. 2018.
- PEREIRA, B. B. et al. Toxicological assessment of spinosad: Implications for integrated control of *Aedes aegypti* using larvicides and larvivorous fish. <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2016.1176974>, v. 79, n. 12, p. 477–481, 17 jun. 2016.

- PERUMALSAMY, H. et al. Novel Histopathological and Molecular Effects of Natural Compound Pellitorine on Larval Midgut Epithelium and Anal Gills of *Aedes aegypti*. **PLOS ONE**, v. 8, n. 11, p. e80226, 18 nov. 2013.
- POGODIN, P. V. et al. PASS Targets: Ligand-based multi-target computational system based on a public data and naïve Bayes approach. **SAR and QSAR in environmental research**, v. 26, n. 10, p. 783–793, 3 out. 2015.
- POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. Em: MULLER, R.; LLOYD, R. (Eds.). **In Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish**. Farnham:Oxford: Fishing News Books Ltd, 1994. p. 339–352.
- POROIKOV, V. V. et al. PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 43, n. 1, p. 228–236, jan. 2003.
- QI, X. et al. Mechanisms of antifungal and mycotoxin inhibitory properties of *Thymus vulgaris* L. essential oil and their major chemical constituents in emulsion-based delivery system. **Industrial Crops and Products**, v. 197, p. 116575, 1 jul. 2023.
- RAWANI, A.; GHOSH, A.; CHANDRA, G. Mosquito larvicidal and antimicrobial activity of synthesized nano-crystalline silver particles using leaves and green berry extract of *Solanum nigrum* L. (Solanaceae: Solanales). **Acta Tropica**, v. 128, n. 3, p. 613–622, 2013.
- RODERO, C. F. et al. Curcumin-Loaded Liquid Crystalline Systems for Controlled Drug Release and Improved Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, n. 10, p. 4491–4504, 5 out. 2018.
- RODRIGUES, V. et al. Chemical composition, anti-inflammatory activity and cytotoxicity of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* (Hoffmanns. & Link) Cout. essential oil and its main compounds. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 3236–3243, 1 dez. 2019.
- RODRÍGUEZ, M. M. et al. Detection of Insecticide Resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 623–628, 1 set. 2001.
- ROIZ, D. et al. Integrated Aedes management for the control of Aedes-borne diseases. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 12, p. e0006845, 1 dez. 2018.
- ROMERO, I. C. **A gestão de doenças infecto-contagiosas: o impacto do dengue na saúde pública**. Trabalho de Conclusão de curso—Araraquara: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2014.
- ROMERO-VIVAS, C. M. E.; WHEELER, J. G.; FALCONAR, A. K. I. AN INEXPENSIVE INTERVENTION FOR THE CONTROL OF LARVAL Aedes Aegypti ASSESSED BY AN IMPROVED METHOD OF SURVEILLANCE AND ANALYSIS. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 18, n. 1, p. 40–46, 2002.
- SANDY, M.; BUTLER, A. Microbial Iron Acquisition: Marine and Terrestrial Siderophores. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 10, p. 4580–4595, out. 2009.
- SANTOS, S. R. L. et al. Toxic Effects on and Structure-Toxicity Relationships of Phenylpropanoids, Terpenes, and Related Compounds in *Aedes aegypti* Larvae. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, n. 10, p. 1049–1054, 1 dez. 2010.
- SCHWARTZ, O.; ALBERT, M. L. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 491–500, 2010.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE E AMBIENTE | MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 52 de 2022**. [s.l.: s.n.].
- SHARMA, P.; TAILANG, M. Design, optimization, and evaluation of hydrogel of primaquine loaded nanoemulsion for malaria therapy. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences 2020 6:1**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 23 jun. 2020.

- SINGH, Y. et al. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 252, p. 28–49, abr. 2017.
- SOLANS, C.; SOLÉ, I. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 17, n. 5, p. 246–254, 2012.
- SONEBI, M.; YAHIA, A. Mix design procedure, tests, and standards. Em: **Self-Compacting Concrete: Materials, Properties and Applications**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 1–30.
- SONNEVILLE-AUBRUN, O.; SIMONNET, J. T.; L'ALLORET, F. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108–109, p. 145–149, 20 maio 2004.
- SOUSA, G. C. DE et al. Obtainment and Study of the Toxicity of Perillyl Alcohol Nanoemulsion on Zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Nanomedicine Research**, v. 4, n. 4, p. 18–20, 6 dez. 2016.
- SPINOZZI, E. et al. Spilanthol-rich essential oil obtained by microwave-assisted extraction from *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen and its nanoemulsion: Insecticidal, cytotoxic and anti-inflammatory activities. **Industrial Crops and Products**, v. 172, p. 114027, nov. 2021.
- STANCZYK, N. M. et al. Mosquito repellents for travellers. **BMJ**, v. 350, n. feb19 13, p. h99–h99, 19 fev. 2015.
- SUBAHARAN, K. et al. Ultrasound-assisted nanoemulsion of *Trachyspermum ammi* essential oil and its constituent thymol on toxicity and biochemical aspect of *Aedes aegypti*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 47, p. 71326–71337, 21 out. 2022.
- SUGUMAR, S. et al. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 104, n. 3, p. 393–402, 2014.
- SUNDARARAJAN, B. et al. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). **Microbial Pathogenesis**, v. 125, p. 475–485, dez. 2018.
- SURENDRAN, S. et al. Myrcene—What Are the Potential Health Benefits of This Flavouring and Aroma Agent? **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 400, 19 jul. 2021.
- TADROS, T. et al. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108–109, p. 303–318, 2004.
- TALLARIDA, R. J. The interaction index: a measure of drug synergism. **Pain**, v. 98, n. 1–2, p. 163–168, 1 jul. 2002.
- THOMAS, S. J.; YOON, I.-K. A review of Dengvaxia®: development to deployment. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, p. 1–20, 2019.
- TSITSANOU, K. E. et al. Anopheles gambiae odorant binding protein crystal complex with the synthetic repellent DEET: Implications for structure-based design of novel mosquito repellents. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 69, n. 2, p. 283–297, 2012.
- TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 40–53, 1 jan. 2013.
- VALTIERRA-DE-LUIS, D. et al. Potential for *Bacillus thuringiensis* and Other Bacterial Toxins as Biological Control Agents to Combat Dipteran Pests of Medical and Agronomic Importance. **Toxins 2020, Vol. 12, Page 773**, v. 12, n. 12, p. 773, 5 dez. 2020.
- VIEIRA SANTOS, V. S. et al. Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of pyriproxyfen. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 80, n. 3, p. 155–160, 1 fev. 2017.
- WALIA, N. et al. A low energy approach to develop nanoemulsion by combining pea protein and Tween 80 and its application for vitamin D delivery. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 2, p. 100078, 1 dez. 2022.

- WALKER, R. D.; ERSKINE HAWKINS, J. The Ultraviolet Absorption Spectra of Some Terpene Hydrocarbons. **Journal of the American Chemical Society**, v. 74, n. 16, p. 4209–4210, 1 ago. 1952.
- WANG, J. et al. Aedes aegypti Odorant Binding Protein 22 selectively binds fatty acids through a conformational change in its C-terminal tail. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–15, 2020.
- WHO. **Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors**. Geneva: [s.n.].
- WHO. Monitoring and managing insecticide resistance in Aedes mosquito populations. **Who**, v. 16, n. 10665, p. 7, 2016.
- WON-SIK CHOI, I. B.-S. P. S.-K. K. A. S.-E. L. REPELLENT ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS AND MONOTERPENES AGAINST CULEX PIPIENS PALLENS. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 18, n. 4, 2002.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. **World Health Organization**, p. 1–41, 2005.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. A global brief on vector-borne diseases. **World Health Organization**, n. September, p. 9, 2014.
- WU, I. Y. et al. Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 138, p. 105026, 1 out. 2019.
- XANTHIS, V. et al. Antioxidant and Cytoprotective Potential of the Essential Oil Pistacia lentiscus var. chia and Its Major Components Myrcene and  $\alpha$ -Pinene. **Antioxidants 2021, Vol. 10, Page 127**, v. 10, n. 1, p. 127, 18 jan. 2021.
- YANG, G. et al. Expression, purification and functional analysis of an odorant binding protein AegOBP22 from Aedes aegypti. **Protein Expression and Purification**, v. 75, n. 2, p. 165–171, 2011.
- YU, K.-X. et al. Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 8, n. 12, p. 1006–1012, dez. 2015.
- ZAFAR, Z. et al. Odorant Binding Proteins (OBPs) and Odorant Receptors (ORs) of Anopheles stephensi: Identification and comparative insights. **PLoS ONE**, v. 17, n. 3 March, p. 1–21, 2022.
- ZARA, A. L. DE S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 1 abr. 2016.
- ZHANG, H.; GEORGESCU, P.; HASSAN, A. S. Mathematical insights and integrated strategies for the control of Aedes aegypti mosquito. **Applied Mathematics and Computation**, v. 273, p. 1059–1089, 15 jan. 2016.
- ZIELIŃSKA, A. et al. Loading, release profile and accelerated stability assessment of monoterpenes-loaded solid lipid nanoparticles (SLN). **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 25, n. 7, p. 832–844, 8 ago. 2020.