



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À
FARMÁCIA

ANA CAROLINA BUENO

**APRIMORAMENTO DE MATRIZES POLIMÉRICAS NATURAIS PARA LIBERAÇÃO
CONTROLADA DE COMPOSTOS ATRATIVOS PARA *Lutzomyia longipalpis*
(DIPTERA, PSYCHODIDAE, PHLEBOTOMINAE)**

Araraquara

2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À
FARMÁCIA

ANA CAROLINA BUENO

**APRIMORAMENTO DE MATRIZES POLIMÉRICAS NATURAIS PARA LIBERAÇÃO
CONTROLADA DE COMPOSTOS ATRATIVOS PARA *Lutzomyia longipalpis*
(DIPTERA, PSYCHODIDAE, PHLEBOTOMINAE)**

Dissertação de mestrado sob orientação da Profa. Dra. Mara Cristina Pinto, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus de Araraquara, como requisito parcial para obtenção do Título de mestre em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Mara Cristina Pinto

Coorientador(a): Profa. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião

Araraquara

2022

B928a Bueno, Ana Carolina.
Aprimoramento de matrizes poliméricas naturais para liberação controlada de compostos atrativos para *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) / Ana Carolina Bueno. – Araraquara: [S.n.], 2022.
63 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Mara Cristina Pinto.
Coorientadora: Maria Palmira Daflon Gremião.

1. Sistema de liberação 2. Hexanol. 3. *Lu. longipalpis*. I. Pinto, Mara Cristina, orient. II. Gremião, Maria Palmira Daflon, coorient. III. 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



Dedico este trabalho a todos àqueles que
participaram desse processo junto a mim,
acreditando que esse sonho pudesse se tornar
realidade.



AGRADECIMENTOS

À Deus, pela oportunidade de ser cada vez melhor, por guiar os meus passos no caminho do Bem e me imantar de Princípios.

Aos meus pais, Lúcia e Francisco. Obrigada pelo dom da Vida, por serem exemplos de coragem e determinação, inspirando cada conquista alcançada.

Ao meu namorado Pedro. Obrigada por se doar a mim em todos os momentos compartilhados.

À orientadora Mara, por acreditar em meu potencial. Obrigada pelo acolhimento e por todos os ensinamentos. Obrigada por contribuir com minha formação profissional, por compartilhar seu conhecimento científico e, principalmente, por demonstrar humanidade.

À coorientadora Maria Palmira, que juntamente à Mara, contribuiu com considerações importantes deste trabalho. Obrigada por compartilhar o seu conhecimento e por tornar possível o desenvolvimento do estudo.

À minha família, principalmente aos meus avós. Obrigada por me ensinarem o caminho da Verdade e por contribuírem com meu desenvolvimento.

Aos meus amigos, os verdadeiros, àqueles que acreditaram em minha capacidade e que estiveram presentes nesse processo.

Aos integrantes do Laboratório de Parasitologia da FCFar, que me deram suporte e se mostraram disponíveis. Em especial ao Vicente, por toda mentoria e ensinamentos, obrigada pela sua dedicação neste trabalho. À Flávia, por desempenhar o cuidado com a colônia para que fosse possível os estudos em túnel de vento.

Aos integrantes do Laboratório da Farmacotécnica da FCFar por disponibilizar os equipamentos para que fosse possível desenvolver o objeto de estudo do presente trabalho. Em especial à Fernanda por todas as contribuições relevantes, obrigada por compartilhar seu conhecimento técnico, pela empatia e disposição.

Ao órgão de fomento CNPq – Código 001 – pelo financiamento do projeto.

E todos àqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.



“Compreender as coisas que nos rodeiam é a
melhor preparação para compreender coisas
mais além”.

Hipátia



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classificação dos semioquímicos.....	17
Figura 2. Fluxograma de desenvolvimento do trabalho.....	22
Figura 3. Formatos geométricos das matrizes poliméricas	23
Figura 4. Matrizes poliméricas acopladas às cápsulas de plástico para os testes de liberação controlada	25
Figura 5. Esquema de cortes das matrizes poliméricas para as visualizações microscópicas.....	26
Figura 6. Túnel de vento preparado e adaptado para avaliação da atratividade dos flebotomíneos com o Sistema 2 dentro de cápsulas	27
Figura 7. Teste inicial de liberação de compostos atrativos em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm ³ em condições de umidade natural.....	28
Figura 8. Média da taxa de liberação inicial do hexanol em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm ³ e em quatro sistemas de liberação, nas primeiras quatro horas (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural	29
Figura 9. Média da taxa de liberação inicial do octenol em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm ³ e em quatro sistemas de liberação, nas primeiras quatro horas (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural	30
Figura 10. Média da taxa de liberação inicial do nonanol em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm ³ e em quatro sistemas de liberação, nas primeiras quatro horas (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural	31
Figura 11. Diferenças das características físicas entre as matrizes poliméricas.....	32
Figura 12. Média da taxa de liberação do hexanol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm ³ em quatro sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3)	33
Figura 13. Média da taxa de liberação do octenol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm ³ em quatro sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural	34
Figura 14. Média da taxa de liberação do nonanol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm ³ em quatro sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural	35
Figura 15. Média da taxa de liberação do hexanol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm ³ em três sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade elevada	36



Figura 16. Média da taxa de liberação do hexanol em matrizes poliméricas no formato de 21 cm ³ acopladas às cápsulas de plástico e em três sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural	38
Figura 17. Sistema de liberação 3 não liofilizado completamente	39
Figura 18. Média da taxa de liberação do hexanol em matrizes poliméricas no formato de 21 cm ³ acopladas às cápsulas de plástico e em três sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade elevada	40
Figura 19. Sistema de liberação 1: antes e após a incorporação do hexanol	41
Figura 20. Sistema de liberação 2: antes e após a incorporação do hexanol	41
Figura 21. Sistema de liberação 3: antes e após a incorporação do hexanol	42
Figura 22. Sistema de liberação 4: antes e após a incorporação do hexanol	42
Figura 23. Sistema de liberação 1: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x	43
Figura 24. Sistema de liberação 1: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x	43
Figura 25. Sistema de liberação 2: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x	43
Figura 26. Sistema de liberação 2: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x	43
Figura 27. Sistema de liberação 3: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x	44
Figura 28. Sistema de liberação 3: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x	44
Figura 29. Sistema de liberação 4: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x	44
Figura 30. Sistema de liberação 4: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x	44
Figura 31. Observação visual da permeação do hexanol com corante no formato de 21 cm ³	45
Figura 32. Repetição da média da taxa de liberação do hexanol no formato de 21 cm ³ acoplado à cápsula, (n=3), de 24 em 24 horas	46
Figura 33. Resposta comportamental de ativação das fêmeas de <i>Lu. longipalpis</i> para o hexanol inserido após 24, 48 e 72 h no Sistema de liberação 2 – formato 21 cm ³ – acoplado à cápsula (n=30, * p<0,05)	47
Figura 34. Resposta comportamental de atração das fêmeas de <i>Lu. longipalpis</i> para o hexanol inserido após 24, 48 e 72 h no Sistema de liberação 2 – formato 21 cm ³ – acoplado à cápsula (n=30, * p<0,05)	48



LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características das formulações do sistema de liberação de matrizes poliméricas de goma gelana (GG) e pectina (P).....	23
--	----



RESUMO

Flebotomíneos são insetos responsáveis pela transmissão dos agentes etiológicos das leishmanioses e são de difícil controle e monitoramento. A busca por iscas atrativas a fim de auxiliar nas coletas desses vetores, impulsiona estudos relevantes do ponto de vista epidemiológico. A ecologia química contribui com a investigação de novas alternativas de iscas atrativas, pois aborda possíveis substâncias químicas responsáveis pela interação entre organismos. Além da identificação de compostos atrativos, outra necessidade, dentro dessa área, é a forma como esses atrativos são liberados em campo. Em estudos prévios, foi desenvolvido um liberador a partir dos polímeros naturais, goma gelana e pectina para liberação de compostos atrativos para flebotomíneos e, o presente trabalho buscou o aprimoramento desse sistema de liberação. Foram desenvolvidas quatro formulações do sistema de liberação, alterando as proporções da goma gelana e pectina e a concentração do $AlCl_3$: Sistema 1 (1:1 3%), Sistema 2 (1:1 5%), Sistema 3 (4:1 3%) e Sistema 4 (4:1 5%). Nesses sistemas foram acrescentados compostos atrativos para *Lutzomyia longipalpis*, hexanol, octenol e nonanol, anteriormente estudados em laboratório. Foi possível identificar o formato que obteve melhor estabilidade na volatilização desses compostos: 21 cm³ – cilíndrico e achatado, além de compreender melhor os processos físicos e químicos envolvidos, como a capacidade de reutilização do material. Observou-se que a cada reuso, a liberação do 1-hexanol se tornou-se mais estável. Foi possível atingir a máxima estabilidade de liberação do 1-hexanol após introduzir as matrizes poliméricas em cápsulas de plástico e, conseqüentemente, aumentar o tempo de liberação do composto. O Sistema 2, introduzido em cápsula, apresentou ótimos resultados de liberação do 1-hexanol nas condições de umidade natural e elevada e também apresentou eficiência na atratividade de fêmeas de *Lu. longipalpis* nos testes em túnel de vento. Os resultados obtidos conferem um caráter promissor para a utilização desse sistema de liberação como iscas de captura para o vetor.

Palavras-chave: sistema de liberação; hexanol; *Lu. longipalpis*



ABSTRACT

Sandflies are insects responsible for transmitting etiological agents of leishmaniasis and are difficult to control and monitor. The search for attractive baits to assist the collection of these vectors drives relevant studies from an epidemiological point of view. In this way, chemical ecology contributes to the investigation of new alternatives of attractive baits, as it addresses possible chemical compounds responsible for the interaction between organisms. In addition to the identification of attractive compounds, another need within this area is how these attractants are released in the field. In previous studies, a release system from natural polymers of gellan gum and pectin to release attractive compounds for sandflies was developed, and the present work improved these release systems. Four formulations of the release system were developed, changing the proportions of gellan gum and pectin and the concentration of AlCl_3 : System 1 (1:1 3%), System 2 (1:1 5%), System 3 (4:1 3%) and System 4 (4:1 5%). In these systems, attractive compounds for *Lutzomyia longipalpis*, hexanol, octenol and nonanol, previously studied in the laboratory, were added. It was possible to select the best format that presents stability in the volatilization of these compounds: 21 cm^3 – cylindrical and flat; and understand the physical and chemical processes involved, such as the ability to reuse the material, with each reuse the release of 1-hexanol becoming more stable. It was possible to achieve maximum release stability of 1-hexanol after introducing the polymeric matrices into plastic capsules and, consequently, increasing the release time of the compound. System 2 introduced in a capsule presented excellent results of 1-hexanol release under natural and high humidity conditions and efficiency in the attractiveness of *Lu. longipalpis* females in the wind tunnel tests, providing a promising feature for their use as capture baits for the vector.

Keywords: release systems; hexanol; *Lu. longipalpis*



Sumário

1. Introdução	14
1.1. Flebotomíneos.....	14
1.2. Leishmanioses	14
1.3. Coleta de flebotomíneos: ecologia química como estratégia de captura.....	16
1.4. Sistema de liberação controlada de compostos atrativos.....	18
1.4.1. Polissacarídeos empregados na obtenção de sistemas de liberação	18
1.4.1.1. Goma gelana.....	19
1.4.1.2. Pectina	19
1.4.1.3. Reticulação iônica com cloreto de alumínio	20
2. Justificativa.....	20
3. Objetivos	21
3.1. Objetivos gerais.....	21
3.1. Objetivos específicos.....	21
4. Material e Métodos.....	22
4.1. Preparação de matrizes poliméricas	22
4.2. Avaliação da capacidade máxima de incorporação dos compostos nas matrizes poliméricas e taxas de liberação	23
4.2.1. Teste de liberação das matrizes em ambiente com umidade natural.....	24
4.2.2. Teste de liberação das matrizes em ambiente com alta umidade	24
4.2.3. Teste de liberação das matrizes dentro de cápsulas em ambiente com umidade natural	25
4.3. Avaliação físico-química das matrizes.....	25
4.3.1. Análise estrutural do sistema de liberação controlada	25
4.3.2. Perfil de permeação	26
4.3.2. Teste de reuso	26
4.4. Avaliação do sistema de liberação controlada no túnel de vento para atratividade de flebotomíneos.....	26
4.5. Análise estatística	28
5. Resultados	28
5.1. Preparação de matrizes poliméricas	28
5.2. Avaliação da capacidade máxima de incorporação dos compostos nas matrizes poliméricas e taxas de liberação	28



5.2.1. Teste de liberação das matrizes em ambiente com umidade natural.....	28
5.2.2. Teste de liberação das matrizes em ambiente com alta umidade	36
5.2.3. Teste de liberação das matrizes dentro de cápsulas em ambiente com umidades natural e elevada.....	38
5.3. Avaliação físico-química das matrizes.....	41
5.3.1. Análise estrutural do sistema de liberação controlada	41
5.3.2. Perfil de permeação	45
5.3.3. Teste de reuso	45
5.4. Avaliação do sistema de liberação controlada no túnel de vento para atratividade de flebotomíneos.....	46
6. Discussão.....	48
7. Conclusões.....	53
8. Perspectivas.....	54
9. Referências bibliográficas	54

1. Introdução

1.1. Flebotomíneos

Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) inclui insetos holometábolos, cujo ciclo de vida compreende as fases de ovo, larva (com quatro estádios), pupa e adulto (BRAZIL; BRAZIL, 2003). Os adultos raramente excedem 3,5 mm de comprimento corporal e ambos os sexos demandam de energia vinda dos carboidratos, obtidos em plantas. Na maioria das espécies, as fêmeas requerem pelo menos uma refeição de sangue para completar o desenvolvimento dos ovos e seu ataque ao hospedeiro é silencioso. Os adultos são principalmente ativos à noite e no início da manhã (MOLYNEUX; ASHFORD, 1983; TURCO, 2003; MAROLI et al., 2013).

Esses insetos são considerados vetores naturais de alguns agentes etiológicos causadores de doenças humanas e de animais, tais como protozoários do gênero *Leishmania* spp. (ALMEIDA et al., 2010). Até o momento, em nível mundial, foram registradas cerca de 1000 espécies de flebotomíneos, das quais 539 encontradas nas Américas e 282 no Brasil; entretanto, aproximadamente 70 espécies são suspeitas de atuarem como vetores da leishmaniose (BRAZIL et al., 2015; SHIMABUKURO et al., 2017; GALATI, 2018; GALATI, 2019).

Os métodos de controle e monitoramento desses insetos são voltados para a fase adulta, visto que as fases imaturas se desenvolvem em matéria orgânica no solo, sendo de difícil encontro (KILLICK-KENDRICK, 1999; SOARES; TURCO, 2003).

1.2. Leishmanioses

Existem basicamente dois tipos de leishmanioses, a leishmaniose visceral (LV), sendo responsável por cerca de 30 a 40 mil casos/ano em 83 países e a leishmaniose tegumentar (LT), com aproximadamente 1 milhão de casos/ano em 92 países, afetando principalmente a África, Ásia e América Latina, onde mais de 1 bilhão de pessoas vivem em áreas de risco de infecção (WHO, 2022). A LV ocorre por meio de uma evolução crônica, promovendo uma manifestação clínica mais severa e com alta taxa de letalidade caso não tratada. A LT pode evoluir para diversas formas, da cura espontânea para complicações mais graves de acordo com a espécie de *Leishmania* spp. O que torna essa doença um problema de saúde pública é principalmente devido ao impacto social que ela causa, aos efeitos colaterais do principal fármaco utilizado para seu tratamento, o antimoniato de N-metil glucamina, promovendo

uma ação principalmente sobre o aparelho cardiovascular, e a falta de novas estratégias para o controle do vetor (BRASIL, 2014; OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2017).

No Brasil, as principais espécies vetoras das *Leishmanias* spp. são: *Bichromomyia flaviscutellata* Mangabeira 1942, *Lutzomyia longipalpis*, *Lutzomyia cruzi* Mangabeira 1938, *Nyssomyia intermedia*, *Nyssomyia neivai* Pinto 1926, *Nyssomyia whitmani* Antunes & Coutinho 1939, *Nyssomyia umbratilis* (WARD; FRAIHA, 1977), *Psychodopygus wellcomei* (FRAIHA et al., 1971), e *Trichophoromyia ubiquitalis* (MANGABEIRA, 1942) (LAINSON et al. 1992; RANGEL; LAINSON, 2009; LAINSON, 2010; AGUIAR; VIEIRA, 2018).

No estado de São Paulo, o principal agente etiológico de LT é *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*, cujas principais espécies transmissoras são: *Nyssomyia intermedia*, *Nyssomyia neivai*, *Nyssomyia whitmani*, *Migonemyia migonei* e *Pintomyia pessoai* (SHIMABUKURO et al., 2010). Essas espécies são encontradas na região de Araraquara – SP, com exceção de *Ny. intermedia* (SHIMABUKURO et al., 2010). A espécie *Ny. neivai* já foi encontrada naturalmente infectada com *Leishmania* spp. no estado do Paraná (OLIVEIRA et al., 2011; NEITZKE-ABREU et al., 2014) e em Santa Catarina (MARCONDES et al., 2009). A espécie *Ny. whitmani* também foi encontrada naturalmente infectada no estado de Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008) e no Espírito Santo (ROCHA et al., 2010). A espécie *Mi. migonei* foi encontrada naturalmente infectada no estado do Rio de Janeiro (PITA-PEREIRA et al., 2005; CARVALHO et al., 2013) e no Ceará (QUEIROZ et al., 1994). A espécie *Pi. pessoai* foi encontrada naturalmente infectada no estado do Rio Grande do Sul (SILVA; GRUNEWALD, 1999) e em São Paulo (FORATTINI et al., 1972).

O principal agente etiológico da LV nas Américas é a *Leishmania infantum*, cujo principal reservatório urbano é o cão doméstico, que desempenha um papel fundamental na transmissão ao homem (MORENO et al., 2002). No Brasil, o principal vetor é a espécie *Lutzomyia longipalpis* (Lutz e Neiva, 1912) (COSTA., 2005), que incide em todas as regiões do país, principalmente em áreas urbanas (XIMENES et al., 2000; SOUZA et al., 2009; BRAZIL, 2013; RODRIGUES et al., 2014). Outro vetor importante na transmissão de *Leishmania* spp é *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938), entretanto, esta espécie tem distribuição geográfica restrita nos estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (ALMEIDA et al., 2015).

A diversidade de espécies de vetores, bem como a de parasitos e seus reservatórios caracteriza grande complexidade para o controle e monitoramento das leishmanioses (KILLICK-KENDRICK, 1999). Os métodos de controle até então utilizados para LV são: diagnóstico e tratamento dos pacientes infectados, controle do reservatório canino (inquérito

sorológico e eutanásia em cães sororreagentes), bem como a aplicação de inseticidas. Para o controle de LT exclui-se apenas o sacrifício de reservatórios caninos (BRASIL, 2014). Para o monitoramento de flebotomíneos em regiões endêmicas ou não endêmicas, são utilizadas metodologias de captura, tais como casas experimentais com armadilhas de sucção e/ou adesivas para monitorar o comportamento desses insetos (KIRSTEIN et al., 2018) e uso de armadilhas luminosas para identificar novas espécies (SUKANTAMALA et al., 2016, XU et al., 2021).

1.3. Coleta de flebotomíneos: ecologia química como estratégia de captura

A falta de novas metodologias para o controle e monitoramento desses vetores, faz com que a principal e mais utilizada estratégia seja a coleta de flebotomíneos em campo. Dessa forma, alguns métodos são frequentemente utilizados, como os aspiradores de sucção; capturador de Castro; armadilhas adesivas ou ainda fazendo uso do aprisionamento dos insetos por meio de diferentes tipos de armadilhas com algum atrativo inserido (VILELA et al., 2003).

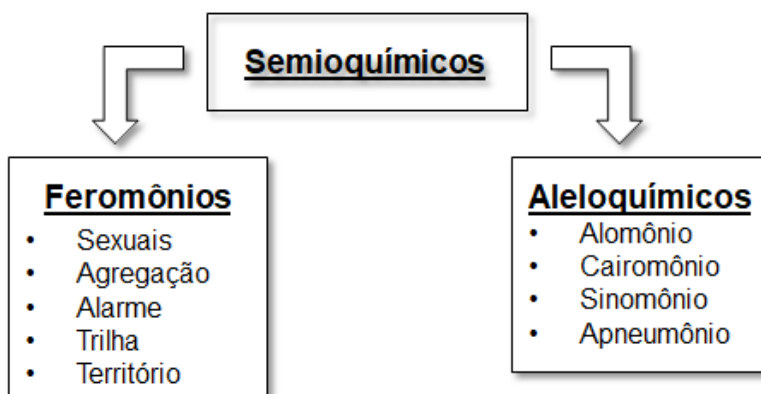
As armadilhas que utilizam a luz como atrativo são as mais adotadas para a coleta de flebotomíneos. Os insetos são atraídos pela luz e capturados através de um exaustor que os puxa para o interior de uma gaiola de tecido (CHANIOTIS; ANDERSON, 1968). Porém, dependendo da densidade de insetos na coleta, estes podem ser danificados ou mortos (VILELA et al., 2003), além de existir espécies de flebotomíneos que são mais fototrópicas e não necessariamente antropofílicas (ALEXANDER, 2000).

Os insetos são caracterizados por apresentarem resposta olfativa para a recepção de compostos químicos, sendo que para os insetos hematófagos, a identificação de compostos sinalizadores para o encontro da fonte de alimentação sanguínea é primordial no seu ciclo de vida (LOGAN; BIRKETT, 2007). Para a identificação e manipulação de tais compostos voláteis, utiliza-se da ecologia química como possível estratégia de controle e/ou monitoramento desses insetos.

A ecologia química é compreendida como o estudo ecológico da origem e função dos compostos químicos naturais que interferem nas interações dos organismos (HARBORNE, 2001). Esses compostos químicos que desencadeiam as respostas comportamentais são chamados de semioquímicos (Figura 1), e são subdivididos em feromônios, que promovem uma comunicação intraespecífica, ou seja, substâncias produzidas por uma espécie que estimulam uma reação em outro indivíduo da mesma espécie, e os aleloquímicos com

comunicação interespecífica, em que os sinais liberados são recebidos por indivíduos de outra espécie (BROWN et al., 1970; DICKE; SABELIS, 1988).

Figura 1. Classificação dos semioquímicos (ZARBIN; RODRIGUES, 2009).



Dentre os compostos caracterizados na categoria de aleloquímicos, os cairomônios são substâncias químicas voláteis produzidas por uma espécie que desencadeará uma resposta benéfica a outra espécie (BROWN et al., 1970). Em insetos de pragas agrícola, por exemplo, são importantes no processo de busca e seleção hospedeira por parasitoides, causando resposta comportamental e/ou fisiológica benéfica apenas ao seu receptor (BROWN; WHITTAKER, 1970).

Para os insetos hematófagos, alguns cairomônios, produzidos por vertebrados, como o dióxido de carbono (CO₂), o ácido láctico, amônia e o álcool 1-octen-3-ol (octenol) têm sido avaliados para diferentes grupos de insetos hematófagos como culicídeos, triatomíneos, ceratopogonídeos e simulídeos (TAKKEN; KLINE, 1989; GUIDOBALDI; GUERENSTEIN, 2016; ISBERG et al., 2017; VENKATESH; SEN, 2017; VEROCAI et al., 2017).

Bioensaios realizados em laboratório mostraram que o álcool insaturado octenol, um cairomônio produzido por bovinos (HALL et al., 1984) e na pele humana (BERNIER et al., 2000) foi atrativo para flebotomíneos (PINTO et al., 2012; MAGALHÃES-JUNIOR et al., 2014;). Estudos de campo confirmaram a atratividade do octenol para flebotomíneos (ANDRADE et al., 2008; PINTO et al., 2011).

Em experimentos realizados em túnel de vento (aparato que avalia a capacidade dos insetos serem ativados e atraídos para uma fonte de odor), foi avaliada a atratividade do ácido láctico, octenol, e álcoois de cadeia saturada para a espécie *Ny. neivai*. O ácido láctico não atuou como atrativo, enquanto o octenol mostrou-se fortemente atrativo (PINTO et al., 2012). Dos oito álcoois de cadeia saturada avaliados, o octenol e hexanol mostraram-se

fortemente atrativos para *Ny. neivai* (MACHADO et al., 2015). Para *Lu. longipalpis*, o octenol e nonanol obtiveram melhores respostas de atratividade para fêmeas sendo que para os machos, além dos dois compostos citados, o heptanol também foi atrativo (MAGALHÃES-JUNIOR et al., 2014). Os álcoois avaliados, com exceção do octenol, não são produzidos metabolicamente por vertebrados, mas foram identificados em suor humano após sua incubação, sendo produzidos por ação de bactérias (MEIJERINK et al., 2000). São também presentes em cogumelos (JONG; BIRMINGHAM, 1993) e diversas plantas (YAJIMA et al., 1985; PINO; BENT, 2013).

Nos estudos supracitados com flebotomíneos, tanto em laboratório como em campo, os álcoois foram colocados dentro de frascos onde barbantes embebidos promoviam a liberação por capilaridade. Esse método de liberação é bastante rústico e possui dificuldades de manipulação, além de que não há muitos estudos em campo que avaliem a atratividade de cairomônios para flebotomíneos no Brasil. Dessa forma, o desenvolvimento de novas estratégias para liberação de compostos atrativos, como com o uso de matrizes poliméricas, pode trazer grandes avanços para a área.

1.4. Sistemas de liberação de compostos atrativos

Alguns estudos na literatura foram capazes de desenvolver sistemas de liberação de compostos atrativos para insetos de importância agrícola ou epidemiológica (EIRAS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012; VIANA, 2018; MACHADO et al., 2020). E, portanto, foram pontuados alguns desafios no desenvolvimento desses sistemas, principalmente devido a utilização em situação de campo, por ser um ambiente imprevisível, com variações de temperatura, umidade, pluviosidade e ventos, o que dificulta uma liberação estável. Assim, o desenvolvimento de novos sistemas que permitam a modulação das taxas de liberação de compostos atrativos, em intervalos de tempo pré-estabelecidos e em razões constantes, representa um avanço para transpor os desafios apresentados.

1.4.1. Polissacarídeos empregados na obtenção de sistemas de liberação

Nos últimos anos, o uso de matérias-primas de origem natural tem se intensificado para satisfazer as necessidades de setores específicos da indústria. A exemplo, os polímeros são amplamente utilizados para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos e isso ocorre devido às características apresentadas de não apresentarem toxicidade, serem aceitáveis pelas agências reguladoras, possuírem relativo

baixo custo e serem amplamente disponíveis no meio ambiente (KULKARNI, 2011; BANERJEE et al., 2012; PREZOTTI et al., 2019).

A grande aplicação em diferentes campos através de polímeros hidrofílicos biocompatíveis e biodegradáveis se dá devido à tendência em interagir com outros polímeros e formar hidrogéis de rede tridimensional. Dessa forma, tais sistemas são capazes de entregar moléculas bioativas através da liberação controlada em uma constante taxa durante um período de tempo (SIEGEL; FIRESTONE, 1990; DONG; HOFFMAN, 1991; PEPPAS et al., 2000; CHANGEZ, 2003).

A escolha dos polímeros a serem utilizados deve ser bem fundamentada, pois isso influencia nas características físico-químicas do sistema de liberação (VASIR et al., 2003; PREZOTTI et al., 2019). Portanto, optar por materiais biodegradáveis, com elevada estabilidade, significa desenvolver sistemas de liberação com potencial eficiência no controle da entrega de compostos, como acontece com a goma gelana e pectina (BHARDWAJ et al., 2000; FRIEND, 2005; ORLU et al., 2006; ONOFRE et al., 2009; PREZOTTI et al., 2012).

A goma gelana e a pectina são considerados polímeros naturais hidrofílicos comumente utilizados em sistemas de liberação de fármacos. São capazes de formar géis que agem como barreira controladora da taxa de liberação dos fármacos, além de sofrerem modificações físico-químicas a partir da geleificação ionotrópica, alterando sua estrutura e propriedade (PREZOTTI, 2019).

1.4.1.1. Goma gelana

A goma gelana (GG) é obtida através da fermentação anaeróbica da bactéria *Sphingomonas elodea*. Trata-se de um exopolissacarídeo de carga negativa, cuja estrutura é caracterizada por unidades repetidas do tetrassacarídeo β -1,3-D-glicose, β -1,4-D-ácido glucurônico, β -1,4-D-glicose e α -1,4-L-ramnose (MORRIS et al., 2012).

Em sua forma desacetilada, a GG pode formar géis firmes, os quais com a adição de cátions divalentes ou trivalentes, como o Ca^{2+} e Al^{3+} , tornam-se mais flexíveis e resistentes (CHANDRASEKARAN et al., 1988; RINAUDO; MILLAS, 2000; RACOVITA et al., 2009). Portanto, a natureza hidrofílica e a capacidade de formar estruturas tridimensionais da GG, auxiliam na encapsulação e na regulação da liberação do atrativo, sendo um material promissor para aplicação em sistemas de liberação controlada (NARKAR et al., 2010).

1.4.1.2. Pectina

A pectina (P) é um polissacarídeo natural, aniônico, de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de α -D-ácido galacturônico (ITOH et al., 2007). Esse composto pode ser encontrado em diversas espécies vegetais, sendo responsável pela estrutura e sustentação da planta (SOUTO-MAIOR et al., 2010); é obtida a partir de tecidos frescos ou secos de frutas e vegetais por meio de processos extrativos, utilizando água quente, compostos quelantes e enzimas.

A pectina, em sua forma natural ou quimicamente modificada, em combinação com outros polímeros, naturais ou sintéticos, tem sido utilizada no desenvolvimento de sistemas matriciais na indústria farmacêutica (LIU et al., 2003; SOUTO-MAIOR et al., 2010). Encontra aplicação também na indústria alimentícia como espessante, estabilizante e geleificante (BIGUCCI et al., 2009; FISSORE et al., 2013).

1.4.2. Reticulação iônica com cloreto de alumínio

O cloreto de alumínio, cuja fórmula química é AlCl_3 , é um sal preparado pela adição de ácido clorídrico e alumínio metálico, que libera H_2 gasoso. Esse composto reage com a água e pode ser usado em produtos hidroalcolólicos e aquosos (BRASIL, 2020). Esse cátion, em contato com os polímeros aniônicos, GG e P, é capaz de formar ligações cruzadas intra e intermoleculares, reticulando o material e formando uma rede tridimensional. Este processo é chamado de geleificação ionotrópica (PREZOTTI et al., 2019).

Um estudo sobre filmes de alginato reticulados com diversos compostos, mostrou que a reticulação com alumínio (Al^{3+}) é eficiente, pois formaram-se filmes reticulados em todo seu volume, porém com flexibilidade limitada (VALERO, 2011). Em outro estudo, a fim de se obter uma matriz polimérica à base de alginato com diferentes agentes reticulantes, o alumínio foi capaz de estabelecer uma estrutura com interações fortes o suficiente para manter-se estável, levando a crer que exista uma maior compactação da rede polimérica e diminuição do tamanho ou quantidade de poros de tal matriz (PACHECO, 2016).

A partir disso, é possível observar que os íons Al^{3+} podem ligar-se a mais de dois segmentos da cadeia de polímeros, gerando mais pontos de reticulação na rede polimérica e causando restrição ao movimento da cadeia principal do polímero, reduzindo a rugosidade e a formação de poros grandes na matriz, contribuindo com a modulação do sistema (PACHECO, 2016).

2. Justificativa

Conforme visto, o atrativo comumente utilizado para coleta e monitoramento de flebotomíneos é a luz. Porém, existem desvantagens ao utilizar esse recurso, como mencionado anteriormente, fazendo-se necessário o desenvolvimento de novas alternativas mais eficazes para essa atividade. A ecologia química é capaz de promover novas fontes de captura desses insetos, sendo pouco explorada na literatura. Para esses estudos, investiga-se tanto os compostos atrativos quanto a melhor forma de dispensá-los em campo.

Em um projeto anterior, realizado pela Dra. Mara Cristina Pinto (Laboratório de Parasitologia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP) em colaboração com a Profa. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião (Laboratório de Farmacotécnica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP), os resultados apontaram que matrizes poliméricas de goma gelana e pectina apresentaram resultados interessantes como dispositivos para modulação das taxas de liberação de compostos atrativos para flebotomíneos e, que estes resultados sobrepujassem a eficiência de liberação dos compostos em barbante, metodologia comumente utilizada em campo (MACHADO et al., 2020). Partindo de seis formulações, duas foram escolhidas como as melhores para liberação do composto hexanol (4:1 3% e 4:1 3% + 1% glutaraldeído). Os resultados foram submetidos ao INPI para solicitação de patente: BR 10 2019 001965 4 (MACHADO et al., 2020).

Entretanto, no estudo descrito acima, mesmo nos dois melhores sistemas selecionados, foi observado que a liberação dos compostos não foi estável e constante, apresentando um pico de liberação nas primeiras horas, seguido de queda e posterior aumento das taxas de liberação. Diversos fatores envolvendo a geometria e organização estrutural da matriz poderiam estar relacionados ao comportamento observado.

Portanto, o presente projeto buscou dar continuidade aos estudos investigando inicialmente aspectos físicos e químicos das diferentes formulações do sistema de liberação desenvolvido, no intuito de torná-los estáveis por mais tempo, com comportamento de liberação do atrativo mais reprodutível, ou seja, objetivando um produto mais adequado à utilização em campo a fim de aumentar a eficiência de captura de *Lu. longipalpis*.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Aprimoramento de matrizes poliméricas de goma gelana e pectina para a liberação controlada de compostos atrativos – 1-hexanol, 1-octenol e 1-nonanol – para *Lu. longipalpis*.

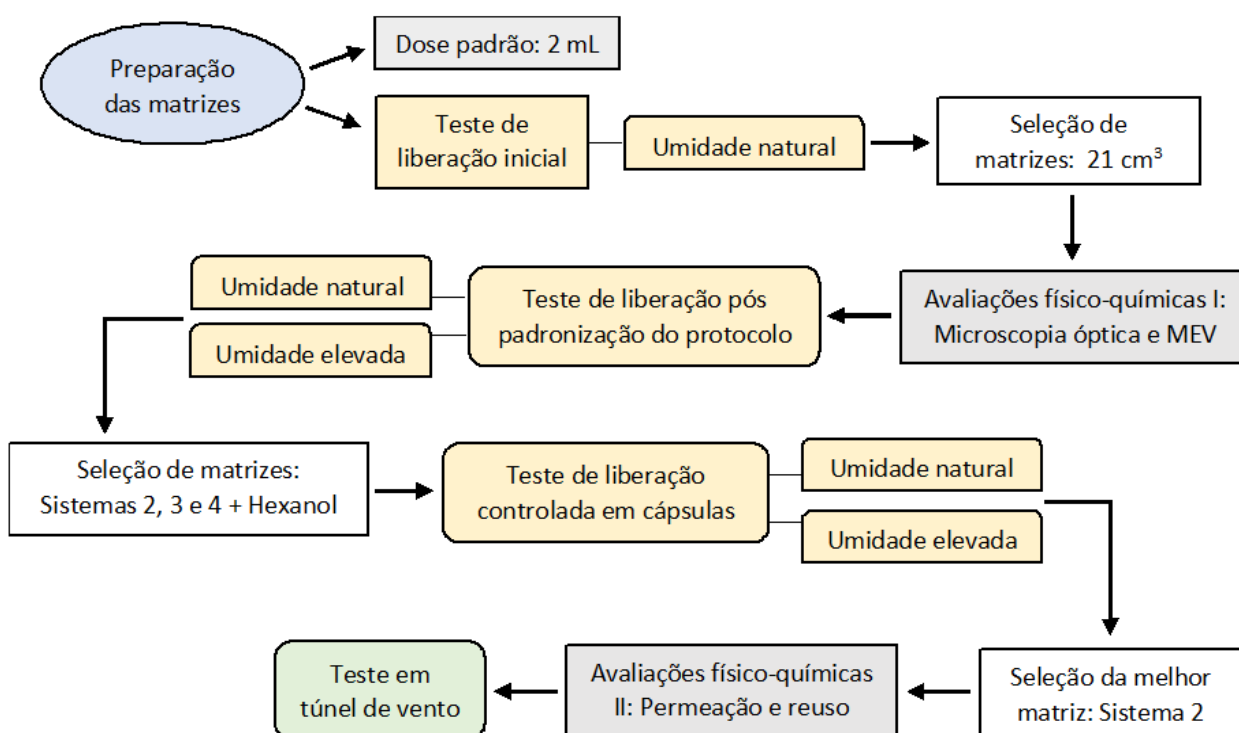
3.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito dos diferentes formatos geométricos das matrizes no perfil de liberação dos compostos;
- Aprimorar o sistema de liberação a fim de alcançar uniformidade física e estabilidade de liberação dos compostos atrativos;
- Avaliar como as diferenças de umidade do ambiente podem alterar a taxa de liberação dos compostos em matrizes poliméricas;
- Avaliar as características físico-químicas de quatro diferentes formulações do sistema de liberação de matrizes poliméricas;
- Avaliar o comportamento de atratividade de *Lu. longipalpis* em relação ao sistema previamente selecionado e impregnado com o composto atrativo que apresentou melhores resultados.

4. Material e métodos

O fluxograma abaixo indica as etapas do projeto (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma de desenvolvimento do trabalho.



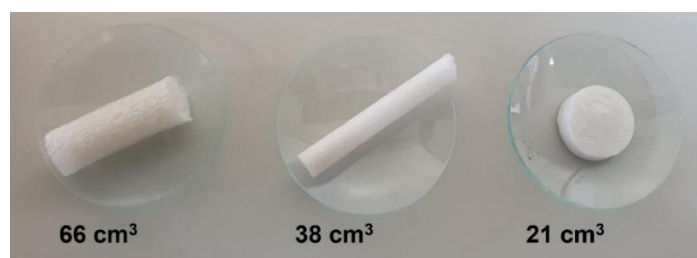
4.1. Preparação de matrizes poliméricas

O sistema de liberação utilizando matrizes poliméricas baseadas em polissacarídeos

naturais como goma gelana (GG) (CG-LA, 97%) e pectina (P) (LM-5206 CS, 99%) foram preparados em diferentes proporções (1:1 e 4:1, m:m) na concentração de 2% (m/V) e submetidos à reticulação iônica com cátion trivalente, AlCl_3 ($\geq 100\%$) a 3% ou 5%. O tempo de reticulação foi de 30 minutos, sob agitação magnética. Após esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. Todas as preparações foram mantidas em -20°C e posteriormente liofilizadas por 72 horas (PREZOTTI et al., 2014).

As matrizes foram moldadas em três diferentes formas geométricas (Figura 3): em tubo tipo Falcon de 66 cm^3 (cilíndrico e robusto), em tubo tipo Falcon de 38 cm^3 (cilíndrico e alongado) e em placas de seis poços, de aproximadamente 21 cm^3 (cilíndrico e achatado), seguindo as características do protocolo de desenvolvimento descritas na Tabela 1. Todas as matrizes foram confeccionadas em triplicata.

Figura 3. Formatos geométricos das matrizes poliméricas.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 1. Características das formulações do sistema de liberação de matrizes poliméricas de goma gelana (GG) e pectina (P).

Sistema de liberação	Proporção polímeros (GG:P)	Concentração AlCl_3
1	1:1	3%
2	1:1	5%
3	4:1	3%
4	4:1	5%

4.2. Avaliação da capacidade máxima de incorporação dos compostos nas matrizes poliméricas e taxas de liberação

Inicialmente foi avaliada a capacidade máxima que cada matriz seria capaz de absorver dos três compostos atrativos avaliados. Para isso, foram adicionados os álcoois 1-

hexanol, 1-octenol e 1-nonanol (Sigma – Aldrich; 98%) em uma faixa variável de 2 a 3 mL nas matrizes poliméricas com o auxílio de uma seringa, inserida no centro da matriz.

Após a padronização do volume a ser incorporado às matrizes poliméricas – 2 mL – os testes de liberação foram realizados, a fim de definir o sistema de maior estabilidade para dar continuidade aos estudos.

As matrizes foram conduzidas à pesagem em balança analítica antes e após a incorporação dos compostos e a taxa de liberação foi calculada pela diferença de peso nesses dois momentos. No teste inicial de liberação, as matrizes foram pesadas de 15 em 15 minutos por 4 horas e, posteriormente, de 24 em 24 horas até que a matriz retornasse ao seu peso inicial, em um ambiente com $\overline{\%UR}=52$ e $\overline{T^{\circ}C}=27$.

4.2.1. Teste de liberação das matrizes poliméricas em ambiente com umidade natural

A partir dos resultados do experimento anterior, de avaliação da capacidade máxima, e dos testes preliminares de liberação de compostos, foi definido que os experimentos seriam continuados com o formato cilíndrico e achatado, de 21 cm³, uma vez que foram observadas variações na estrutura física das matrizes (Figura 11), o protocolo de confecção das matrizes (seção 4.1.) foi alterado a fim de minimizar as diferenças físico-químicas e torná-las mais uniformes, prevendo uma padronização.

Para o novo protocolo, após a centrifugação, foi acrescentado 30-60 minutos de acondicionamento em geladeira comum, para evitar a segregação das moléculas, e posteriormente o congelamento a -20 °C, conforme o protocolo inicial. O tempo de liofilização foi reduzido para 40 horas.

Os experimentos para avaliação das taxas de liberação dos compostos nas novas matrizes foram realizados nas mesmas condições acima mencionadas, porém com pesagens das matrizes poliméricas de 1 em 1 hora por 24 horas e de 24 em 24 horas até retornar ao peso inicial, em um ambiente com $\overline{\%UR}=53$ e $\overline{T^{\circ}C}=28$.

4.2.2. Teste de liberação das matrizes poliméricas em ambiente com alta umidade

Após definido o volátil com melhores resultados de liberação (hexanol), uma nova avaliação do perfil de liberação foi conduzida em condições com maior umidade, com os sistemas previamente selecionados no teste anterior – Sistemas 2, 3 e 4, no formato de 21 cm³ – cujas taxas de liberação foram quantificadas através da pesagem seguindo o mesmo padrão anteriormente mencionado no item 3.2.1. Para isso, um ambiente controlado para simular a umidade e temperatura de um ecossistema tropical (BRASIL; WWF, 2005) foi

preparado com $\overline{\%UR}=81$ e $\overline{T^{\circ}C}=25$ com o uso de umidificadores a fim de manter a umidade do ar elevada. Para os controles foram utilizadas matrizes sem a incorporação do composto.

4.2.3. Teste de liberação das matrizes poliméricas dentro de cápsulas em ambiente com umidades natural e elevada

Com o intuito de tornar a volatilização dos compostos mais uniforme e estável, as matrizes foram colocadas no interior de cápsulas de plástico – 5 x 4 cm (altura x largura) – com fundo de alumínio (Figura 4). A taxa de liberação do hexanol foi quantificada de 1 em 1 hora por 15 horas, e de 24 em 24 horas até o total desprendimento do composto na matriz em ambas as condições de umidades natural – $\overline{\%UR}=47$, $\overline{T^{\circ}C}=27$ – e elevada – $\overline{\%UR}=80$ e $\overline{T^{\circ}C}=28$.

Figura 4. Matrizes poliméricas acopladas às cápsulas de plástico para os testes de liberação controlada.



Fonte: Próprio autor.

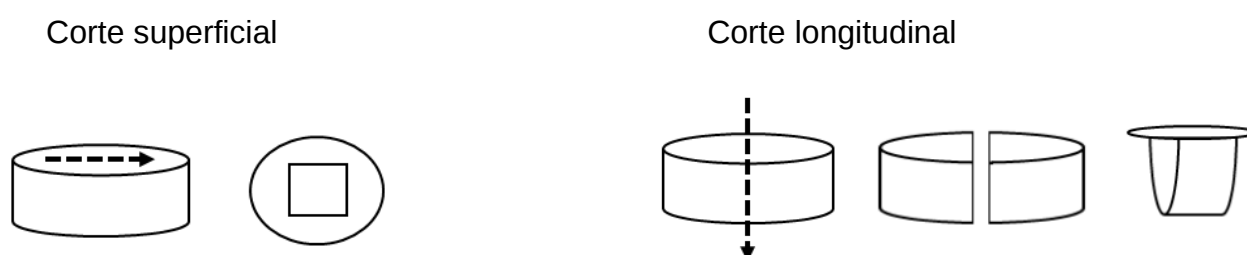
4.3. Avaliação físico-química das matrizes poliméricas

4.3.1. Análise estrutural do sistema de liberação controlada

A microscopia óptica foi utilizada para visualizar a estrutura física das matrizes antes e após a incorporação do composto. Dessa forma, o estereoscópio *Leica LAS M205* foi utilizado nos aumentos 1x, 2x e 4x – lente objetiva: 0.5x – e as imagens foram capturadas e digitalizadas pelo programa *Motic Advanced 3.2 plus*. Para a análise, foi feito um corte longitudinal nos quatro sistemas de 21 cm³ e introduzido o 1-hexanol após a primeira observação estrutural.

Uma outra análise realizada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG), permitiu capturar imagens dos poros dos quatro sistemas de liberação de 21 cm³. As amostras foram preparadas em cortes superficial e longitudinal (Figura 5) e inicialmente metalizadas em ouro por *sputtering* (pulverização catódica) por 2 minutos com potência de 10 mA através do equipamento BAL-TEC SCD 050, modelo T-STATION 75 (DA ROSA, 2010). Após este processo, os sistemas foram observados e fotografados pelo microscópio eletrônico de varredura (MEV-FEG) JEOL, modelo JSM7500F (DA ROSA, 2014) nos aumentos de 37x, 100x e 200x.

Figura 5. Esquema de cortes das matrizes poliméricas para as visualizações microscópicas.



4.3.2. Comportamento de permeação do composto atrativo

Para que a permeação do composto 1-hexanol na matriz pudesse ser observada visualmente, 0,5 g do corante vermelho Bordeaux foram adicionados ao hexanol. Como anteriormente, 2 mL dessa mistura foram inseridos na matriz do Sistema de liberação 2.

4.3.3. Teste de reuso das matrizes poliméricas

Com o intuito de avaliar a capacidade de reutilização das matrizes do Sistema 2, o composto 1-hexanol foi inserido na matriz selecionada e, como nos experimentos anteriores, a liberação foi avaliada com pesagens a cada 24 horas por 144 horas. Ao final desse tempo, as matrizes foram novamente preenchidas com o hexanol e esse processo foi repetido por seis vezes, em triplicata, e em condições de laboratório com $\overline{\%UR}=55$ e $\overline{T^{\circ}C}=27$.

4.4. Avaliação do sistema de liberação no túnel de vento para atratividade de *Lu. longipalpis*

Esse teste permitiu avaliar o comportamento biológico dos flebotomíneos frente ao sistema previamente selecionado. As fêmeas adultas de *Lutzomyia longipalpis*, oriundas da colônia da Saúde Pública de São Paulo, com 7 a 10 dias de vida – momento em que realizam

o repasto sanguíneo – e mantidas em colônia (GOULART et al., 2015), foram colocadas em grupos de três em dez gaiolas, utilizando um total de 30 insetos por teste, ensaio (com hexanol) e controle (sem hexanol). Os insetos foram retirados da alimentação de carboidratos 30 minutos antes dos experimentos.

O túnel de vento (Figura 6) foi devidamente preparado e higienizado para o início dos testes. Os insetos foram colocados a 50 cm de distância do estímulo, com fluxo de ar constante de 1 L/min e metodologia padronizada por Pinto et al. (2012), com $\overline{UR}=65\pm1\%$ e $\overline{T^{\circ}C}=22\pm1$.

A atratividade dos insetos ao sistema de liberação com o composto foi comparada ao sistema de liberação sem o composto (controle). Cada teste teve duração de dois minutos.

Os comportamentos analisados foram:

- Ativação: número de insetos que deixaram a gaiola de liberação;
- Atração: número de insetos que alcançaram a fonte de odor.

Os testes foram conduzidos avaliando o comportamento dos insetos de 24 em 24 horas após a inserção do hexanol no Sistema 2 acondicionado em cápsula de plástico.

Figura 6. Túnel de vento preparado e adaptado para avaliação da atratividade dos flebotomíneos com o Sistema 2 dentro de cápsulas.



Fonte: Próprio autor.

4.5. Análise estatística

As análises das taxas de liberação foram realizadas por Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo Teste de Múltiplas Comparações de *Tukey*. Para os testes comportamentais, os dados foram analisados pelo Teste Qui-Quadrado no programa *BioEstat 5.0*. Todos os gráficos foram gerados através do programa estatístico *GraphPad Prism 5.0*.

5. Resultados

5.1. Preparação de matrizes poliméricas

Foram desenvolvidas quatro diferentes formulações de sistema de liberação (Tabela 1), em três formatos geométricos, e em triplicata.

As matrizes de 66 cm³ foram descartadas por ser um formato que demanda mais material e maior tempo de liofilização em relação às demais. As demais matrizes, de 38 e 21 cm³, seguiram o protocolo para execução das próximas análises.

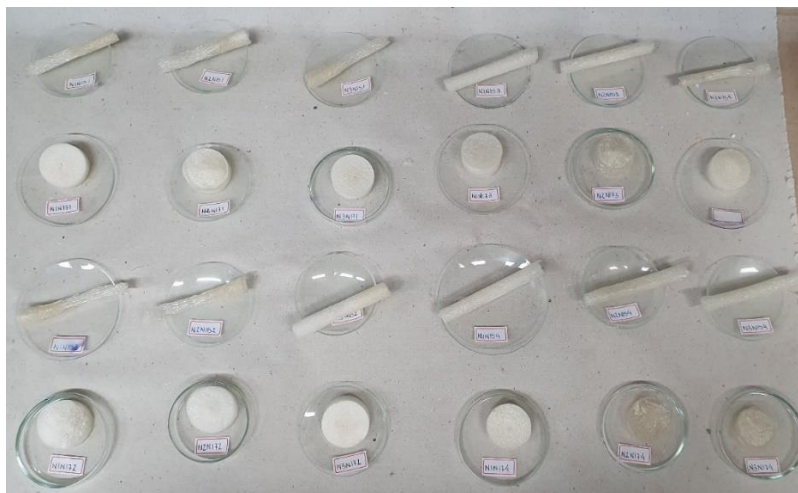
5.2. Avaliação da capacidade máxima de incorporação dos compostos nas matrizes poliméricas e taxas de liberação dos compostos atrativos

Os resultados para avaliar a capacidade máxima de incorporação dos compostos às matrizes indicaram que os sistemas de liberação 1 (1:1) e 3 (4:1) a 3% apresentaram maior capacidade de armazenamento dos compostos, o que permitiu introduzir uma quantidade superior de álcool. A fim de padronização, para os demais testes foi adicionado o volume de 2 mL em todos os sistemas.

5.2.1. Teste de liberação das matrizes em ambiente com umidade natural

Os testes preliminares de liberação, com as matrizes de 38 e 21 cm³ (Figura 7) e 2 mL dos compostos incorporados, permitiram identificar que o álcool 1-hexanol leva cerca de 10 a 14 dias para ser totalmente liberado na matriz e que os demais álcoois, 1-octenol e 1-nonanol não se esgotam completamente até o 14^o dia.

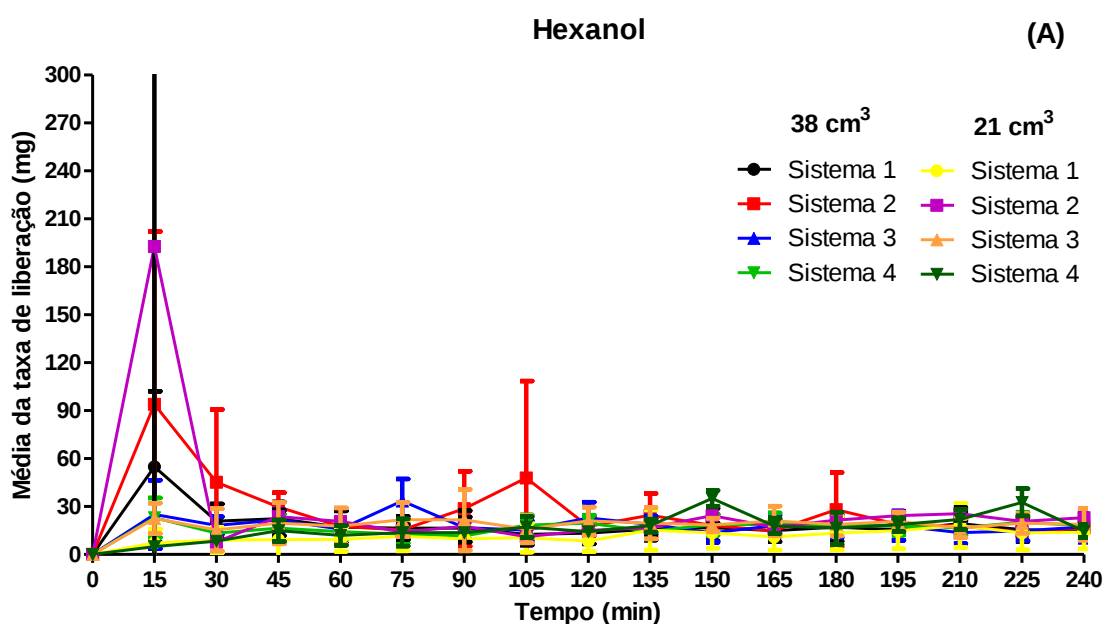
Figura 7. Teste inicial de liberação de compostos atrativos em matrizes poliméricas nos formatos de 21 (cilíndrico) e 38 cm³ (alongado) em condições de umidade natural.



Fonte: Próprio autor.

Os três compostos avaliados apresentaram grandes variações em suas taxas de liberação nas primeiras quatro horas, sendo que o octenol foi o que apresentou maior estabilidade no período (Figuras 8, 9 e 10). Não houve um padrão de liberação dos compostos em função do tamanho da matriz ou do sistema de liberação utilizado, apenas observam-se picos de liberação, especialmente nos primeiros 15 minutos para o hexanol, e na primeira hora para o nonanol.

Figura 8. Média da taxa de liberação inicial do hexanol em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm³ e em quatro sistemas de liberação, nas primeiras quatro horas (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural.



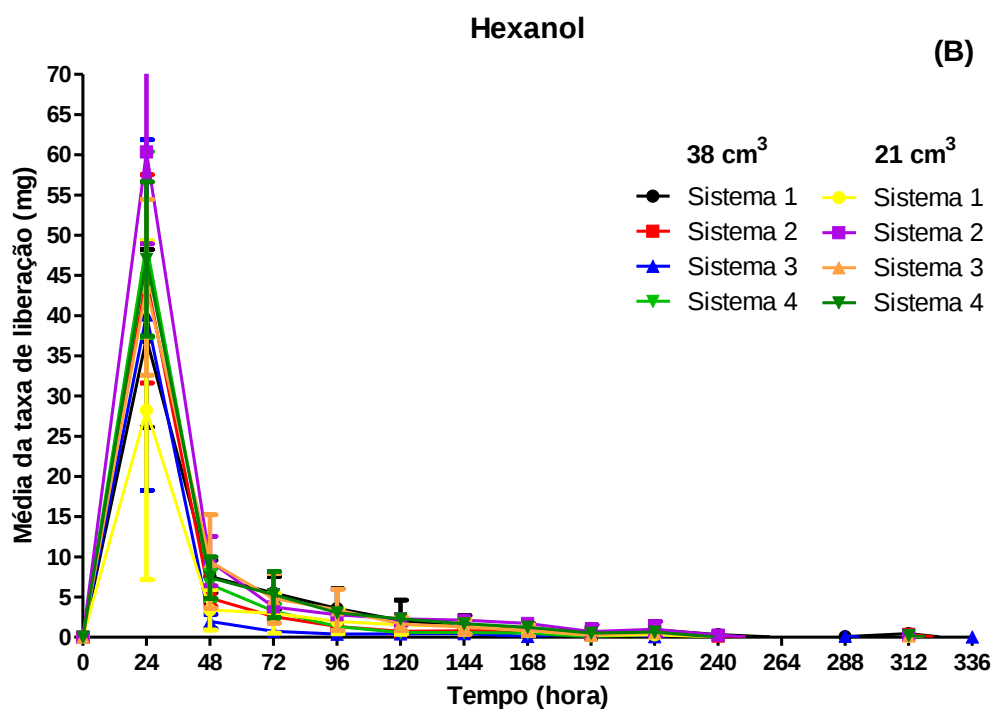
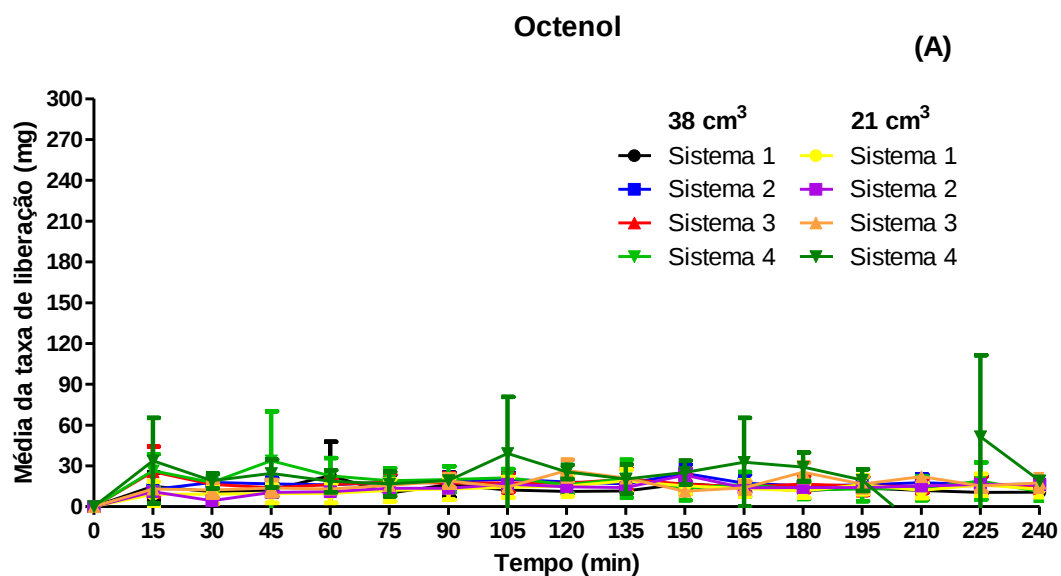


Figura 9. Média da taxa de liberação inicial do octenol em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm³ e em quatro sistemas de liberação, nas primeiras quatro horas (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural.



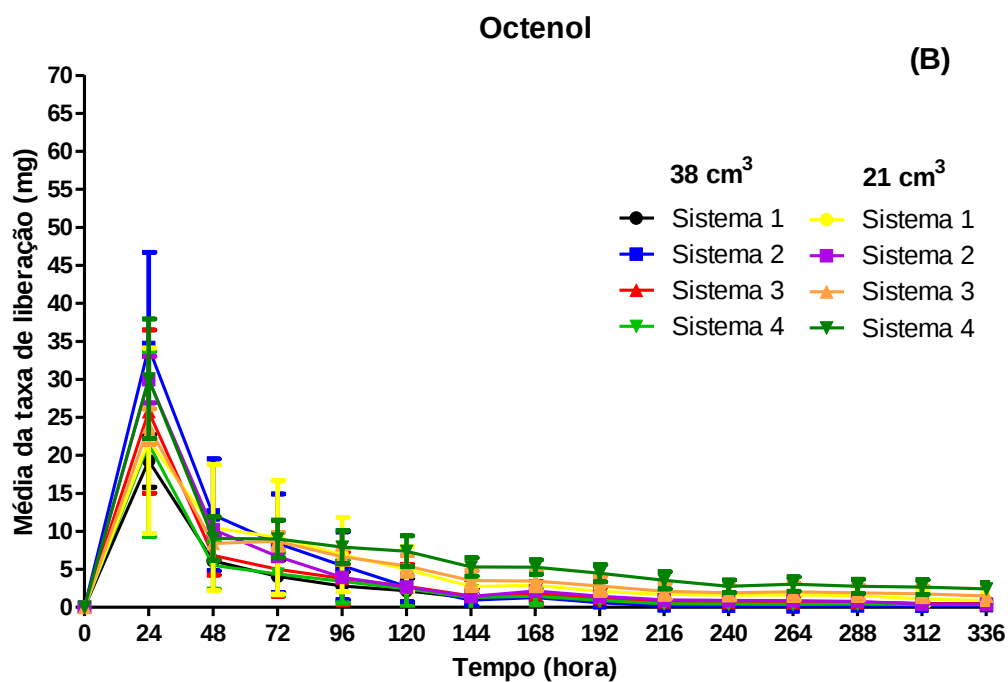
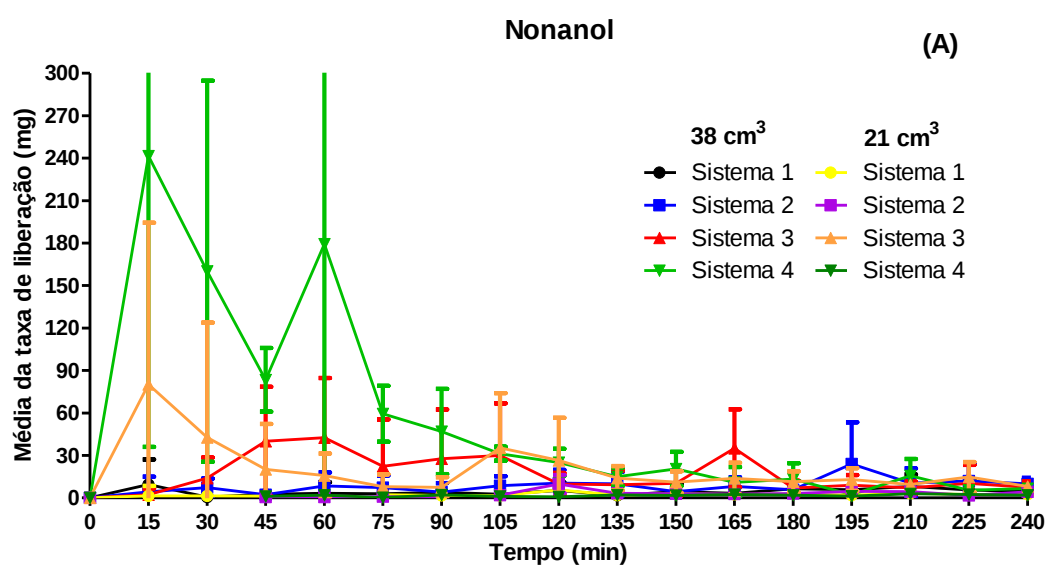
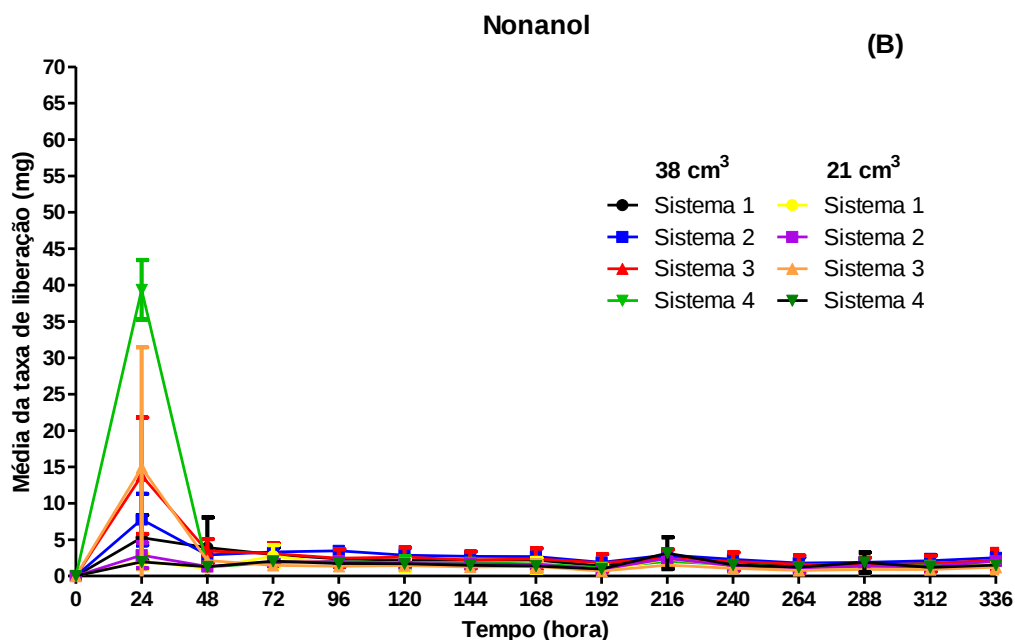


Figura 10. Média da taxa de liberação inicial do nonanol em matrizes poliméricas nos formatos de 21 e 38 cm³ e em quatro sistemas de liberação, nas primeiras quatro horas (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural.





O formato cilíndrico de 21 cm³ foi escolhido para dar continuidade aos estudos em virtude das matrizes apresentarem maior uniformidade nas características físicas em comparação com as matrizes do formato de 38 cm³. Entretanto, ainda se observavam diferenças morfológicas entre as matrizes de 21 cm³, sendo que algumas apresentavam maior ressecamento, independente da formulação do sistema de liberação utilizado (Figura 11). Por essa razão houve alteração no protocolo de confecção das matrizes, como relatado no item 3.2.1 de Material e métodos.

Figura 11. Diferenças das características físicas entre as matrizes poliméricas.



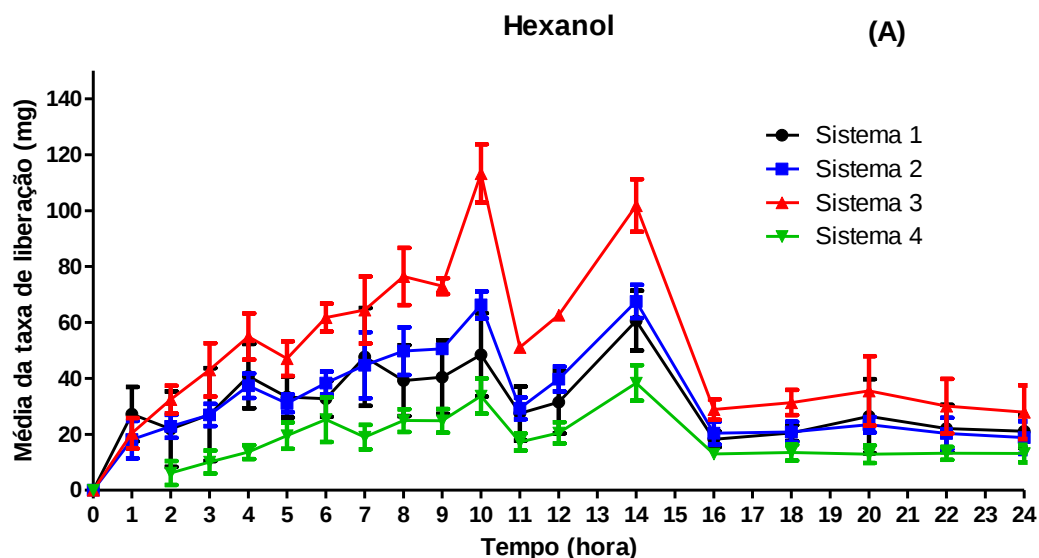
Fonte: Próprio autor.

No segundo teste, da taxa de liberação com a matriz no formato de 21 cm³, foram utilizados os mesmos sistemas de liberação (Tabela 1), nas condições anteriormente descritas. Embora o octenol e o nonanol não tenham sido liberados por completo das matrizes no teste inicial, foram novamente testados, uma vez que houve alteração no protocolo de manufatura das matrizes. Dessa forma, foi possível determinar que o 1-hexanol

foi o único composto que se esgotou nas matrizes entre 6 e 10 dias, enquanto que os demais álcoois, 1-octenol e 1-nonanol não se esgotaram completamente até o 14º dia de experimento (Figuras 12, 13 e 14).

Observa-se um padrão de liberação para cada composto avaliado, independente do sistema de liberação. De uma forma geral, o Sistema 3 apresentou maiores taxas de liberação com os três compostos avaliados nas primeiras 24 horas, e o Sistema 4 apresentou as menores taxas de liberação excetuando-se o nonanol. A partir da 16ª hora houve uma estabilização na liberação do hexanol e octenol.

Figura 12. Média da taxa de liberação do hexanol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm³ em quatro sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3).



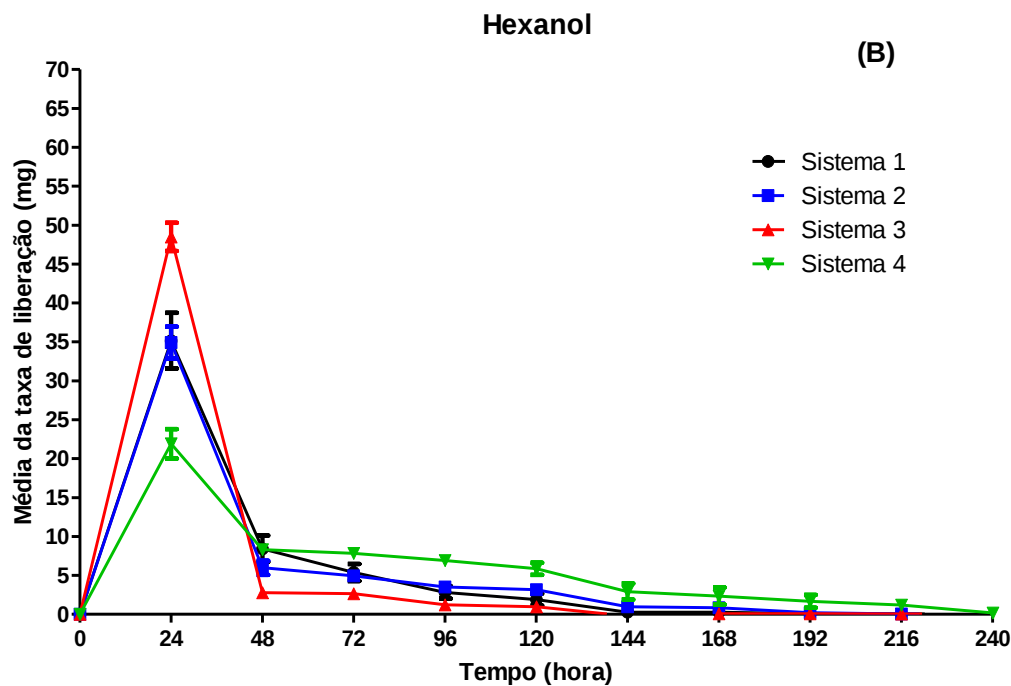
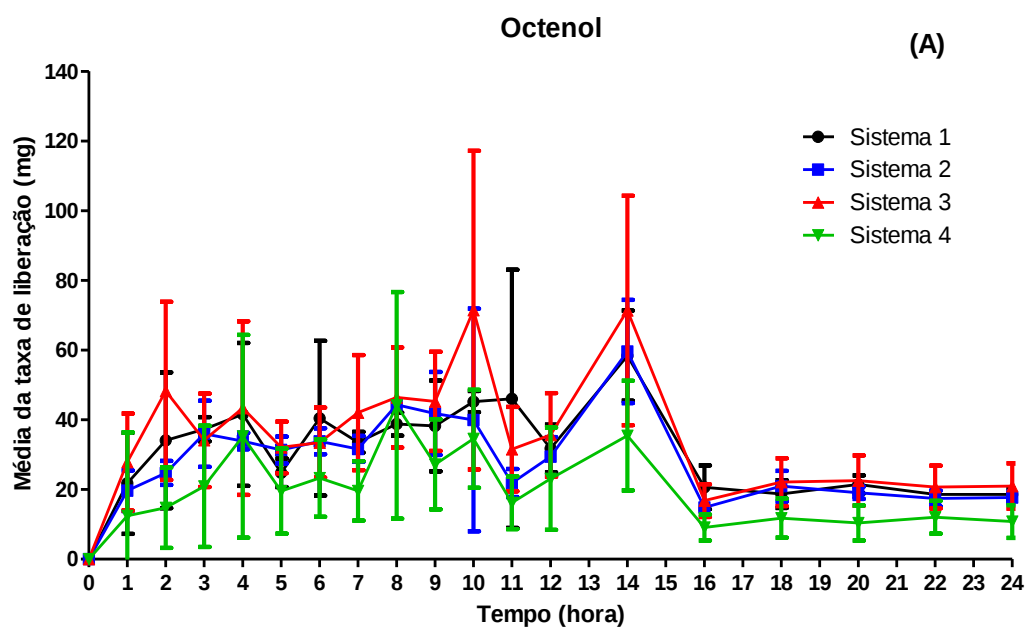


Figura 13. Média da taxa de liberação do octenol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm³ em quatro sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural.



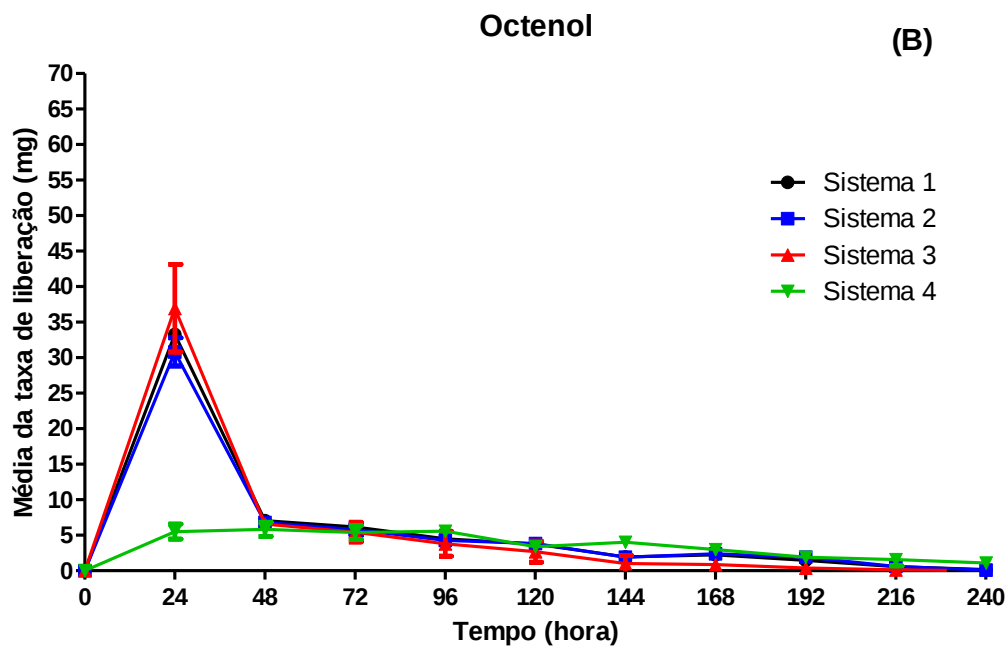
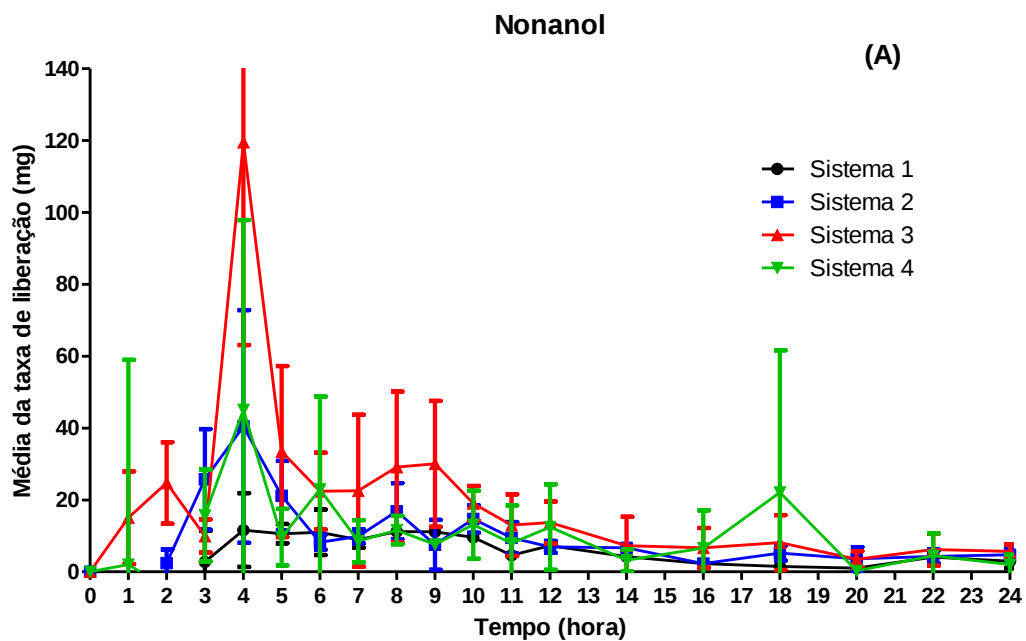
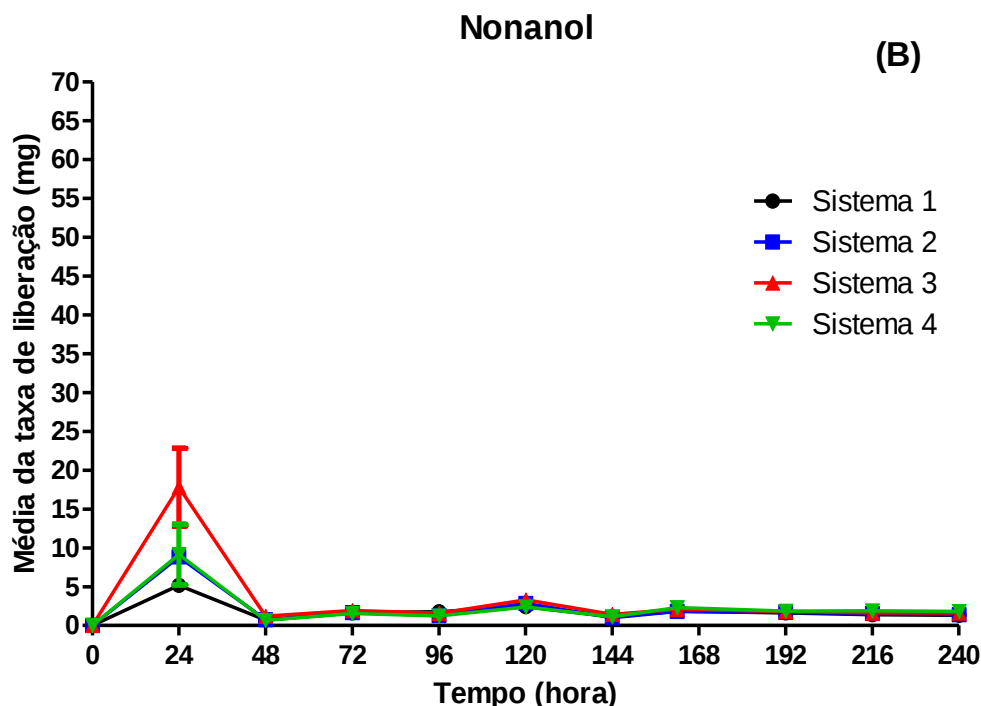


Figura 14. Média da taxa de liberação do nonanol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm³ em quatro sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural.



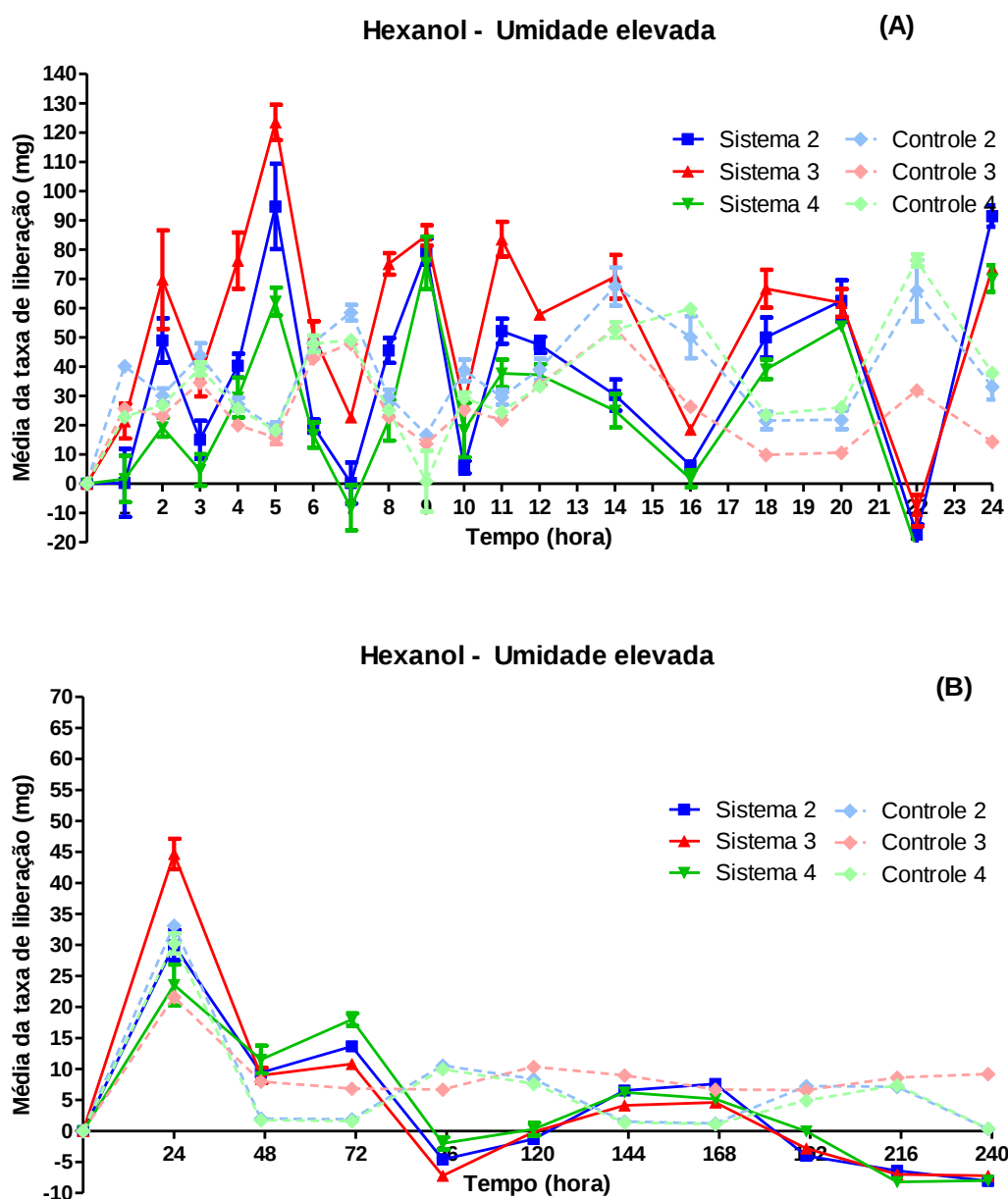


Conforme observado, o 1-hexanol é o composto que apresentou menores variações nas taxas de liberação dentre as replicatas, além de apresentar volatilização completa nas matrizes, o que não foi possível observar com os demais compostos e, portanto, foi escolhido para continuidade dos testes. Considerando que nos testes com o hexanol nas primeiras quatro horas, o Sistema de liberação 1 apresentou taxas de liberação muito próximas ao Sistema 2 e, nos testes a cada 24 horas foi o que primeiro que liberou todo o composto, foi decidido excluí-lo dos próximos testes.

5.2.2. Teste de liberação das matrizes poliméricas em ambiente com alta umidade

Considerando a elevada hidrofília dos polímeros utilizados, a umidade do ambiente pode interferir no grau de expansão da rede tridimensional que forma a matriz e, consequentemente, na liberação do composto nela contido. Portanto, os próximos testes foram realizados com o composto hexanol incorporado aos sistemas de liberação 2, 3 e 4 em ambiente de alta umidade (Figura 15 A e B).

Figura 15. Média da taxa de liberação do hexanol pós padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes poliméricas no formato de 21 cm³ em três sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade elevada.

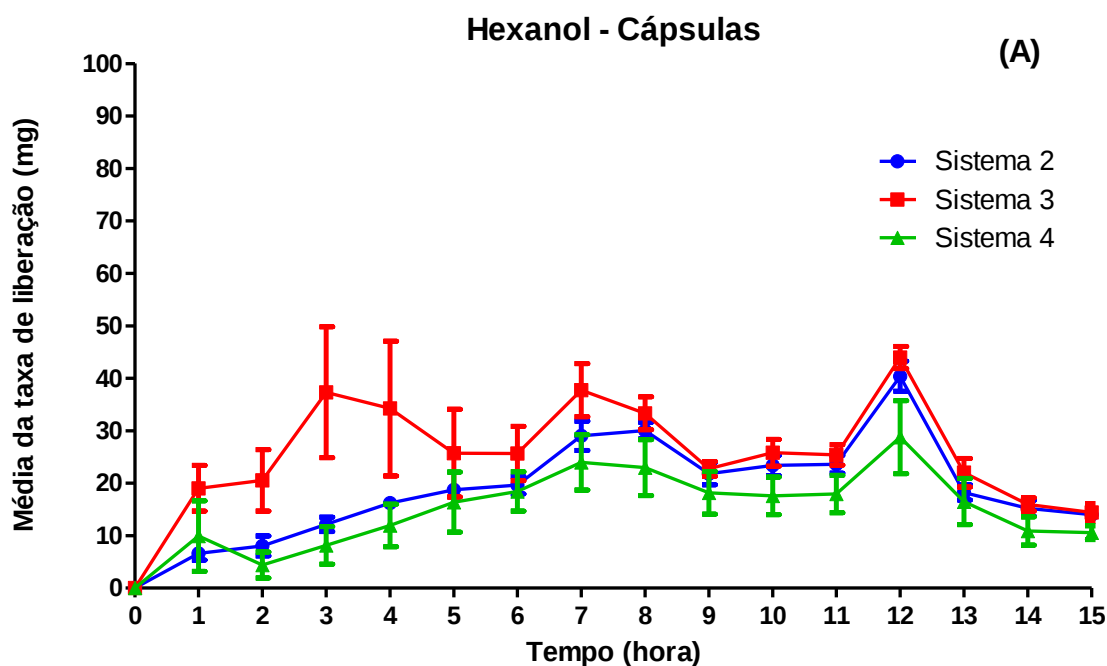


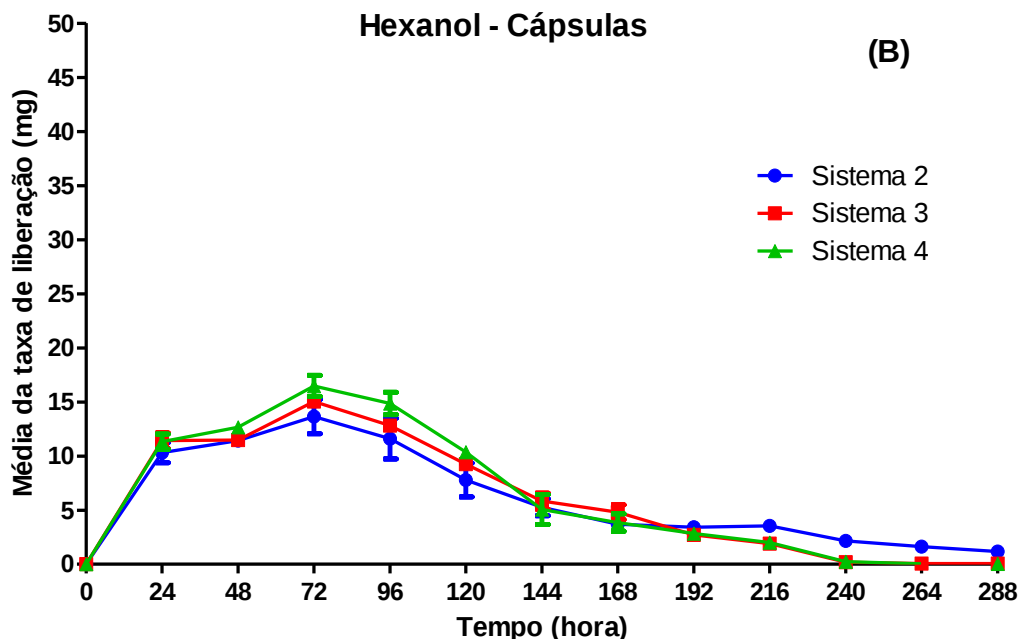
A avaliação do perfil de liberação em um ambiente de elevada umidade, $\overline{\%UR}=81$, indica que na 22^a hora o hexanol foi liberado por completo das matrizes, independente do sistema. Os resultados desses testes mostram que, apesar da variação no perfil de liberação de cada sistema em relação ao teste anterior, o padrão no comportamento de liberação das diferentes formulações foi o mesmo, com o Sistema 3 apresentando as maiores taxas de liberação e o Sistema 4 as menores. A continuidade das pesagens ao longo dos dias mostra a característica hidrofílica das matrizes, ou seja, de incorporação de água do ambiente nas matrizes.

5.2.3. Teste de liberação das matrizes poliméricas dentro de cápsulas em ambiente com umidades natural e elevada

A fim de melhorar a estabilidade e controle da taxa de liberação do hexanol, um novo teste foi realizado com o uso de cápsulas, cujas matrizes foram acondicionadas. Foi observado que os três sistemas de liberação tiveram um padrão no perfil de liberação, conforme visto anteriormente, e a estabilidade da volatilização foi melhorada tanto nas primeiras 15 horas de experimento, quanto de 24 em 24 horas até alcançar a completa liberação do composto nas matrizes em 10 a 12 dias (Figura 16 A e B).

Figura 16. Média da taxa de liberação do hexanol em matrizes poliméricas no formato de 21 cm³ acopladas às cápsulas de plástico e em três sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade natural.





Os sistemas de liberação 2 e 4 tiveram um perfil de liberação similar, havendo picos de liberação na 8^a e 12^a hora, com 30 e 20 mg/h e 40 e 30 mg/h, respectivamente. Foi visto que os três sistemas possuem comportamentos no perfil de liberação próximos no período de 24 em 24 horas, atingindo uniformidade e estabilidade na taxa de liberação do hexanol, cujo pico para ambos os sistemas ocorreu após 72 e 96 horas de experimento, com um média de aproximadamente 15 mg/h.

Considerando que os sistemas de liberação 2 e 4 possuem similaridade no perfil de liberação nas primeiras 24 horas, apenas o Sistema 2 foi selecionado para dar continuidade aos testes posteriores, por apresentar menor desvio padrão na liberação de hora em hora em relação ao Sistema 4. Ademais, o Sistema 3 também foi descartado devido ao elevado desvio padrão de volatilização de hora em hora entre as amostras e por apresentar dificuldades no processo de liofilização para o desenvolvimento das matrizes, caracterizado por falta de uniformidade e não liofilização completa da maioria das repetições, mesmo após a padronização do protocolo de desenvolvimento das matrizes (Figura 17).

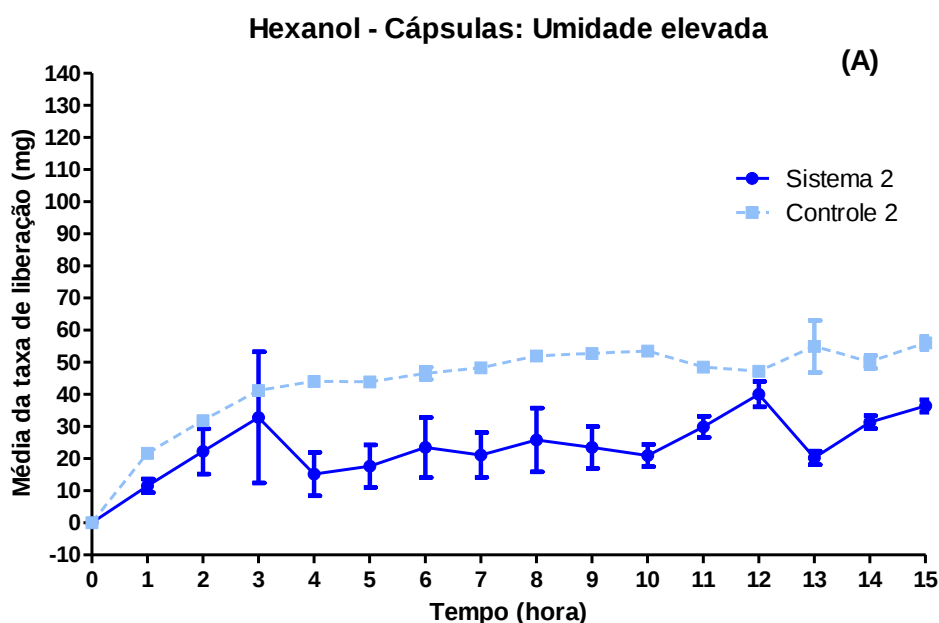
Figura 17. Sistema de liberação 3 não liofilizado completamente.

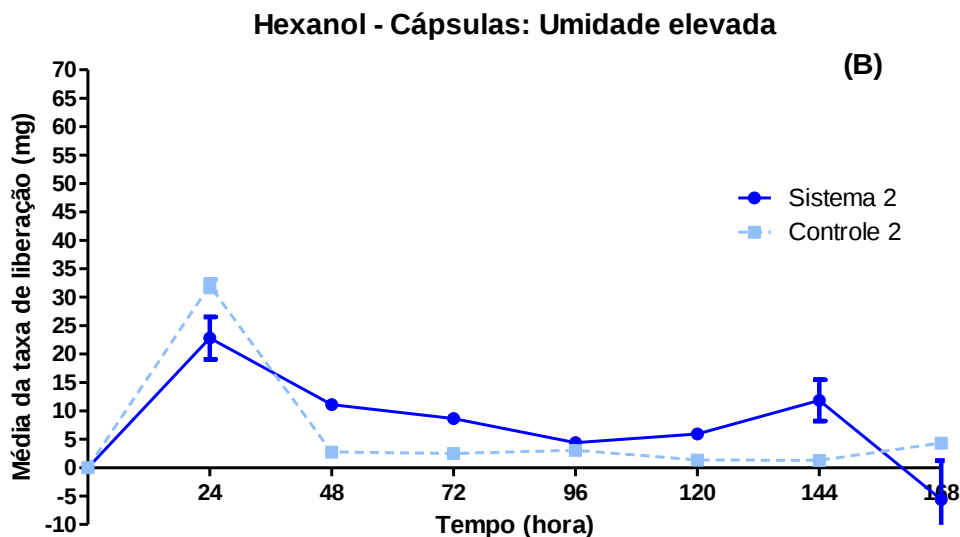


Fonte: Próprio autor.

Após a seleção do Sistema 2, o mesmo foi submetido a um novo teste de liberação com as matrizes acondicionadas em cápsulas em ambiente com alta umidade. Conforme a Figura 18 A, observou-se maior estabilidade nas taxas de liberação das matrizes do Sistema 2, com variação dos resultados, porém ao considerar a Figura 18 B a variação diminuiu, e então as taxas de liberação se aproximaram, e perduraram por mais tempo do que o teste com umidade alta sem as cápsulas. E o controle por sua vez, permaneceu com adsorção de água estável, atingindo maior pico nas primeiras 24 horas.

Figura 18. Média da taxa de liberação do hexanol em matrizes poliméricas no formato de 21 cm³ acopladas às cápsulas de plástico e em três sistemas de liberação a cada hora (A) e a cada 24 horas (B), (n=3), em condições de umidade elevada.





5.3. Avaliação físico-química das matrizes poliméricas

5.3.1. Análise estrutural do sistema de liberação controlada

As imagens de microscopia ótica das matrizes, antes e após a introdução do composto 1-hexanol, indicaram que não houve alterações na estrutura física das matrizes, ou seja, não houve degradação das mesmas, mantendo-se estáveis (Figuras 19, 20, 21 e 22). Isso significa que as matrizes possuem uma tendência a serem reutilizadas.

Figura 19. Sistema de liberação 1: antes e após a incorporação do hexanol.

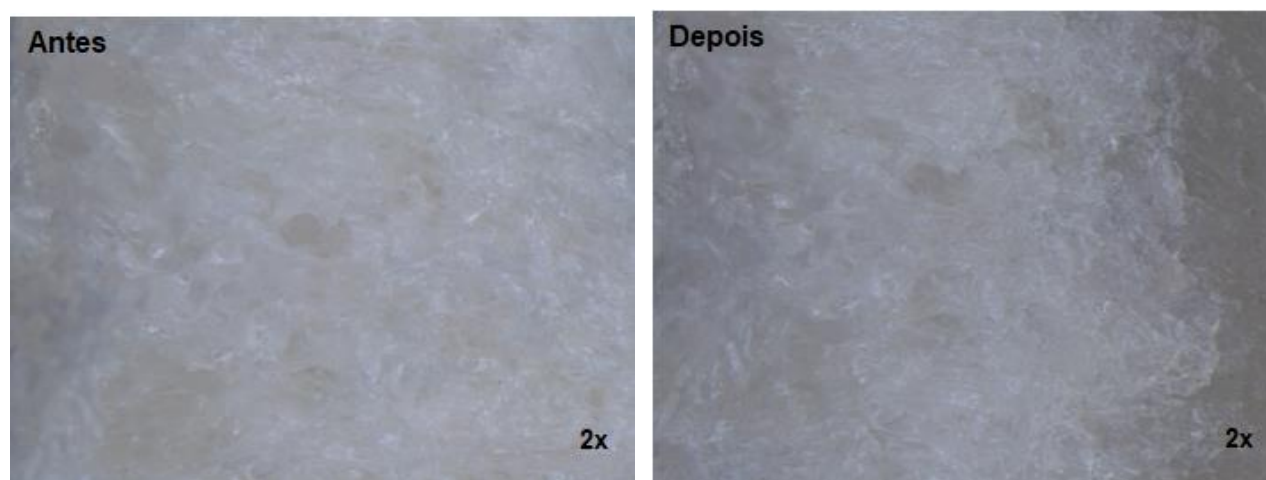


Figura 20. Sistema de liberação 2: antes e após a incorporação do hexanol.

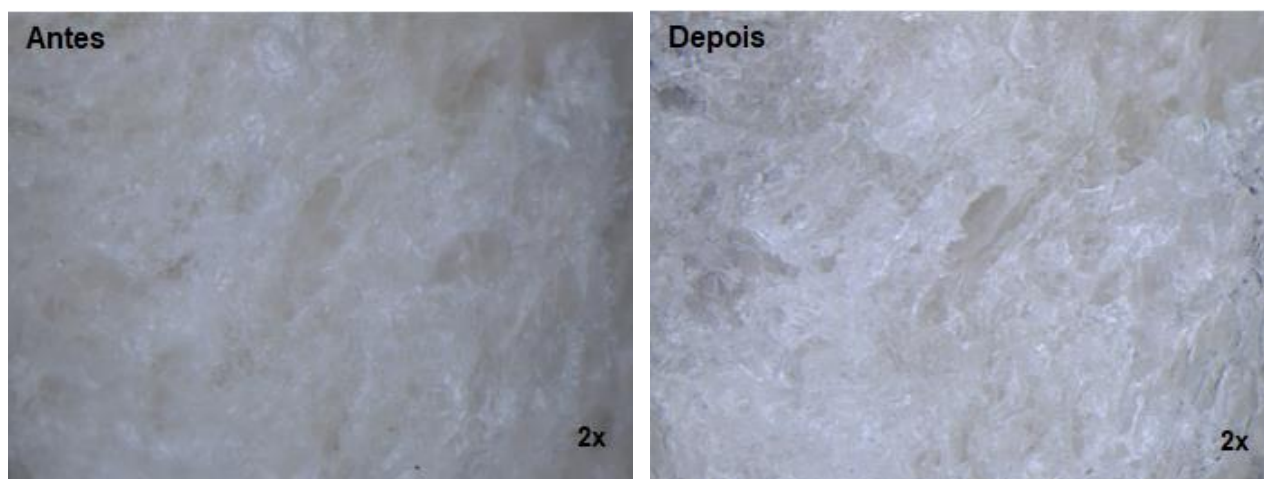


Figura 21. Sistema de liberação 3: antes e após a incorporação do hexanol.

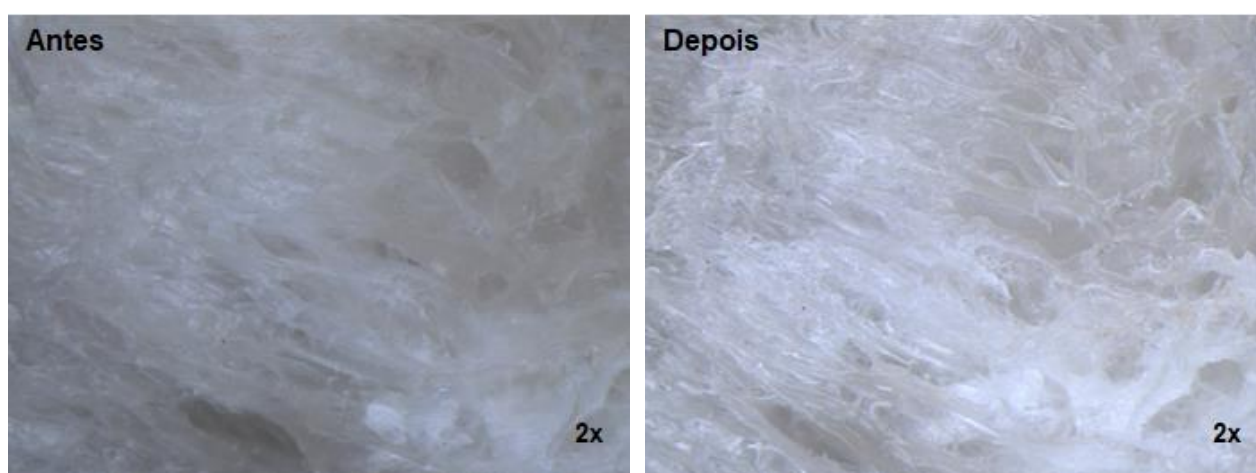
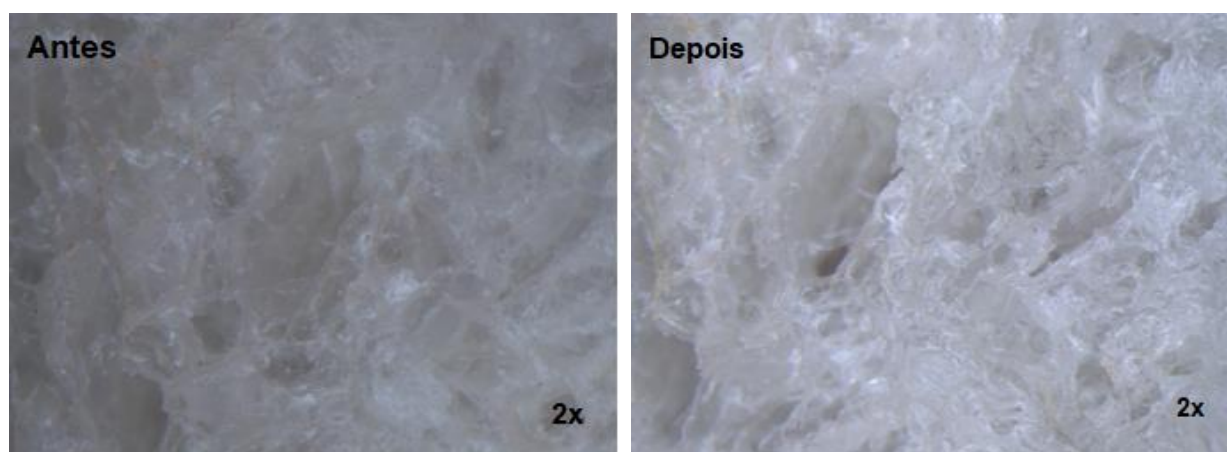


Figura 22. Sistema de liberação 4: antes e após a incorporação do hexanol.



Posteriormente, foram capturadas imagens por MEV nos aumentos de a) 37x, b) 100x e c) 200x dos quatro sistemas de liberação de 21 cm³ nas posições superficial e longitudinal.

A partir das figuras, foi possível observar que o Sistema 1 apresentou uma superfície mais rugosa e uma estrutura mais porosa, com poros menores, do que os demais sistemas (Figuras 23 e 24). O Sistema 2, por sua vez, mostrou semelhança na superfície rugosa ao

Sistema 3, porém com a presença de poros mais profundos. Ambos os Sistemas 2 e 3 apresentaram poros maiores que o Sistema 1, sendo que os poros do Sistema 3 demonstraram uma distribuição uniforme (Figuras 25, 26, 27 e 28). O Sistema 4 evidenciou maior regularidade superficial, ou seja, uma superfície mais lisa e densa; com menor quantidade de poros, porém maiores, mais definidos e profundos que os demais sistemas de liberação (Figuras 29 e 30).

Figura 23. Sistema de liberação 1: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x

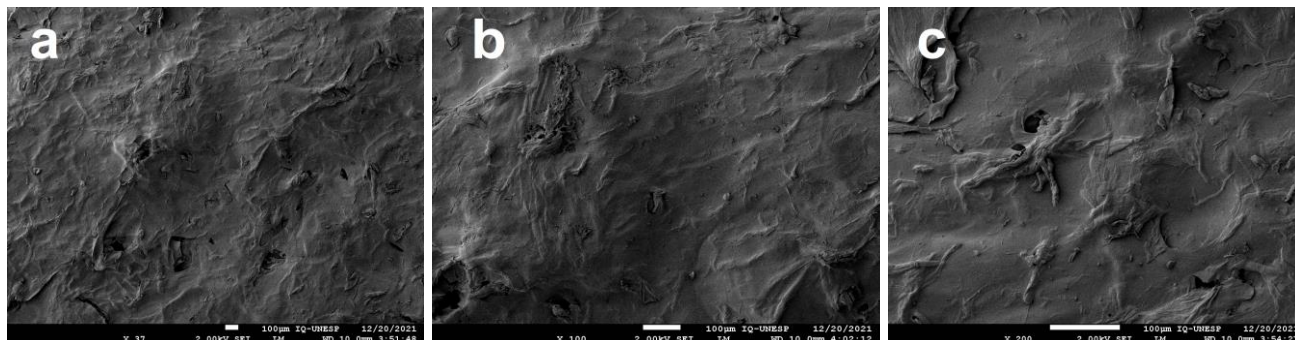


Figura 24. Sistema de liberação 1: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x

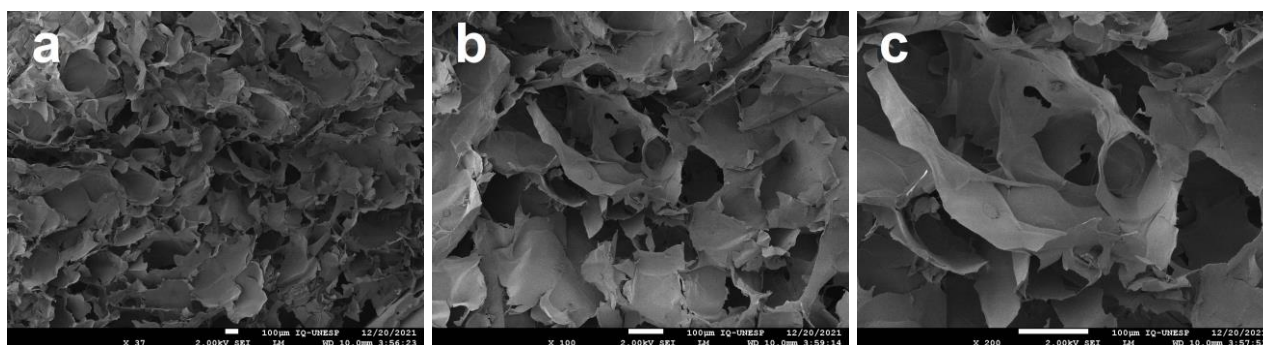


Figura 25. Sistema de liberação 2: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x Superfície.

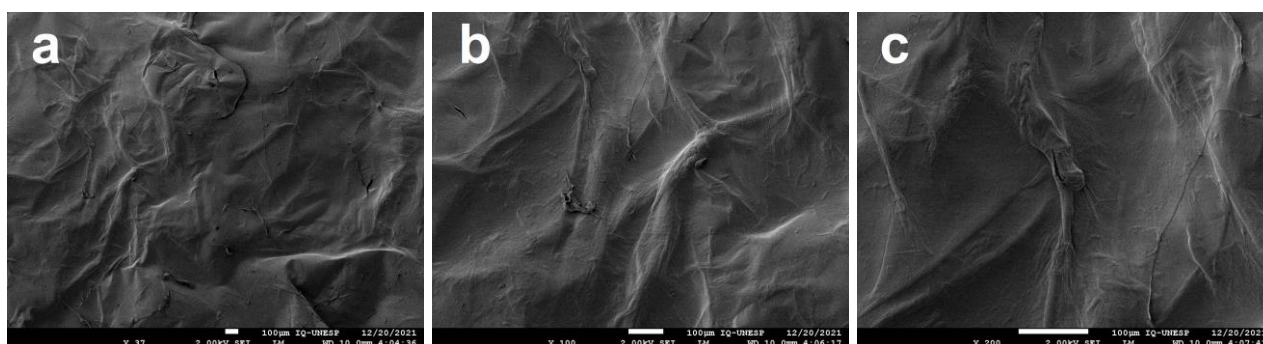


Figura 26. Sistema de liberação 2: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x

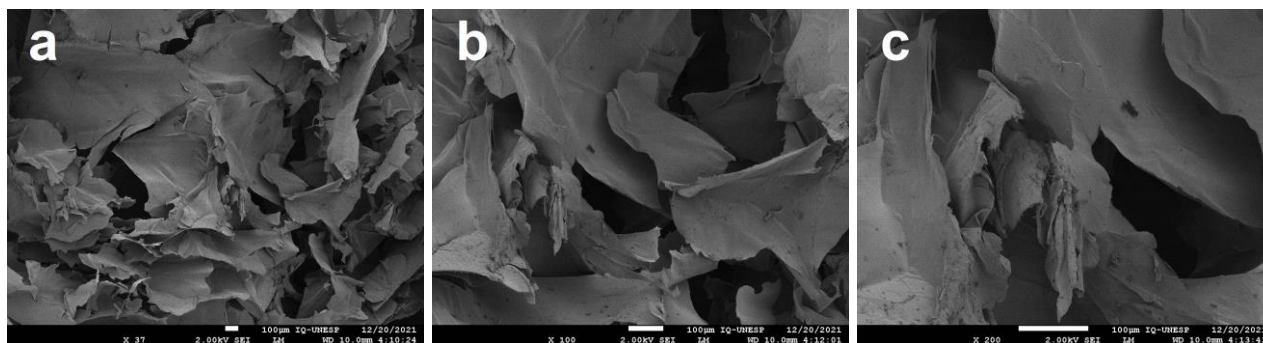


Figura 27. Sistema de liberação 3: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x

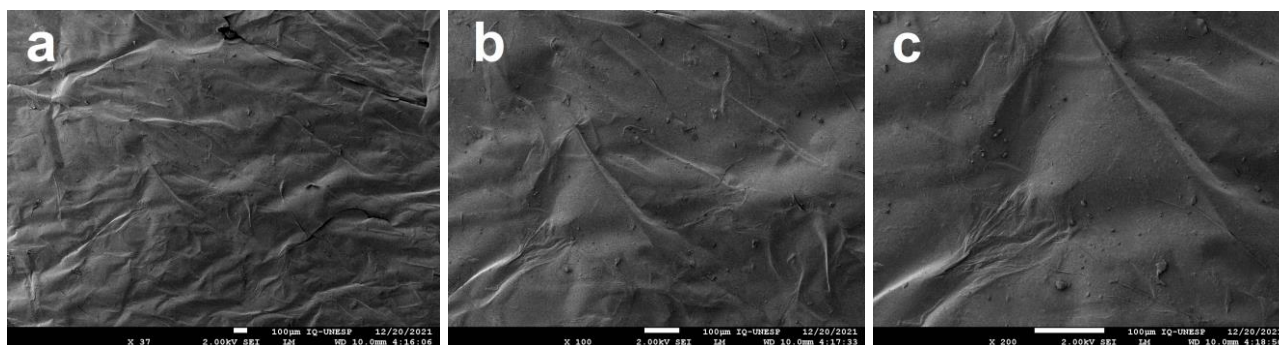


Figura 28. Sistema de liberação 3: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x

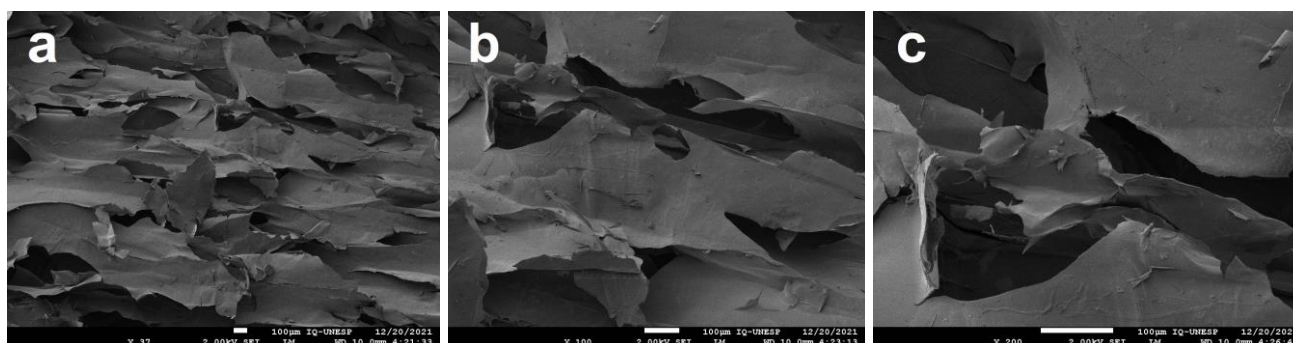


Figura 29. Sistema de liberação 4: Superfície; a) 37x, b) 100x e c) 200x

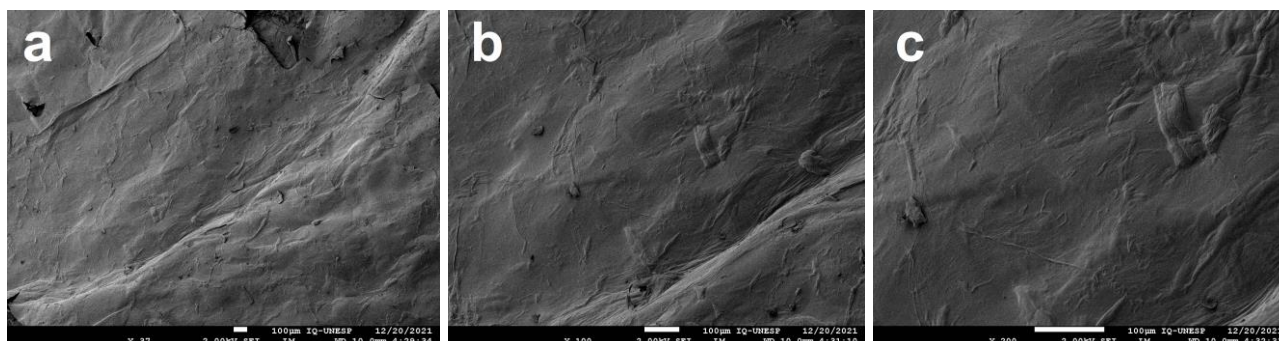
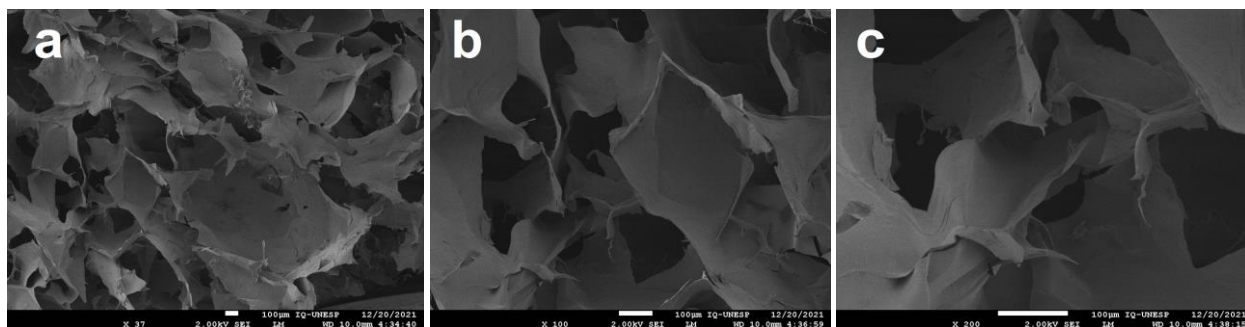


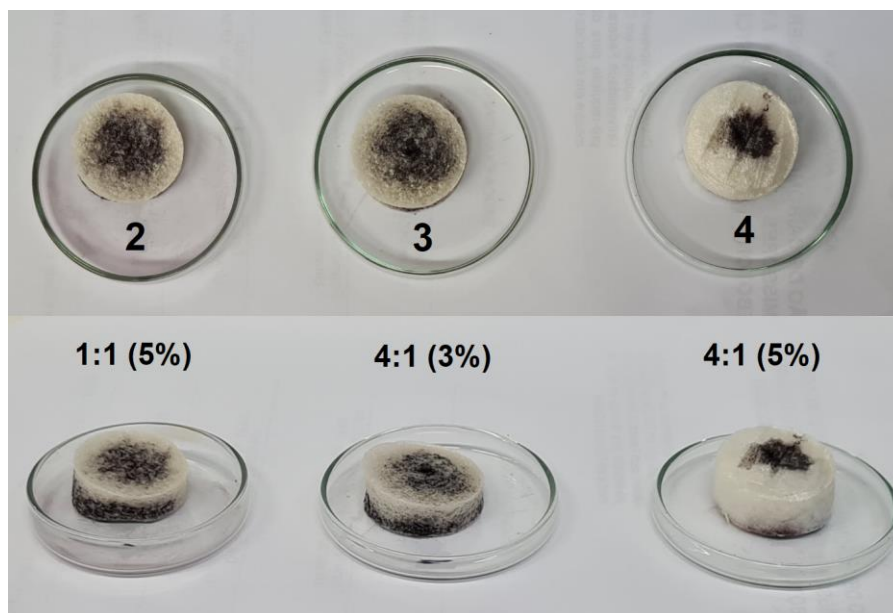
Figura 30. Sistema de liberação 4: Poros; a) 37x, b) 100x e c) 200x



5.3.2. Comportamento de permeação do composto atrativo

Conforme visto anteriormente, os sistemas de liberação 2 (1:1 5%) e 3 (4:1 3%) não apresentaram grandes diferenças microscópicas e nem de liberação do hexanol. O mesmo foi observado no teste visual da permeação do composto nas matrizes (Figura 31). É possível visualizar que existe a acomodação do hexanol em quase todo o espaço inferior dos Sistemas 2 e 3 e também um espalhamento superficial centralizado. Já no Sistema 4 (4:1 5%), o composto não atinge toda a parte inferior da matriz, o composto fica retido no interior dela, e o espalhamento superficial é centralizado e menor que os Sistemas 2 e 3.

Figura 31. Observação visual da permeação do hexanol com corante no formato de 21 cm³.



Fonte: Próprio autor.

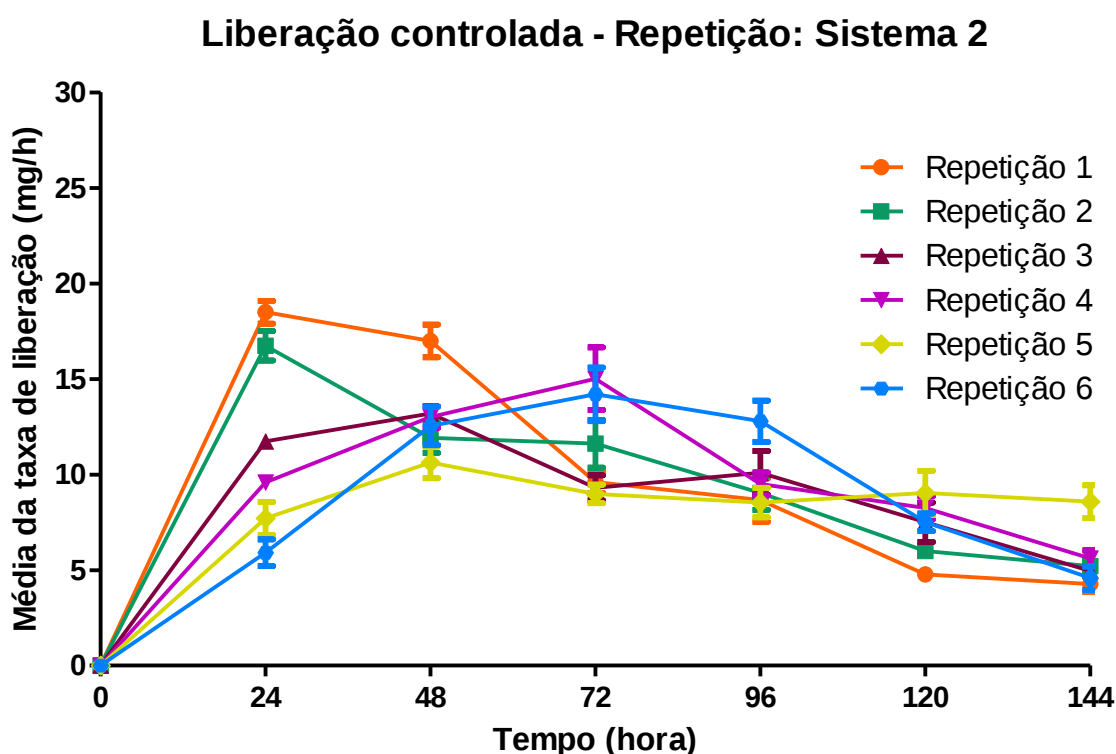
5.3.3. Teste de reuso das matrizes poliméricas

Considerando as matrizes poliméricas com potencial capacidade de reutilização, foram realizados repetidos testes de liberação das mesmas amostras do Sistema 2, a fim de

observar se o padrão de comportamento de volatilização do hexanol é alterado em determinado momento e determinar o nível de qualidade do material. Dessa forma, foi possível repetir seis vezes o teste de liberação em triplicata e em condições de laboratório.

Foi observado um comportamento semelhante de volatilização do hexanol nas repetições, havendo uma queda nos picos de liberação conforme a reutilização do material, porém mantendo um nível de estabilidade de desprendimento do volátil (Figura 32). As repetições 1 e 2 apresentaram maiores índices de liberação nas primeiras 24 horas, com uma taxa média de liberação de 17 mg/h. Já as demais repetições mostraram a capacidade de atingir maior estabilidade de volatilização do composto conforme a reutilização do material, com uma taxa média de liberação de 10 mg/h.

Figura 32. Repetição da média da taxa de liberação do hexanol no formato de 21 cm³ acoplado à cápsula, (n=3) de 24 em 24 horas.



5.4. Avaliação do sistema de liberação no túnel de vento para atratividade de *Lu. longipalpis*

Os testes em túnel de vento após 24, 48 e 72 horas da inserção do composto no Sistema 2 mostrou que houve diferença estatística entre o controle e o hexanol, ambos nos comportamentos de ativação e atração das fêmeas.

Para o teste de 24 h, o total de insetos ativados pelo controle e pelo atrativo foram de 4 e 19, respectivamente (X^2 : 15.8637, $p < 0.0001$), e o número de insetos atraídos pelo controle foi de 2 contra 17 pelo composto (X^2 : 17.3299, $p < 0.0001$), com taxa de liberação do hexanol durante o teste de aproximadamente 26,57 mg/h (Figura 33 e 34).

O teste de 48 h mostrou que o número de insetos ativados pelo controle e pelo atrativo foram de 1 e 16, respectivamente (X^2 : 18.4679, $p < 0.0001$), e 0 insetos foram atraídos pelo controle contra 10 pelo hexanol (X^2 : 12.0000, $p = 0.0005$), com taxa de liberação de aproximadamente 16,17 mg/h (Figura 33 e 34).

Para o teste de 72 h, o total de insetos ativados pelo controle e pelo atrativo foram 2 e 13, respectivamente (X^2 : 10.7556, $p = 0.0010$), e o total de insetos atraídos pelo controle foi 0 contra 7 pelo composto (X^2 : 7.9245, $p = 0.0049$), com taxa de liberação de aproximadamente 22,67 mg/h (Figura 33 e 34).

Figura 33. Resposta comportamental de ativação das fêmeas de *Lu. longipalpis* para o hexanol inserido após 24, 48 e 72 h no Sistema de liberação 2 – formato 21 cm³ – acoplado à cápsula (n=30, * $p < 0,05$).

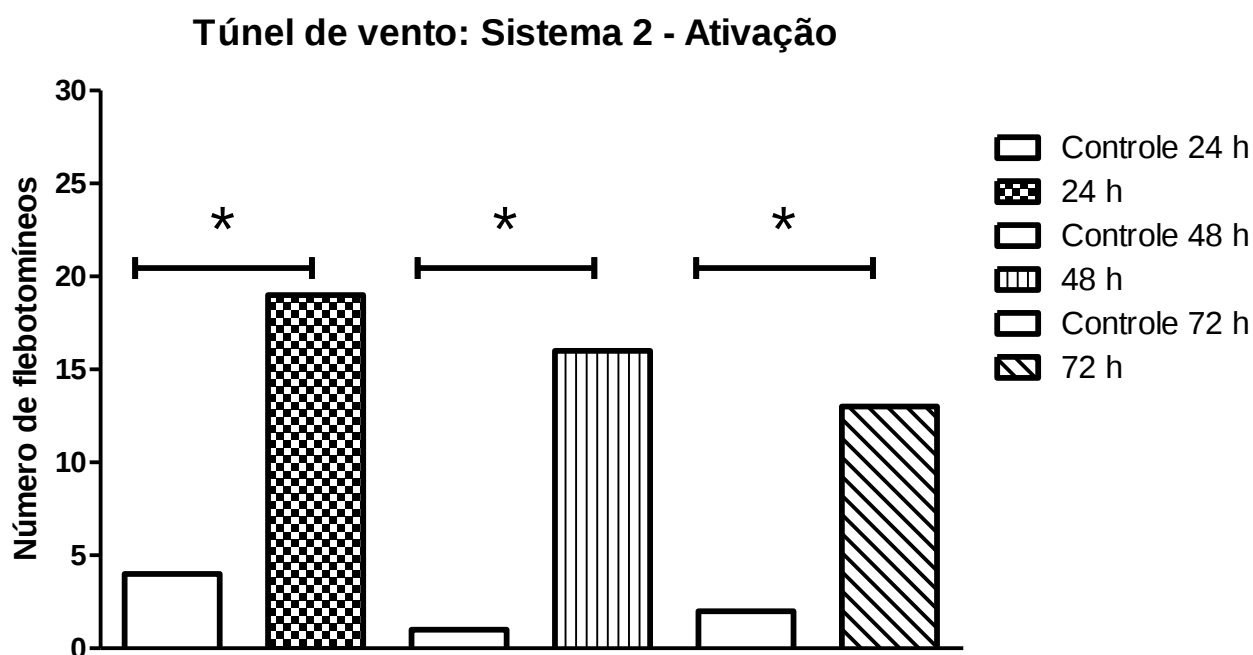
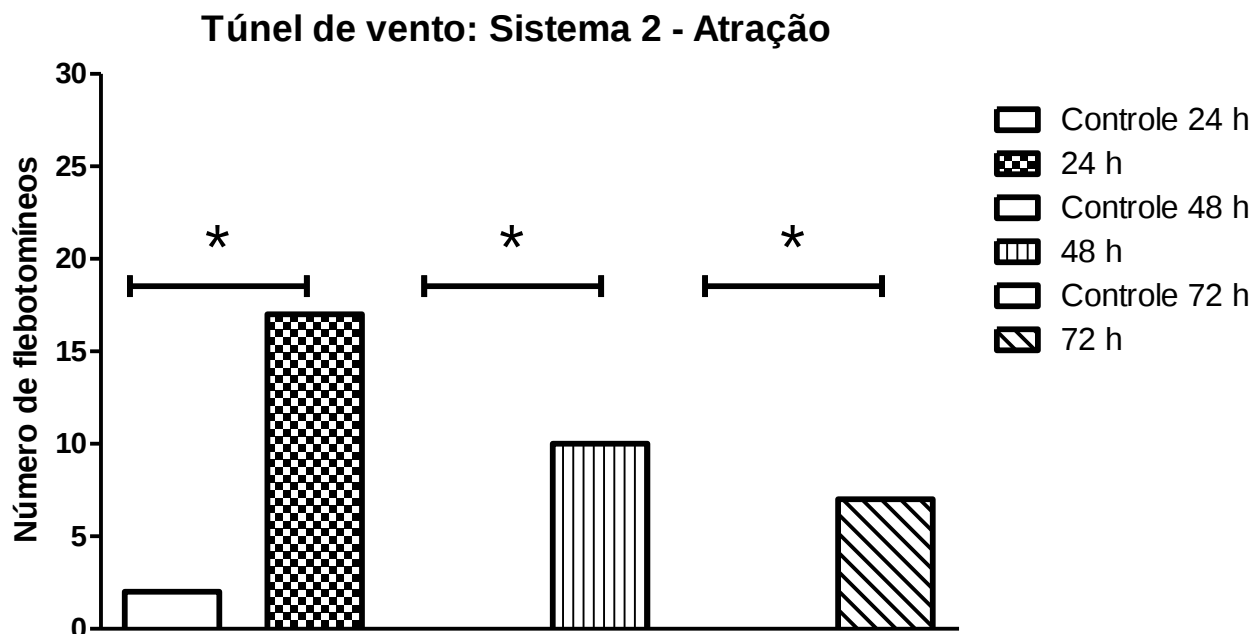


Figura 34. Resposta comportamental de atração das fêmeas de *Lu. longipalpis* para o hexanol inserido após 24, 48 e 72 h no Sistema de liberação 2 – formato 21 cm³ – acoplado à cápsula (n=30, * p<0,05).



6. Discussão

O desenvolvimento de matrizes poliméricas para a liberação controlada de fármacos é uma alternativa de extrema importância, pois além de melhorar os efeitos farmacológicos diminui os efeitos adversos relacionados ao meio ambiente por se tratar de micropartículas biodegradáveis. Alguns estudos buscaram transpor o conhecimento da área de liberação de fármacos para a área de liberação de compostos atrativos para insetos, apesar das diferenças nos ambientes onde essas matrizes são utilizadas, e contribuir com grandes avanços na liberação de semioquímicos, pouco estudada até então. Viana (2018) avaliou novos dispositivos para liberação de um feromônio de agregação à base de argila, amilose e zeólito, encontrando resultados promissores para combater a broca-do-coqueiro (*Rhyncophorus palmarum*). Em outro estudo, foram desenvolvidas matrizes poliméricas de goma gelana e pectina para a liberação de cairomônios, mostrando potencial eficiência para atração de flebotomíneos (MACHADO et al., 2020), cujo presente trabalho deu continuidade aos estudos.

A goma gelana e a pectina são capazes de formar hidrogéis, ou seja, redes tridimensionais reticuladas formadas por polímeros hidrofílicos com potencial de absorver

grandes quantidades de água ou compostos orgânicos e preservar sua estrutura tridimensional (GUPTA et al., 2002). No entanto, é fundamental desenvolver um sistema de liberação que seja capaz de produzir partículas esféricas e com uma distribuição monodispersa, pois podem afetar a reprodutibilidade das taxas de liberação do fármaco, a absorção e a biodisponibilidade (KHAFAGY et al., 2007; CHAN et al., 2009). Essa foi a estratégia utilizada no estudo de Melo (2019), onde foi possível desenvolver uma matriz de goma arábica e maltodextrina para microencapsulação de óleo essencial de aroeira com efeito repelente para *Lasioderma serricorne*, conferindo boa estabilidade térmica devido à formação de partículas esféricas com superfície lisa.

No presente trabalho, as matrizes obtidas inicialmente apresentaram diferenças físicas, como o ressecamento, e, conseqüentemente, as taxas de liberação dos compostos sofreram grandes alterações. Dessa forma, foi imprescindível a alteração do protocolo proposto por Prezotti et al. (2020), como o acondicionamento do hidrogel em geladeira após a centrifugação a fim de promover melhor segregação das moléculas e redução no tempo de liofilização para evitar uma maior dessecação e alterar a estrutura do sistema.

A capacidade de absorção de líquidos é outro parâmetro importante a ser considerado na elaboração de sistemas de liberação, tendo em vista que fornece informações relevantes sobre a cinética de liberação do fármaco (MAITI et al., 2011). Por essa razão, o primeiro teste foi delineado para investigar o volume mínimo e máximo de líquido que as matrizes poderiam armazenar. Observou-se que as matrizes possuíam uma capacidade de armazenamento mínimo de 2 mL de composto, independentemente de sua formulação.

Durante a avaliação do perfil de liberação do fármaco, a dissolução é um processo fundamental para a farmacocinética (MANADAS et al., 2002). Ao aplicar o composto nas matrizes poliméricas e analisar a sua velocidade de liberação, é possível observar o efeito *burst*, ou seja, a rápida liberação, principalmente nas primeiras horas. Isso pode ser explicado devido ao aumento do volume dos polímeros pela maior solubilidade do fármaco, fazendo com que ocorra a expansão da rede polimérica e dando origem a uma estrutura mais frouxa e móvel, o que favorece a liberação do composto (HUANG; BRAZEL, 2001; PREZOTTI, 2019).

No teste inicial de liberação com sistemas de liberação de diferentes formas geométricas, foi possível identificar que o formato de 21 cm³, obteve maior estabilidade na volatilização dos compostos 1-hexanol, 1-octenol e 1-nonanol, quando comparado com o formato de 38 cm³, independente do sistema, além de apresentar maior uniformidade nas

características físicas. Dessa forma, esse formato mostrou ser o mais adequado para dar continuidade aos estudos.

No segundo teste da taxa de liberação com o formato de 21 cm³, os resultados mostraram que para o hexanol os perfis de liberação de cada formulação do sistema de liberação foram próximos, isso mostra que houve maior estabilidade na liberação do composto após a padronização do protocolo de confecção das matrizes. Além disso, o esgotamento do hexanol nas matrizes, indica que ocorreu o desprendimento total das moléculas do composto nos poros das matrizes, o que não aconteceu com o octenol e nonanol, pois não houve a volatilização total, e isso pode ser explicado devido às características químicas das cadeias carbônicas de ambos compostos, por serem mais complexas e, portanto, apenas o hexanol apresentou viabilidade para ser utilizado nas próximas etapas.

Os Sistemas 2 e 4 apresentaram melhor estabilidade na taxa de liberação do hexanol, e o Sistema 3 promoveu maior índice de liberação, ao menos nas primeiras 24 horas. O mesmo foi observado no teste em condições de maior umidade, em que apesar de ter ocorrido mais picos de liberação, os Sistemas 2, 3 e 4 exibiram similaridade nos perfis de liberação, com volatilização total do hexanol na 22^a hora. O controle de cada sistema permitiu determinar o comportamento hidrofílico das matrizes de todos os sistemas, ou seja, a capacidade de adsorção de água, o que deve explicar a rápida volatilização do composto, pois a água pode ser um fator que facilita a sua liberação.

A tentativa de simular uma condição de campo, com umidade mais alta, foi delineada em decorrência de ser um possível ambiente de captura de flebotomíneos. Esses insetos, com grande importância do ponto de vista epidemiológico por serem agentes etiológicos de várias espécies de *Leishmania spp*, desenvolvem-se prioritariamente em ambientes silvestres, com vegetação e áreas sombreadas (KILLICK-KENDRICK, 1999; BRAZIL, 2015). Embora esse ambiente silvestre não seja, necessariamente, o único para *Lu. longipalpis*, que vem se adaptando a áreas mais urbanizadas (SALOMÓN et al., 2015) a possibilidade de que esse sistema de liberação de compostos seja utilizado em diferentes ecótopos estimulou a simulação de um ambiente com umidade diferenciada.

A formação de picos de volatilização observados em ambos os testes de liberação do hexanol é uma característica do composto em contato com os diferentes sistemas. O que se sugere é que após a introdução do composto, haja uma permeação por toda a matriz sendo parte do composto, que está na superfície, liberado primeiramente e assim promovendo o primeiro pico. O restante do composto tende a preencher novamente a matriz e, mais uma

vez, parte do composto que está na superfície é volatilizada, e assim ocorre sucessivamente em todo o processo de liberação do hexanol. Em condições com umidade elevada, há maior adsorção de água na matriz, o que explicaria a conformação de mais picos, pois facilita a permeação do composto, promovendo uma rápida liberação do mesmo (Comunicação pessoal Dra. Maria Palmira Daflon Gremião).

O teste de liberação dos sistemas de liberação acoplados às cápsulas, demonstrou a possibilidade de alcançar uma maior estabilidade de liberação do hexanol e por um período considerável. Os três sistemas apresentaram similaridade no perfil de liberação do hexanol de 24 em 24 horas e, quando observada a volatilização nas primeiras 15 horas, foi possível identificar um padrão para os Sistemas 2 e 4 e uma taxa de liberação com grande desvio padrão entre as amostras do Sistema 3. Isso significa que os Sistemas 2 e 4 possuem maior estabilidade no perfil de liberação do hexanol em relação ao Sistema 3. Além disso, foi possível identificar a formação de picos de liberação em períodos semelhantes observados nos testes anteriores sem o uso das cápsulas, reforçando um padrão no comportamento destes sistemas de liberação.

Ao introduzir as cápsulas, a fim de melhor controlar a liberação do composto nos diferentes sistemas, foi possível alcançar a permanência da volatilização do hexanol ao longo dos dias, permitindo compreender que ao reduzir a superfície de contato da matriz é possível gerar um microambiente controlado, em que o desprendimento das moléculas do composto do interior da matriz é direcionado para uma única rota vertical. Esse cenário contribuiu para o aumento da durabilidade do processo até o desprendimento total do composto. O mesmo foi observado em condições de ambiente com alta umidade. Eiras et al. (2010) mostraram que ao introduzir liberadores poliméricos comerciais de compostos atrativos para oviposição de *Aedes aegypti* em armadilhas fechadas e revestidas de materiais resistentes, foi possível aumentar as eficiências de atração e captura desses mosquitos, apresentando estabilidade e durabilidade de liberação controladas e suficientes para permitir um controle adequado do vetor em regiões endêmicas.

A microscopia de varredura permitiu analisar a estrutura interna dos sistemas de liberação. No Sistema 1 já era esperado a formação de uma estrutura porosa, ou seja, com muitos e pequenos poros e uma superfície rugosa. Em contrapartida, os Sistemas 2 e 3 apresentaram uma estrutura superficial semelhante, com poros maiores e mais espaçados entre si, com diferença na distribuição mais organizada dos poros do Sistema 3 e maior profundidade dos poros do Sistema 2. O Sistema 4 demonstrou uma estrutura mais rígida e densa, com poros maiores e mais profundos que os demais sistemas. As análises

supracitadas propõem uma relação entre a estrutura física dos sistemas de liberação e o perfil de liberação do composto. Como visto anteriormente, os Sistemas 2 e 3 tiveram um comportamento semelhante na taxa de liberação do hexanol, fazendo com que nas primeiras horas houvesse maior volatilização no Sistema 3, podendo ser explicado devido à formação da malha tridimensional formada pelo reticulante a 3%, promovendo um afrouxamento da malha em relação ao Sistema 2 – com 5% de reticulante – o que contribuiu para desprendimento mais rápido das moléculas no interior dos poros. Em contrapartida, o Sistema 4 apresentou menor taxa de liberação, sugerindo maior aprisionamento das moléculas, por possuir uma estrutura rígida e com poros maiores devido à reticulação com Al_3 a 5%. Dessa forma, a rede formada à reticulação a 5% possibilitou atingir uma taxa de liberação mais estável e, portanto, mais duradoura. Essas observações são consolidadas pela análise visual de permeação do 1-hexanol.

O reuso de materiais contribui para a redução na quantidade de resíduos a serem tratados. Dessa forma, desenvolver um bioproduto que possa ser reutilizado é o maior desafio socioeconômico para o enfrentamento de problemáticas relacionadas à manutenção do meio ambiente. Tendo em vista que o projeto visa superar esse desafio, foi possível identificar uma estabilidade na estrutura física dos quatro sistemas de liberação analisados no formato cilíndrico de 21 cm³. Ou seja, não foi observada degradação macroscópica, o que significa que o material resiste ao composto utilizado, possibilitando a sua reutilização. Essa característica é de extrema relevância ao considerar um produto final que irá enfrentar diferentes condições ambientais, e superar a perda de material ainda é um grande desafio ao se tratar de sistemas de liberação. Como por exemplo, pode ser citado o que ocorreu com filmes poliméricos de poli(ϵ -caprolactona) para liberação de feromônio, em que ao serem submetidos a elevadas temperaturas, houve uma interação química entre o composto e o material, promovendo a degradação do mesmo (OLIVEIRA et al., 2012).

Para confirmar a qualidade do material, o teste de reuso permitiu concluir que o material é capaz de adquirir maior estabilidade de entrega do composto conforme a sua reutilização sistemática. Através das análises realizadas, foi possível concluir que nas duas primeiras repetições do sistema houve um pico de liberação do hexanol nas primeiras 24 horas e depois o Sistema 2 adquiriu um perfil mais estável, da terceira à sexta repetição. Sendo assim, o material cumpriu o objetivo de entrega do hexanol com melhora na estabilidade e maior tempo de liberação, além de reduzir a poluição residual por atender aos requisitos de um produto sustentável.

Os testes comportamentais em túnel de vento mostraram que o Sistema 2 obteve resposta positiva para fêmeas de *Lu. longipalpis* 24, 48 e 72 horas após a inserção do hexanol na matriz. Os insetos foram ativados e atraídos para isca de captura com taxas de liberação de aproximadamente 26,57, 16,17 e 22,67 mg/h observadas durante os testes, com diferença estatística para o controle. É importante destacar que a taxa de liberação após 72 h foi maior em relação ao teste de 48 h nos testes em túnel de vento e com umidade elevada, demonstrando um padrão no comportamento de liberação em ambientes com índices maiores de umidade, porém com menor número de insetos atraídos pelo composto, o que pode ser explicado devido a influência da água na matriz, alterando, portanto, o comportamento de atração dos insetos. Esses resultados corroboram com estudos anteriores realizados com 1-hexanol em que fêmeas da espécie *Ny. neivai* tiveram comportamento positivo de atração ao composto impregnado em matrizes poliméricas de goma gelana e pectina (MACHADO et al., 2015; MACHADO et al., 2022).

Os flebotomíneos são noturnos, dessa forma as armadilhas para captura desses insetos são geralmente colocadas das 18:00 às 6:00 h (ALEXANDER, 2000). É importante que as matrizes sejam colocadas nas armadilhas nos momentos em que suas taxas de liberação do composto surtam o efeito atrativo para os flebotomíneos. Dessa forma, estudos em situação de campo serão fundamentais para a observação da eficácia desses sistemas de liberação na captura de flebotomíneos.

7. Conclusões

Dentre as diferentes formas geométricas de matrizes poliméricas de goma gelana e pectina avaliadas, as matrizes de 21 cm³, foram as que apresentaram melhores resultados para taxa de liberação, mantendo maior estabilidade. Além de apresentar maior uniformidade em suas características físicas.

O protocolo de desenvolvimento das matrizes foi aprimorado, com redução do tempo de liofilização, tornando o processo mais eficiente e otimizado e contribuindo positivamente com a atenuação dos gastos a fim de propor ótimo custo-benefício para seu consumo final.

Somente o 1-hexanol foi liberado por completo das matrizes nos testes de liberação. Após todas as variáveis padronizadas, foi possível determinar que os Sistemas 2 e 4 apresentaram maior estabilidade no perfil de liberação e que o Sistema 3 obteve maior resposta na taxa de liberação, ambos para o hexanol, o que corrobora com as diferenças nos tamanhos dos poros observadas na análise estrutural dos sistemas via captura de

imagens e através do teste de permeação. O mesmo pôde ser observado em condições de maior umidade, porém apresentando mais picos de liberação.

Foi possível alcançar o controle dos sistemas de liberação, desenvolvendo um microambiente para as matrizes, com o uso de cápsulas cujas matrizes foram introduzidas. Dessa forma os sistemas atingiram maior estabilidade e controle da taxa de liberação do hexanol. Os sistemas de liberação 2, 3 e 4 tiveram um comportamento de liberação semelhantes no período de 24 em 24 horas, porém o Sistema 2 foi escolhido para dar continuidade devido ao menor desvio padrão entre as amostras na liberação de hora em hora. As matrizes se mostraram capazes de manter sua estrutura física intacta após o contato com o composto, o que permitiu concluir que o material resiste ao volátil, e através do teste de reuso do Sistema 2, foi possível concluir que o material pode ser reutilizado e que conforme o seu reuso, é capaz de desenvolver um comportamento de maior estabilidade de liberação do hexanol.

Os testes em túnel de vento demonstraram que as fêmeas de *Lu. longipalpis* responderam positivamente ao Sistema de liberação 2 após 24, 48 e 72 horas de incorporação do 1-hexanol quando comparado ao controle, para ambos os comportamentos de ativação e atratividade, indicando seu potencial para capturas em campo.

8. Perspectivas

Será imprescindível aprofundar os estudos a fim de aprimorar as matrizes poliméricas em desenvolvimento para torná-las mais eficientes na atratividade de flebotomíneos. Dessa forma, será necessário testar novas formulações para o sistema de liberação, partindo do sistema previamente selecionado; avaliar o comportamento de outros compostos voláteis que possam superar a eficiência do hexanol; avaliar o comportamento biológico de outras espécies de flebotomíneos; encontrar uma embalagem adequada para as matrizes poliméricas; realizar os testes em campo a fim de verificar a eficiência de captura no ambiente natural e propor novos designs que facilitem acoplar a matriz introduzida em cápsula nas armadilhas luminosas de campo.

9. Referências bibliográficas

AGUIAR, G. M.; VIEIRA, V. R. Regional distribution and habitats of Brazilian phlebotomine species. In: RANGEL, E. F.; J. SHAWS (Eds.) Brazilian Sand Flies: Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control. **Springer Cham**, 2018. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-75544-1_4.

ALEXANDER, B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. **Med Vet Entomol**, v. 14, n. 2, p.

109-122, 2000.

ALMEIDA, P. S.; NASCIMENTO, J. C.; FERREIRA, A. D.; MINZÃO, L. D.; PORTES, F.; MIRANDA, A. M.; FACCENDA, O.; ANDRADE FILHO, J. D. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev Bras Entomol.** São Paulo, v. 54, p. 304-310, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbent/v54n2/a14v54n2.pdf>> Acesso em: 02 jan. 2020.

ALMEIDA, P. S.; ANDRADE, A. J.; SCIMARELLI, A.; RAIZER, J.; MENEGATTI, J. A.; HERMES, S. C.; CARVALHO, M. S.; GURGEL-GOLÇALVES, R. Geographic distribution of phlebotomine sandfly species (Diptera: Psychodidae) in Central-West Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 551-559, jun. 2015.

ANDRADE, A. J.; ANDRADE, M. R.; DIAS, E. S.; PINTO, M. C.; EIRAS, A. E. Are light traps baited with kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 337-343, 2008.

BANERJEE, S.; SIDDIQUI, L.; BHATTACHARYA, S. S.; KAITY, S.; GHOSH, A.; CHATTOPADHYAY, P.; PANDEY, A.; SINGH, L. Interpenetrating polymer network (IPN) hydrogel microspheres for oral controlled release application. **In J Bio Macromol**, v. 50, n. 1, p. 198-206, 2012.

BERNIER, U. R.; KLINE, D. L.; BARNARD, D. R.; SCHRECK, C. E.; YOST, R. A. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). **Anal Chem**, v. 72, n. 4, p. 747-56, 2000.

BHARDWAJ, T. R.; KANWAR, M.; LAL, R.; GUPTA, A. Natural Gums and Modified Natural Gums as Sustained-Release Carriers. **Drug Devel Ind Pharm**, v. 26, n. 10, p. 1025-1038, 2000.

BIGUCCI, F.; LUPPI, B.; MONACO, L.; CERCHIARA, T. Pectin-based microspheres for colon-specific delivery of vancomycin. **J Pharm Pharmacol**, v. 61, n. 1, p. 41-46, 2009.

BRASIL. **Cloreto de alumínio (AlCl₃)**. Disponível em <<http://www.quimica.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=1898&evento=5>> Acesso em: 04 jan. 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. **Brasília**: Editora do Ministério da Saúde, 2014, 122 p.

BRASIL. WORLD WIDE FUND FOR NATURE. **Bioma**: Por dentro da floresta amazônica. Disponível em <https://www.wwf.org.br/natureza_brasileira/areas_prioritarias/amazonia1/bioma_amazonia/> Acesso em: 26 maio 2021.

BRAZIL, P. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Eds.). **Fleb Bras**. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2003, p. 257– 274.

BRAZIL, R. P. The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 46, n. 3, p. 263-264, 2013.

BRAZIL R. P.; RODRIGUES A. A. F.; FILHO J. D. A. Sand fly vectors of Leishmania in the Americas – A mini review. **Entomol Ornithol Herpetol**, v. 4, n. 2, p. 144-148, 2015.

BROWN, W. L.; EISNER, T.; WHITTAKER, R. H. Allomones and Kairomones: Transspecific Chemical Messengers. **BioSci**, v. 20, n. 1, p. 21–22, 1970.

CARVALHO, B. M.; MAXIMO, M.; COSTA, W. A.; SANTANA, A. L. F.; COSTA, S. M.; REGO, T. A. N. C.; PITA PEREIRA, D.; RANGEL, E. F. Leishmaniasis transmission in an ecotourism area: potential vectors in Ilha Grande, Rio de Janeiro State, Brazil. **Parasit Vect**, v. 6, n. 1, p. 325, 2013. ISSN 1756-3305. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24499568>> Acesso em: 02 jan. 2020.

CARVALHO, G. M.; ANDRADE FILHO, J. D.; FALCAO, A. L.; ROCHA LIMA, A. C. V. M.; GONTIJO, C. M. F. Naturally infected Lutzomyia sand flies in a Leishmania-endemic area of Brazil. **Vect Borne Zoo Dis**, v. 8, n. 3, p. 407-14, Jun 2008. ISSN 1530-3667. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18429695>> Acesso em: 02 jan. 2020.

CHANDRASEKARAN, R.; MILLANI, R. P.; ARNOTT, S.; ATKINS, E. D. T. The crystal structure of gellan. **Carb Res**, v. 175, n. 1, p. 1-15, 1988.

CHAN E. S.; LEE B. B.; RAVINDRA P.; PONCELET D. Prediction models for shape and size of calcium alginate macrobeads produced through extrusion-dripping method. **J Colloid Interface Sci**, v. 338, n. 1, p. 63-72, 2009.

CHANGEZ M.; BURUGAPALLI, K.; KOUL V.; CHOUDHARY V. The effect of composition of poly(acrylic acid)-gelatin hydrogel on gentamicin sulphate release: in vitro. **Biomaterials**, v.24, n.4, p. 527-36, fev. 2003.

CHANIOTIS B. N.; ANDERSON J. R. Age structure, population dynamics and vector potential of Phlebotomus in Northern California. **J Med Entomol**, 5: 273-292, 1968.

COSTA, J. M. L. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. **Gaz Méd. Bahia**, v. 75, n. 1, p. 3-17, 2005. Disponível em: <<http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/346/335>>. Acesso em: 13 abril 2022.

DA ROSA, J. A.; MENDONÇA, V. J.; ROCHA, C. S.; GARDIM, S.; CILENSE, M. Characterization of the external female genitalia of six species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) by scanning electron microscopy. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 3, p. 286-92, May 2010.

DA ROSA, J. A.; MENDONÇA, V. J.; GARDIM, S.; CARVALHO, D. B.; OLIVEIRA, J.; NASCIMENTO, J. D.; PINOTTI, H.; PINTO, M. C.; CILENSE, M.; GALVÃO, C.; BARATA, J. M. S. Study of the external female genitalia of 14 Rhodnius species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) using scanning electron microscopy. **Parasit Vect**, v. 7, p. 17, 2014.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. Infochemical Terminology: Based on Cost-Benefit Analysis Rather than Origin of Compounds? **Functional Ecology**, v. 2, n. 2, p. 131-139, 1988.

DONG, L. C.; HOFFMAN, A. S. A novel approach for preparation of pH-sensitive hydrogels for enteric drug delivery. **J of Control Release**, v. 15, n. 2, p. 141-152, 1991.

EIRAS, A. E.; GEIER, M.; ROSE, A.; JONES, O. Practical application of olfactory cues for monitoring and control of Aedes aegypti in Brazil: a case study. In: TAKKEN, W.; KNOLS, B. G. J. **Ecology and control of vector-borne diseases**. Wageningen Academic Publishers, 2010, p. 365-398.

FISSORE, E. N.; ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L. N.; WILLIAMS, P. A. Butternut and beetroot pectins: Characterization and functional properties. **Food Hydrocol**, v. 31, p. 11, 2013.

FRIEND, D. R. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. **Adv Drug Deliv R**, v. 57, n. 2, p. 247-265, 2005.

FORATTINI, O. P.; RABELLO, E. X.; PATTOLI, D. G. B.; FERREIRA, O. A. Infecção natural de flebotômíneos em foco enzoótico de Leishmaniose Tegumentar no estado de São Paulo, Brasil. **Rev S Pub**, v. 6, p. 431 - 33, 1972.

GATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae): classification, morphology and terminology of adults and identification of American taxa, p. 9–212. In: RANGEL, E. F.; SHAWS, J. (Eds.) Brazilian Sand Flies> Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control. **Springer Cham**, 2018. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-75544-1_2

GALATI, E. A. B. **Morfologia e terminologia de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). Classificação e identificação de táxons das Américas**. Faculdade de Saúde Pública, São Paulo: 2019.

GOULART, T. M.; DE CASTRO, C. F.; MACHADO, V. E.; SILVA, F. B. R.; PINTO, M. C. Techniques to improve the maintenance of a laboratory colony of *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae). **Parasit Vect**, v. 8, n. 423, 2015.

GUIDOBALDI, F.; GUERENSTEIN, P. G. A CO₂ free synthetic host–odor mixture that attracts and captures triatomines: effect of emitted odorant ratios. **J Med Entomol**, v. 53, n. 4, p. 770–775, 1 jul. 2016.

GUOTA P.; VERMANI K.; GARG S. Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. **Drug Discov Today**, v. 7, n. 10, p. 569-579, 2002.

HALL, D. R.; BEEVOR, P. S.; CORK, A.; NESBITT, B. F.; VALE, G. A. 1-Octen-3-ol. A potent olfactory stimulant and attractant for tsetse isolated from cattle odours. In **J Trop Insect Sci**, v. 5, n. 5, p. 335–339, out. 1984.

HARBORNE, J. B. Twenty-five years of chemical ecology. **Nat Prod Rep**, v. 18, n. 4, p. 361–379, 2001.

HUANG, X.; BRAZEL, C. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **J Control Release**, v. 73, n. 2-3, p. 121-136, 2001.

ISBERG, E.; BRAY, D. P.; HILLBUR, Y.; IGNEILL, R. Evaluation of Host-Derived Volatiles for Trapping Culicoides Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae). **J Chem Ecol**, v. 43, n. 7, p. 662–669, 1 jul. 2017.

ITOH, K.; TAKAHASHI, A.; KUBO, W.; MIYAZAKI, S.; DAIRAKU, M.; TOGASHI, M.; MIKAMI, R.; ATTWOOD, D. In situ gelling pectin formulations for oral drug delivery at high gastric pH. In **J Pharm Amst**, v. 335, p. 90-96, 2007.

JONG, S.; BIRMINGHAM, J. M. Mushrooms as a source of natural flavor and aroma compounds. **Mush Biol Mush Prod**, p. 345–366, 1993.

KHAFAGY el-S.; MORISHITA M.; ONUKI Y.; TAKAYAMA K. Current challenges in non-invasive insulin delivery systems: a comparative review. **Adv Drug Deliv Ver**, v. 59, n. 15, p. 1521-1546, 2007.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of Phlebotomine sand flies. **Clinics Derm**, v. 17, n. 3, p. 279–289, 1999.

KIRSTEIN, O. D.; FAIMAN, R.; KNIGIN, A.; GUETA, H.; STONE, A.; WARBURG, A. Studies on the behaviour and control of phlebotomine sandflies using experimental houses. **Med Vet Entomol**, v. 32, n. 1, p. 23–34, 2017.

KULKARNI, R. V.; MANGOND, B. S.; MUTALIK, S.; SA, B. Interpenetrating polymer network microcapsules of gellan gum and egg albumin entrapped with diltiazem–resin complex for controlled release application. **Carb Pol**, v. 83, n. 2, p. 1001-1007, 2011.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de Leishmania: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Rev. Pan-Amazônica Saúde**, v. 1, p. 13–32, 2010.

LAINSON, R.; SHAW, J.; SOUZA, A. A.; SILVEIRA, F. T.; FALQUETO, A. Further observations on *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae), the sandfly vector of *Leishmania* (*Viannia*) *lainsoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 437–439, 1992.

LIU, L.; FISHMAN, M. L.; KOST, J.; HICKS, K. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, v. 24, n. 19, p. 3333-3343, 2003.

LOGAN, J. G.; BIRKETT, M. A. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation. **Pest Manag Sci**, v. 63, n. 7, p. 647-57, Jul 2007.

MACHADO, V. E.; CORREA, A.; SILVA, F. B. R.; GOULART, T. M. Attraction of the sand fly *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to chemical compounds in a wind tunnel. **Parasit Vect**, v. 8, n. 1, 2015.

MACHADO, V. E.; BONI, F. I.; PREZOTTI, F. G.; CARDOSO, V. M. O.; CURY, B. S. F.; GREMIÃO, M. P. D.; PINTO, M. C. **Sistemas de liberação controlada de atrativos para insetos e uso**. 2020. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/204850>>. Acesso em: 13 abril 2022.

MACHADO, V. E.; ROCHA, F. B.; GOULART, T. M.; PINTO, M. P. Behavioral responses of sand fly *Nyssomyia neivai* (Psychodidae: Phlebotominae) to 1-hexanol and light. **Acta Tropica**, v. 236, 2022.

MAGALHÃES-JUNIOR, J. T.; BARROUIN-MELO, S. M.; CORREA, A. G.; SILVA, F. B. R.; MACHADO, V. E.; GOVONE, J. S.; PINTO, M. C. A laboratory evaluation of alcohols as attractants for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Parasit Vect**, v. 7, p. 60, 2014.

MAITI S.; RANJIT S.; MONDOL R.; RAY S.; SA B. Al³⁺ ion cross-linked and acetalated gellan hydrogel network beads for prolonged release of glipizide. **Carb Pol**, v. 85, n. 1, p. 164-172, 2011.

MANADAS R.; PINA M. E.; VEIGA F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Rev Bras Cienc Farm**. São Paulo, v. 38, n. 4, p. 375-399, Dec. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322002000400002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 03 fev. 2021.

MANGABEIRA FILHO, O. Sobre duas novas espécies de *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 3, p. 348–356, 1938.

MARCONDES, C. B.; BITTENCOURT, I. A.; STOCO, P. A.; EGER, I.; GRISARD, E. C.; STEINDEL, M. Natural infection of *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) by *Leishmania* (*Viannia*) spp. in Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 103, n. 11, p. 1093-7, nov. 2009. ISSN 1878-3503. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19178921>> Acesso em: 02 jan. 2020.

MAROLI, M.; FELICIANGELI, M. D.; BICHAUD, L.; CHARREL, R. N.; GRADONI, L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Med Vet Entomol**, v. 27, n. 2, p. 123-47, jun. 2013.

MEIJERINK, J.; BRAKS, M. A. H.; BRACK, A. A.; ADAM, W.; DEKKER, T.; POSTHUMUS, M. A.; VAN BEEK, T. A.; VAN LOON, J. J. A. Identification of olfactory stimulants for *Anopheles gambiae* from human sweat samples. **J Chem Ecol**, v. 26, n. 6, p. 1367–1382, 2000.

MELO, R. S. A. **Desenvolvimento de uma matriz para liberação controlada do óleo essencial de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2019. 83 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/6083>> Acesso em 18 abril 2022.

MOLYNEUX, D. H.; ASHFORD, R. W. **The biology of Trypanosoma and Leishmania, parasites of man and domestic animals**. Londres, 1983, 294 p.

MORENO, J.; ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. **Trends Parasitol**, v. 18, n. 8, p. 399-405, 2002.

MOLYNEUX, D. H.; ASHFORD, R. W. The biology of Trypanosoma and Leishmania, parasites of man and domestic animals. Londres, 1983, 294 p.

MORRIS, E. R.; NISHINARI, K.; RINAUDO, M. Gelation of gellan – A review. **Food Hydrocol**, v. 28, n. 2, p. 373-411, 2012.

NARKAR, M.; SHER, P.; PAWAR, A. Stomach-Specific controlled release gellan beads of acid-soluble drug prepared by ionotropic gelation method. **AAPS Pharm Sci Tech**, v. 11, n. 1, p. 267-277, 2010.

NEITZKE-ABREU, H. C.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; VENAZZI, M. S.; LIMA SCODRO, R. B.; CASSIA DIAS, A.; SILVEIRA, T. G. V.; TEODORO, U.; LONARDONI, M. V. C. Detection of Leishmania (Viannia) IN *Nyssomyia neivai* and *Nyssomyia whitmani* by multiplex polymerase chain reaction, in Southern Brazil. **Rev Inst Med Trop**. Sao Paulo. v. 56, n. 5, p. 391-5, 2014. ISSN 1678-9946. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25229218>> Acesso em: 02 jan. 2020.

OLIVEIRA, D. M.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; BERNAL, M. V. Z.; LEGRIFON, C. M. O.; LONARDONI, M. V. C.; TEODORO, U.; SILVEIRA, T. G. Natural infection of *Nyssomyia neivai* by Leishmania (Viannia) spp. in the state of Paraná, southern Brazil, detected by multiplex polymerase chain reaction. **Vect Borne Zoo Dis**, v. 11, n. 2, p. 137-43, 2011. ISSN 1557-7759. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21142960>> Acesso em: 02 jan. 2020.

OLIVEIRA, J. E.; MATTOSO, L. H. C.; ASSIS, O. B. G. Liberação controlada de feromônios por matrizes de poli(ε-caprolactona). In: **VI Workshop da Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio**, 2012, Fortaleza. *Anais eletrônicos...* São Carlos: Embrapa Instrumentação. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/934462/liberacao-controlada-de-feromonios-por-matrizes-de-poliepsilon-caprolactona>> Acesso em: 14 abril 2022.

ORLU, M.; CEVHER, E.; ARAMAN, A. Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsponges. **In J Pharma**, v. 318, n. 1–2, p. 103-117, 2006.

PACHECO, L. R. E. **Obtenção e caracterização de uma matriz polimérica a base de alginato com diferentes agentes reticulantes**. UENF: Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <<http://uenf.br/posgraduacao/engenharia-de-materiais/wp-content/uploads/sites/2/2013/07/Disserta%C3%A7%C3%A3o-La%C3%ADssa-R-E-Pacheco.pdf>> Acesso em: 04 jan. 2020.

PEPPAS N. A.; BURES P.; LEOBANDUNG W.; ICHIKAWA H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 50, n. 1, p. 27-46, jul. 2000.

- PINO, J. A.; BENT, L. Odour-active compounds in guava (*Psidium guajava* L. cv. Red Suprema). **J Sci Food Agr**, v. 93, n. 12, p. 3114–3120, 2013.
- PINTO, M. C.; BARBIERI, K.; SILVA, M. C. E.; GRAMINHA, M. A. S.; CASANOVA, C.; ANDRADE, A. E.; EIRAS, A. E. Octenol as attractant to *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the field. **J Med Entomol**, v. 48, n. 1, p. 39-44, jan 2011.
- PINTO, M. C.; BRAY, D. P.; EIRAS, A. E.; CARVAHEIRA, H. P.; PUERTAS, C. P. Attraction of the cutaneous leishmaniasis vector *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to host odour components in a wind tunnel. **Parasit Vect**, v. 5, p. 210, 2012.
- PITA-PEREIRA, D.; ALVES, C. R.; SOUZA, M. B.; BRAZIL, R. P.; BERTHO, A. L.; BARBOSA, A. F.; BRITTO, C. C. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia migonei* with *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hybridisation assay. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 99, n. 12, p. 905-13, 2005. ISSN 0035-9203. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16143358>> Acesso em: 02 jan. 2020.
- PREZOTTI, F. G.; BONI, F. I.; FERREIRA, N. N.; SILVA, D. S.; ALMEIDA, A.; VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; GREMIÃO, M. P.; CURY, B. S. F. Oral nanoparticles based on gellan gum/pectin for colon-targeted delivery of resveratrol. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 46, n. 2, p. 236-246, 2020.
- PREZOTTI, F. G.; CURY, B. S. F.; EVANGELISTA, R. C. Mucoadhesive beads of gellan gum/pectin intended to controlled delivery of drugs. **Carbohydrate Polymers**, v. 11, p. 286-295, 2014.
- PREZOTTI, F. G.; MENEGUIN, A. B.; EVANGELISTA, R. C.; FERREIRA CURY, B. S. Preparation and characterization of free films of high amylose/pectin mixtures cross-linked with sodium trimetaphosphate. **Drug Devel Ind Pharm**, v. 38, n. 11, p. 1354-1359, 2012.
- PREZOTTI, F. G.; SIEDLE, I.; BONI, F. I.; CHORILLI, M.; MÜLLER, I.; CURY, B. S. F. Mucoadhesive films based on gellan gum/pectin blends as potential platform for buccal drug delivery. **Pharm Dev Technol**, v. 25, n. 2, p. 159-167, 2019.
- QUEIROZ, R. G.; VASCONCELOS, I. A.; PESSOA, F. A.; SOUZA, R. N.; DAVID, J. R. Cutaneous leishmaniasis in Ceara state in northeastern Brazil: incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in baturite municipality. **Am J Trop Med Hyg**, v. 50, n. 6, p. 693-8, jun. 1994. ISSN 0002-9637. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8024061>> Acesso em: 02 jan. 2020.
- RACOVITA, S.; VASILIU, S.; POPA, M.; LUCA, C. Polysaccharides based on micro and nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. **Rev Roum Chim**, v. 54, n. 9, p. 709-718, 2009.
- RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 937–954, 2009.
- RINAUDO, M.; MILAS, M. Gellan gum, a bacterial gelling polymer. In: DOXASTAKIS, G.; KIOSSEOGLOU, V. (Eds.). **Devel Food Sci**: Elsevier, v. 41, p.239-263, 2000. ISBN 0167-4501.
- ROCHA, L. S.; FALQUETO, A.; SANTOS, C. B.; FERREIRA, A. L.; DA GRAÇA, G. C.; GRIMALDI JR, G.; CUPOLILLO, E. Survey of natural infection by *Leishmania* in sand fly species collected in southeastern Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 104, n. 7, p. 461-6, jul. 2010. ISSN 1878-3503. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20346478>> Acesso em: 02 jan. 2020.

RODRIGUES, A. C.; SILVA, R. A.; MELO, L. M.; LUCIANO, M. C.; BEVILAQUA, C. M. Epidemiological survey of *Lutzomyia longipalpis* infected by *Leishmania infantum* in an endemic area of Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**, v. 23, n. 1, p. 55-62, mar. 2014.

SIEGEL, R. A.; FIRESTONE, B. A. Mechanochemical approaches to self-regulating insulin pump design. **J Control Release**, v. 11, n. 1-3, p. 181-192, jan. 1990.

SALOMÓN O. D., FELICIANGELI M. D., QUINTANA M. G., AFONSO M. M., RANGEL E. F. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 7, p. 831-46, nov. 2015.

SILVA, O. S.; GRUNEWALD, J. Contribution to the sand fly fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and *Leishmania (Viannia)* infections. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 5, p. 579-82, 1999. ISSN 0074-0276. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10464396>> Acesso em: 02 jan. 2020.

SHIMABUKURO, P. H. F., ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **Zookeys**, v. 660, p. 67-106, 2017.

SHIMABUKURO, P. H. F.; DA SILVA, T. R. R.; FONSECA, F. O. R.; GALATI, E. A. B. Geographical distribution of American cutaneous leishmaniasis and its phlebotomine vectors (Diptera: Psychodidae) in the state of São Paulo, Brazil. **Parasit Vect**, v. 3, p. 121, 2010. ISSN 1756-3305. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21171969>> Acesso em: 02 jan. 2020.

SOARES, R. P. P.; TURCO, S. J. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. **An Acad Bras Cien**, v. 75, n. 3, p. 301-330, set. 2003.

SOUTO-MAIOR, J. F. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O. A. Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: preparation physicochemical characterization. **Pol In**, v. 59, p. 9, 2010.

SOUZA, G. D.; SANTOS, E. D.; ANDRADE FILHO, J. D. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 8, p. 1181-1182, dez. 2009.

SUKANTAMALA, J.; Sing, K.-W.; JATURAS, N.; POLSEELA, R.; WILSON, J.-J. Unexpected diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) in tourist caves in Northern Thailand. **Mitochondrial DNA Part A**, v. 28, n. 6, p. 949-955, 2016.

TAKKEN, W.; KLINE, D. L. Carbon dioxide and 1-octen-3-ol as mosquito attractants. **J Amer Mosq Control Ass**, v. 5, n. 3, p. 311-316, 1989.

VALERO, L. M. S. **Elaboração e caracterização de filmes a base de alginato de sódio, reticulados com íons bário (Ba²⁺), estrôncio (Sr²⁺) ou alumínio (Al³⁺)**. Unicamp, Campinas, 2011.

VASIR, J. K.; TAMBWEKAR, K.; GARG, S. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. **In J Pharm**, v. 255, n. 1-2, p. 13-32, 2003.

VENKATESH, P. M.; SEN, A. Laboratory evaluation of synthetic blends of (+)-lactic acid, ammonia, and ketones as potential attractants for *Aedes aegypti*. **J Amer Mosq Control Ass**, v. 33, n. 4, p. 301-308, 1 dez. 2017.

VEROCAI, G. G.; MCGAHA JR, T. W.; IBURG, J. P.; KATHOLI, C. R.; CUPP, E. W.; NOBLET, R.; UNNASCH, T. R. Identification of semiochemicals attractive to *Simulium vittatum* (IS-7). **Med Vet Entomol**, v. 31, n. 2, p. 140–149, 1 jun. 2017.

VIANA, A. C. **Matrizes para liberação controlada do feromônio de agregação Rincoforol**. Salvador, 2018, 133 f. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/handle/ri/25930>> Acesso em: 20 abril 2022.

VILELA, M. L.; RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Métodos de coleta e preservação de flebotomíneos**. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2003. Disponível em: <<http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/artigos/2003/flebotombras2003cap8p353-367.pdf>> Acesso em: 03 jan. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis**. 2022. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/en/>> Acesso em: 13 abril 2022.

YAJIMA, I.; SAKAKIBARA, H.; IDE, J.; YANAI, T.; KAZUO, H. Volatile flavor components of watermelon (*Citrullus vulgaris*). **Agr Bio Chem**, v. 49, n. 11, p. 3145–3150, 1985.

XIMENES, M. F.; CASTELLÓN, E. G.; DE SOUZA, M. F.; FREITAS, R. A.; PEARSON, R. D.; WILSON, M. E.; JERÔNIMO, S. M. Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the state of Rio Grande do Norte, **Brazil**. **J Med Entomol**, v. 37, n. 1, p. 162-169, jan. 2000.

XU, Z.; FAN, N.; HOU, X.; WANG, J.; FU, S.; SONG, J.; LIANG, G. Isolation and Identification of a Novel Phlebovirus, Hedi Virus, from Sandflies Collected in China. **Viruses**, v. 13, n. 5, 772, 2021.

ZARBIN, P. H.; ROGRIGUES, M. A. C. M. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANA CAROLINA BUENO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DO CÂMPUS DE ARARAQUARA-UNESP.

Aos vinte e oito dias do mês de setembro de dois mil e vinte e dois, às quatorze horas, reuniu-se, virtualmente, a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes Professores Doutores: Mara Cristina Pinto (Orientador) do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP-Câmpus de Araraquara, Andrey José de Andrade do Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná-UFPR e Marlus Chorilli do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP-Câmpus de Araraquara, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE Ana Carolina Bueno, intitulado "Aprimoramento de matrizes poliméricas naturais para liberação controlada de compostos atrativos para *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Phlebotominae)". Os membros participaram da defesa por meio de videoconferência. Após a exposição, a discente foi arguida virtualmente pelos membros da Comissão Examinadora tendo recebido o conceito final: APROVADA. Registre-se, que nesta ata, será anexado parecer circunstanciado dos membros participantes por videoconferência, enviados por e-mail. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelo presidente da Comissão Examinadora.

Mara Cristina Pinto (Orientador)

Andrey José de Andrade (parecer anexo)

Membro participante por vídeo-conferência

Marlus Chorilli (parecer anexo)

Membro participante por vídeo-conferência