



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**FORMULADO DE EUGENOL E SEU USO, EM CONDIÇÕES
DE LABORATÓRIO, NO CONTROLE DE *Aedes aegypti*
VETOR DA DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA**

EUNICE DA SILVA MEDEIROS DO VALE

MANAUS - AM

Fevereiro / 2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

EUNICE DA SILVA MEDEIROS DO VALE

**FORMULADO DE EUGENOL E SEU USO, EM CONDIÇÕES
DE LABORATÓRIO, NO CONTROLE DE *Aedes aegypti*
VETOR DA DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA**

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, na área de concentração da saúde.

Orientador: Prof. Dr. Wanderli Pedro Tadei

Co-Orientador: Prof. Dr. Andriy Grafov

MANAUS - AM

Fevereiro / 2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

V149f Vale, Eunice da Silva Medeiros do
Formulado de eugenol e seu uso, em condições de laboratório,
no controle de *Aedes aegypti* vetor da dengue, chikungunya e zika.
/ Eunice da Silva Medeiros do Vale. 2018
90 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Wanderli Pedro Tadei
Coorientador: Andriy Grafov
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do
Amazonas.

1. Biotecnologia. 2. Controle de mosquitos. 3. Eugenol. 4.
Polímero . I. Tadei, Wanderli Pedro II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

EUNICE DA SILVA MEDEIROS DO VALE

**FORMULADO DE EUGENOL E SEU USO, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO,
NO CONTROLE DE *Aedes aegypti* VETOR DA DENGUE, CHIKUNGUNYA E
ZIKA.**

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, na área de concentração da saúde.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wanderli Pedro Tadei, Presidente
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Prof. Dr. Carlos Cleomir de Souza Pinheiro
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Profa. Dra. Iléa Brandão Rodrigues
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Profa. Dra. Francisca das Chagas do Amaral Souza
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Profa. Dra. Rosemary Aparecida Roque
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

A minha mãe Luzia Carlos da Silva

**Ao meu amado marido Wanderley Queiroz do Vale
e ao meu filho Lucas.**

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por toda provisão que ele me proporcionou durante esse tempo de doutorado.. Deu-me sabedoria, inteligência, força e coragem para conquistar com excelência mais essa etapa em minha vida profissional.

Ao meu marido, Wanderley do Vale, pelo companheirismo, amizade, paciência, amor e estímulo. Sempre ao meu lado, junto com nosso filho Lucas do vale, trazendo alegria e motivação em todas as etapas do estudo. Mesmo quando tive que me ausentar, indo para outro país, nunca reclamou de nada, e ainda teve que assumir sozinho os cuidados com o nosso filho, mostrando ser um exemplo de pai e marido. Nos momentos mais difíceis para ele, sempre me motivou com palavras de força e esperança, e nunca reclamou de nada.

Ao meu filho “Lucas do Vale” minha jóia mais preciosa, por ter sido forte e corajoso quanto me ausentei por vários meses, e ainda assim continuar me amando, por me fazer a mãe mais feliz e realizada.

À minha mãe Luzia Carlos, por ter me ensinado ser essa mulher guerreira que sou.

A minha família, meus pais (Luzia e Medeiros) irmãos (Francy, Sheila, Cláudia, Ricardo e Sergio) sobrinhos (Manuela, Kairon e Luis Ricardo), cunhada (Renata), Manoel (*in memoriam*) e Evandro (cunhado) por todos os momentos de alegria, ensinamentos de vida, amor, apoio, compreensão, palavras de conforto e fé,

À Dra. Iléa Brandão Rodrigues, minha eterna orientadora, sempre confiou no meu trabalho e foi minha incentivadora. Obrigada por todos os ensinamentos e pela valorosa contribuição em minha vida científica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wanderli Pedro Tadei, pela orientação desde o início da minha vida científica. Obrigada por todo apoio, amizade, incentivo, paciência e também por acreditar e confiar à realização deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA onde a maior parte deste trabalho foi realizada.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Andriy Grafov e sua esposa Dra. Iryna Grafov por terem me recebido em seu laboratório na Universidade de Helsinki – Finlândia, e ensinado algumas das técnicas utilizadas aqui, sempre com muita paciência e atenção.

A Dra. Eleilza Littaif pela amizade, apoio, pelos bons conselhos e pela ajuda revisando o trabalho.

Ao Dr. Felipe Massa da Central de Analítica – UFAM, por sua valiosa contribuição na parte química do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao curso de Pós-graduação em Biotecnologia - UFAM, pela oportunidade de formação, aos professores e colegas de curso.

Ao Prof. Dr. Edimar Andrade, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC) da Universidade do Federal do Amazonas, e sua equipe, pela disponibilidade e colaboração.

Aos amigos e colegas de trabalho do laboratório de Malária e Dengue pelo incentivo, apoio, amizade e colaboração: Sirley, Neila, Grafe, Cláudia, Marta, Katak, Joelma, Jhuan, Elerson, Maria dos Disterro, Adriano, Augusto, Rejane e William.

À toda equipe técnica do laboratório de Malária e Dengue do INPA, pelo auxílio.

A todos que de uma maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

EPÍGRAFE

“Quanto maior o conhecimento, menor o ego. Quanto maior o ego, menor o conhecimento”.

Albert Einstein

RESUMO

A busca por substitutos para os inseticidas sintéticos tem estimulado muitos trabalhos considerando a utilização de óleos, extratos ou derivados ativos provenientes de plantas. Esta procura pode ser justificada pelo potencial dos inseticidas botânicos associado à fácil degradação de seus constituintes, menor toxicidade ao homem e uma alternativa mais segura para o meio ambiente. O eugenol tem despertado interesse no controle das larvas do *Aedes aegypti*, uma vez que apresenta comprovada atividade larvicida. O uso direto do eugenol, no entanto, apresenta limitação quanto à solubilidade em meio aquoso. Logo, a obtenção de um sistema que favoreça sua liberação se faz necessária. Assim, o presente trabalho teve como objetivo obter um formulado contendo eugenol epóxido e testar a efetividade, em condições de laboratório, para o controle das larvas de *A. aegypti*. O derivado foi obtido por meio das reações de metilação e epoxidação, sendo caracterizado pela análise de RMN de ^1H . Os formulados poliméricos foram obtidos pelo método de polimerização em bloco. A atividade larvicida foi avaliada a partir da determinação da concentração letal mediana (CL_{50}). O resultado da análise de RMN de ^1H possibilitou identificar o derivado como eugenol epóxido, sendo incorporados 3, 5 e 10 % no formulado polimérico. O formulado polimérico com 10% de eugenol epóxido apresentou atividade larvicida (CL_{50} 0,827 mg/mL), causando mortalidade de 99,3% das larvas em até 24 horas, após a aplicação. Os resultados deste trabalho evidenciaram o potencial do formulado como alternativa para controlar larvas de *A. aegypti*. Assim sendo, os dados obtidos neste estudo indicam um novo agente para o controle das larvas de mosquitos.

PALAVRAS CHAVE: Biotecnologia; Controle de mosquitos; Eugenol; Polímero.

ABSTRACT

The search for substitutes of synthetic insecticides has motivated many researches considering the use of oils, extracts or active derivatives from plants. This search can be justified because of the potential insecticide these derivatives have, associated to the easy degradation of their constituents, less toxicity and also because they represent a safer alternative to the environment. Eugenol has aroused the interest of researchers who seek for ways of controlling the larvae of *Aedes aegypti* as it has a proven larvicidal action. However, the direct use of eugenol has limitations related to its solubility in aqueous places. Therefore, obtaining a system that favors its release in aqueous places is necessary. Thus, this study aimed to get a formulation containing eugenol epoxide, and to test its effectiveness in controlling *A. aegypti* larvae, in laboratory conditions. The derivative was obtained by the methylation and epoxidation reactions through ^1H NMR analysis. The polymer formulations were obtained by the block polymerization method. The larvicidal activity was evaluated from the determination of the median lethal concentration (LC_{50}). The result of ^1H NMR analysis identified the derivative as eugenol epoxide, being incorporated 3%, 5% and 10% in the polymeric formulation. The polymer formulation with 10% eugenol epoxide showed larvicidal activity (LC_{50} 0, 827 mg / mL), causing mortality of 100% of the larvae within 24 hours after application. The results of this study evidenced the potential of formulated for controlling the *A. aegypti* larvae. So, this study emerges as an effective and promising alternative to be used as a new agent to control *A. aegypti* mosquito larvae.

KEYWORDS: Biotechnology; Mosquito control; Eugenol; Polymer.

SUMÁRIO

| | |
|--|-------------|
| FICHA CATALOGÁRFICA..... | i |
| DEDICATÓRIA | ii |
| AGRADECIMENTOS | iii |
| EPÍGRAFE | v |
| RESUMO..... | vi |
| ABSTRACT | vii |
| SUMÁRIO..... | viii |
| LISTA DE FIGURAS..... | x |
| LISTA DE TABELAS | xi |
| ANEXOS | xii |
| | |
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 Geral | 17 |
| 2.2 Específicos..... | 17 |
| | |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 18 |
| 3.1 Biologia: <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)..... | 18 |
| 3.1.1 Vetor de Arboviroses: Problema de saúde pública..... | 20 |
| 3.1.2 Dengue..... | 20 |
| 3.1.3 Febre Chikungunya | 21 |
| 3.1.4 Zika | 21 |
| 3.2 Controle do Vetor | 22 |
| 3.2.1 Resistência dos Vetores a Inseticidas | 23 |
| 3.2.2 Inseticidas de origem botânica: Modalidades de controle vetorial | 25 |
| 3.2.3 Inovações biotecnológicas no controle de mosquitos..... | 27 |
| 3.2.3.1 Epóxis..... | 28 |
| 3.2.3.2 Resinas epóxi obtida de óleos vegetais..... | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 33 |
| 4.1 Síntese do Derivado do Eugenol | 33 |
| 4.2 Polimerização em Bloco..... | 36 |
| 4.3 Técnica de Caracterização | 37 |
| 4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)..... | 37 |
| 4.4 Criação das Larvas Usadas nos Bioensaios..... | 37 |
| 4.4.1 Obtenção de Ovos..... | 37 |
| 4.4.2 Obtenção das Larvas..... | 39 |
| 4.5 Bioensaios..... | 40 |
| 4.5.1 Bioensaios Seletivos | 40 |
| 4.5.2 Bioensaios Dose | 41 |
| 4.6 Concentração Letal Mediana (CL ₅₀)..... | 42 |
| | |
| 5 RESULTADOS | 43 |
| 5.1 Caracterização Espectroscópica do Eugenol Epóxido..... | 43 |
| 5.2 Polimerização em Bloco..... | 44 |
| 5.2.1 Síntese do Formulado Polimérico | 44 |
| 5.3 Atividade Larvicida | 44 |
| 5.3.1 Bioensaios Seletivos | 44 |
| 5.3.2 Bioensaios de Dose..... | 45 |
| 5.4 Concentração Letal Mediana - CL ₅₀ | 47 |
| | |
| 6 DISCUSSÃO | 50 |
| 6.1 Síntese do Formulado de Derivado de Eugenol | 50 |
| 6.2 Atividade Larvicida | 53 |
| | |
| 7 CONCLUSÃO..... | 55 |
| | |
| 8 PESPECTIVAS..... | 56 |
| | |
| 9 REFERÊNCIAS | 57 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. Estrutura Química do Eugenol | 26 |
| FIGURA 2. Posições dos grupos epóxi: a) internos; b) terminais e c) estruturas cíclicas | 28 |
| FIGURA 3. Estrutura da resina epóxi diglicidiléter do bisfeno-A (DGEBA)..... | 29 |
| FIGURA 4. Reagentes mais utilizados na síntese de resinas epóxi: a) epicloridrina e b) bisfenol-A...29 | |
| FIGURA 5. Fluxograma da obtenção do derivado epóxido..... | 33 |
| FIGURA 6. Reator contendo a mistura para obtenção do derivado de eugenol | 34 |
| FIGURA 7. Reator ligado a bomba de vácuo para retirada do solvente | 35 |
| FIGURA 8. A - Pistola de ar quente utilizada. B – Sistema para obtenção das frações | 36 |
| FIGURA 9. Seringas contendo os materiais com os formulados poliméricos | 37 |
| FIGURA 10. A – Gaiola utilizada para a criação dos mosquitos adultos. B – Copo contendo fita de papel com ovos das fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> | 39 |
| FIGURA 11. Bacia plástica contendo água, alimento e as fitas de papel com os ovos | 39 |
| FIGURA 12. Disposição dos copos plásticos durante a realização dos bioensaios | 41 |
| FIGURA 13. Espectro de RMN ¹ H e estrutura molecular (400 MHz, CDCl ₃) da amostra FE8 | 43 |
| FIGURA 14. Estrutura do eugenol epóxido..... | 43 |
| FIGURA 15. Representação gráfica da quantidade de larvas mortas em porcentagem em valores não acumulativos nos bioensaios com o formulado polimérico, nos intervalos de leitura de 24, 48 e 72 horas..... | 47 |
| FIGURA 16. Regressão linear dose-probit da mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> nos bioensaios com formulado polimérico. (reta: probit calculado, pontos: probit observado)..... | 50 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1. Composição dos Formulados Poliméricos..... | 44 |
| TABELA 2. Mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> observada nos bioensaios seletivos com os formulados poliméricos de eugenol | 45 |
| TABELA 3. Mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> em valores cumulativos nos intervalos 24, 48 e 72 horas, observada nos bioensaios com formulado polimérico com 10% eugenol epóxido | 46 |
| TABELA 4. Concentração letal mediana (CL ₅₀) do formulado polimérico com 10% de eugenol epoxido em larvas de <i>Aedes aegypti</i> | 48 |

ANEXOS

| | PG |
|---|-----------|
| ANEXO 1 - Cálculo para obtenção dos polímeros | 78 |
| ANEXO 2 - Cálculo estequiométrico para resina epóxi DOW..... | 80 |
| ANEXO 3 - Cálculo estequiométrico para resina epóxi DOW..... | 81 |
| ANEXO 4 - Cálculo estequiométrico para resina epóxi DOW..... | 82 |
| ANEXO 5 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE1 | 83 |
| ANEXO 6 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE2 | 84 |
| ANEXO 7 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE3 | 85 |
| ANEXO 8 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE4 | 86 |
| ANEXO 9 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE5 | 87 |
| ANEXO 10 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE6 | 88 |
| ANEXO 11 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE7 | 89 |
| ANEXO 12 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ ; 400 MHz) da amostra FE8 | 90 |

1 INTRODUÇÃO

As áreas tropicais e subtropicais do globo terrestre são mais vulneráveis a doenças parasitárias (SUTER et al., 2017). O risco de contrair doenças transmitidas por artrópodes é grande devido à urbanização não planejada, a intensificação da globalização e de fatores relacionados às mudanças climáticas. Estes têm impacto significativo na transmissão de doenças, nestes últimos anos, sendo que os mosquitos desempenham um papel fundamental na transmissão de uma variedade de parasitas e patógenos, nestas áreas. Os mosquitos constituem um grupo de grande importância para a saúde pública, pois atuam como os vetores dessas doenças, estando entre as principais causas de mortalidade e morbidade em seres humanos. Assim sendo, dentre as doenças, podemos citar como exemplo dengue, chikungunya, malária, filariose, febre amarela, encefalite japonesa e o vírus Zika (MEHLHORN et al., 2012; BENELLI, 2015a; ARAÚJO et al., 2015; GOVINDARAJAN et al., 2016; GONZÁLES et al., 2017; WHO, 2017).

O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) é o principal vetor de várias doenças virais no Brasil como dengue, chikungunya, zika e febre amarela urbana (TOLLE, 2009; PETERSEN et al., 2016). Entre as doenças transmitidas, a dengue ainda é a mais grave e ocupa uma posição de destaque e permanece entre as grandes preocupações na saúde pública dos países tropicais e subtropicais (BENELLI, 2015b; WHO, 2017).

A incidência mundial da dengue aumentou 30 vezes nos últimos 50 anos e mais países estão relatando seus primeiros surtos da doença (WHO, 2015). Entre 2008 e 2012, mais de 1,2 milhões de casos de dengue foram identificados a cada ano (BHATT et al., 2013; ARAÚJO et al., 2015). No Brasil, em 2017, até a semana epidemiológica 45, foram registrados 239.076 casos prováveis de dengue no país, com uma incidência de 116,0 casos/100 mil habitantes. Neste mesmo período, na região norte, registrou-se 21.057 casos e no estado do Amazonas foram constatados 3.899 casos, também até a semana epidemiológica 45 (BRASIL, 2017).

Em 2014 foram registrados os primeiros casos de chikungunya autóctones detectados no Brasil. Em 2017, até semana epidemiológica 45, registrou-se 184.458 casos prováveis de chikungunya no país. No estado do Amazonas, este número atingiu 259 casos prováveis (CAMPOS et al., 2015; BRASIL, 2017).

Considerando o vírus Zika no país em 2017, até a semana epidemiológica 45, foram registrados 16.870 casos prováveis, sendo 418 casos notificados para o estado do Amazonas (BRASIL, 2017).

Levando-se em conta a situação epidemiológica do Brasil, o uso de inseticidas químicos está à frente das ações de controle do mosquito vetor. O controle químico é o principal método utilizado pelo poder público para diminuir as epidemias, desempenhando um papel essencial na redução da dengue, do vírus Zika e do chikungunya (LIMA et al., 2006; BESERRA et al., 2007; LIMA et al., 2015; BENELLI e MEHLHORN, 2016).

O controle dos mosquitos depende principalmente de aplicações contínuas de organofosforado, como temephos, reguladores de crescimento de insetos, como diflubenzuron e methoprene e larvicidas bacterianos, como *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* (LEES et al., 2015). Além disso, ressalta-se que os produtos químicos têm efeitos negativos sobre a saúde humana e o meio ambiente (NARAHASHI, 2000; BIONDI et al., 2012; LIU et al., 2013; MIRESMAILLI e ISMAN, 2014).

Portanto, são necessárias urgentemente ferramentas de controle ecologicamente seguras e viáveis. Nos últimos anos, pesquisas extensas foram realizadas para investigar a eficácia de inseticidas botânicos contra os mosquitos, uma vez que não são tóxicos para os mamíferos e são candidatos promissores para substituir os inseticidas convencionais (SHAALAN et al., 2005; CARVALHO, 2011; CANTRELL et al., 2012; MIRESMAILLI e ISMAN, 2014; REEGAN et al., 2014; PAVELA, 2015; GOVINDARAJAN et al., 2016; GONZÁLES, 2017). Os inseticidas botânicos são promissores, pois são efetivos e benéficos para o meio ambiente, são facilmente biodegradáveis e muitas vezes apresentam baixo custo de produção, tornando comercialmente competitivo em relação aos inseticidas químicos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000; KAMARAJ et al., 2011; REGNAULT-ROGER et al., 2012).

Em particular, o potencial de investigar plantas com fontes de metabólitos para fins de controle é digno de atenção (BENELLI e MEHLHORN, 2016). As moléculas produzidas por plantas são muitas vezes eficazes, em poucas partes por milhão (ppm), contra os estádios larvais das espécies do gênero *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (BENELLI, 2015; PAVELA, 2015). Estas podem ser usadas para a síntese de novos derivados (BENELLI, 2016) e até mesmo utilizadas para preparar formulações botânicas, com baixa toxicidade para humanos (AMER e MEHLHORN, 2006; GLEISER e ZYGADLO, 2007; GERIS et al., 2008; MULLAI et al., 2008; RAHUMAN et al., 2008; SILVA e GOMES, 2008; LEYVA et al., 2009; SEMMLER et al., 2009; REGNAULT-ROGER et al., 2012; BENELLI, 2015).

Neste trabalho foi utilizado o eugenol - 4-alil-2-metoxifenol, molécula usada desde o século XIX, como agente aromático em uma grande variedade de produtos farmacêuticos e

alimentícios. O eugenol se constitui no maior componente do óleo essencial extraído do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) (70–90 %). Este composto fenólico apresenta atividade inseticida e possui propriedades medicinais (ISMAN, 2006; CHAIEB et al., 2007; HUILING et al., 2008; SADEGHIAN et al., 2008; AMIRI et al., 2008; SHOKEEN et al., 2008; HEMAISWARYA e DOBLE, 2009; BHAT e KEMPRAJ, 2009; MIOT et al., 2011; BAGAVAN e RAHUMAN, 2011; MEDEIROS et al., 2011; MEDEIROS et al., 2013; QUEIROZ et al., 2015). O cravo-da-índia é amplamente conhecido, sendo usado principalmente como condimento na culinária, devido ao seu marcante aroma e sabor (RAINA, 2001; EYAMBE, et al., 2011).

Medeiros (2011) demonstrou a atividade larvicida do extrato aquoso do cravo-da-índia em larvas de *A. aegypti* em laboratório e em campo. O extrato aquoso desta planta mostrou-se efetivo no controle das larvas, em aparadores de vasos nas residências, mantendo a atividade efetiva por um período médio entre 8 e 10 dias. Após este período, o extrato aquoso sofreu alta biodegradação no ambiente, sendo esta uma característica inerente a todos os compostos botânicos. De acordo com MARCOMINI (2009), este foi o motivo pelo qual os inseticidas botânicos foram substituídos pelos sintéticos, no passado.

Uma solução para contornar o problema da rápida degradação no ambiente dos extratos aquoso, consiste na modificação química da estrutura do princípio ativo, possibilitando o aumento no tempo do efeito larvicida, sem alterar os seus efeitos benéficos, melhorando a potência e estabilidade do eugenol, bem como na segurança para os seres humanos e o meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2014).

Embora estudos tenham mostrado atividade dos inseticidas botânicos (extratos, óleos essenciais, componentes ativos isolados e derivados) uma questão importante é que apresentam baixa estabilidade físico-química, alta volatilidade, propriedades térmicas, decomposição, entre outras desvantagens. Portanto, o uso de ferramentas biotecnológicas poderá oferecer uma maneira de desenvolver novas formulações e sistemas capazes de melhorar a eficiência desse tipo de inseticida (KHOT et al., 2012).

A procura por formulações alternativas para combater o mosquito *A. aegypti* torna-se relevante, considerando que este mosquito tem uma elevada capacidade em veicular patógenos (LANG et al., 2017). Neste contexto, o fato do eugenol mostrar atividade larvicida, representa uma alternativa eficiente no controle desse vetor.

Assim, torna-se necessário ampliar o tempo de atuação do eugenol, onde o princípio ativo possa ter sua liberação controlada. Uma formulação polimérica proporcionará a redução

na quantidade do princípio ativo a ser liberado por evaporação, protegendo também os ingredientes ativos da degradação por ação da luz solar. No caso do eugenol, uma formulação com essas características, constitui uma alternativa econômica e eficiente para o controle dos vetores, por períodos maiores de atuação.

Uma série de materiais é sugerida para o preparo de novas formulações inseticidas, incluindo emulsões, materiais orgânicos (metal e óxidos metálicos) e materiais baseados em polímeros (BUTELER et al., 2015; NURUZZAMAN et al., 2016; SHAH et al., 2016). Diferentes polímeros são considerados para a síntese de formulações poliméricas contendo inseticidas botânicos, incluindo amido e seus derivados (dextrinas, maltodextrinas, ciclodextrinas), gomas, alginatos, quitina e poliésteres (polietileno glicol, poli- ϵ -caprolactona), entre outros (VARONA et al., 2013; ALVES et al., 2014; FERNANDES et al., 2014; GONZÁLEZ et al., 2014; KFOURY et al., 2015; VISHWAKARMA et al., 2016; FERNANDES, 2016).

As resinas epóxis como polímeros de engenharia são amplamente utilizadas na preparação de revestimentos, adesivos, encapsulantes, etc. (DEKKER, 1988; HAMERTON, 1996; PETRIE, 2006). Dentre as várias famílias de agente de cura, as mais conhecidas e estudadas são as do tipo amina (poliamidas, poliaminoamidas, aminas alifáticas, aminas cicloalifáticas, aminas aromáticas, adutos de aminas, anidridos, polimercaptanas e polissulfetos). Esta família é constituída por numerosos compostos polifuncionais com diferentes estruturas químicas, que contêm em comum a presença de grupos amina do tipo primária, secundária e terciária (GHAFAR e FAN, 2014).

Neste contexto, o presente trabalho está voltado para o estudo de novas estratégias com eficácia e segurança para o controle do *A. aegypti*, utilizando aplicações por meio de ferramentas biotecnológicas. O estudo concentrou-se na obtenção de formulados poliméricos de eugenol epóxido, sendo avaliado seu potencial larvicida, constituindo-se em uma alternativa eficaz para o controle do *A. aegypti*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar formulados poliméricos, à base de derivado de eugenol epóxido e testar o potencial larvicida, em condições de laboratório, considerando a sua aplicabilidade como medidas de controle do mosquito transmissor da dengue, chikungunya e zika, na região Amazônica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Obter o derivado epóxido a partir do eugenol;
- 2) Caracterizar a estrutura do epóxido produzido utilizando a técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H);
- 3) Sintetizar formulados poliméricos a partir do eugenol epóxido;
- 4) Avaliar o potencial larvicida dos formulados poliméricos, em larvas de *Aedes aegypti*, por meio de bioensaios em condições de laboratório, determinando os valores da Concentração Letal Mediana - CL_{50} .

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biologia: *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

O mosquito *A. aegypti* pertencente ao filo Arthropoda, à classe Insecta, à ordem Diptera, à família Culicidae e ao gênero *Aedes* (CHRISTOPHERS, 1960). O desenvolvimento pós-embrionário do *A. aegypti* é por holometabolia, ou seja, apresenta desenvolvimento por metamorfose completa. Seu ciclo de vida compreende duas fases ecológicas distintas e interdependentes, sendo uma aquática, compreendendo as fases de ovo, larva e pupa, e uma terrestre correspondente ao mosquito adulto. O estágio larval possui quatro instar de desenvolvimento (FORATTINI, 2002).

Esse mosquito tem ampla distribuição geográfica, predominando principalmente nas áreas tropicais e subtropicais situadas entre os paralelos de latitudes 35° Norte e 35° Sul e nas zonas isotermas de 10°C em latitudes norte e sul (CONSOLI e LOURENCO-DE-OLIVEIRA, 1994). Esse culicídeo é originário da África e chegou ao continente americano após desenvolver, em seu ambiente primário, grau significativo de sinantropia (CHRISTOPHERS, 1960). É adaptado ao ambiente urbano, com hábitos domésticos, apresentando a hematofagia, cópula e oviposição nas primeiras horas ao amanhecer e ao anoitecer.

A dispersão do mosquito ocorre de forma passiva, sendo por via terrestre, marítima e aérea, através de ovos depositados em pneus usados e adultos que se abrigam dentro de veículos. A dispersão ativa de *A. aegypti* é variável, sendo guiada pela busca de sítios apropriados de oviposição, geralmente o alcance não excede os 100 metros, porém, já foi demonstrado até 3 km, quando não havia recipientes para oviposição nas proximidades. Fora do período de alimentação, reprodução e dispersão, os mosquitos procuram abrigos com pouca luz, ausência de vento, umidade relativa do ar elevada e com pouco movimento para repousar (FUNASA, 2001).

As fêmeas utilizam preferencialmente criadouros artificiais para oviposição, como recipientes abandonados a céu aberto que acumulam água, além de reservatórios naturais como bromélias, bambus e escavações em rochas (CONSOLI e LOURENCO-DE-OLIVEIRA, 1994).

A postura é realizada individualmente próxima à lâmina d'água, no instante da postura os ovos são brancos, mas adquirem coloração negra rapidamente. O tempo necessário para o desenvolvimento do ovo a adulto sofre variações de acordo com as condições de temperatura, umidade, disponibilidade de alimento e, normalmente, completa-se em 10 dias.

Os ovos são revestidos externamente por uma camada denominada de exocório, medem, aproximadamente 1 mm de comprimento e têm o contorno alongado e fusiforme (GADELHA e TODA, 1985). São resistentes à dessecação, podendo permanecer viáveis no campo, por mais de um ano, sendo observada eclosão com até 450 dias de quiescência (FUNASA, 2001).

A eclosão das larvas ocorre após o desenvolvimento embrionário em condições ambientais favoráveis. O principal estímulo para a eclosão é o contato do ovo com a água do criadouro. As larvas passam por quatro fases de desenvolvimento denominadas L1, L2, L3 e L4, o período larval varia de quatro a sete dias. O corpo é composto de cabeça, tórax e abdômen, o abdômen é dividido em oito segmentos, a parte posterior e anal possui quatro brânquias lobuladas para regulação osmótica e um sifão ou tubo de ar para a respiração na superfície da água. Na fase subsequente, correspondem ao estágio de transição entre o indivíduo do meio aquático para o terrestre, têm-se as pupas, que possuem o corpo dividido em cefalotórax e abdômen, com um par de tubos respiratórios ou trombetas. Neste período, geralmente de dois a três dias, não ocorre alimentação e há metamorfose para estágio adulto (FORATTINI, 2002).

Os adultos apresentam tórax enegrecido, ornamentado com desenho em forma de lira no mesonoto e faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais. O macho se distingue da fêmea por possuir antenas plumosas e palpos mais longos. Permanecem vivos em condições de laboratório, comumente, por dois a três meses, na natureza, vivem em média trinta dias (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1998).

Os machos e as fêmeas alimentam-se de seiva de plantas, as fêmeas necessitam das proteínas presentes no sangue do hospedeiro para a maturação dos ovos. Essa espécie é hematófaga, predominantemente doméstica e antropofílica. O número de ovos por postura depende da quantidade de sangue ingerido durante o repasto sanguíneo, mas geralmente uma fêmea produz em média 120 ovos (FORATTINI, 2002).

3.1.1 Vetor de Arboviroses: Problema de saúde pública

O mosquito *A. aegypti* é um inseto vetor de várias doenças humanas, como a dengue, febre amarela urbana, chikungunya e zika, torna-o um problema de saúde pública (LANG et al., 2017). As doenças transmitidas por mosquitos estão entre as principais causas de mortalidade e morbidade em seres humanos. A globalização das viagens e do comércio, a urbanização não planejada e mudanças ambientais, têm tido um impacto significativo sobre a transmissão da doença, nos últimos anos (ARAÚJO et al., 2015).

3.1.2 Dengue

A dengue atualmente representa uma ameaça crescente para mais de 2,5 bilhões de pessoas em mais de 100 países tropicais e subtropicais em todo o mundo, predomina nos países da África, Ásia, Américas Central e do Sul, logo caracteriza como uma doença de países pobres e em desenvolvimento (WRBU, 2017). As viagens aéreas internacionais estão promovendo o movimento global dos vírus que causam a dengue e aumenta o risco de epidemias com a introdução de novos sorotipos do vírus, em populações suscetíveis (BRASIL, 2017).

A transmissão da dengue ocorre pela picada do mosquito *A. aegypti* e possui 5 vírus distintos já identificados, sendo estes: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 e recentemente o DENV-5 foi identificado em uma epidemia na Malásia (WHO, 2015; MUSTAFA et al., 2015). Uma infecção sequencial aumenta o risco de doença mais grave, resultando na febre hemorrágica da dengue (MUKTAR et al., 2016).

Atualmente, o método disponível para prevenção e controle da dengue é por meio do manejo do vetor. No entanto, no meio científico, o objetivo maior é a obtenção de uma vacina que seja eficaz para o controle dos cinco sorotipos - DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 e DENV-5 (GUY, 2011; SCHWARTZ et al., 2015).

Apesar dos esforços para reduzir a morbidade e mortalidade, a dengue continua negligenciada como importante epidemia mundial. Os trabalhos realizados não são globalmente coordenados, tornando assim inviável o seu controle e a sua possível erradicação (WHO, 2017).

No Brasil, em 2017, até a semana epidemiológica 45 foram registrados 239.076 casos prováveis de dengue no país, com uma incidência de 116,0 casos/100 mil habitantes. Nesse mesmo período a região norte registrou 21.057 casos. No estado do Amazonas foram registrados 3.899 casos até a semana epidemiológica 45 (BRASIL, 2017).

3.1.3 Febre Chikungunya

Outra arbovirose com crescente incidência é a chikungunya ou febre de chikungunya (CHIKV). Trata-se de uma doença causada pelo vírus da família *Togaviridae* do gênero *Alphavirus*, transmitida pela picada de fêmeas dos mosquitos *A. aegypti* e de *A. albopictus* infectadas pelo CHIKV (CDCP, 2011). Foi identificada em mais de 60 países na Ásia, África, Europa e Américas, com registros de 1.135.000 casos suspeitos nas ilhas do Caribe, países da América Latina e EUA, causando 176 mortes nos primeiros meses de 2015 (WHO, 2015).

O significado de chikungunya vem da língua africana makonde que diz “aquele que é contorcido”, devido à forte dor nas articulações causada pela artrite que caracteriza a doença (TAUIL, 2014). No Brasil, a transmissão da chikungunya foi detectada em setembro de 2014, na cidade de Oiapoque (Amapá), atingindo posteriormente outros estados como Distrito Federal, Bahia, Mato Grosso do Sul, Roraima e Goiás (HONÓRIO, 2015).

Em 2015 foram notificados no país 38.332 casos prováveis de febre de chikungunya, distribuídos em 696 municípios, dos quais 13.236 foram confirmados. Também foram confirmados 6 óbitos por febre de chikungunya na Bahia (3 óbitos), em Sergipe (1 óbito), São Paulo (1 óbito) e em Pernambuco (1 óbito).

Em 2017, até semana epidemiológica 45, foram registrados 184.458 casos prováveis de febre de chikungunya no país. No estado do Amazonas, os números de casos prováveis foram 259 (BRASIL, 2017).

3.1.4 Zika

O zika vírus (ZIKV) foi identificado, pela primeira vez, em 20 de abril de 1947, na floresta Zika (daí o nome do vírus), localizada na Uganda, na África, em um macaco do gênero Rhesus (ZANLUCA et al., 2015; VASCONCELOS, 2015). Em seres humanos o vírus foi descoberto em 1952 na Uganda e Tanzânia, e em 1968 foi confirmado em amostras biológicas de humanos na Nigéria (STATES, 2015). O ZIKV é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae* (OEHLER, 2013). Apesar do vírus já existir por vários anos, somente no início de 2015 foi confirmada transmissão autóctone de febre pelo vírus Zika (ZIKV) no Brasil (VASCONCELOS, 2015). Os primeiros casos surgiram na Bahia e em São Paulo, logo em seguida a infecção pelo o ZIKV foi confirmada no Rio Grande do Norte, Alagoas, Maranhão, Pará e Rio de Janeiro (VASCONCELOS, 2015).

Além disso, também foram confirmados laboratorialmente três óbitos por vírus Zika no país: um em São Luís/MA, um em Benevides/PA e outro em Serrinha/RN. Recentemente,

foi observada uma possível correlação entre a infecção pelo ZIKA e a síndrome de Guillain-Barré (SGB) em locais com circulação simultânea do vírus da dengue (NHAN et al., 2014; ZAMMARCHI et al., 2015).

Em 2017, até a semana epidemiológica 45, foram registrados 16.870 casos prováveis de febre pelo vírus Zika no país, sendo 418 casos notificados para o Amazonas (BRASIL, 2017).

A ocorrência das doenças anteriormente mencionadas está diretamente relacionada com a ecologia e distribuição do vetor, ecologia dos hospedeiros, variáveis ambientais e ocupação do espaço pelo homem (FORATTINI, 2002). Os fatores estruturais e conjunturais como concentração da população humana e aumento da mobilidade de pessoas também podem potencializar a propagação das doenças, favorecendo a expansão e a manutenção da circulação do vírus e seus vetores (GLASSER e GOMES, 2002).

3.2 Controle do vetor

Não existindo ainda uma vacina que confira imunidade, a principal medida de combate à doença é mesmo o controle vetorial (HOMBACH, 2007; PERIAGO e GUZMÁN, 2007; ACIOLE, 2009; SANTOS, 2014). O controle do mosquito está baseado em várias ações, tais como, manejo ambiental, melhoria no saneamento básico, coleta dos resíduos sólidos, conscientização da comunidade em relação à infestação domiciliar pelo mosquito, controle químico e biológico nas várias formas, sendo que cada uma vem com desafios na sua execução (GENTZ et al., 2009).

A aplicação de inseticidas químicos para combater os vetores é o principal tipo de controle, entretanto, seu uso deveria ser dosado para não exercer pressão seletiva, e assim não aumentar a população de vetores resistentes (SILVA, 2017).

O principal inseticida químico utilizado na Segunda Guerra Mundial para o controle de insetos foi o dicloro difenil tricloroetano (DDT), tornando-se um dos inseticidas de baixo custo conhecido. O DDT modifica a permeabilidade dos íons de potássio na membrana nervosa, reduzindo o seu transporte, ligando-se aos canais de sódio, prolongando o influxo do sódio e o potencial de ação. Além do que, também inibe as ATPases neuronais, importantes na repolarização neuronal e a calmodulina, essencial à libertação intraneuronal dos neurotransmissores. A função neuronal do inseto torna-se descontrolada, levando à sua morte (D' AMATO et al., 2002; BRAGA e VALLE, 2007).

Ainda que eficaz e de baixo custo, o uso indiscriminado do DDT trouxe várias consequências, dentre elas a resistência de artrópodes, a acumulação no meio ambiente e na cadeia alimentar. Em 1998 foi proibido o uso deste inseticida em campanhas de saúde pública no Brasil (VAN DEN BERG, 2010).

Por motivo de episódios de resistência em amostras de populações de *A. aegypti* aos inseticidas em uso o Plano Nacional de Controle da Dengue (PNCD) vem, ao longo dos anos, promovendo a sua substituição. Os organofosforados (malationa, fenitrotona e temefós) foram os primeiros a substituir os organoclorados. No entanto, os piretroides (cipermetrina e deltametrina) são usados como alternativa para substituição dos organofosforados, por sua alta eficiência contra mosquitos adultos, sendo necessário menores quantidades de produto ativo (MACORIS et al., 1999; ACIOLE, 2009; ZARA et al., 2016).

Uma das principais desvantagens para o uso de inseticidas químicos, no controle de mosquitos, é o risco de contaminação ambiental e os efeitos indiscriminados de organismos não-alvo (GONZÁLES et al., 2017). Devido aos problemas provocados pelo uso indiscriminado dos inseticidas químicos, medidas de controle alternativas são amplamente utilizadas, incluindo micro-organismos entomopatogênicos (BECKER e ASCHER, 1998; SILVA e SILVA, 2000; POWELL e TABACHNICK, 2013; CASTAGNOLA e STOCK, 2014).

As bactérias foram os primeiros agentes empregados no controle biológico de larvas de mosquitos. Considerando os fungos entomopatogênicos, embora não existam produtos específicos para mosquitos, estes foram capazes de infectar ovos, larvas e adultos de *A. aegypti*. Outros tipos de organismos, como baculovírus e peixes larvófagos, também são empregados no controle desses vetores (LUZ et al., 2007; LELES et al., 2010; PAULA et al., 2011; SOUSA et al., 2013).

3.2.1 Resistência dos vetores aos inseticidas

O uso de inseticidas sintéticos está à frente nas ações de controle de vetores em muitas partes do mundo. Muitos desses produtos químicos são tóxicos para a saúde humana, vegetal e vida animal, além dos efeitos negativos sobre insetos não alvos e a resistência dos mosquitos a estes inseticidas, cujos registros têm aumentado nas últimas décadas (RAHUMAN et al., 2009; BISSET, 2002).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a resistência a inseticidas é a capacidade de uma população de insetos tolerar doses de um determinado inseticida, as quais

exerceriam uma ação letal sobre à maioria dos indivíduos de uma população normal, da mesma espécie (ACIOLE, 2009).

Em consequência dessa intensa utilização de inseticidas, observou-se que os organismos desenvolvem resistência a tais compostos, após um determinado tempo de contato. Em 1946, o número de insetos resistentes a estes produtos era de apenas 2, em 1962 eram 81 e seis anos depois esse número aumentou para 102 (WHO, 1992). Nos anos 80 aumentou para 150 e na década de 90 já eram mais de 500 (GEORGHIOU e LAGUNES-TEJEDA, 1991).

Destes, mais de 100 eram mosquitos, dos quais 56 eram anofelinos e 39 culicídeos. Considerando os culicídeos, duas espécies são do gênero *Aedes*, resistentes a 16 tipos de inseticidas (FONSECA e QUIÑONES, 2005; SERDEIRO et al., 2017). Nos mosquitos *Aedes*, a resistência ao DDT foi observada, pela primeira, vez em 1947. Estes dados mostram que o amplo uso de inseticidas químicos tem levado ao desenvolvimento da resistência, como um resultado de seleção de genes específicos (ACIOLE, 2009).

Estudos realizados por Pridgeon et al. (2008) demonstraram que 19 inseticidas da coleção do Comitê de Ação a Resistência a Inseticidas (IRAC), mostraram atividade em três espécies de mosquitos, incluindo *A. aegypti*. Com este trabalho demonstrou-se que esta espécie apresenta vários níveis de susceptibilidades aos inseticidas avaliados, e que para ter sucesso no controle dos vetores, se faz necessário buscar novos compostos para serem utilizados em espécies susceptíveis.

No entanto, existem alguns fatores que influenciam nos insetos quanto à evolução da resistência aos inseticidas. Estes se referem à genética da resistência, à biologia, à ecologia do inseto e ainda à execução de medidas operacionais, utilizadas nas ações de controle (GEORGHIOU e TAYLOR, 1986; GUARDA et al., 2016).

Os fatores genéticos da resistência dizem respeito, especialmente, à presença e à frequência na população de alelos que conferem resistência (GEORGHIOU e TAYLOR, 1986). Portanto, a resistência é uma característica herdada e estabelecida por alelos os quais podem ser recessivos, dominantes ou codominantes (BROWN, 1986, BUSATO et al., 2015). Os fatores bio-ecológicos referem-se ao ciclo de vida e à ecologia do inseto, cujos parâmetros podem alterar a resposta da seleção que conduz à resistência. Sendo assim, quanto maior o número de gerações por ano, mais rápida será a evolução da resistência. Portanto, os fatores operacionais são aqueles relacionados à aplicação dos pesticidas e estes estão sob o controle

do homem. Relacionam-se com tempo, dose e as formulações dos inseticidas a serem utilizados em cada localidade (GEORGHIOU e TAYLOR, 1986).

3.2.2 inseticidas de origem botânica: modalidades de controle vetorial

O uso de inseticidas botânicos para controle de pragas não é uma estratégia nova, técnicas semelhantes foram usadas há 4.000 anos na Índia, enquanto que na China e no Egito, os inseticidas botânicos foram utilizados para controlar as pragas em grãos armazenados há cerca de 3.200 anos (VENZON, 2010).

Ao longo da evolução, acredita-se que muitos metabólitos secundários das plantas têm a função defensiva ou protetora contra-ataques de insetos (MENEZES, 2005). Os mais comuns destes metabólitos incluem os alcalóides, fenólicos e os terpenóides (OLIVEIRA et al., 2014). Estas substâncias podem estar presentes em toda a planta ou em partes isoladas dos tecidos, podendo ser obtidas por extração com solventes orgânicos ou por destilação a vapor (CASTRO et al., 2005; DIETRICH et al., 2013).

Os mecanismos de ação podem variar, especialmente quando a atividade é devido a uma mistura complexa de compostos, que podem ser tóxicos ou repelentes aos organismos alvo e causar mudanças no desenvolvimento, incluindo esterilidade, crescimento reduzido, ruptura da cutícula e comportamento alterado (ISMAN, 2000; BENELLI et al., 2012; ATTIA et al., 2013). Além disso, a exposição a misturas diferentes dos compostos diferencialmente biossintéticos, encontrados em extratos de plantas, podem retardar a evolução da resistência (ISMAN, 2000; KOUL, 2008; KOUL et al., 2008; PAVELA, 2011).

Considerando o controle vetorial do *A. aegypti*, um fator relevante é a busca por substâncias biologicamente ativas, com propriedades inseticidas e de repelência. Estas substâncias possuem um grande potencial para o controle de mosquito, especialmente aquelas com atividade larvicida e adulticida, pelo fato de substituir o uso de inseticidas químicos. Estes frequentemente mostram efeitos colaterais nos seres humanos como os distúrbios sensoriais cutâneos, hipersensibilidade, neurite periférica e irritante de mucosas, sendo utilizados rotineiramente como pesticidas na agricultura e também nas ações de controle de vetores (BAGAVAN et al., 2009; KAMARAJ et al., 2010).

A utilização pelo homem de plantas e dos seus derivados como inseticidas é conhecida há muitos anos (ACIOLE, 2009). O trabalho reportado por Roark (1947), em Shaalan et al. (2005), já descrevia cerca de 1.200 espécies de plantas apresentando este potencial. Atualmente há na comunidade científica interesse no desenvolvimento de novas estratégias

para controlar e reduzir o uso de produtos tóxicos. Uma alternativa é usar um inseticida botânico, que seja sustentável e menos tóxico do que inseticidas sintéticos, para combater o mosquito *A. aegypti*.

Os inseticidas botânicos atualmente podem ser sintetizados a partir de extratos de folhas, sementes, frutos e óleo de muitas espécies de plantas. É possível isolar os componentes químicos dos extratos e realizar bioensaios larvicidas ou testes com mosquitos adultos em laboratório e em campo (GUISSONI et al., 2013; ZARA et al., 2016).

A utilização de plantas e de produtos derivados preparados a partir de seus constituintes, como extratos e óleos essenciais, contra culicídeos têm aumentado nos países industrializados, inclusive no Brasil. E por ser um país com uma flora rica e diversa, este tipo de estudo vem se desenvolvendo largamente. Observando os achados na literatura envolvendo publicações que utilizaram óleos essenciais percebe-se o quanto é vasta esta abordagem e a eficácia destes como alternativa de controle contra mosquitos (NAVARRO et al., 2009). Pois estes apresentam compostos biodegradáveis, produtos não tóxicos e potencialmente adequados para utilização no controle de larvas de mosquito (AMER e MEHLHOR, 2006; SOONWERA e PHASOMKUSOLSIL, 2016).

Vários trabalhos têm demonstrado a busca e o desenvolvimento de extratos brutos ou óleos essenciais ou, ainda, de compostos isolados que atuam contra mosquitos, inclusive para *A. aegypti* (AMER e MEHLHORN, 2006; SILVA et al., 2006; CHAMPAKAEW et al., 2007; GLEISER e ZYGADLO, 2007; GERIS et al., 2008; MULLAI et al., 2008; PAVELA, 2008; RAHUMAN et al., 2008; SILVA et al., 2008; LEYVA et al., 2009; NAVARRO et al., 2009).

Um exemplo é o estudo de Medeiros et al. (2013) que avaliaram a atividade larvicida do óleo essencial do cravo-da-índia, *Eugenia caryophyllata*, em larvas de *A. aegypti*, observando a eficácia e o valor da CL_{50} (3,6 ppm). Em outro trabalho realizado por Medeiros et al. (2011) foi demonstrado que a atividade larvicida do extrato aquoso de *E. caryophyllata* atua em *A. aegypti*, de amostras observadas em campo. O extrato aquoso desta planta mostrou-se efetivo no controle das larvas em aparadores de vasos nas residências, mostrando atividade por um período médio entre 8 a 10 dias de efetividade. Os compostos naturais sofrem alta biodegradação, motivo pelo qual os inseticidas vegetais foram substituídos pelos sintéticos no passado (MARCOMINI, 2009).

A *E. caryophyllata* pertence à família das Mirtáceas, nativa da Indonésia e produz pequenos botões de flores, é conhecida popularmente como cravo-da-índia. O cravo tem sido

usado por décadas, como condimento, perfume, na medicina e na odontologia, cuja explicação está na presença de um constituinte majoritário biologicamente ativo chamado eugenol (SANTOS, 2010; GUZMÁN et al., 2018).

O eugenol (Figura 1) é o principal componente fenólico do óleo extraído do cravo-da-índia, perfazendo aproximadamente 90% do volume total (SANTOS et al., 2009; KAUFMAN, 2015). Seus componentes presentes em menor volume são o acetato de eugenila e β -cariofileno, cujo volume corresponde a 10% do óleo extraído (ROBBERS, 1996).

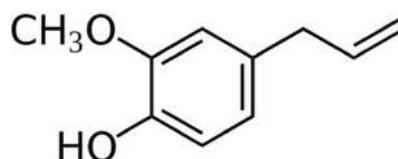


FIGURA 1. Estrutura química do eugenol.

Fonte: <http://qnint.sbg.org.br>

Estudos em laboratório demonstraram propriedades farmacológicas adicionais desta espécie, como potente fungicida, bactericida para microorganismos gram-positivos e gram-negativos, anestésico, antioxidante, antiinflamatório, antialérgico, anticarcinogênica, antimutagênica e inseticida (HE et al., 2007; GUENETTE et al., 2007).

Entretanto, o eugenol apresenta problemas quanto à solubilidade em meio aquoso, em virtude de sua natureza lipofílica (SANTOS, 2010). Esta característica estabelece uma difícil relação entre solubilidade de biodisponibilidade, limitando sua utilização em formulações farmacêuticas. Outra desvantagem do emprego do eugenol são as elevadas concentrações do óleo, para atingir o efeito desejado (MATELIC et al., 2008).

3.2.3 Inovações biotecnológica no controle de mosquitos

Tendo em vista que os produtos derivados de fontes vegetais são importantes e podem ser usados nas ações de combate ao *A. aegypti*, diversas pesquisas realizadas nas últimas décadas se concentram na busca e elaboração de novos inseticidas botânicos, para o combate de mosquitos (NERIO et al., 2010; BENELLI et al., 2013; ISMAN e GRIENEISEN 2014; DIAS e MORAES, 2014; PAVELA, 2015; PAVELA e BENELLI, 2016; GHAYEMPOUR e MONTAZER, 2016; GOVINDARAJAN et al., 2016). O uso de ferramentas tecnológicas

capazes de melhorar a eficácia dessas substâncias pode trazer contribuições significativas para a produção de novas formulações (FORIM et al., 2013; GOGOS et al., 2012).

O estudo da prospecção tecnológica e das formulações biotecnológicas podem ser usados para melhorar a estabilidade e eficácia desses produtos naturais (GHORMADE et al., 2011; PERLATTI et al., 2013; ZARA et al., 2016). Eles também podem proporcionar uma forma de minimizar os efeitos tóxicos indesejáveis, em organismos não alvos, além de melhorar a estabilidade físico-química e prevenir a degradação do agente ativo, por microorganismos (GOGOS et al., 2012; PERLATTI et al., 2013; DURÁN e MARCATO, 2013).

Além disso, um sistema de liberação/suporte pode ser personalizado para ser controlado por difusão, pela erosão, controle de inchaço ou combinações destes, devido a sua natureza lipofílica, os larvicidas com base em óleo ou seus derivados devem ser preparados para serem aplicados efetivamente na água, dependendo do sistema de transferência de massa envolvido (POTHAKAMURI e BARBOSA-CÁNOVAS, 1995; ARIFIN et al., 2006; TRAMON, 2014).

Sobretudo, as pesquisas realizadas com tecnologias poliméricas, incorporando inseticidas botânicos, estão focadas principalmente na síntese de nanoemulsões, nanocápsulas e micropartículas, sendo o principal foco em cosméticos, drogas, embalagens de alimentos e conservantes (ACEVEDO-FANI et al., 2015; MANJU et al., 2016). Entretanto, essas tecnologias poliméricas apresentam grande potencial como ferramenta para utilização no controle de insetos vetores.

Portanto, de maneira a reduzir os problemas associados à molécula de eugenol, dentre as várias alternativas, há a possibilidade de adicionar grupos funcionais à sua estrutura (SANTOS, 2010). Esta reação possivelmente minimizará alguns problemas encontrados no eugenol, melhorando suas características físicas e químicas. Outras vantagens da modificação realizada são a diminuição da instabilidade e mudança do estado físico (SANTOS et al., 2009). O eugenol apresenta a possibilidade de adicionar grupos químicos à sua estrutura (ELGENDY e KAHYYAT, 2008), resultando em um produto de maior valor agregado, como o exemplo a polimerização, sendo uma alternativa na liberação do eugenol.

Os óleos vegetais são matérias-primas com grande potencial, pois podem ser submetidos a diversos processos e, desta forma, gerar uma gama de derivados com inúmeras aplicações. Estes processos podem ser feitos pela introdução de grupos funcionais ou da modificação da cadeia carbônica (COSTA, 2001; BILIA et al., 2014). A reação mais comum

é a epoxidação. Os epóxidos ou oxiranos são estruturas versáteis devido à polaridade e à tensão existente em sua estrutura. Portanto, suscetíveis a reação com um grande número de reagentes, tornando possível a obtenção de outros produtos.

Os epóxios fazem parte de uma das mais importantes classes de polímeros termofixos e têm se destacado, desde a sua descoberta em 1940, até os dias atuais. As inúmeras formas de processamento tornam possível suas aplicações nas mais diversas áreas como tinta, adesivos e revestimentos (SANTOS, 2009; FERDOSIAN et al., 2015).

3.2.3.1 Epóxios

Resinas epoxídicas ou epóxi são compostos cujas moléculas apresentam pelo menos dois grupos funcionais em sua estrutura (MAY, 1988). Estes grupos epóxi podem ser internos, terminais e em estruturas cíclicas (Figura 2).

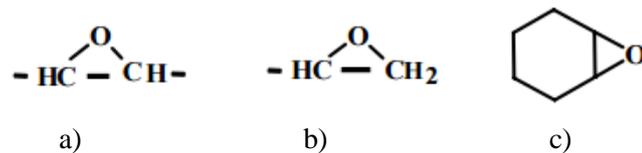


FIGURA 2. Posições dos grupos epóxi: a) internos; b) terminais e c) estruturas cíclicas.

Fonte: <http://qnint.sbg.org.br>

No geral, o termo epóxi é empregado para denominar substâncias líquidas ou sólidas que possuam elevada massa molecular e que possam ser polimerizadas por meio de agentes de reticulação/cura, a fim de obterem-se polímeros termofixos. A principal resina epóxi comercializada é denominado diglicidil éter do bisfenol-A (DGEBA) (Figura 3).

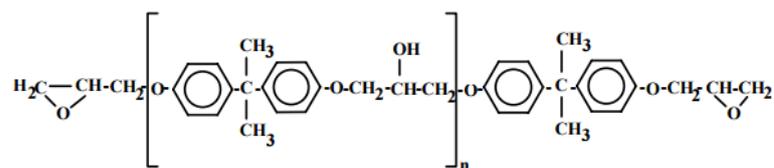


FIGURA 3. Estrutura da resina epóxi diglicidiléter do bisfenol-A (DGEBA).

Fonte: <http://qnint.sbg.org.br>

Estas resinas são muito utilizadas devido ao seu menor custo e maior versatilidade (MAY, 1988). Originam-se da reação entre a epiclorigrina e o bisfenol-A. As estruturas são mostradas na figura 4.

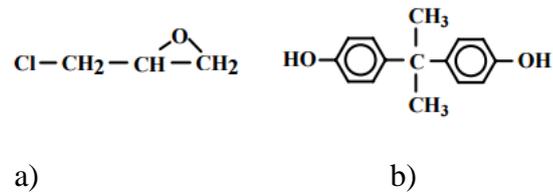


FIGURA 4. Reagentes mais utilizados na síntese de resinas epóxi: a) epiclorigidrina e b) bisfenol-A.

Fonte: <http://qnint.s bq.org.br>

As resinas são classificadas por meio do peso equivalente em epóxi (EEP), que é definido como a razão da massa molecular da resina pelo número de anéis epóxi. Em geral, para as resinas líquidas tem-se valores de até 229; para as semi-sólidas varia de 230 a 459 e para as sólidas maiores que 460 até 5000. O EEP é utilizado para cálculo estequiométrico de proporção entre resina e reticulante (MUSTAFA et al., 2009).

Considerando as características básicas das resinas epóxi, estas apresentam: baixa viscosidade, alta velocidade de cura, baixa contração durante a cura, alto poder adesivo, boas propriedades mecânica e elétrica, ótimo isolantes, boa resistência a agentes químicos e à corrosão. Devido a estas características, as resinas epóxi têm um vasto campo de aplicabilidade, tais como: adesivos, soldas e material para vedação de barcos de metal, plásticos e automóveis, material de fundição para moldes e protótipos, em equipamentos elétricos e eletrônicos (RODRIGUES, 1991; MUSTAFA et al., 2009).

3.2.3.2 Resinas epóxi obtida de óleos vegetais

O crescente interesse pela obtenção de polímeros, a partir de fontes renováveis e a busca por resinas epóxi mais flexíveis e com maior resistência ao impacto, incentivaram a utilização de óleos vegetais epoxidados, como resina epóxi (COSTA, 2001; OLIVEIRA et al., 2014; WAN et al., 2016).

As diversas possibilidades de combinações entre o agente de cura e a resina epóxi tornam possível a obtenção de vários tipos de materiais. No entanto, quando estes materiais possuem altas temperaturas de transição vítrea e alto módulo elástico, estes apresentam baixa resistência ao impacto e tornam-se suscetíveis à fratura na estrutura (GUZMÁN et al., 2018).

A incorporação de 5% a 10% de óleos vegetais epoxidados, em formulações de resina epóxi, proporcionam uma melhora substancial da resistência ao impacto e, desta forma, diminui a ocorrência de fraturas. A aplicação de óleos vegetais modificados na indústria química apresenta-se como uma importante alternativa por se tratar de fontes renováveis.

Óleos vegetais epoxidados ocupam papel de destaque na preparação de intermediários químicos, como base para uma grande variedade de produtos (BIERMAN N et al., 2000).

Reagentes epoxidantes são as substâncias responsáveis pela inserção do oxigênio na ligação dupla carbono-carbono, formando anel epóxi. O uso de sistemas enzimáticos capazes de epoxidar enantios seletivamente e olefinas não-funcionais, também são utilizados (HOLLEBEN e SCHUCH, 1997; KONG et al., 2014).

Diversos métodos para a obtenção de epóxidos são descritos na literatura e compreendem: 1. utilização de catalíticos heterogêneos de estruturas de tiranosilicatos (KUO e CHOU, 1990); 2. epoxidação de compostos oriundos de gordura insaturada utilizando dioxiranos (FOGLIA et al., 1998); 3. geração de perácidos de aldeídos (KUO e CHOU, 1990); 4. auto-epoxidação químico-enzimático catalizada por Novozym 435® imobilizado (WARWEL e KLAAS, 1995; BENYAHYA et al., 2014).

O peróxido de hidrogênio é o reagente epoxidante mais utilizado, porém devido a sua baixa eletrofilicidade, necessita ser ativado para reagir com uma olefina. Esta ativação, normalmente é feita pela conjugação do grupo hidroperóxido com ligações múltiplas ou pela ação de um catalisador metálico (HOLLEBEN e SCHUCH, 1997). Industrialmente, para a epoxidação de ésteres de ácidos graxos, utiliza-se a mistura de ácido fórmico/peróxido de hidrogênio ou perácidos (BIERMAN N et al., 2000).

As resinas epóxi são caracterizadas por um ou mais anéis epóxidos, a versatilidade destas resinas advém do processo de reticulação (cura), que ocorre por meio de reações de abertura do anel, quando submetidas ao calor na presença de um agente reticulante, como diaminas, anidridos, ácidos dicarboxílicos, dióis e alcóxidos (SONNET e FOGLIA, 1996; MIRANDA et al., 1997).

Os óleos vegetais podem ser quimicamente modificados a fim de serem aplicáveis em diversas áreas. Dentre estas cita-se biodiesel, combustível, medicamentos, cosméticos, surfactantes, aditivos para polímeros, entre outros (ASHBY e FOGLIA, 1998; MEIER et al., 2007). Os polímeros, obtidos a partir de óleos vegetais, podem ser usados como revestimentos de superfícies, tintas, borrachas, lubrificantes, assim como substituir compostos petroquímicos (GUSTONE, 2000; MEIER et al., 2007). Alguns exemplos de polímeros preparados a partir de triglicerídeos de óleos vegetais são: poliésteres, poliuretanas, poliamidas e resinas epóxi (GUNNER et al., 2006).

Os poliésteres podem ser sintetizados de diferentes maneiras, tais como policondensação de hidróxi-ácidos ou de um diácido, ou anidro e um diol, ou polimerização

por abertura do anel de lactonas etc., (GUNNER et al., 2006). Os poliésteres, preparados a partir de anidridos e ácidos graxos (provenientes de óleos vegetais), são chamados de resinas alquídicas devido às longas cadeias de ácidos graxos.

A versatilidade desses polímeros com grupos carboxílicos terminais, modificado com resinas epóxi, como glicidil éter, promove a utilização em revestimentos, visto que esta utilização exige elevadas propriedades de impacto e resistência a solventes (MOTAWIE, et al., 1998). No caso das resinas epóxi, a versatilidade na aplicação vai da indústria aeroespacial a aplicações impermeabilizantes de baixo valor agregado, para embarcações (MATEJKA et al., 1983; NUCCI et al., 2006). Estes materiais apresentam uma vasta gama de aplicações como, por exemplo, em cosméticos, na agricultura, na liberação gradual de água e nutrientes, em purificação de água, sensores e na área médica, principalmente em lentes de contato, engenharia tecidual e liberação controlada de fármacos (WATANABE et al., 2008).

Os estudos de resinas é uma área amplamente multidisciplinar, abrangendo ciência dos materiais, química, engenharia biomédica e ciências farmacêuticas (WATANABE et al., 2008). Nos últimos anos, o interesse no uso desses materiais na área biomédica e farmacêutica vem aumentando devido ao alto teor de água, em sua composição, natureza borrachosa, semelhante aos tecidos naturais e sua biocompatibilidade.

O melhoramento continua e a aceleração da pesquisa e desenvolvimento de materiais poliméricos teve um grande reflexo, no uso desses materiais em sistema de liberação controlada. Os sistemas poliméricos disponíveis podem ser classificados de acordo com seus mecanismos de liberação, em quatro grandes categorias: Sistemas (1) controlados por difusão, (2) controlados pela penetração de água, (3) controlados quimicamente e (4) controlados magneticamente (OLMO, 2008; LIECHTY et al., 2010).

Neste sentido, utilizou-se técnicas de inovações biotecnológicas, como a epoxidação e polimerização, que está presente nas várias áreas da indústria à saúde humana, a partir do desenvolvimento de um formulado de derivados ativos. Apresentando um modelo de estudo com formulados poliméricos de eugenol epóxido, onde foi avaliado seu potencial larvicida, constituindo-se em ferramenta eficaz para o controle do *A. aegypti*. Objetivando o estudo de novas estratégias de controle do vetor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado por meio de parceria interdisciplinar e interinstitucional entre o Instituto de Química Orgânica da Universidade de Helsinki (Finlândia) e o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), bem como o curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

4.1 Síntese do derivado do eugenol

O derivado foi preparado a partir do eugenol da marca Sigma-Aldrich com pureza de 99%. A obtenção do derivado seguiu a metodologia de Boltze et al. (1972) sendo realizado em duas etapas consecutivas, usando as reações de metilação (Etapa 1) e epoxidação (Etapa 2), como mostra na figura 5.

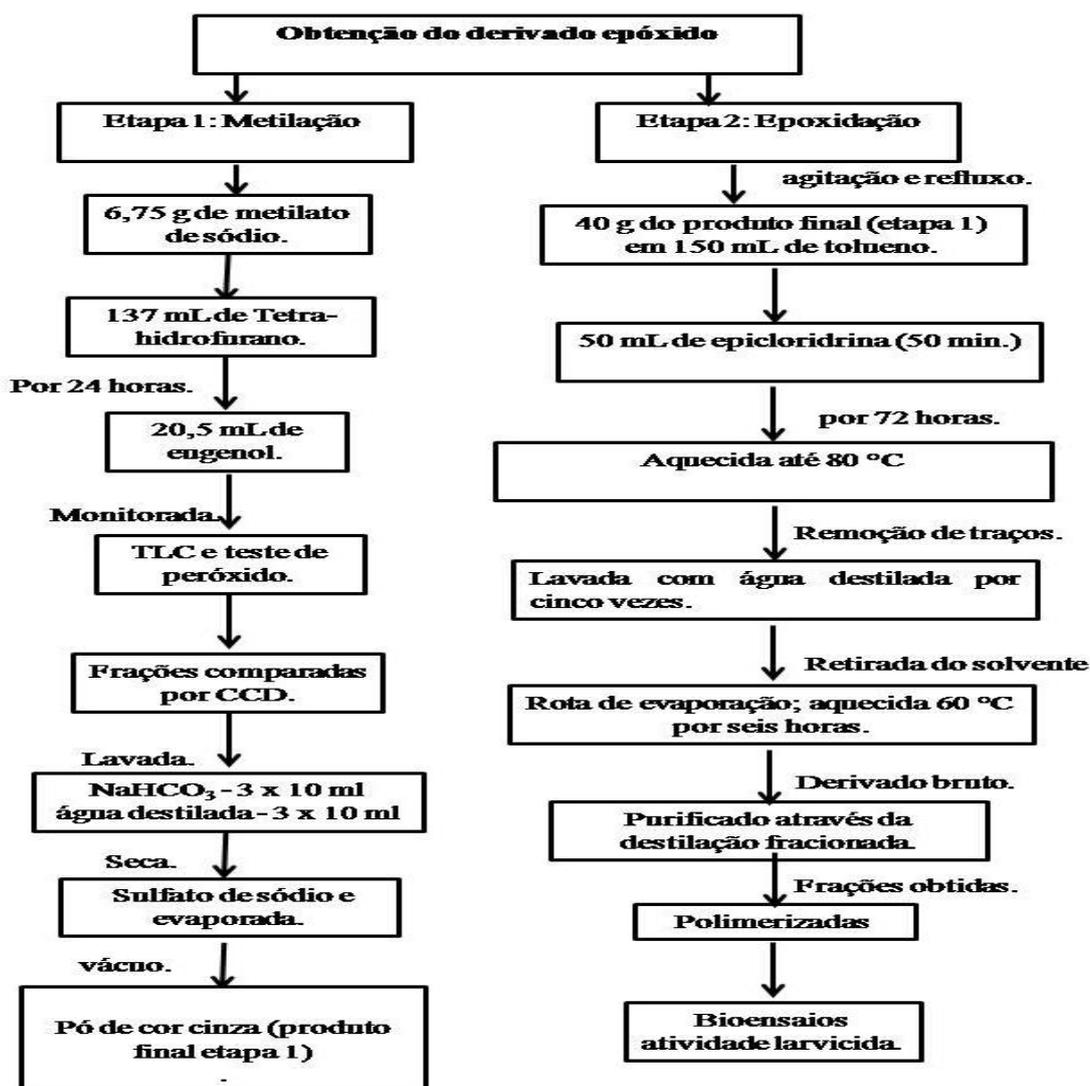


Figura 5. Fluxograma da obtenção do derivado epóxido.

Inicialmente (Etapa 1) um balão bi-tubular de 500 mL, foi purgado em uma corrente vigorosa de nitrogênio por 10 minutos antes da sua utilização, após montado o sistema seguiu-se para a pesagem dos reagentes, pesados em capela de atmosfera inerte (Box), o agente alcalino foi dissolvido em Tetra-hidrofurano - THF (6,75 g de metilato de sódio - CH_3ONa em 137 mL de Tetra-hidrofurano - $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) sob agitador magnético em temperatura de $-5\text{ }^\circ\text{C}$. Depois de dissolvido o metilato de sódio, adicionou-se 20,5 mL de eugenol, o balão reacional ficou nas primeiras duas horas em banho de gelo $-5\text{ }^\circ\text{C}$, permanecendo em refluxo e com agitação constante, após esse tempo, permaneceu em temperatura ambiente sob nitrogênio por 24 horas (Figura 6).



Figura 6. Reator contendo a mistura para obtenção do derivado de eugenol.

Fonte: Vale, E. S. M. 2015

Todo o progresso da reação foi monitorada por TLC e teste de peróxido, utilizando uma solução a 10% de Iodeto de potássio (KI). Para comparação das frações sintetizadas foram recortadas placas de tamanhos variados a partir de cromatoplas de sílica gel em fase normal com suporte de alumínio de tamanho 20 x 20 cm com indicador de fluorescência, para visualização e revelação das placas utilizando luz UV (Spectroline).

Após 24 horas, a mistura foi cuidadosamente lavada com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO_3 - 3 x 10 ml) e água destilada (3 x 10 mL). A camada orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio (Na_2SO_4) e evaporada sob pressão reduzida à temperatura ambiente, em seguida, o balão foi levado para capela, onde foi ligado a uma bomba a vácuo para retirada total do solvente, resultando em um pó de cor cinza (Figura 7).



Figura 7. Reator ligado a bomba de vácuo para retirada do solvente.

Fonte: Vale, E. S.M. 2015

Na reação de epoxidação (Etapa 2) foi utilizada a epícloridrina (95%) da seguinte maneira: em um balão bi-tubular de 500 mL, foi adicionado 40 g do produto (Etapa 1) em 150 mL de tolueno sob agitação e refluxo constantes, o tolueno foi utilizado para minimizar a abertura do anel (GAN et al., 1992; CAMPANELLA et al., 2007). Depois de dissolvido o produto (Etapa 1), com o auxílio de um funil adicionou-se 50 mL de epícloridrina, acrescentando lentamente em um intervalo de aproximadamente 50 minutos. A mistura foi aquecida até 80 °C sob agitação/refluxo constantes por 72 horas. Ao término da reação, a solução foi resfriada até temperatura ambiente e colocada em pêra de decantação para separação das fases aquosa e orgânica, depois purificada com água destilada, repetindo a lavagem e separação de fases por cinco vezes para remoção de traços.

A remoção de grande parte do solvente foi por rota de evaporação, a outra parte reacional contendo o tolueno residual foi aquecida até 60 °C a vácuo por seis horas para retirada total do solvente. Obteve-se o derivado na forma bruta, que foi purificado através da destilação fracionada. No balão contendo a substância viscosa está foi aquecido com uma pistola de ar quente, chegando a 180 °C (Figura 8), as oito frações obtidas foram polimerizadas e utilizadas nos bioensaios seletivos para verificar atividade larvicida. Posteriormente, as oito frações foram caracterizadas por meio da análise de RMN de ^1H , e a fração FE8 identificada como eugenol epóxido.



Figura 8. A - Pistola de ar quente utilizada. B – Sistema para obtenção das frações.

Fonte: Vale, E.S.M. 2015.

4.2 Polimerização

Inicialmente foi obtido um sistema pré-formulado incorporado com 10% das frações, totalizando oito pré-formulados: FE1, FE2, FE3, FE4, FE5, FE6, FE07 e FE8, os quais posteriormente foram testados nos bioensaios seletivos (ver item 4.5.1).

Nos bioensaios de dose foram preparado um formulado com 3, 5 e 10 %. O sistema estudado dos formulados foi constituído pelos monômeros: éter diglicídico de glicerol (GlyDGE), derivado de eugenol epóxi (EP), com uma amina 2,2'-(etilenodioxi) bis (etilamina) (TEGDA), contendo um agente de cura éter triglicidil trimetilopropano (TTGE). O cálculo para obtenção do formulado foi de acordo com DOW® (*Phr* - partes em peso de amina por 100 partes de resina), sendo adicionada ao agente de cura/endurecedor, em quantidade estequiométrica, em relação à massa correspondente de resina. A quantidade de EP incorporada na preparação de cada polímero foram: 3% (p/p), 5% (p/p), 10% (p/p), sendo as formulações produzidas em triplicatas. Os formulados com 0% foram preparados do mesmo modo, mas sem a adição do EP.

A fórmula utilizada para os cálculos de preparo dos formulados foram de acordo com DOW® (*Phr* - partes em peso de amina por 100 partes de resina)*:

$$EEW_{mix} = \text{Total Wt} / ((W_{ta}/EEW_a) + (W_{tb}/EEW_b)) =$$

*= Descrição dos cálculos em **anexo 1 e 2**.

A mistura foi mantida sob agitação manual por 5 minutos, a temperatura ambiente (24 °C). Após homogeneização, a mistura foi transferida para seringas de 5 mL (Figura 9). As

seringas contendo as formulações foram submetidas ao ciclo de cura em estufa, a uma temperatura de 50 °C overnight. Finalmente os materiais foram resfriados lentamente até temperatura ambiente (25 °C).

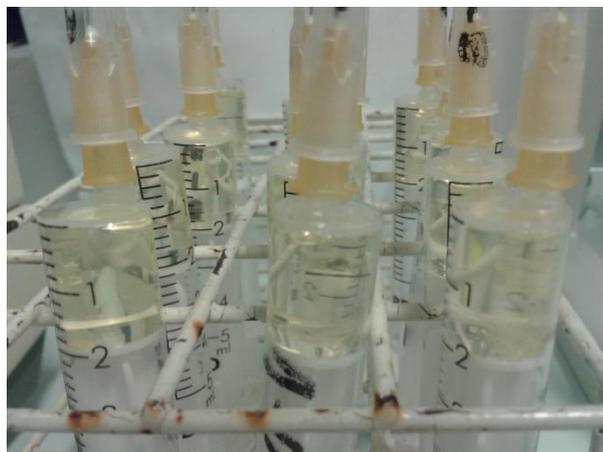


Figura 9. Seringas contendo os materiais com os formulados poliméricos.

Fonte: Vale, E.S.M. 2015.

4.3 Técnica de caracterização

4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

A caracterização e confirmação das etapas anteriores à polimerização foram realizadas por RMN ^1H , onde mostra os picos relevantes em desenho esquemático, sendo o gráfico apresentado no decorrer deste trabalho. Os espectros de RMN ^1H foram obtidos no Laboratório de Química Orgânica da Universidade de Helsinki (Finlândia), em equipamento Varian modelo Inovar 400 MHz, a 25 °C. Utilizou-se tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Foram pesados 2 mg das amostras e solubilizadas em 0,5 mL clorofórmio deuterado (CDCl_3), solubilizadas em solvente adequado por se tratar de amostras com menor polaridade. O deslocamento químico foi registrado utilizando o pico de solvente residual de clorofórmio expresso em ppm.

**= resultados expandidos em gráficos das amostras analisadas (FE1, FE2, FE3, FE4, FE5, FE6, FE7 e FE8) em anexo final.

4.4 Criação das larvas usadas nos bioensaios

4.4.1 Obtenção de ovos

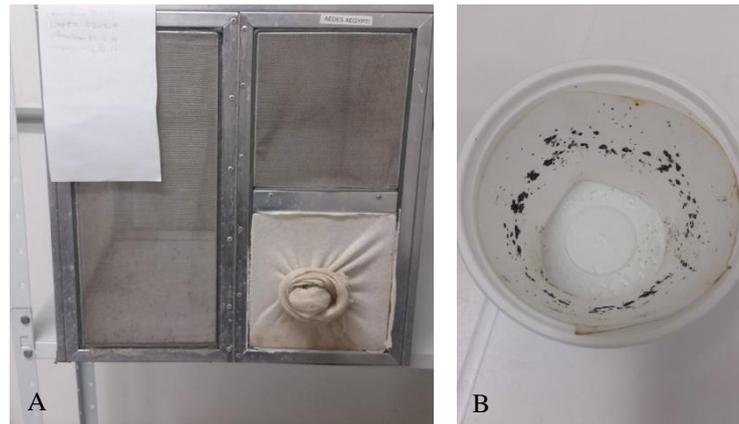
As coletas de ovos de *A. aegypti* foram realizadas em diferentes localidades da cidade de Manaus (SISBIO/21264-3), foram utilizadas armadilhas para oviposição, chamada de ovitrampas, permanecendo por sete dias nos locais. No interior das ovitrampas foram colocadas verticalmente palhetas do tipo Duratree, com a superfície rugosa voltada para o lado de fora, de maneira a tornar propício a atividade de oviposição e aderência dos ovos. Como atrativo para as fêmeas, foi preparada uma infusão composta de capim elefante (*Megathyrsus maximus*) e água, ficando por 10 dias em temperatura ambiente para ocorrer à fermentação, posteriormente essa infusão era adicionada nas armadilhas.

Após sete dias as armadilhas ovitrampas foram recolhidas e levadas para o insetário do laboratório de malária e dengue no INPA, onde foram colocadas para secar. Posteriormente essas palhetas foram observadas em microscópio estereoscópico para verificar a presença de ovos. As palhetas que continham ovos eram colocadas em bacias plásticas contendo água desclorada para eclosão das larvas. Após a eclosão, as larvas eram transferidas para cubas de plásticos contendo água, onde eram alimentadas diariamente com a ração para roedores (Teklad Global 18%) e ração para gato (Whiskas®), em uma proporção de 1:1.

A limpeza das bacias ocorria a cada dois dias de acordo a metodologia de rotina do laboratório de malária e dengue (PINHEIRO e TADEI, 2002). As larvas foram mantidas nas bacias plásticas até atingirem o estágio de pupa, sendo transferidas para gaiolas para emergência dos adultos.

Com auxílio de chave de identificação, os indivíduos adultos (machos e fêmeas) de *A. aegypti* foram identificados e transferidos para gaiolas teladas para produção da geração F1 (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; WRBU, 2017). No interior da gaiola foram colocados erlenmeyer contendo algodão ou gaze embebido em solução açucarada a 10%, para alimentação dos adultos. As fêmeas além da solução açucarada, receberam duas vezes por semana repasto sanguíneo em um hamster (*Mesocricetus auratus*) anestesiado (CEUA-026/2016).

No interior das gaiolas os mosquitos realizam o acasalamento e a oviposição, após o repasto sanguíneo as fêmeas depositavam seus ovos em copos plásticos de 100 mL revestido com uma fita de papel filtro umedecida, medindo 3 cm de altura por 22 cm de comprimento, essa fita servia substrato para as fêmeas depositarem os ovos (Figuras 10). Após o período de oviposição, que durava em média de três a cinco dias, os copos com as fitas contendo os ovos eram retirados das gaiolas e armazenados em local apropriado no insetário.



Figuras 10. A – Gaiola utilizada para a criação dos mosquitos adultos. B – Copo contendo fita de papel de filtro com ovos das fêmeas de *Aedes aegypti*.

Fonte: Vale, E. S. M. 2017.

4.4.2 Obtenção das larvas

Na realização dos bioensaios foram utilizadas larvas de terceiro estágio de *A. aegypti*, as quais foram obtidas a partir das desovas. As larvas foram criadas sob condições controladas, com temperatura em média de 28 ± 2 °C, umidade relativa em torno de 85% e fotofase de 12 horas (SCARPASSA e TADEI, 1990). Na obtenção de larvas, as tiras de papel de filtro contendo os ovos foram colocadas em bacias plásticas contendo água desclorada (Figura 11) e ração, até atingirem o terceiro estágio de desenvolvimento larval.



Figura 11. Bacia plástica contendo água, alimento e as fitas de papel com os ovos.

Fonte: Vale, E.S.M. 2017.

A limpeza das bacias ocorria duas vezes por semana para evitar a formação de película na superfície, e conseqüentemente à proliferação de microorganismos. As larvas de 3º estágio foram selecionadas para os bioensaios, sendo as demais mantidas nas bacias para atingirem o estágio de pupa, posteriormente foram transferidas para gaiolas, de emergência dos alados. Os

mosquitos alados foram mantidos para reprodução e reposição do estoque de ovos do laboratório, para estes era oferecida alimentação conforme descrito no item 4.4.1.

4.5 Bioensaios

Os bioensaios seguiram o protocolo de Dulmage et al. (1990), sendo conduzidos no Laboratório de Malária e Dengue do INPA, sob temperatura ambiente de $26\pm 2^\circ$ C e umidade relativa superior a 85%. Foram realizados dois tipos de bioensaios: 1) bioensaio seletivo, com objetivo de selecionar doses dos formulados poliméricos do eugenol epóxido com atividade larvicida e 2) bioensaio quantitativo e/ou de dose, com a finalidade de determinar a toxicidade do formulado, por meio da estimativa da Concentração Letal Mediana (CL_{50}).

4.5.1 Bioensaios seletivos

Inicialmente, foram conduzidos bioensaios seletivos para testar a toxicidade dos formulados poliméricos em larvas de *A. aegypti*. Para estes bioensaios foram preparados oito pré-formulados (FE1, FE2, FE3, FE4, FE5, FE6, FE07 e FE8) incorporados com 10% de cada fração, resultantes da destilação fracionada.

Os bioensaios seletivos eram compostos de cinco copos de 50 mL, contendo em cada copo: 20 mL de água destilada, dez larvas de terceiro estágio e a dose do formulado polimérico. Cinco doses iniciais foram testadas: 2 mg; 3 mg; 4 mg; 5 mg e 6 mg. Após a aplicação dos formulados poliméricos foram realizadas leituras em 24, 48 e 72 horas. Todas as frações dos pré-formulados foram caracterizadas por análise de RMN 1H .

Os pré-formulados que causaram mortalidade das larvas superior a 50%, atenderam ao critério da seleção para serem testados em bioensaios de dose, no entanto, foi testada apenas a fração que continha a fração identificada como eugenol epóxido.

4.5.2 Bioensaios dose

Somente a fração FE8 foi identificada como eugenol epóxido e utilizada no preparo dos formulados testados nos bioensaios de dose: 3%, 5%, 10%, para a determinação da atividade larvicida, por Concentração Letal Mediana - CL_{50} .

Nos bioensaios foram montadas réplicas de cinco copos plásticos com capacidade de 180 mL contendo cada copo: 50 mL de água destilada, 20 larvas de terceiro estágio e a dose do formulado polimérico: 5 mg; 4mg; 3 mg; 2 mg e 1 mg (Figura 12). Em cada copo foi adicionado ração (ver item 4.5.1).



Figura 12. Disposição dos copos plásticos durante a realização dos bioensaios.

Fonte: Vale, E. S. M. 2016.

Em cada bioensaio foram preparados dois grupos controle: um negativo e um positivo. No grupo controle negativo o copo plástico continha somente água, servindo como base para mensurar a mortalidade natural das larvas que, segundo os critérios estabelecidos por Dulmage et al. (1990), não deveria ultrapassar 10%. No controle negativo (0%), o copo plástico continha apenas o formulado (GlyDGE + TTGE, TEGDA, EtOH) sem o eugenol epóxi (ver Tabela 1). Os bioensaios foram realizados em três repetições, montados em dias alternados, e o intervalo de confiança de 95%. Em ambos os ensaios, após a aplicação do formulado polimérico, foi realizada a contagem das larvas vivas e mortas nos intervalos de 24, 48 e 72 horas.

4.6 Concentração Letal Mediana (CL₅₀)

A Concentração Letal Mediana (CL₅₀) foi obtida por análise de Probit (FINNEY 1981), com o auxílio do programa POLO-PC / LeOra Software – 1987, a partir dos dados de mortalidade das larvas nos bioensaios de dose. As retas foram construídas com base nos valores de probit esperado a partir da equação de regressão linear e do probit observado obtido pela conversão dos percentuais de mortalidade (FINNEY 1981).

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização espectroscópica do eugenol epóxido

A figura 13 mostra o espectro de RMN ^1H (CDCl_3). O experimento foi realizado a 400MHz utilizando o TMS como padrão interno. Foram observados prótons em torno de 5,00-6,75 ppm, correspondentes aos átomos de hidrogênio em diferentes posições em configurações diferentes, enquanto o sinal a 3,88 ppm é devido ao grupo metoxilo. Os sinais relacionados ao anel epóxi e seus substituintes adjacentes aparecem em 2,53 - 3,11 ppm correspondentes ao hidrogênio em diferentes posições em configurações diferentes. A partir da comparação dos dados obtidos com dados da literatura (WAN et al., 2016), a fração FE8 foi identificada como o derivado de eugenol epóxido. Na figura 14 esta representada estrutura do eugenol epóxido elucidada por RMN ^1H .

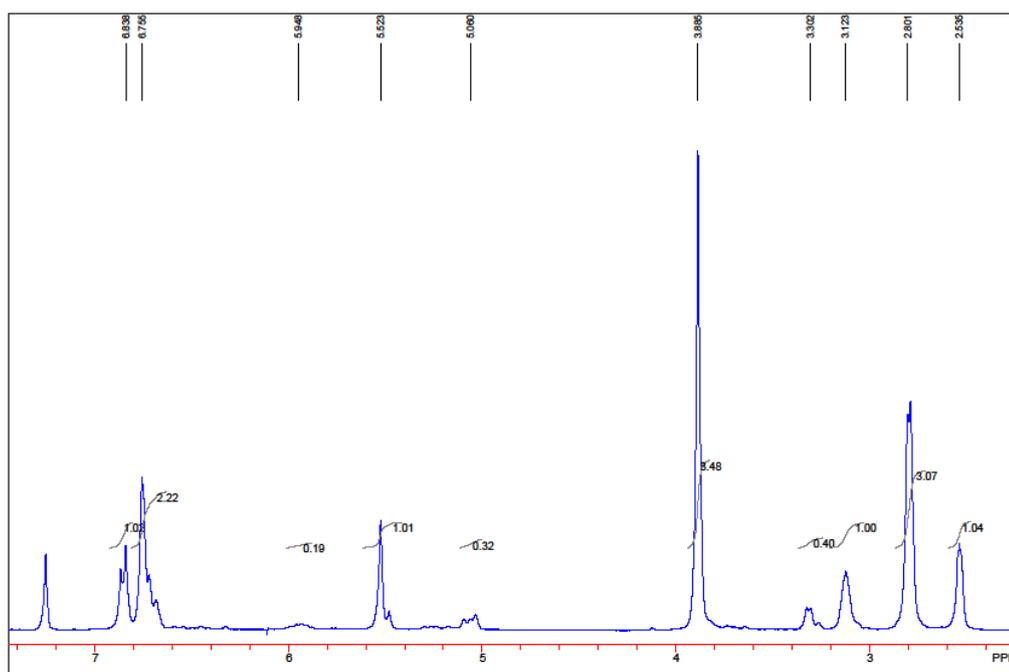


Figura 13. Espectro de RMN ^1H e estrutura molecular (400 MHz, CDCl_3) da amostra FE8.

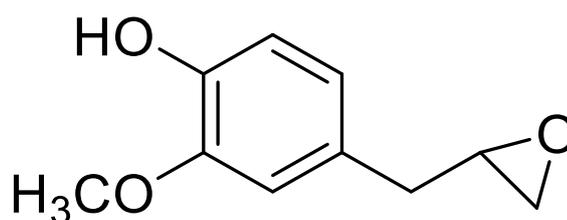


Figura 14. Estrutura do eugenol epóxido.
Fonte: Vale, E.S.M. 2015.

5.2 Polimerização

5.2.1 Síntese do formulado polimérico

Foi sintetizado um formulado polimérico incorporado com 3, 5 e 10 % do eugenol epóxido (Tabela 1). O processo de obtenção foi por polimerização em meio homogêneo. A polimerização ocorreu quando a viscosidade da mistura era baixa para permitir a mistura, transferência de calor e eliminação de bolhas. O sistema foi formado pela reação do eugenol epóxi (EP), sendo os anéis abertos pelos grupos amina de cadeias ramificadas em condições térmicas, resultando na formação de rede dentro da área do sistema.

Tabela 1. Composição do formulado polimérico.

| Formulado (%) | Reagentes | | |
|---------------|---------------|-------|-------|
| | | mg | µl |
| 0 | GlyDGE + TTGE | | 836 |
| | TEGDA | | 323 |
| | EtOH | | 947 |
| | EP | 0 | - |
| 3 | GlyDGE + TTGE | | 757 |
| | TEGDA | | 355 |
| | EtOH | | 888 |
| | EP | 28,6 | - |
| 5 | GlyDGE + TTGE | | 741,5 |
| | TEGDA | | 332 |
| | EtOH | | 926 |
| | EP | 47,66 | - |
| 10 | GlyDGE + TTGE | | 836 |
| | TEGDA | | 323 |
| | EtOH | | 974 |
| | EP | 95,32 | - |

GlyDGE - éter diglicidílico de glicerol; TTGE - éter triglicidil trimetilopropano; TEGDA - 2,2'-(etilenodioxo) bis (etilamina); EP - Eugenol epóxi; EtOH – etanol; % – porcentagem em massa; (p/p) - partes em peso de amina por 100 partes de resina.

5.3 Atividade larvicida

5.3.1 Bioensaios seletivos

Os resultados dos bioensaios seletivos com os formulados poliméricos estão representados na Tabela 2. Das oito amostras de formulados testadas nos bioensaios em larvas de 3º instar de *A. aegypti* somente três mostraram atividade larvicida acima de 50%: formulados FE1, FE7 e FE8. No bioensaio com o formulado FE8 obteve-se mortalidade de

100% (250 larvas), até 24 horas de aplicação. Com os formulados FE1 e FE7, os percentuais de mortalidade foram respectivamente, 82% (124 larvas) e 72% (36 larvas) em 24 horas. Os demais formulados: FE2, FE3, FE4, FE5 e FE6 apresentaram mortalidade inferior a 50% (Tabela 2). Entretanto, apenas o formulado FE8, foi selecionado para os bioensaios de dose por conter o derivado eugenol epóxido.

O grupo controle registrou mortalidade somente nos bioensaios com os formulados FE5 e FE7, sendo inferior a 0,4% e 4% respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* observada nos bioensaios seletivos com os formulados poliméricos de eugenol.

| Formulado | Leitura (horas) | | | | N |
|-----------|-----------------|-----------|----------|--------------|-------|
| | C | 24 h | 48 h | 72 h | |
| FE1 | 0 | 124 (82) | 26 (17) | 0 (0) | 150 |
| FE2 | 0 | 30 (20) | 49 (32) | 42 (28) | 150 |
| FE3 | 0 | 78 (31) | 115 (46) | 50 (20) | 250 |
| FE4 | 0 | 17 (6) | 87 (34) | 62 (24) | 250 |
| FE5 | 1 (0,4) | 13 (5) | 116 (46) | 56 (22) | 250 |
| FE6 | 0 | 8 (5) | 65 (43) | 48 (32) | 150 |
| FE7 | 2 (4) | 36 (72) | 6 (12) | 7 (14) | 50 |
| FE8 | 0 | 250 (100) | - | - | 250 |
| | | | | TOTAL | 1.500 |

C = controle

() = valores em porcentagem

n = número de indivíduos testados

- = 100% de mortalidade na leitura anterior

5.3.2 Bioensaios de dose

Do formulado testado no bioensaio de dose, FE8, apenas o formulado com 10% do derivado de eugenol epóxido apresentou mortalidade.

Os resultados obtidos de mortalidade nos bioensaios com o formulado polimérico (10%), em valores cumulativos nas leituras de 24, 48 e 72 horas após a aplicação, estão representados na Tabela 3.

Levando-se em conta a leitura de 24 horas após a aplicação do formulado, na doses de 5 mg verificou-se mortalidade de 99,3% (298 larvas) e em 48 horas obteve-se mortalidade de 100% (300 larvas). Na dose seguinte, 4 mg, a mortalidade encontrada inicialmente foi 98,6% (296 larvas), e de até 99,6% (299 larvas), em 48 horas, chegando a 100% (300 larvas) de mortalidade na leitura de 72 horas. Na dose de 3 mg, a mortalidade encontrada em 24 horas foi igual a 93% (281 larvas), em 48 horas foi registrado 98% (294 larvas mortas), chegando, a 99,6% (299 larvas mortas) em 72 horas.

Considerando-se as doses de 2 mg e 1 mg obteve-se mortalidade de 77% (231 larvas) e 46% (140 larvas), respectivamente, em 24 horas (Tabela 2). Em 48 horas, nessas duas doses a mortalidade chegou à respectivamente 96% (288 larvas) e 51% (155 larvas). Na leitura de 72 horas, obteve-se mortalidade de 97,3% (292 larvas), com a dose de 2 mg e 66% (198 larvas) na dose de 1 mg.

Tabela 3. Mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* em valores cumulativos nos intervalos 24, 48 e 72 horas, observada nos bioensaios com formulado polimérico com 10% eugenol epóxido.

| Dose (mg) | N | Leitura (horas) | | |
|--|-------|-----------------|------------|------------|
| | | 24 h | 48 h | 72 h |
| 5 | 300 | 298 (99,3) | 300 (100) | - |
| 4 | 300 | 296 (98,6) | 299 (99,6) | 300 (100) |
| 3 | 300 | 281 (93) | 294 (98) | 299 (99,6) |
| 2 | 300 | 231 (77) | 288 (96) | 292 (97,3) |
| 1 | 300 | 140 (46) | 155 (51,6) | 198 (66) |
| Controle negativo | 300 | 1 (0,3) | 3 (1) | 1 (0,3) |
| Controle negativo (0% eugenol epóxido) | 300 | 2 (0,6) | 1 (0,3) | 3 (1) |
| | Total | 1246 | 1336 | 1089 |

() = valores em porcentagem

n = número de indivíduos testados

- = 100% de mortalidade na leitura anterior

Considerando o número de larvas mortas observadas nos bioensaios, expresso em valores não cumulativos nos três horários de leitura, excluindo o grupo controle, 1.500 larvas da espécie-alvo foram testadas. Nesses testes, ressalta-se a importância do impacto de mortalidade já nas primeiras 24 horas: registrou-se 1.246 (83%) larvas mortas em 24 horas, na leitura de 48 horas obteve-se 90 (6%) larvas mortas e em leitura de 72 horas registrou-se 53 (3%) larvas mortas (Figura 15).

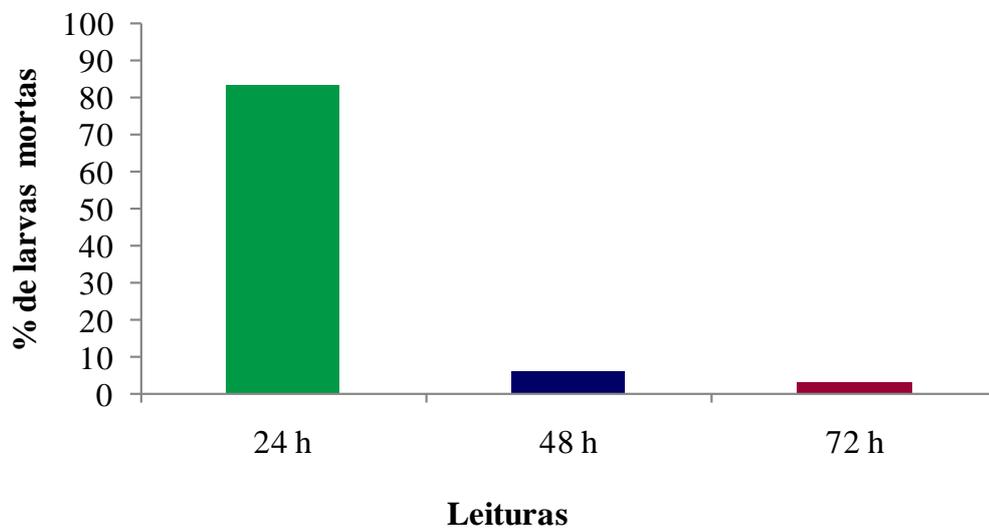


Figura 15. Representação gráfica da quantidade de larvas mortas em porcentagem em valores não acumulativos nos bioensaios com o formulado polimérico, nos intervalos de leitura de 24, 48 e 72 horas.

5.4 Concentração Letal Mediana - CL₅₀

Os resultados dos bioensaios com *A. aegypti* (Tabela 4) adequaram-se à análise de regressão linear e ao modelo de Probit, pois atenderam aos requisitos que exigem valor do teste t para o coeficiente angular superior, em módulo, a 1,96 (significativo a 5% de probabilidade) e χ^2 calculado menor que χ^2 Tabelado (11,071 – 0,05 e 5 graus de liberdade) (HADDAD, 1998).

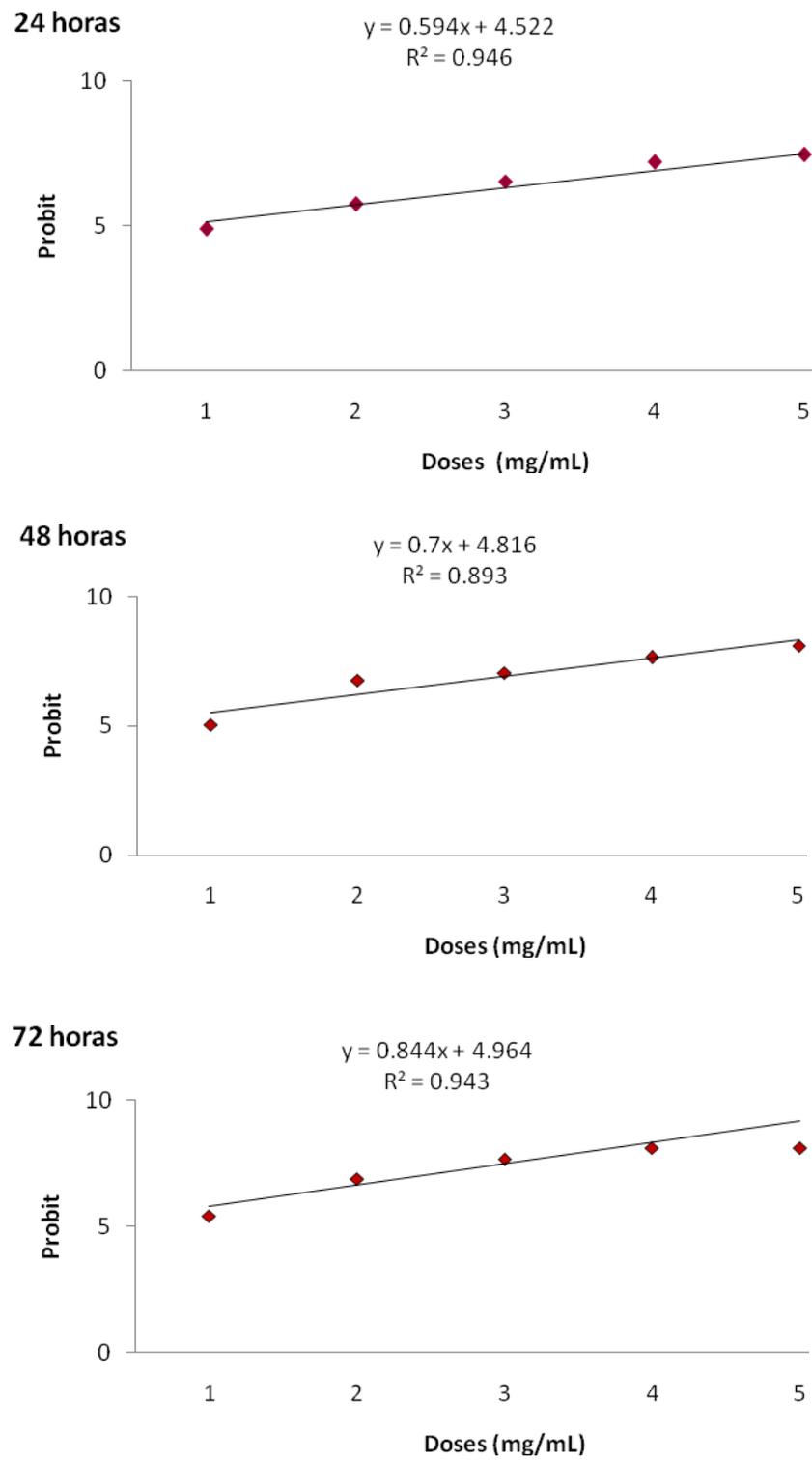
Quanto à concentração letal mediana para controle de *A. aegypti* (Tabela 4), considerando a leitura de 24 horas, observou-se valores de CL₅₀ igual a 1,105 mg/mL. Nas

avaliações de 48 e 72 horas, os valores de CL_{50} obtidos, foram 0,967 mg/mL e 0,827 mg/mL respectivamente.

Tabela 4. Concentração letal mediana (CL_{50}) do formulado polimérico com 10% de eugenol epoxido em larvas de *Aedes aegypti*.

| Formulado | CL_{50} (mg/mL) | Intervalo de confiança (95%) | Coefficiente angular | χ^2 | g.l |
|-----------|-------------------|------------------------------|----------------------|----------|-----|
| 24 h | 1,105 | 0,853 - 1,315 | $3,507 \pm 0,152$ | 7,469 | 3 |
| 48 h | 0,967 | 0,760 - 1,128 | $4,770 \pm 0,070$ | 7,657 | 3 |
| 72 h | 0,827 | 0,748 - 0,894 | $5,016 \pm 0,413$ | 0,188 | 3 |

A atividade larvicida do formulado polimérico está representada graficamente nas retas de regressão linear dose-resposta nos intervalos de 24,48 e 72 horas (Figura 16). As retas paralelas confirmam a semelhança qualitativa entre a dose efetiva do formulado, porém quantitativamente muito próxima. Comparando os intervalos de leitura, observam-se valores qualitativamente e quantitativamente iguais, mostrando a rápida eficiência do formulado, causando mortalidade principalmente nas 24 horas após a aplicação do produto.



Figuras 16. Regressão linear dose-probit da mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* nos bioensaios com formulado polimérico. (reta: probit calculado, pontos: probit observado).

6 DISCUSSÃO

Embora os inseticidas sintéticos tenham impactos ambientais adversos, sua especificidade em relação aos insetos direcionados é alta (OLIVEIRA et al., 2014). Em contrapartida, o emprego de inseticidas botânicos deve ser rigorosamente padronizado, de forma que garanta sua eficiência no uso final, para que ele possa competir com suas contrapartes sintéticas (ISMAN, 2006; FINKLER, 2012; TRAMON, 2014). Assim, um sistema de liberação controlada bem projetado pode aumentar a especificidade do alvo, melhorando a ação dos princípios ativos e minimizando seus impactos residuais (RISCH e REINECCIUS, 1995).

Diante do exposto, formas alternativas e/ou complementares aos métodos usuais para o controle de mosquitos tornam-se imprescindíveis. Dentre elas, aponta-se o manejo integrado de ações que vem se consolidando, com destaque para o uso de substâncias derivadas de vegetais. Neste sentido, o uso de derivados botânicos para o controle de larvas de mosquitos no Amazonas mostra a eficiência desse método, sendo uma potente ferramenta biotecnológica no desenvolvimento de produtos alternativos para controle de pragas, sendo empregados nas campanhas de controle de vetores da dengue em Manaus.

6.1 Síntese do formulado de derivado de eugenol

No presente trabalho, foi sintetizado um derivado epóxido por meio da reação entre o eugenol, metilato de sódio e a epicloridrina, o produto final mostrou uma alta pureza pela técnica espectroscópica de RMN ^1H , não sendo necessário fazer outra purificação.

Trabalhos reforçam os estudos com o eugenol devido suas propriedades farmacológicas e inseticidas, bem como, a modificação de sua estrutura química para melhorar suas propriedades, incorporando grupos químicos, de forma a obter atividades adicionais (MARKOWITZ et al., 1992; COSTA et al., 1994; ATSUMI et al., 2000; GARG e SINGH, 2011; SOONWERA e PHASOMKUSOLSIL, 2016; MODJINOUE et al., 2017)

De acordo com Harvey et al. (2014) para a obtenção desse tipo de epóxi, a reação mais frequente é entre a epicloridrina e o bisfenol-a. O resultado de epoxidação obtidos neste trabalho, foi por meio da reação entre a epicloridrina e o eugenol, substituído pelo bisfenol-a. O eugenol, por ser um fenol, é altamente reativo com a epicloridrina. Além disso, o eugenol possui um grupo olefínico terminal e um grupo hidroxilo que proporciona essa capacidade de inserir novos grupos em sua estrutura química.

Qin et al. (2014) sugeriu que o eugenol e o bisfenol-a possuem propriedades mecânicas, dinâmicas, estabilidade térmica e reatividade semelhantes, dessa forma, pode se obter um monômero através da reação de síntese entre o eugenol e epícloridrina. Segundo Wan et al. (2016) a reação entre essas duas moléculas é economicamente viável para sintetizar bio-bases para vários polímeros.

Portanto, alguns autores relatam o interesse pela a obtenção de resinas epoxídicas derivadas de compostos fenólicos, por possuírem propriedades importantes para a produção de novos produtos com características melhoradas (AUVERGNE et al., 2014; DING e MATHARU, 2014).

Em relação à confirmação da estrutura do epóxido, o espectro de RMN ^1H confirmou a epoxidação do eugenol, por meio dos multipletos em δ 3,88 que é característico do hidrogênio metínico, multipletos com integral relativo em δ 2,78 e duplete duplo em δ 2,53 característicos de hidrogênio metilênico (WAN et al., 2016).

Resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho são reportados por Wan et al. (2016), que desenvolveram uma nova resina epóxi à base de eugenol e dicloro-xileno, os autores estudaram a resina epóxi na presença de um agente cura de diamina e 4.40-diaminofenil metano, resultando em conteúdo líquido bio-base de eugenol epóxido.

Da mesma forma, Kireev et al. (2008) descreveram a epoxidação por meio da reação entre o eugenol e o ácido m-cloroperbenzóico, alcançando bons resultados de epoxidação do eugenol. Entretanto não abordaram a reação de cura e suas propriedades.

QIN et al. (2014) mostraram excelentes resultados de uma resina epóxi líquida a base de eugenol, com elevado valor de epóxi, sendo curada com anidrido hexahidroftálico comercial na presença de um catalisador em temperatura variando em 114 ° C.

Em relação à polimerização, a técnica utilizada foi à polimerização em bloco, sendo usados dois monômeros e um iniciador, a reação ocorreu em meio homogêneo, sendo polimerizados em solução, para ter estabilidade após a aplicação.

Fernandes e Lona (2004) referem-se à técnica de polimerização em bloco como um dos métodos mais simples e direto para obtenção de um polímero. Embora seja simples, vários problemas podem ocorrer durante o processo de polimerização, principalmente devido à alta viscosidade no meio reacional. Portanto, para evitarmos esse problema durante o processo de polimerização, a reação foi conduzida em baixa temperatura e baixas concentrações do agente de cura. Dessa forma, obteve-se o controle da reação, sendo que, implicou em um tempo maior de polimerização.

Em relação às matrizes utilizadas para produzir os sistemas estruturados, de acordo com Perlatti et al. (2013), várias ferramentas tecnológicas diferentes podem ser usadas como matrizes, incluindo polímeros sintéticos e biodegradáveis.

Um método que proporciona camadas protetoras sobre o princípio ativo, representa uma alternativa viável e eficiente. Uma solução para a diminuição da evaporação do eugenol, após sua aplicação sobre o alvo, é o emprego de ferramentas alternativas na liberação do princípio ativo. A polimerização da molécula de eugenol aumenta a sua bioatividade, protege das interações com o meio ambiente e diminui sua volatilidade (BILIA et al., 2014; VISHWAKARMA et al., 2016; GONZÁLEZ et al., 2017).

Contudo, apesar de ser uma alternativa viável, os principais desafios continuam a ser a estabilidade dos compostos no ambiente. Entretanto, se houvesse a colaboração entre as indústrias e os químicos, os compostos mais estáveis poderiam ser sintetizados utilizando ferramentas tecnológicas, de maneira a evitar a degradação pelo efeito da luz solar (OLIVEIRA et al., 2014).

Portanto, neste trabalho obteve-se um polímero sintético à base de amina, sendo que esta serviu como base para produzir o revestimento do formulado. Oliveira et al. (2014) relataram que os polímeros sintéticos à base de aminas podem ser utilizados na preparação de novas formulações, uma vez que os grupos amino apresentam resposta rápida às alterações no pH, do meio externo. Dessa forma, as aminas comumente reagem com o grupo epóxidos resultando em polímeros reticulados e também podendo gerar grupos amino em superfícies de partículas. Desta maneira, o grupo amino pode ser utilizado em uma ampla gama de polímeros para incorporar moléculas, com potencial inseticida. A sua seleção depende de vários parâmetros como aplicabilidade, segurança, biocompatibilidade, custo e disponibilidade (VARONA et al., 2013; ALVES et al., 2014; GONZÁLEZ et al., 2014; FERNANDES et al., 2014; KFOURY et al., 2015; VISHWAKARMA et al., 2016).

O formulado sintetizado no presente trabalho não foi caracterizado quanto à sua estrutura e propriedades físico-químicas. Entretanto, os resultados obtidos são inovadores, mostrando que é possível obter um polímero usando-se eugenol epoxidado, em um período de tempo considerado relativamente curto (12 horas).

6.2 Atividade larvicida

Em relação à atividade larvicida, os resultados obtidos nos bioensaios com o formulado polimérico apontaram maior efeito, nas primeiras 24 horas nas larvas de *A. aegypti*, com registro médio de 90% da mortalidade total.

A mortalidade das larvas, nas primeiras 24 horas, provavelmente ocorreu devido, à parada do sistema nervoso e digestivo, pois os inseticidas botânicos podem atuar nas enzimas digestivas e neurológicas, bem como interagir com o tegumento do inseto (KIM et al., 2003; ISMAN, 2006; MARGULIS-GOSHEN e MAGDASSI 2013; BENELLI, 2016).

Em geral, nos bioensaios com o formulado, ocorreu uma acentuada redução no número de larvas nas primeiras 24 horas. Ressalta-se a importância deste formulado, quando há necessidade de um método de controle com ação rápida, segura e que propicia a redução da densidade de larvas, em um curto espaço de tempo. Este aspecto torna-se relevante em períodos de surto epidêmico e o fator principal é a pronta redução da densidade populacional.

Outro aspecto importante a enfatizar, trata-se dos resultados dos testes biológicos, estes dependem de várias condições laboratoriais, como temperatura, fotoperíodo, materiais e modelos utilizados para a experimentação (LAHLOU, 2004; MORAIS, 2009; BARBOSA et al., 2012; SERDEIRO et al., 2017).

Em relação à espécie de mosquito testada, o presente estudo corrobora com Shaalan et al. (2005), onde esses autores descrevem que as larvas de *Aedes*, em geral, são mais robustas e menos susceptíveis aos inseticidas e derivados botânicos. Desta forma, o *A. aegypti* é o inseto mais comumente usado para a triagem de substâncias/derivados com ação inseticida, por ser menos susceptível e de fácil colonização em laboratório. Além disso, Thanigaivel et al. (2012) destaca a sensibilidade natural entre os estádios larvais, como um dos fatores de grande influência na avaliação da toxicidade dos compostos. Portanto, as larvas de 3º estágio são consideradas ideais para os bioensaios de atividade larvicida (SILVA et al., 2003; SERDEIRO et al., 2017).

No que se refere à concentração letal (CL_{50}), como a Organização Mundial de Saúde (OMS) não estabelece um critério padrão para determinar o grau de toxicidade dos produtos naturais, neste trabalho, utilizamos a classificação estabelecida por Pavela (2015). Este autor considera que os inseticidas botânicos apresentam potencial larvicida quando causam mortalidade suficiente nos testes padrão, atingindo $CL_{50} \leq 100$ mg/mL. Sendo este um dos critérios utilizados para efeito de comparação, logo os resultados da (CL_{50}) obtida neste trabalho cumprem com esse requisito. Nos ensaios com o formulado polimérico, em larvas de

A. aegypti, apresentaram valores obtidos que estão entre 1,105 a 0,967 mg/mL em 24 e 48 horas respectivamente. Portanto, a CL_{50} obtida qualifica o formulado como um agente larvicida potencial.

Os resultados do presente estudo demonstraram que o formulado polimérico apresenta excelentes perspectivas para aplicação no controle das larvas de mosquitos. Entretanto, o formulado deve ser caracterizado quanto às suas estruturas físico-químicas.

Não há registros na literatura sobre a atividade larvicida do formulado de eugenol epóxido, frente às larvas de mosquitos. Vários autores relatam a preparação do formulado, partindo de estrutura baseada no eugenol epóxido, reportando apenas para o estudo do desenvolvimento sustentável e funcionais da resina (KIREEV et al., 2008; QIN et al., 2014; KAUFMAN, 2015; WAN et al., 2016; GUZMÁ et al., 2018).

Olmo (2008) reportou em seu estudo a ação bacteriostática de duas formulações incorporadas com 10 e 30% de eugenol epóxidos, em cepas bacterianas. Os resultados apresentaram efeito inibitório claro do crescimento bacteriano contra *Escherichia coli* e *Streptococcus mutans*, sem produzir halos em torno dos discos de polímero, indicando que o efeito bacteriostático é produzido por agentes imobilizados. Estes materiais com substâncias bactericidas imobilizadas mostraram que sua atividade ocorre somente contra as bactérias com as quais elas entraram em contato direto.

7 CONCLUSÃO

A partir deste estudo com o formulado polimérico para o controle do *A. aegypti* pode-se concluir que:

- O composto eugenol epóxido foi sintetizado a partir do eugenol.
- A estrutura do derivado foi identificada pela técnica de RMN ¹H como eugenol epóxido.
- Utilizando éter diglicídico de glicerol (GlyDGE), éter triglicidil trimetilopropano (TTGE), 2,2'- (etilenodioxo) bis (etilamina) (TEGDA) foi possível obter um formulado polimérico, a partir do eugenol epóxido.
- Atividade larvicida do formulado polimérico foi constatada em condições de laboratório para larvas de terceiro instar de *A. aegypti* (CL₅₀ 0,827 mg/mL). Constatou-se 100% de mortalidade em 24 horas, após a aplicação.

Os resultados apresentados evidenciaram o potencial do formulado para o controle de larvas de *A. aegypti*. Desta forma, este formulado polimérico surge como uma alternativa efetiva e promissora para ser usado como um novo agente, no controle das larvas de *A. aegypti*.

8 PESPECTIVAS

Este trabalho fornece uma perspectiva do potencial de ferramentas tecnológicas para melhorar a eficácia de inseticidas botânicos para o controle de mosquitos vetores de doenças. A estratégia do uso do derivado de eugenol epóxido é interessante, pois contribui para reduzir os impactos adversos dos inseticidas químicos, no meio ambiente e na saúde humana. As principais dificuldades que precisam ser estudadas referem-se à estabilidade da produção da matriz polimérica, bem como a produção do derivado, nas quantidades necessárias para o controle dos vetores. Os experimentos em campo precisam ser realizados, pois direcionam as atividades do controle vetorial. Desta forma, os resultados do potencial desse formulado incorporado com o derivado epoxidado, podem contribuir para novos estudos para o controle do mosquito *A. aegypti*. Em um futuro próximo, surgirão produtos comerciais que associe os benefícios dos inseticidas botânicos, com ferramentas tecnológicas, em formulações menos prejudiciais ao meio ambiente.

9 REFERÊNCIAS

- ACIOLE, S. D. G. Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biologia e ambiente) – Universidade de Lisboa, Portugal, 2009.
- ACEVEDO-FANI, A.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; MARTÍN-BELLOSO, O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, v. 47, p. 168-177, 2015.
- ALVES, S. F.; BORGES, L. L.; DOS SANTOS, T. O.; DE PAULA, J. R.; CONCEIÇÃO, E. C.; BARA, M. T. Microencapsulation of essential oil from fruits of *Pterodon emarginatus* using gum arabic and maltodextrin as wall materials: composition and stability. *Drying Technology*, v. 32, n. 1, p. 96-105, 2014.
- AMER, A.; MEHLHORN, H. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology Research*, v. 99, n. 4, p. 478-490, 2006.
- AMIRI, A.; DUGAS, R.; PICHOT, A.; BOMPEIX, G. In vitro and in vitro activity of eugenol oil (*Eugenia caryophyllata*) against four important postharvest apple pathogens. *International Journal Food Microbiology*, v. 126, n. 1-2, p. 13-19, 2008.
- ARAÚJO, H. R. C.; CARVALHO, D. O.; IOSHINO, R. S.; COSTA-DA-SILVA, A. L.; CAPURRO, M. L. *Aedes aegypti* control strategies in Brazil: incorporation of new technologies to overcome the persistence of dengue epidemics. *Insects*, v. 6, n. 2, p. 576-94, 2015.
- ARIFIN, D. Y.; LEE, L. Y.; WANG, C. H. Mathematical modelling and simulation of drug release from microspheres: implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 58, n. 12-13, p. 1274-325, 2006.
- ASHBY, R. D.; FOGLIA, T. A. Poly (hydroxyalkanoate) biosynthesis from triglyceride substrates. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 49, p. 431, 1998.
- ATSUMI, T.; FUJISAWA, S.; SATOH, K.; SAKAGAMI, H.; IWAKURA, I.; UEHA T.; SUGITA, Y.; YOKOE, I. Cytotoxicity and radical intensity of eugenol, isoeugenol or related dimers. *Anticancer Research*, v. 20, p. 519-524, 2000.
- ATTIA, S.; GRISSA, K. L.; LOGNAY, G.; BITUME, E.; HANCE, T.; MAILLEUX, A. C. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. *Journal Pest Science*, v. 86, n. 3, p. 361-386, 2013.
- AUVERGNE, R.; CAILLOL, S.; DAVID, G.; BOUTEVIN, B.; PASCAULT, J. P. Biobased thermosetting epoxy: present and future. *Chemistry Reviews*, v. 114, n. 2, p. 1082-1115, 2014.
- BAGAVAN, A.; KAMARAJ, C.; ABDUL RAHUMAN, A.; ELANGO, G.; ABDUZ ZAHIR, A.; PANDIYAN, G. Evaluation of larvicidal and nymphicidal potential of plant extracts

against *Anopheles subpictus* Grassi, *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Aphis gossypii* Glover. *Parasitology Research*, v. 104, n. 5, p. 1109-1117, 2009.

BAGAVAN, A.; RAHUMAN, A. A. Evaluation of larvicidal activity of medicinal plant extracts against three mosquito vectors. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 4, n. 1, p. 29-34, 2011.

BARBOSA, J. D. F.; SILVA, V. B.; ALVES, P. B.; GUMINA, G.; SANTOS, R. L. C.; SOUSA, D. P.; CAVALCANTI, S. C. H. Structure–activity relationships of eugenol derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Pest Management Science*, v. 68, n. 1, p. 1478-1483, 2012.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M. F. C.; CASTRO, J. F. P. Resistência de Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology*, v. 36, n. 2, p. 303-307, 2007.

BENELLI, G.; FLAMINI, G.; FIORE, G.; CIONI, P. L.; CONTI, B. Larvicidal and repellent activity of the essential oil of *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae) fruits against the filariasis vector *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 112, n. 3, p.1155-1161, 2013.

BENELLI, G. Plant-borne ovicides in the fight against mosquito vectors of medical and veterinary importance: a systematic review. *Parasitology Research*, v. 114, n. 9, p. 3201-3212, 2015a.

BENELLI G. Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitology Research*, v. 114, n. 8, p. 2801-2805, 2015b.

BENELLI, G.; MEHLHORN, H. Declining malaria, rising of dengue and Zika virus: insights for mosquito vector control. *Parasitology Research*, v. 115, n. 5, p. 1747-1754, 2016.

BENELLI, G. Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. *Parasitology Research*, v. 115, n. 1, p. 23-34, 2016.

BENYAHYA, S.; AOUF, C.; CAILLOL, S.; BOUTEVIN, B.; PASCAULT, J. P.; FULCRAND, H. Functionalized green tea tannins as phenolic prepolymers for bio-based epoxy resins. *Industrial Crops and Products*, v. 53, p. 296-307, 2014.

BECKER, N.; ASCHER, K. R. S. The use of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) against mosquitoes, with special emphasis on the ecological impact. *Israel Journal of Entomology*, v. 32, p. 63-69, 1998.

BOLTZE, K. H.; BRENDLER, O.; LORENZ D. Troponwerke Dinklage & Co. New pharmacologically active esters of n-(3-trifluoromethylphenyl)-anthranilic acid. Int CI. C07c 101/54. 19 Sept., 1972. Pub. by John Wiley and Sons, Inc. (QD 262W24). p. 484.

BIBER, P. A.; DUEÑAS, J. R.; ALMEIDA, F. L.; GARDENAL, C. N.; ALMIRÓN, W. R. Laboratory evaluation of susceptibility of natural subpopulations of *Aedes aegypti* larvae to

temephos. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 22, n. 3, p. 408-411, 2006.

BISSET, J. A. Uso de la insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, v. 54, n. 3, p. 202-219, 2002.

BIONDI, A.; DESNEUX, N.; SISCARO, G.; ZAPPALÀ, L. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, v. 87, n. 7, p. 803-812, 2012.

BILIA, A. R.; GUCCIONE, C.; ISACCHI, B.; RIGHESCHI, C.; FIRENZUOLI, F.; BERGONZI, M. C. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014.

BHAT, S. K.; KEMPRAJ, V. Biocidal potential of clove oils against *Aedes albopictus* – A comparative study. *African Journal of Biotechnology*, v. 8, n. 24, p. 6933-6937. 2009.

BHATT, S.; PETER, W. G.; OLIVER, J. B.; JANE, P. M.; ANDREW, W. F.; CATHERINE, L. M.; JOHN, M. D.; JOHN, S. B.; ANNE, G. H.; OSMAN, S.; MONICA, F. M.; DYLAN, B. G.; THOMAS, J.; G.R. WILLIAM, W.; CAMERON, P. S.; THOMAS, W. S.; JEREMY, J. F.; SIMON, I. H. The global distribution and burden of dengue. *Nature*, v. 496, n. 7446, p. 504-507, 2013.

BIERMANN, U.; FRIEDT, W.; LANG, S.; LUHS, W.; MACHMULLER, G.; METZGER, J.O.; KLAAS, M.R.; SCHAFFER, H. J.; SCHNEIDER, M.P. New syntheses with oils and fats as Renewable Raw materials for the Chemical Industry. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 3, n. 39, p. 2206-2224, 2000.

Brasil. Ministério da Saúde (MS). 2017. Disponível em: http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/PDF/2017/novembro/28/2017_039.pdf. Acesso: 07 de Dezembro de 2017.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: Histórico do Controle no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v.16, n. 2, p.113-18, 2007.

BROWN, A.W. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 2, p. 123-140, 1986.

BUTELER, M.; SOFIE, S. W.; WEAVER, D. K.; DRISCOLL, D.; MURETTA, J.; STADLER, T. Development of nanoalumina dust as insecticide against *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. *International Journal of Pest Management*, v. 61, n. 1, p. 80-89, 2015.

BUSATO, M. A.; VITORELLO, J.; LUTINSKI, J. A.; DAL, M. J.; SCAPINELLO, J. Potencial larvicida de *Melia azedarach* L. e *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil no controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Ciência e Natureza*, v. 37, p. 277-282, 2015.

- CARVALHO, G.H.F. Atividade inseticida do extrato bruto etanólico de *Persea americana* (Lauraceae) sobre larvas e pupas de *Aedes aegypti* (diptera, culicidae). 2011. 42p. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2011.
- CANTRELL, C. L.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural products as sources for new pesticides. *Journal of Natural Products*, v. 75, n. 6, p. 1231-1242, 2012.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Surto de vírus Zika, Bahia, Brasil. *Emerging infectious diseases*, v. 21, p. 1885-1886, 2015.
- CAMPANELLA, A.; BALTANÁS, M. A. *Chemical Engineering and Processing*, v.46, n. 3, p. 210-221, 2007.
- CASTAGNOLA, A.; STOCK, P. Common Virulence Factors and Tissue Targets of Entomopathogenic Bacteria for Biological Control of Lepidopteran Pests. *Insects*, v. 5, n.1, p. 139-166, 2014.
- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. Manual de fisiologia vegetal. Agrônômica Ceres: Piracicaba; 2005.
- CHRISTOPHERS, S.R. *Aedes aegypti*. The yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure, Cambridge University Press, London, p. 738, 1960.
- CHÁVEZ, J.; VARGAS, J.; VARGAS, F. Resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del peru. *Revista Peruana de Biología*, v. 12, n. 1, p. 161-164, 2005.
- CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A. B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*, v. 21, n. 6, 2007.
- CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro, Fiocruz, 1994. 228p.
- CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Fiocruz, Reimpressão. p. 225. 1998.
- COSTA, J. A.; OLIVEIRA, R. A. G.; BARBOSA, J. M.; SOUZA BRITO, A. R. M. Synthesis and pharmacological activity of a eugenol derivative. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 75, p. 40-45, 1994.
- COSTA, A. P. O. Estudo do Comportamento Cinético e Mecânico-Dinâmico de Resina Epóxi a Base de óleo de Soja epoxidado. 2001. 107 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; PONGPAIBUL, Y.; CHAITHONG, U.; JITPAKDI, A.; TUETUN, B.; PITASAWAT, B. Larvicidal efficacy and biological stability of a botanical natural product, zedoary oil-impregnated sand granules, against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, v. 100, n. 4, p. 729-737, 2007.

CDCP - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Virus Chikungunya. 2011.

DEKKER, Marcel. Epoxy resins: chemistry and technology. 2. ed. Inc., 1988, 1242 p.

DIETRICH, F.; STROHSCHOEN, A. A. G.; SCHULTZ, G.; SEBBEN, A. D.; REMPEL, C. Utilização de inseticidas botânicos na agricultura orgânica de Arroio do Meio/RS. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 17, n. 2-4, p. 251-255, 2013.

DING, C.; MATHARU, A. S. Recent developments on biobased curing agents: A Review of their preparation and use. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*, v. 2, n.10, p. 2217-2236, 2014.

DIAS, N.; MORAES, D. F. C.; Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. *Parasitology Research*, v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014.

DULMAGE, L.M.; YOUSTEN, A.A.; SINGER, S. & LACEY, L. A. Guidelines for production of *Bacillus thuringiensis* h- 14 and *Bacillus sphaericus*. UNDP/World Bank/WHO, *Steering Committee to Biological of Vetores*, Geneva. p.59. 1990.

DURÁN, N.; MARCATO, P. D. Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: a review. *Internation Journal Food Science Technology*, v. 48, n. 6, p. 1127-1134, 2013.

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (Diclordifenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental – uma revisão. *Química Nova*, v. 25, n. 6, p. 995-1002, 2002.

ELGENDY, E. M.; KHAYYAT, S. A. Oxidation Reactions of Some Natural Volatile Aromatic Compounds: Anethole and Eugenol. *Russian Journal of Organic Chemistry*, v. 44, n. 6, p. 823-829, 2008.

EYAMBE, G.; CANALES, L.; BANIK, B. K. Antimicrobial activity of eugenol derivatives. *Heteroletters organic*, v. 1, n. 2, p. 154-157, 2011.

FERNANDES, F. A. N.; LONA, L. M. F. **Polímeros**. Introdução à Modelagem de Sistemas de Polimerização. 1 Ed. São Carlos, São Paulo: Editora Booklink, p. 1- 145, 2004.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, v. 101, n. 1, p. 524-532, 2014.

FERNANDES, R. V. de B. Study of ultrasound-assisted emulsions on microencapsulation of ginger essential oil by spray drying. *Industrial Crops and Products*, v. 94, p. 413-423, 2016.

FERDOSIANA, F.; YUANA, Z.; ANDERSON, M.; XU, C. Sustainable lignin-based epoxy resins cured with aromatic and aliphatic amine curing agents: Curing kinetics and thermal properties. *Thermochimica Acta*, v. 618, p. 48-55, 2015.

FOGLIA, T.A.; SONNET, P.E.; NUNEZ, A.; DUDLEY, R.L. Selective oxidations of methyl Ricinoleate: Diastereoselective Epoxidation with Titanium IV Catalysts. *J. Am. Oil Chemistry Soc.* v. 75, p. 601-607, 1998.

FINNEY, D. J. Probit analysis. 3 ed. S. Chand & Company Ltd, Ram Nagar, New Delhi. 333p, 1981.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: Uma Breve Revisão. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, vols. 8-9, p. 169-789, 2012.

FORATTINI, O. P. Culicidologia médica: Identificação, Biologia e epidemiologia: vol.2. São Paulo: EDUSP, Brasil, p. 860. 2002.

FORIM, M. R.; COSTA, E. S.; DA SILVA, M. F.; FERNANDES, J. B.; MONDEGO, J. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L. Development of a new method to prepare nano-/microparticles loaded with extracts of *Azadirachta indica*, their characterization and use in controlling *Plutella xylostella*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, n. 38, p. 9131–9139, 2013.

FONSECA, I.; QUIÑONES, M. L. Resistencia a insecticidas en mosquitos (Diptera: Culicidae): mecanismos, detección y vigilancia en salud pública. *Revista Colombiana de entomología*, v. 31, n. 2, p. 107-115, 2005.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Programa Nacional de Controle da Dengue; Funasa/Ministério da Saúde: Brasília, Brazil, p. 1–34. (In Portuguese). 2002.

GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. *Revista Brasileira de Malariologia*, v. 37, p. 29-36, 1985.

GAN, L. H.; GOH, S.H. OOI, K.S. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 69, n. 4, p. 347, 1992.

GARG, A.; SINGH, S. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 87, n. 2, p. 280-288, 2011.

GENTZ, M. C.; JONES, A.; CLEMENT, H.; KING, G. F. Comparison of the peptidome and insecticidal activity of venom from a taxonomically diverse group of theraphosid spider. *Toxicon*, v. 53, n. 5, p. 496-502, 2009.

GERIS, R.; SILVA, I. G.; SILVA, H. H.; BARISON, A.; RODRIGUES-FILHO, E.; FERREIRA, A. G. Diterpenoids from *Copaifera reticulata* Ducke with larvicidal activity against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 50, n. 1, p. 25-28, 2008.

GEORGHIOU, G. P.; LAGUNES-TEJEDA, A. *The occurrence of resistance to pesticides in Arthropods*. 318 p. 1991.

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C. E. 1986. Pesticide resistance: strategies and tactics for management. Ed. National Research Council. National Academy Press, Washington DC. 157-169 pp.

- GLEISER, R. M.; ZYGADLO, J. A. Insecticidal properties of essential oils from *Lippia turbinata* and *Lippia polystachya* (Verbenaceae) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 101, n. 5, p. 1349-1354, 2007.
- GLASSER, C. M.; GOMES, A. C. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*, v. 36, n. 2, p. 166-172, 2002.
- GUARDA, C.; LUTINSKI, J. A.; ROMAN-JUNIOR, W. A.; BUSATO, M. A. Atividade larvicida de produtos naturais e avaliação da susceptibilidade ao inseticida temefós no controle do *Aedes aegypti* (diptera: culicidae). *Interciência*, v. 41, n. 4, p. 243-247, 2016.
- GUSTONE, F. A change worth nothing. *Informativo*. v. 11, n. 6, p. 599-600, 2000.
- GUY, B.; SAVILLE, M.; LANG, J.; SIQUEIRA, J. B.; BRICKS, L. F. Desenvolvimento de uma vacina tetravalente contra dengue. *Revista Pan-Amazônica Saúde*. v. 2, n. 2, p. 51-64, 2011.
- GUNNER, F. S.; YAGCI, Y.; ERCIYES, A. T. Polymers from triglyceride oils. *Progress in Polymer Science*, v. 31, n. 7, p. 633-670, 2006.
- GUENETTE, S. A.; RODD, A.; MARIER, J.F.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol and its effects on thermal hypersensitivity in rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 562, n. 1, p. 60-67, 2007.
- GUZMÁN, D.; RAMIS, X.; FERNÁNDEZ-FRANCOS, X.; DE LA FLOR, S.; SERRA, A. Preparation of new biobased coatings from a triglycidyl eugenol derivative through thiol-epoxy click reaction. *Progress in Organic Coatings*, n. 114, p. 259-267, 2018.
- GOGOS, A.; KNAUER, K.; BUCHELI, T. D. Nanomaterials in plant protection and fertilization: current state, foreseen applications, and research priorities. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 60, n. 39, p. 9781-9792, 2012.
- GHORMADE, V.; DESHPANDE, M. V.; PAKNIKAR, K.M. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 6, p. 792-803, 2011.
- GHAYEMPOUR, S.; MONTAZER, M. Micro/nanoencapsulation of essential oils and fragrances: focus on perfumed, antimicrobial, mosquitorepellent and medical textiles. *Journal of Microencapsulation*, v. 33, n. 6, p. 497-510, 2016.
- GOVINDARAJAN, M.; RAJESWARY, M.; BENELLI, G. Chemical composition, toxicity and non-target effects of *Pinus kesiya* essential oil: An eco-friendly and novel larvicide against malaria, dengue and lymphatic filariasis mosquito vectors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 129, p. 85-90, 2016.
- GONZÁLEZ, J. O. W.; GUTIÉRREZ, M. M.; FERRERO, A. A.; BAND, B. F. Essential oils nanoformulations for stored-product pest control - Characterization and biological properties. *Chemosphere*, v. 100, p. 130-138, 2014.

- GONZÁLEZ, J. O. W.; JESSER, E. N.; YEGUERMAN, C. A.; FERRERO, A. A.; BAND, B. F. Polymer nanoparticles containing essential oils: new options for mosquito control. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 20, p. 17006-17015, 2017.
- GUISSONI, A. C. P.; SILVA, I. G.; GERIS, R.; CUNHA, L. C.; SILVA, H. H. G. Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. *Revista brasileira de plantas medicinais*, v.15, n.3, p. 363-367, 2013.
- GHAFFAR, S. H.; FAN, M. Lignin in straw and its applications as an adhesive. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 48, p. 92-101, 2014.
- HAMERTON, I. High performance polymers. *Polymer International*, v. 41, n. 2, p. 101-102, 1996.
- HADDAD, M. L. Utilização do POLO-PC para análise de Probit, p. 999-1013. In: Alves, SB. Controle microbiano de insetos. 2o ed. Editora FEALQ, Piracicaba, p. 999-1014, 1998.
- HARVEY, B. G.; SAHAGUN, C. M.; GUENTHNER, A. J.; GROSHENS, T. J.; CAMBREA, L.R.; REAMS, J. T.; MABRY, J. M.; A high-performance renewable thermosetting resin derived from eugenol, *Chemistry Sustainability*, v. 7, n. 7, p. 1964-1969, 2014.
- HUILING, H.; WEI J.; DAI, J.; DU, J. Host-seeking and blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) exposed to vapors of geraniol, citral, citronellal, eugenol, or anisaldehyde. *Journal of Medical Entomology*, v. 45, n. 3, p. 533-539, 2008.
- HOLLEBEN, M. L. A; SCHUCH, C.M. Activating agents of the hydrogen peroxide in the epoxidation of unfunctionalized alkenes. *Química Nova*, v. 20, n.1, p. 58-71, 1997.
- HONÓRIO, N. A.; CÂMARA, D. C. P.; CALVET, G. A.; BRASIL P. Chikungunya: an arbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil. *Caderno Saúde Pública*, v. 31, n. 5, p. 906-908, 2015.
- HOMBACH, J. Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advanced development stages. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 21, n. 4, p. 254-260, 2007.
- HE, M.; DU, M.; FAM, M. BIAN, Z. In vitro activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia*, v. 163, n. 3, p. 137-143, 2007.
- HEMAISWARYA, S.; DOBLE, M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria. *Phytomedicine*, v. 16, n. 11, p. 997-1005, 2009.
- ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protect*, v. 19, n. 8, p. 603-608, 2000.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, v. 51, n.1, p.45-66, 2006.

ISMAN, M. B.; GRIENEISEN, M. L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. *Trends in Plant Science*, v. 19, n.3, p. 140-145, 2014.

KAMARAJ, C.; ABDUL RAHUMAN, A.; MAHAPATRA, A.; BAGAVAN, A.; ELANGO, G. Atividades inseticidas e larvicidas de extratos de plantas medicinais contra mosquitos. *Pesquisa de parasitologia*, v. 107, n.6, p. 1337-1349, 2010.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A.; BAGAVAN, A.; ELANGO, G.; ZAHIR, A. A.; SANTHOSHKUMAR, T. Larvicidal and repellent activity of medicinal plant extracts from Eastern Ghats of South India against malaria and filariasis vectors. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 4, n. 9, p. 698-705, 2011.

KAUFMAN, T. S. The Multiple Faces of Eugenol. A Versatile Starting Material and Building Block for Organic and Bio-Organic Synthesis and a Convenient Precursor Toward Bio-Based Fine Chemicals. *Sociedade Brasileira de Química*, v. 23, n. 6, p. 1055-1085, 2015.

KFOURY, M.; AUEZOVA, L.; RUELLAN, S.; GREIGE-GERGES, H.; FOURMENTIN, S. Complexation of estragole as pure compound and as main component of basil and tarragon essential oils with cyclodextrins. *Carbohydrate Polymers*, v. 118, p. 156-164, 2015.

KIREEV, V. V.; BREDOV, N. S.; BILICHENKO, Y. V.; LYSENKO, K. A.; BORISOV, R. S.; CHUEV, V. P. Epoxy oligomers based on eugenol cyclotriphosphazene derivatives. *Polymer Science*, v. 50, n. 3, p. 609-615, 2008.

KUO, M. C.; CHOU, T. C. Epoxidation of Oleic Acid with Oxygen in the Presence of Benzaldehyde Using Heterogenized Homogeneous Co-Type Ion-Exchange Membrane as Catalyst. *Journal Chemistry Engineering*, v. 68, p. 831-838, 1990.

KOUL, O.; SURESH, W.; DHALIWAL, G. S. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International*, v. 4, n.1, p. 63-84, 2008.

KOUL, O. Phytochemicals and insect control: An antifeedant approach. *Critical Reviews Plant Science*, v. 27, n. 1, p. 1-24, 2008.

KONG, X.; XU, Z.; GUAN, L.; DI, M. Study on polyblending epoxy resin adhesive with lignin I-curing temperature. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 48, p. 75-79, 2014.

KHOT, L. R.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R. SCHUSTE, E.W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. *Crop Protection*, v. 35, p. 64-70, 2012.

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: current trends and future priorities. *Environment International*, v. 63, p. 224-235, 2014.

KIM, B. N.; KIM, N. J.; KIM, M. N.; KIM, Y. S.; WOO, J. H.; RYU, J. Bacteremia due to Tribe Proteaceae: a review of 132 cases during a decade (1991-2000). *Scandinavian Journal of Infections Diseases*, v. 35, n. 2, p. 98-103, 2003.

LANG, B. J.; IDUGBOE, S.; MCMANUS, K.; DRURY, F.; QURESHI, A.; CATOR, L. J. The Effect of Larval Diet on Adult Survival, Swarming Activity and Copulation Success in Male *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 20, n. 10, p. 1-7, 2017.

LAHLOU, M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, v. 18, n. 6, p. 435-448, 2004.

LEYVA, M.; MARQUETTI, M. C.; TACORONTE, J. E.; SCULL, R.; TIOMNO, O.; MESA, A.; MONTADA, D. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Revista Biomedicina*, v. 20, n. 1, p. 5-13, 2009.

LEES, R. S.; GILLES, J. R. L.; HENDRICH, J.; VREYSEN, M. J. B.; BOURTZIS, K. Back to the future: the sterile insect technique against mosquito disease vectors. *Current Opinion Insect Science*, v.10, n.10, p. 156-162, 2015.

LELES, R. N.; SOUSA, N. A.; Rocha, L. F. N.; SANTOS, A. H.; SILVA, H. H. G.; LUZ, C. Pathogenicity of some hypocrealean fungi to adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 107, n. 5, p. 1271-1274, 2010.

LIECHTY, W.B.; KRYSZCIO, D.R.; SLAUGHTER, B.V.; PEPPAS, N.A. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering. 2010.

LIMA, E. P.; OLIVEIRA FILHO, A. M.; LIMA, J. W. O.; RAMOS JÚNIOR, A. N.; CAVALCANTI, L. P. G.; PONTES R. J. S. Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 3, p. 259-263, 2006.

LIMA, E. P.; GOULART, M. O. F.; ROLIM, N. M. L. Meta-analysis of studies on chemical, physical and biological agents in the control of *Aedes aegypti*. *BMC Public Health*, v. 15, p. 858, 2015.

LIU, X. C.; DONG, H. W.; ZHOU, L.; DU, S. S.; LIU, Z. L. Essential oil composition and larvicidal activity of *Toddalia asiatica* roots against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 112, n. 3, p. 1197-1203, 2013.

LUZ, C.; TAI, M. H.; SANTOS, A. H.; ROCHA, L. F.; ALBERNAZ DA SILVA, H. H. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *Journal Medicine Entomology*, v. 44, n. 5, p. 799-804, 2007.

MATEJKA, L.; LOVY, J.; POKORMI, S.; BOUCHOL, K. Curing epoxy resins with anhydrides. Model reactions and reaction mechanism. *Journal of Polymer Science Polymer Chemistry*, v. 21, n. 10, p. 2873, 1983.

MAY, M. C. Epoxy resins: chemistry and technology (2nd ed.) Marcel Dekker, Inc., 1988, 1242 p.

MARKOWITZ, K.; MOYNIHAN, M.; LIU, M. S.; KIM, S. Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol - A clinically oriented review. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, v. 73, p. 729-737, 1992.

MACORIS, M. L. G.; ANGRIGHETTI, M. T. M.; GLASSER, C. M.; GARBELOTI, V. C.; CIRINO, V. C. B. Alteração da resposta de suscetibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 33, n. 5, p. 521-522, 1999.

MARCOMINI, A. M. Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MARGULIS-GOSHEN, K.; MAGDASSI, S. Nanotechnology: an advanced approach to the development of potent insecticides. In: Ishaaya I, Palli SR, Horowitz (ed) *Advanced technologies for managing insect pests*. Springer, New York, p. 295-314, 2013.

MATELIC, J.; JERKOVIC, I.; BLAZEVIC, L.; POLJAK-BLAZI, M.; BOROVIĆ, A. A comparative study on the anti-oxidant and biological activities of carvacrol, thymol and eugenol derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, n. 11, p. 3989-3996, 2008.

MANJU, S.; MALAIKOZHUNDAN, B.; VIJAYAKUMAR, S.; SHANTHI, S.; JAISHABANU, A.; EKAMBARAM, P.; VASEEHARAN, B. Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic effects of *Nigella sativa* essential oil coated gold nanoparticles. *Microbial Pathogenesis*, v. 91, p. 129-135, 2016.

MEIER, M. A. R.; METZGER, J. O.; SCHUBERT, U. S. Plant oil renewable resources as green alternatives in polymer science. *Chemical Society Reviews*, v. 36, n. 11, p. 1788-1802, 2007.

MEDEIROS, E. S. Eficiência de extrato vegetal e do óleo essencial do cravo-da-índia, *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Myrtaceae), para controle larval de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Anopheles darlingi* Root, 1926 (Diptera, Culicidae). 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade do Estado do Amazonas, Amazonas, 2011.

MEDEIROS, E. S.; COSTA, F. M.; RODRIGUES, I. B.; TADEI, W. P. Larvicidal activity of the aqueous extract of the clove (*Eugenia caryophyllata*) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) under laboratory conditions. *Journal of Research in Biology*, v. 1, n. 7, p. 518-523, 2011.

MEDEIROS, E. S.; RODRIGUES, I. B.; LITAIFF-ABREU, E.; TADEI, W. P. Larvicidal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) extracts and eugenol against *Aedes aegypti* and *Anopheles darlingi*. *African Journal of Biotechnology*, v. 12, n. 8, p. 836-840, 2013.

MEHLHORN, H.; AL-RASHEID, K. A. S.; AL-QURAIHY, S.; ABDEL-GHAFFAR, F. Research and increase of expertise in arachno-entomology are urgently needed. *Parasitology Research*, v. 110, n. 1, p. 259-265, 2012.

MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

MULLAI, K.; JEBANESAN, A.; PUSHPANATHAN, T. Effect of bioactive fractions of *Citrullus vulgaris* Schrad. leaf extract against *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Parasitology Research*, v. 102, n. 5, p. 951-955, 2008.

MUSTAFA, R.; OTHMAN, M. B. H.; ISMAIL, H.; AHMAD, Z. Synthesis and characterization of rigid aromatic-based epoxy resin. *Malaysian Polymer Journal*, v. 4, n. 2, p. 68-75, 2009.

MUSTAFA, M. S.; RASOTGI, V.; JAIN, S.; GUPTA, V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Medicine Journal Armed Forces India*, v. 71 n. 1, p. 67-70. 2015.

MUKTAR, Y.; TAMERAT, N.; SHEWAFERA, A. *Aedes aegypti* as a vector of Flavivirus. *Journal of Tropical Diseases*, v. 4, n. 5, p. 7-7, 2016.

MIOT, H.A.; LAUTERBACH, G.P.; RIBEIRO, F.A.H.; JÚNIOR, É.L.F.; HERCOS, G.N.; MADEIRA, N.G.; JUNIOR, V. H. Comparison among homemade repellents made with cloves, picaridin, andiroba, and soybean oil against *Aedes aegypti* bites. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 6, p. 793-794, 2011.

MIRANDA, M. I. G.; TOMEDI, C.; BICA, C. I. D; SAMIOS, D. A. kinetic study on the effect of filler concentration on crosslinking of diglycidylether of bisphenol-A with 4,4'-diaminodiphenylmethane. *Polymer*, v. 38, n. 5, p. 1017-1020, 1997.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*, v. 19, n. 1, p. 29-35, 2014.

MOTAWIE, A. M.; SADEK, E. M.; AWAD, M. M. B; EL-DIN, A. F. Coatings from Epoxidized (Polyurethane-Polyester) Resin System. *Journal Appl Polymer Science*, v. 67, p. 577-581, 1998.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MODJINO, T.; VERSACE, D. L.; ABBAD-ANDALOUSSI, S.; LANGLOIS, V.; RENARD, E. Antibacterial and antioxidant photoinitiated epoxy co-networks of resorcinol and eugenol derivatives. *Materialstoday Communications*, v. 12, p. 19-29, 2017.

NARAHASHI, T. Neuroreceptors and Ion Channels as the Basis for Drug Action: Past, Present, and Future. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, v. 294, n. 1, p. 26, 2000.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE, J. E. L. Review of semio chemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, n. 1, p. 1-6, 2009.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresource Technology*, v. 101, n.1, p. 372-378, 2010.

NHAN, T. X.; CAO-LORMEAU, V. M.; MUSSO, D. Les infections à virus Zika. *Revue Francophone Laboratoires*, v. 2014, n. 467, p. 45-52, 2014.

NUCCI, A. M.; NICOLAU, A.; MARTINI, E. M. A.; SAMIOS, D. Biodiesel polycarboxilic. *European Polymer Journal*, v. 42, p. 195-202, 2006.

NURUZZAMAN, M.; RAHMAN, M. M.; LIU, Y.; NAIDU, R. Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides: a new window for safe application. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v. 64, n. 7, p. 1447-1483, 2016.

OEHLER, E.; WATRIN, L.; LARRE, P.; LASTÈRE, S.; VALOUR, F. BAUDOUIN, L. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome –case report. *French Polynesia*, v. 19, n. 9, p. 7-9, 2013.

OLMO, L. R. D. Derivados poliméricos de eugenol para aplicaciones biomédicas. 2008. 253 f. Tese (Doutorado em Química). Universidad Complutense de Madrid – Espanha, 2008.

OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; BAKSHIC, M.; ABHILASHC P.C.; FRACETO, L. F. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotechnology Advances*, v. 32, n. 8, p. 1550-1561, 2014.

Organização Mundial da Saúde [OMS] Instruções para determinar a suscetibilidade ou resistência de larvas de mosquitos aos inseticidas. WHO/VBC/81. 807. *Organização Mundial da Saúde*, Genebra, Suíça (1981). Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf> Acessado em: 22/01/2018.

PAVELA, R. Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 105, n.3, p. 555-559, 2008.

PAVELA, R. Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. *Industrial Crops and Products*, v.34, n.1, p. 888-892, 2011.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial Crops and Products*, v. 76, p. 174-187, 2015.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.

PAULA, H. C.; SOMBRA, F.M.; DE FREITAS, C. R.; ABREU, F. O.; DE PAULA, R. C. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. *Materials Science & Engineering*, v. 31, n.2, p. 173-178, 2011.

PERIAGO, M. R.; GUZMÁN, M. G. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 21, p. 187-191, 2007.

PERLATTI, B.; BERGO, S. P. L.; FERNANDES DA SILVA, M. F.; DAS G, FERNANDES, B. J.; ROSSI, M. Polymeric nanoparticle-based insecticides: a controlled release purpose for

agrochemicals. In: Trdan S, editor. *Insectic - Development Safer More Effective Technologies*. InTech, 2013.

PETRIE, E. *Epoxy Adhesive Formulations*, McGraw-Hill, New York, USA, 2006.

PETERSEN, L. R.; JAMIESON, D. J.; POWERS, A. M.; HONEIN, M. A. Zika Virus. *New England Journal of Medicine*, v. 374, p. 1552-1563, 2016.

PINHEIRO, V. C. S.; TADEI, W. P. Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 18, n. 6, p. 1529-1535, 2002.

POTHAKAMURI, U. R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends Food Science & Technology*, v. 6, n. 12, p. 397-406, 1995.

POWELL, J.R.; TABACHNICK, W.J. History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 108, n.1, p.11-17, 2013.

PRIDGEON, J. W.; PEREIRA, R. M.; BECNEL, J. J.; ALLAN, S. A.; CLARK, G. G.; LINTHICUM, K. J. Susceptibility of *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* Say, and *Anopheles quadrimaculatus* Say to 19 pesticides with different modes of action. *Journal of Medicine Entomology*, v. 45, n. 1, p. 82-87, 2008.

QUEIROZ, J. M. C.; SUZUKI, M. C. M.; MOTTA, A. P. R.; NOGUEIRA, J. M. R.; CARVALHO, E. M. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. *Etnofarmacologia*, v. 9, n. 2, p. 73-100, 2015.

QIN, J.; LIU, H.; ZHANG, PEI.; WOLCOTT, M.; ZHANG, J. Use of eugenol and rosin as feedstocks for biobased epoxy resins and study of curing and performance properties. *Polymer international*, v. 63, n. 4, p. 760-765, 2014.

RAHUMAN, A. A.; BAGAVAN, A.; KAMARAJ, C.; SARAVANAN, E.; ZAHIR, A. A.; ELANGO, G. Efficacy of larvicidal botanical extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 104, n. 6, p. 1365-1372, 2009.

RAHUMAN, A.A.; GOPALAKRISHNAN, G.; VENKATESAN, P.; GEETHA, K. Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v. 102, n. 5, p. 867-873, 2008.

RAINA, V. K. Essential oil composition *Syzygium aromaticum* leaf from Little, 2001.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annual Review of Entomology*, v. 57, p. 405-424, 2012.

REEGAN, A. D.; GANDHI, M. R.; PAULRAJ, M. G.; BALAKRISHNA, K. IGNACIMUTHU, S. Erratum to effect of niloticin, a protolimonoid isolated from *Limonia acidissima* L. (Rutaceae) on the immature stages of dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Acta Tropica*, v. 140, p. 202-203, 2014.

- RODRIGUES, M. R. A. Estudo da reação de cura da resina epóxi (ARALDIT F) com Anidrido Ftálico e Trietilamina como iniciador. 1991. 112 f. Dissertação (Mestrado em química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K; TYLER, V. E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Wilkins, 1996. 337 p.
- ROY, A.; SINGH, S.K.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. Controlled pesticide release from biodegradable polymers. *Central European Journal Chemistry*, v. 12, n. 4, p. 453-469, 2014.
- RISCH, S. J.; REINECCIUS, G.A. (Eds.), Encapsulation and controlled release of food ingredients, ACS symposium series. 1995. 590 p.
- SADEGHIAN, H.; SEYEDI, S. M.; SABERI, M.R.; ARGHIANI, Z.; RIAZI, M. Design and synthesis of eugenol derivatives, as potent 15-lipoxygenase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 16, n. 2, p. 890-901, 2008.
- SANTOS, A. L.; CHIERICE, G. O. ALEXANDRE, K.; RIGA, A.; MATTHEWA, E. Characterization of the raw essential oil eugenol extracted from *Syzygium aromaticum* L. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 96, p. 821-825, 2009.
- SANTOS, R. G. S. Influência da interação carga-matriz sobre a cinética de cura de nanocompósitos de argila organofílica e resina epoxídica. 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Lorena. 2009.
- SANTOS, A. L. Preparação e caracterização de uma mistura eutética baseada em um derivado de óleo essencial extraído do *Syzygium aromaticum* L. 2010. 134 f. Tese (Doutorado em Ciências Analítica) – Universidade de São Paulo, 2010.
- SANTOS, S. R. L. Síntese e atividade de compostos potencialmente larvicidas frente ao *Aedes aegypti*. 2014. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, 2014.
- SCARPASSA, V. M.; TADEI, W. P. Biologia de Anofelinos Amazônicos. XIII. Estudo do ciclo biológico de *Anopheles nuñez-tovari* Gabaldon, 1940 (Diptera, Culicidae). *Acta Amazonica*, v. 20, p. 95-117, 1990.
- SHAH, M. A.; WANI, S. H.; KHAN, A. A. Nanotechnology and insecticidal formulations. *Journal Food Bioengineering Nanoprocessing*, v. 1, n. 3, p. 285-310, 2016.
- SHAALAN, E. A. S.; CANYON, D.; YOUNES, M. W. F.; ABDEL- WAHAB, H.; MANSOUR, A. H. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environmnet International*, v. 31, n. 8, p.149-1166, 2005.
- SEMMLER, M.; ABDEL-GHAFFAR, F.; AL-RASHEID, K.; MEHLHORN, H. Nature helps: from research to products against blood-sucking arthropods. *Parasitology Research*, v. 105, p. 1483, 2009.

SERDEIRO, M. T.; MALLETT, J. R. S.; HONÓRIO, N. A.; MALECK, M. *Aedes aegypti*: modelo experimental de atividade biológica de fitoprodutos. *Revista de Saúde*, v. 8, n.1, p. 28-32, 2017.

SHOKEEN, P.; ANAND, P.; MURALI, Y. K.; TANDON, V. Antidiabetic activity of 50% ethanolic extract of *Ricinus communis* and its purified fractions. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p. 3458-3466, 2008.

SCHWARTZ, L. M.; HALLORAN, M. E.; DURBIN, A. P.; LONGINI, I. M. The dengue vaccine pipeline: *Implications for the future of dengue control*. v. 12 n. 8, p. 3293-3298. 2015.
SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Estudo do ciclo evolutivo do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) a partir de ovos com quatro meses de estocagem em laboratório. *Revista de Patologia Tropical*, v. 29, n.1, p. 95-100, 2000.

SILVA, J. G.; GUIMARÃES, V. P.; LIMA, C. G.; SILVA, H. H. G.; ELIAS, C. N.; MADY, C. M.; SILVA, V. V. M.; NERY, A. P.; ROCHA, K. R.; ROCHA, C.; ISAC, E. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre o *Aedes aegypti* em criadouros artificiais. *Revista de Patologia Tropical*, v.32, n.1, p. 73-86, 2003.

SILVA, O. S.; PROPHIRO, J. S.; NOGARED, J. C.; KANIS, L.; EMERICK, S.; BLAZIUS, R. D.; ROMÃO, P. R. T. Larvicidal effect of andiroba oil, *Carapa Guianensis* (Meliaceae), against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 22, n. 4, p. 699-701, 2006.

SILVA, W. J.; DÓRIA, G. A. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. H. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 8, p. 3251-3255, 2008.

SILVA, A. M.; GOMES, A.C. Proteção de Bromeliaceae para evitar a formação de criadouros de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista de Patologia Tropical*, v. 37 n.1, p. 43-47, 2008.

SILVA, D. C. Efeito de *Metarhizium anisopliae* s.l. combinado com extratos hidroalcoólicos de plantas em *Aedes aegypti*. 2017. 60 p. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia- GO, 2017.

SONNET, P.E.; FOGLIA, T.A. Epoxidation of natural triglycerides with ethylmethyldioxirane. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 73, n. 4, p. 461-464, 1996.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and *Syzygium aromaticum* (clove) oils on the morphology and mortality of *Aedes aegypti* and *Anopheles dirus* larvae. *Parasitology Research*, v. 115, n. 4, p. 1691-1703, 2016.

SOUSA, N. A.; LOBO, L. S.; RODRIGUES, J.; LUZ, C. New insights on the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* formulation and application against *Aedes aegypti* eggs. *Letters Applied Microbiology*, v. 57, n. 3, p. 193-199, 2013.

STATES, M.; ZIKA, T.; FOREST, Z.; POLYNESIA, F.; BARR, G. Epidemiological Alert. p. 1-8. 2015.

SUTER, T.; CRESPO, M. M.; OLIVEIRA, M. F.; OLIVEIRA, T. S.; MELO-SANTOS, A. M. A.; OLIVEIRA, C. M. F.; AYRES, C. F. J.; BARBOSA, R. M. R.; ARAÚJO, A. P.; REGIS, L. N.; FLACIO, E.; ENGELER, L.; MÜLLER, P.; SILVA-FILHA, M. H. N. L. Insecticide susceptibility of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* from Brazil and the Swiss-Italian border region. *Parasites & Vectors*, v. 10, n. 431, p. 2-11, 2017.

THANIGAIVEL, A.; CHANDRASEKARAN, R.; REVATHI, K.; NISHA, S.; SATHISH-NARAYANAN, S.; KIRUBAKARAN, S. A.; SENTHIL-NATHAN, S. Larvicidal efficacy of *Adhatoda vasica* (L.) Nees against the bancroftian filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say and dengue vector *Aedes aegypti* L. in in vitro condition. *Parasitology Research*, v. 110, n. 5, p. 1993-1999, 2012.

TRAMÓN, C. Modelling the controlled release of essential oils from a polymer matrix-a special case. *Industrial Crops Product*, v. 61, p. 23-30, 2014.

TAUIL, P. L. Condições para a transmissão da febre do vírus chikungunya. *Epidemiologia e Serviços Saúde*, v. 23, n. 4, p. 773-774, 2014.

TOLLE, M. A. Mosquito-borne diseases. Current Problems in: *Pediatric and Adolescent Health Care*, v. 39, n. 4, p. 97-140. 2009.

VASCONCELOS, P. F. D. C. Doenças pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas. *Rev. Pan-Amazônica Saúde*, v. 6, n. 2, p. 9-10, 2015.

VARONA, S.; MARTÍN, A.; COCERO, M. J.; DUARTE, C. M Encapsulation of lavandin essential oil in poly-(ϵ -caprolactones) by PGSS Process. *Chemistry Engineering Technology*, v. 36, n. 7, p. 1187-1192, 2013.

VAN DEN BERG, H. DDT and Malaria Prevention. *Environmental Health Perspectives*, v. 118, n. 1, p. 15-16, 2010.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: UFSM/DFS, 2000. p. 113-128.

VENZON, M. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Viçosa: EPAMIG; 2010.

VISHWAKARMA, G. S.; GAUTAM, N.; BABU, J. N.; MITTAL, S.; JAITAK, V. Polymeric encapsulates of essential oils and their constituents: a review of preparation techniques, characterization and sustainable release mechanisms. *Polymer Reviews*, v. 56, n. 4, p. 668-701, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Vector resistance to pesticides. Geneva; (WHO TRS 818). 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva: WHO, 147, p. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Global Strategy for Dengue Prevention and Control 2012–2020. World Health Organization, Geneva, Switz; p. 35. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Chikungunya. 2015. Disponível: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/>. Acesso: 04/05/2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Mosquito-borne diseases: Mosquitoes cause millions of deaths every year. 2015. Disponível: http://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/mosquito-borne-diseases/en/. Acesso: 30/01/2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Draft global vector control response 2017-2030, 2017.

WARWEL, S.; KLAAS, M. R. Chemoenzymatic epoxidation of unsaturated carboxylic acids. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v.1, n. 1, p. 29-35, 1995.

WATANABE, J.; KIRITOSHI, Y.; NAM, K. W.; ISHIHARA, K. In *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, 2^o ed.; ed. Informa Healthcare: Tokio, Japan. 2008.

WAN, J.; GAN, B.; LI, C. MOLINA-ALDAREGUIA, J.; KALALI, E. N.; WANG, X.; WANG, DE-YI. A sustainable, eugenol-derived epoxy resin with high biobased content, modulus, hardness and low flammability: Synthesis, curing kinetics and structure–property relationship. *Chemical Engineering Journal*, v. 284, p. 1080-1093, 2016.

WRBU - WALTER REED BIOSYSTEMATICS. Mosquito identification resources. Disponível em: <http://www.wrbu.org/VecID_MQ.html. Acesso: 11 de Janeiro de 2018.

ZANLUCA, C.; CAMPOS, V.; MELO, A.; MOSIMANN, L.P; IGOR, G. Primeiro relatório da transmissão autóctone do vírus Zika no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.110, n. 4, p. 569-572, 2015.

ZARA, A. L. S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia Serviço Saúde - Brasília*, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

ZAMMARCHI, L.; STELLA, G.; MANTELLA, A.; BARTOLOZZI, D.; TAPPE, D.; GÜNTHER S. Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications. *Journal Clinic Virology*, v. 5, p. 63-32, 2015.

ANEXOS

ANEXO 1 - CÁLCULO PARA OBTENÇÃO DOS POLÍMEROS

Os cálculos para obtenção dos formulados foram realizados de acordo com DOW®
(*Phr* - partes em peso de amina por 100 partes de resina).

Composição do formulado com 10%: GlyDE - TTGE - EP = 80,29: 9,71: 10,0 p/p

$$EWW_{\text{mix 1-10}} = \text{Total Wt} / ((W_{t_a}/EEW_a) + (W_{t_b}/EEW_b) + (W_{t_c}/EEW_c)) = 100 / (80,29/102,11 + 9,71/100,79 + 10/220,2) = 100 / (0,7863 + 0,0963 + 0,0454) = 100 / 0,928 = \mathbf{107,76}.$$

$$Phr \text{ TEGDA} = (AHEW_{\text{TEGDA}} * 100) / EEW_{\text{mix}} = (37,05 * 100) / 107,76 = \mathbf{34,38}$$

(GlyDGE - TTGE - EP)mix 765,36 mg (623 µl) + 95,32 mg = 0,9532 g - 100 partes
TEGDA, x g - 34,38;

$$x = 0,9532 * 34,38 / 100 = 0,3277 \text{ g ou } 323 \mu\text{l}$$

TOTAL: 836 µl (GlyDGE - TTGE)mix + 95,32 mg EP + 323 µl TEGDA + 974 µl EtOH.

Polimerização em bloco: **GlyDE – TTGE // TEGDA**

Composição do formulado 5%: GlyDE - TTGE - EP = 85.29 – 9.71 – 5.0 p/p

$$EEW_{\text{mix 1-5}} = \text{Total Wt} / ((W_{t_a}/EEW_a) + (W_{t_b}/EEW_b)) = 100 / (85.29 / 102.11 + 9.71 / 100.79 + 5/220.2) = 100 / (0.8353 + 0.0963 + 0.0227) = 100 / 0,9543 = \mathbf{104,79}$$

$$\text{Cura com TEGDA: } Phr \text{ TEGDA} = (AHEW_{\text{TEGDA}} * 100 / EEW_{\text{mix 1-5}} = (37.05 * 100) / 104.79 = \mathbf{35,36};$$

(GlyDGE-TTGE-EP) mix 813.02 (661.5 µl) + 92.56 mg (80 µl) + 47.66 mg = 0.9533 g - 100 partes.
TEGDA, x g - 35,36;

$$x = 0,9533 * 35,36 / 100 = 0,36 \text{ g ou } 332 \mu\text{l}$$

TOTAL: 741.5 µl (GlyGE – TTGE)mix + 47.66 mg EP + 332 µl TEGDA + 926 µl de EtOH

Polimerização: **GlyDE – TTGE // TEGDA**

Composição do formulado 3%: GlyDE - TTGE - EP = 87.29 – 9.71 – 3.0 p/p

$$EEW_{\text{mix1-3}} = \text{Total Wt} / ((W_{t_a}/EEW_a) + (W_{t_b}/EEW)) = 100 / (87.9 / 102.11 + 9.71 / 100.79 + 3/220.2) = 100 / (0.8549 + 0.0963 + 0.0136) = 100 / 0,99648 = \mathbf{103,65}$$

Cura com TEGDA: $Phr \text{ TEGDA} = (AHEW_{\text{TEGDA}} * 100 / EEW_{\text{mix1-3}} = (37.05*100)/103.65 = \mathbf{35,75}$

(GlyDGE-TTGE-EP) mix 832. 09 (667 µl) + 92.56 mg (80 µl) + 28.6 mg = 0.9533 g – 100 partes.

TEGDA, x g – 36,31;

$$x = 0,9533 * 37.75 / 100 = 0,36 \text{ g ou } 355 \text{ µl}$$

TOTAL: 757 µl (GlyGE – TTGE)mix + 28.6 mg EP + 355 µl TEGDA + 888 µl de EtOH

Polimerização em bloco: **GlyDE – TTGE // TEGDA**

Composição do formulado 0%: GlyDE – TTGE = 70: 8 v/v (ou 90,29 : 9,71 w/w)

$$EEW_{\text{mix}} = \text{Total Wt} / ((W_{t_a}/EEW_a) + (W_{t_b}/EEW)) = 100 / ((90,29 / 102,11) + (9,71 / 100,79)) = 100 / (0,884 + 0,096) = 100 / 0,98 = \mathbf{102,24}$$

Cura com TEGDA: $Phr \text{ TEGDA} = (AHEW_{\text{TEGDA}} * 100 / EEW_{\text{mix}} = 3705/102,04 = 36,31$

780 µl (GlyDGE – TTGE) mix ou (860,3 mg + 92,56 mg) 0,95286 g – 100 partes

TEGDA, x g – 36,31;

$$x = 0,953 * 36,31 / 100 = 0,346 \text{ g ou } 340,9 \text{ µl}$$

TOTAL: 780 µl (GlyGE – TTGE)mix + 341 µl TEGDA + 879 µl de EtOH

ANEXO 2. Cálculo estequiométrico para resina epóxi


[SOLUTIONS](#)
[PRODUCTS](#)
[COMPANY](#)
[NEWS](#)
[INVESTORS](#)
[CAREERS](#)
[LOCATIONS](#)

Dow Answer Center

Home
Knowledge base
Ask an Expert
My Information
Dow home

[« Go Back to Search Results](#)

Dow Epoxy - Calculation of Stoichiometric Ratios

Answer ID 4151 | Updated 04/09/2015 09:51 AM

Can you give an example of the calculation used to react the resin and curing agent at stoichiometric quantities?

To obtain optimum properties with polyfunctional epoxide-reactive curing agents (particularly the amines), it is desirable to react the resin and the curing agent at approximately stoichiometric quantities. To determine the ratio required, calculations can be made as follows, using D.E.H.™ 20 (NH2 - CH2 - CH2 - NH - CH2 - CH2 - NH2) as an example:

- To calculate the Amine H equivalent weight, use the following equation:

Equation (1):

$$\text{Amine H eq wt} = \frac{\text{MW of amine}}{\text{no. of active hydrogen}}$$

Example:

$$\text{Amine H eq wt D.E.H. 20} = \frac{1082}{5} = 20.6$$

- To calculate the stoichiometric ratio of D.E.H. 20 to use with D.E.R.™ 331™ epoxy resin having an epoxide

Log In
Sign Up

Find Answers

Search

Contact Us

Ask an Expert

Submit a question to our support team.

Contact Us

If you can't find what you're looking for on our site, give us a call.

Give Feedback

How can we make this site more useful for you?

ANEXO 3. Cálculo estequiométrico para resina epóxi

Equation (2):

$$\text{phr}^{\text{e}} \text{ of amine} = \frac{\text{Amine H eq wt} \times 100}{\text{Epoxide eq wt of resin}}$$

Example:

phr D.E.H. 20 to be used with D.E.R. 331.

$$\text{phr} = \frac{20.6 \times 100}{189} = 10.9$$

3. Frequently, epoxy resins are blended, filled, or modified with reactive and nonreactive components. It is then necessary to adjust the concentration of the curing agent to cure only the portion of the mix that is reactive; e.g., the resins and any reactive diluent present. This may be simply done by calculating the epoxide equivalent weight (EEW) of the total mix and then applying equation (2) to determine the amount of curing agent to add to 100 parts of formulation.

Equation (3):

$$\text{EEW of mix} = \frac{\text{Total Wt}}{\frac{\text{Wt a}}{\text{EEW a}} + \frac{\text{Wt b}}{\text{EEW b}} + \frac{\text{Wt c}}{\text{EEW c}}}$$

Total weight includes all materials, both reactive and nonreactive.

a, b, c, etc., are only the materials reactive with the curing agent, and are characterized by an epoxy ring.

ANEXO 4. Cálculo estequiométrico para resina epóxi

LAGUQUIC.

| | |
|------------------------|-------------|
| 100 parts D.E.R. 331 | Avg EEW 189 |
| 100 parts D.E.R. 337 | Avg EEW 240 |
| 30 parts BGE (diluent) | Avg EEW 130 |
| 230 parts Filler | — |
| 480 Total | |

$$\text{EEW of mix} = \frac{100}{189} + \frac{100}{240} + \frac{30}{130} = \frac{460}{1.1765} = 391$$

By equation (2):

$$\text{Amount D.E.H. 20} = \frac{25.6 \times 100}{391} = 5.27 \text{ parts per hundred parts filled formulation}$$

† Parts by wt per 100 parts resin

™ Trademark of The Dow Chemical Company ("Dow") or an affiliated company of Dow





MyAccount @ DOW

Contact

Privacy Statement

Terms of Use

California Transparency Act

Disclosure

Accessibility Statement

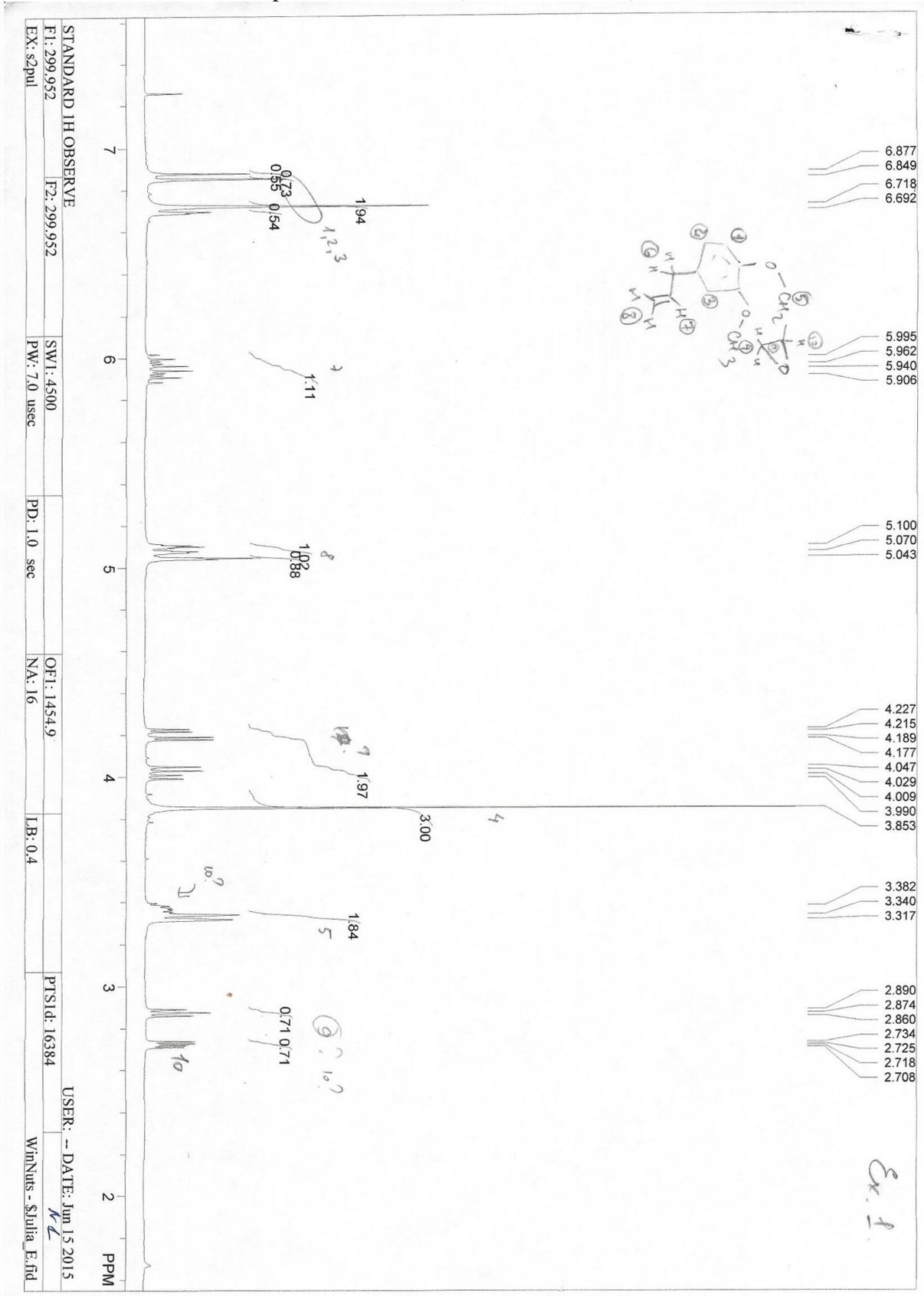
Sitemap

Copyright © The Dow Chemical Company (1995-2015). All Rights Reserved.

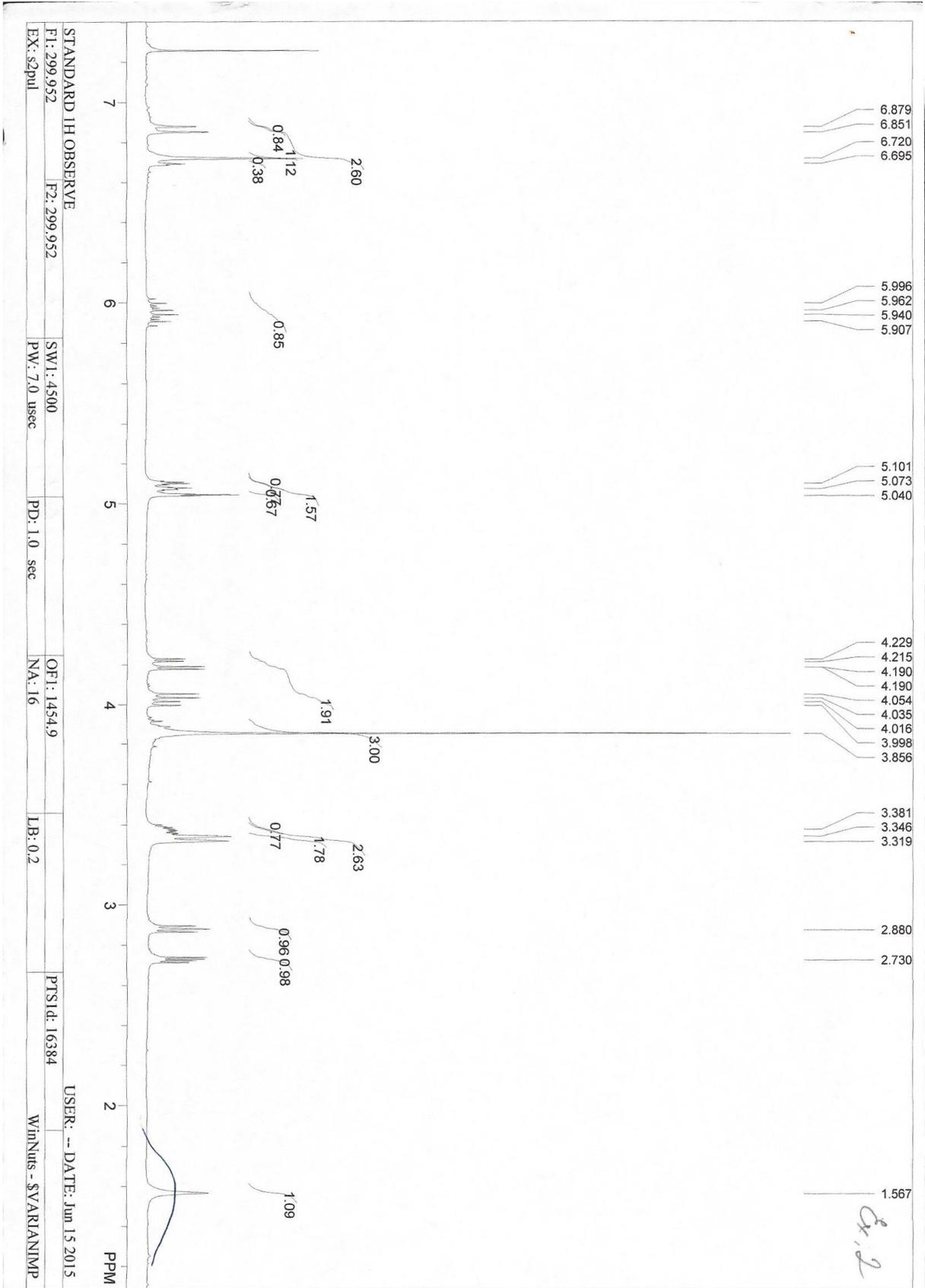
™ Trademark of The Dow Chemical Company ("Dow") or an affiliated company of Dow

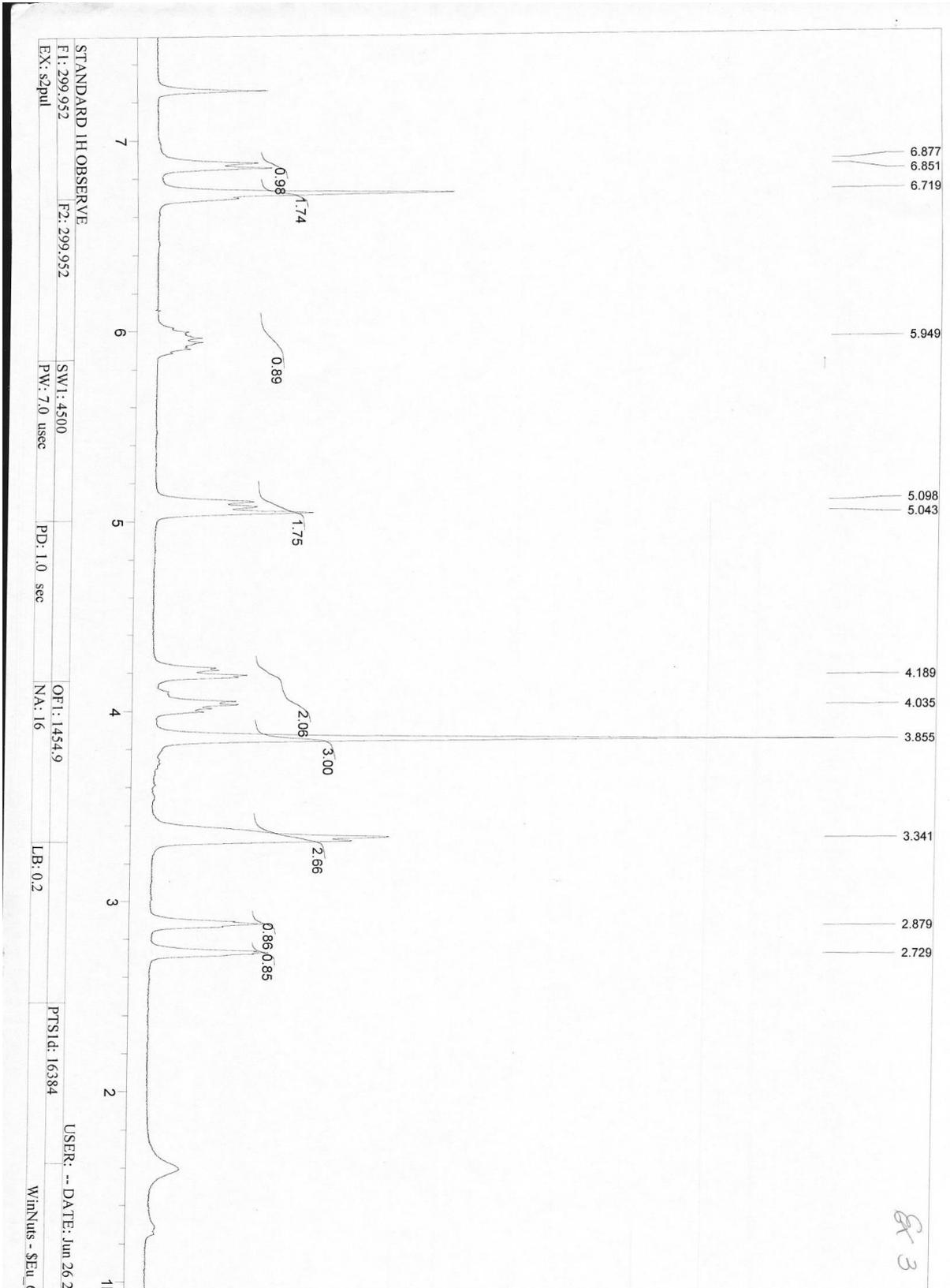
Epoxide Equivalent Weight (EEW) is the weight of resin in grams which contains one gram-equivalent of epoxy. If any epoxy group terminates each end of the resin, the EEW = 1/2 Mw of a diepoxy resin, and 1/3 Mw of a triepoxy resin.

ANEXO 5. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃; 400 MHz) da amostra FE1.

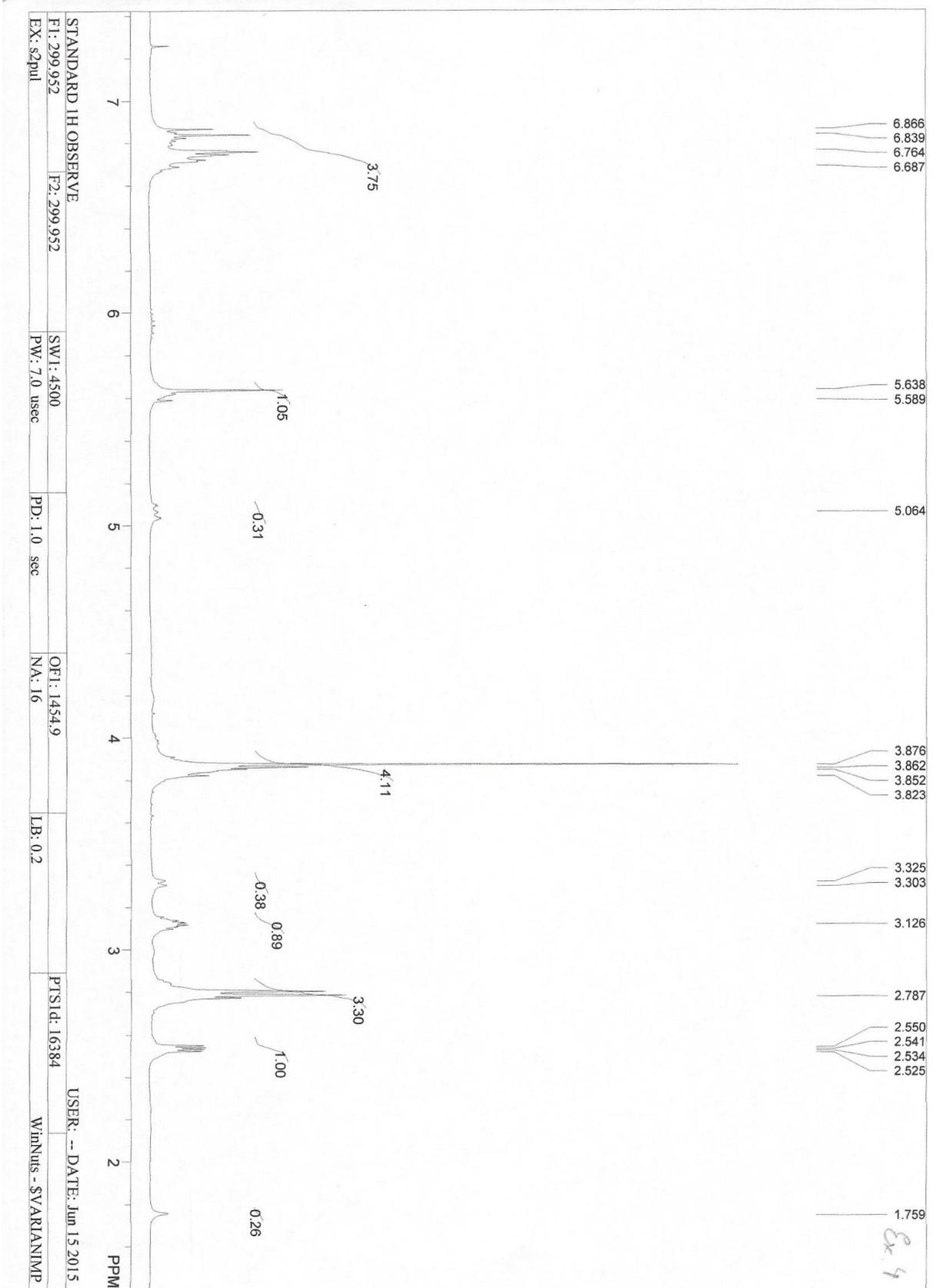


Anexo 6. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃; 400 MHz) da amostra FE2.

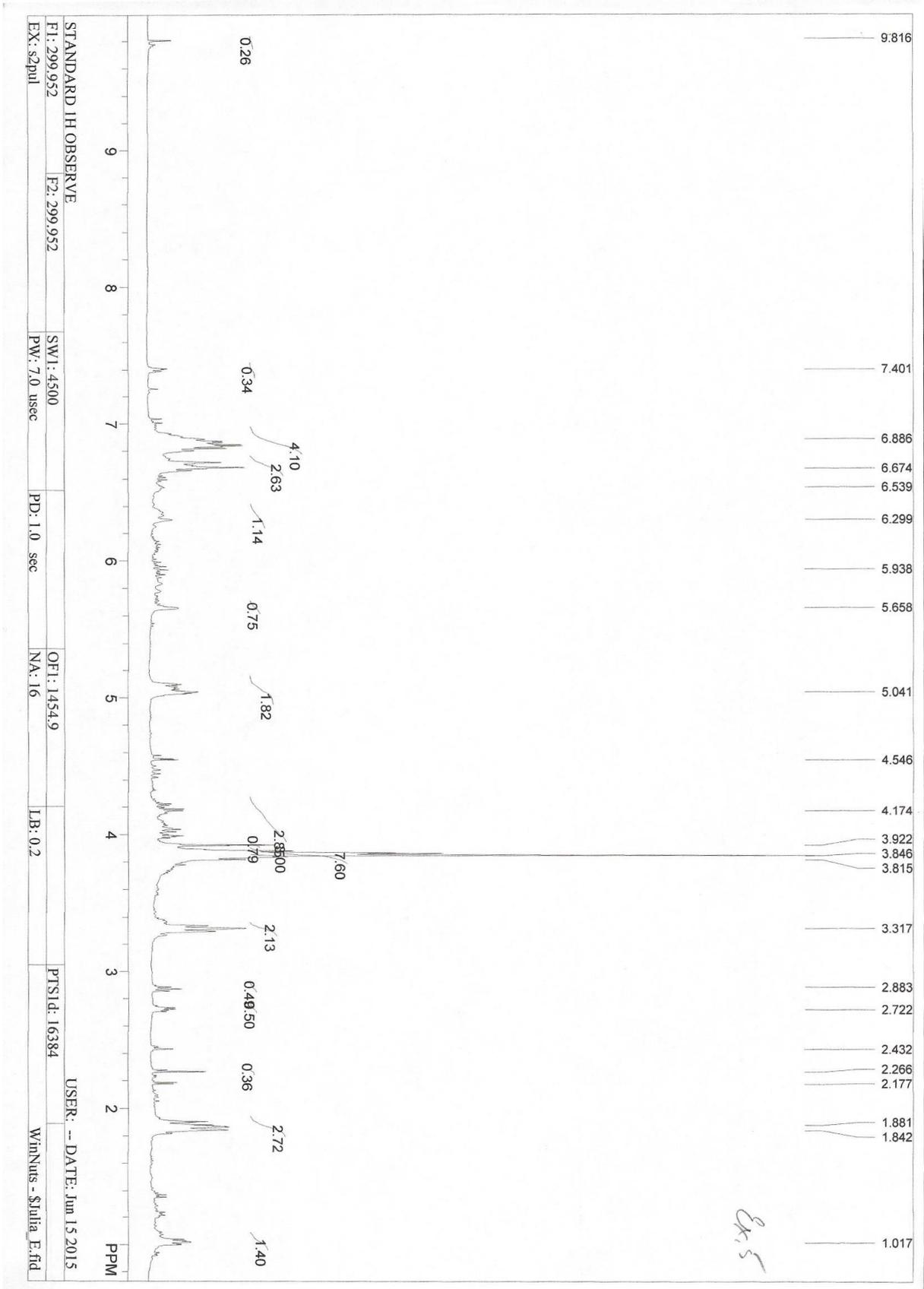


Anexo 7. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz) da amostra FE3.

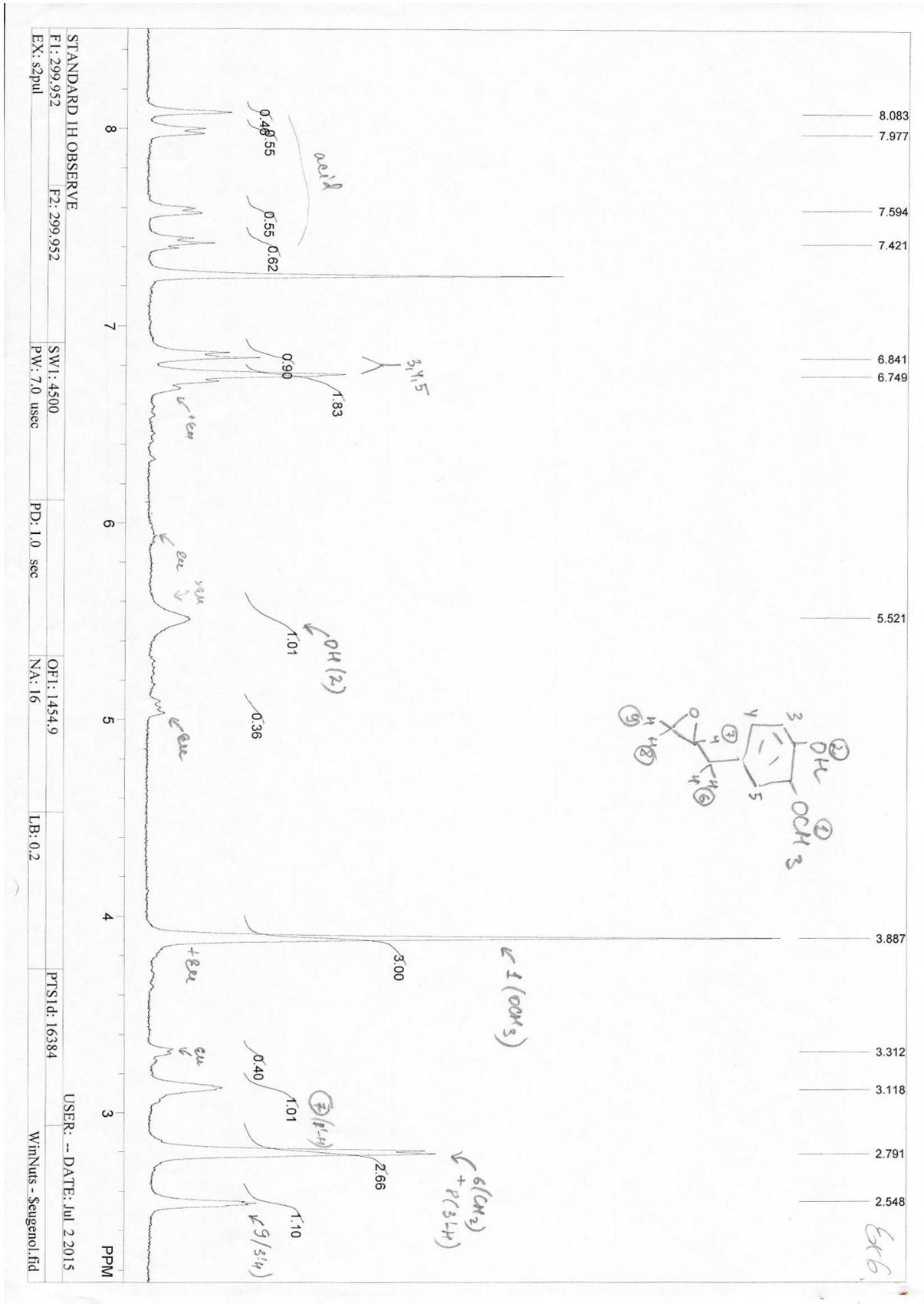
Anexo 8. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃; 400 MHz) da amostra FE4.



Anexo 9. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃; 400 MHz) da amostra FE5.



Anexo 10. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃; 400 MHz) da amostra FE6.



Anexo 11. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃; 400 MHz) da amostra FE7.

