



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

SILVANA HOLANDA DE SOUSA

**BASES MOLECULARES DA INTERAÇÃO ENTRE OS PRINCIPAIS COMPOSTOS
DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Valeriana Officinalis L.*: UM ESTUDO SOBRE A
ACETILCOLINESTERASE E O RECEPTOR DE ÁCIDO GAMA-AMINO BUTÍRICO
(GABA) DE MOSQUITOS.**

Gurupi, TO

2025

Silvana Holanda de Sousa

**BASES MOLECULARES DA INTERAÇÃO ENTRE OS PRINCIPAIS COMPOSTOS
DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Valeriana Officinalis L.*: um estudo sobre a
acetilcolinesterase e o receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA) de mosquitos.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Silva Andrade
Coorientador: Prof. Dr. Raimundo W. S. Aguiar

**Gurupi, TO
2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

H722b Holanda de Sousa, Silvana.
BASES MOLECULARES DA INTERAÇÃO ENTRE OS PRINCIPAIS
COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Valeriana Officinalis* L.: um estudo
sobre a acetilcolinesterase e o receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA)
de mosquitos. / Silvana Holanda de Sousa. – Gurupi, TO, 2025.

56 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
Biotecnologia, 2025.

Orientador: Bruno Silva Andrade

Coorientador: Raimundo Wagner De Souza Aguiar

1. *Aedes* spp.. 2. *V. officinalis* L. 3. Docking molecular. 4. Controle vetorial.
I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**


Silvana Holanda de Sousa

BASES MOLECULARES DA INTERAÇÃO ENTRE OS PRINCIPAIS COMPOSTOS DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Valeriana Officinalis L.*: um estudo sobre a acetilcolinesterase e o
receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA) de mosquitos.


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins
(UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia.

Data da aprovação: 02/12/2025.


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 BRUNO SILVA ANDRADE
Data: 03/12/2025 08:46:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dr. Bruno Silva Andrade – Orientador – UESB

Documento assinado digitalmente
 EUGENIO EDUARDO DE OLIVEIRA
Data: 04/12/2025 09:18:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Eugenio Eduardo de Oliveira – Examinador – UFV

Documento assinado digitalmente
 SERGIO SIQUEIRA JUNIOR
Data: 04/12/2025 12:04:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Sérgio Siqueira Júnior – Examinador – UESB

Documento assinado digitalmente
 RAIMUNDO WAGNER DE SOUZA AGUIAR
Data: 04/12/2025 10:55:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar – Examinador – UFT

Dedico este trabalho a todos que me apoiaram e incentivaram, aos que colaboraram com a realização desse estudo e aos que me fizeram evoluir como pessoa e profissional.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Jeová por me permitir chegar até aqui, concedendo-me saúde, força e inspiração para concluir este trabalho.

Aos meus pais, por sempre acreditarem em mim, e, em especial, à minha mãe Iraídes Benigno de Sousa e ao meu irmão Felipe Benigno de Sousa, pelo apoio incondicional e por me ensinarem, com seu exemplo, o valor da dedicação e da persistência.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Bruno Silva Andrade, pela orientação e apoio durante toda a pesquisa, bem como à equipe do Laboratório de Química Computacional (LBQC) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pelo suporte essencial ao desenvolvimento deste estudo.

Expresso minha gratidão ao Prof. Raimundo Wagner de Sousa Aguiar e à equipe do Laboratório de Biologia Molecular pelo auxílio fundamental ao longo do mestrado.

Um agradecimento muito especial à Dr.^a Laina Pires Rosa, professora e amiga, não apenas pelo apoio acadêmico ao longo desses anos, mas também pela amizade sincera. Sua presença tornou essa caminhada mais leve e inspiradora.

Aos meus amigos Maira Soranyi Tique Obando, Adauto Alves da Silva Júnior, Jaime Dias da Silva e Elizabeth, pela ajuda constante e companheirismo, agradeço a parceria, os conselhos e incentivos compartilhados, que foram inspiradores.

Ao Professor Dr. Eugênio Eduardo de Oliveira, expresso minha sincera gratidão pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos em seu laboratório. Agradeço também aos seus alunos, que por um breve período foram meus colegas de trabalho e contribuíram com aprendizado, colaboração e amizade.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Campus Gurupi e à CAPES pelo financiamento e suporte acadêmico, que foram fundamentais para a realização desta pesquisa. O incentivo à ciência e à inovação promovido por essas instituições foi determinante para o desenvolvimento deste estudo.

Por fim, estendo meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a minha trajetória acadêmica e pessoal. Seja por meio de palavras de incentivo, apoio técnico ou colaboração direta, cada gesto teve grande importância para que eu chegasse até aqui. A todos, meu muito obrigada.

RESUMO

O controle de mosquitos vetores de arbovirose, como *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, tem sido fortemente dependente do uso de inseticidas sintéticos, cujo emprego contínuo tem favorecido o desenvolvimento de resistência e gerado preocupações ambientais e ecotoxicológicas. Nesse contexto, os óleos essenciais, ricos em metabólitos secundários, destacam-se como promissores agentes bioinseticidas. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial inseticida do óleo essencial extraído da raiz de *V. officinalis* L. frente a *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, integrando bioensaios experimentais e abordagens computacionais para elucidar seus possíveis mecanismos de ação. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação e caracterizado quimicamente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), revelando predominância de sesquiterpenos, com destaque para viridifloreno (51,84%) e patchoulol (31,60%). A abordagem *in vivo* consistiu na avaliação da atividade larvicida e adulticida do óleo essencial sobre larvas de terceiro ínstar e fêmeas adultas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, além da determinação do tempo letal (TL₅₀) e da análise de seletividade utilizando ninfas do organismo não alvo *Belostoma anurum*. Os resultados demonstraram maior suscetibilidade de *Ae. aegypti* ao óleo essencial, especialmente na fase larval (CL₅₀ = 149,2 µg/mL) e adulta (CL₅₀ = 477,3 µg/mL), bem como ação mais rápida do óleo sobre essa espécie. Já os estudos *in silico* envolveram a modelagem molecular das proteínas acetilcolinesterase (AChE) e do receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA) de ambas as espécies, seguida de análises de docking molecular dos principais sesquiterpenos identificados no óleo essencial. As simulações revelaram energias de ligação favoráveis (-5,43 a -7,50 kcal·mol⁻¹), com destaque para o patchoulol, que apresentou interações mais estáveis com AalbAChE e AalbGABA, enquanto o β-patchoulene demonstrou maior afinidade com AaegGABA. De forma integrada, os resultados *in vivo* e *in silico* indicam que o óleo essencial de *V. officinalis* L. apresenta elevado potencial como bioinseticida seletivo e ambientalmente seguro, reforçando a relevância do uso sustentável de produtos naturais no manejo de vetores de importância médica.

Palavras-chave: *Aedes* spp. *V. officinalis* L. Docking molecular. Controle vetorial.

ABSTRACT

The control of mosquito vectors of arboviruses, such as *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, has been heavily dependent on the use of synthetic insecticides, whose continuous use has favored the development of resistance and generated environmental and ecotoxicological concerns. In this context, essential oils, rich in secondary metabolites, stand out as promising bioinsecticidal agents. Thus, this work aimed to evaluate the insecticidal potential of the essential oil extracted from the root of *V. officinalis L.* against *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, integrating experimental bioassays and computational approaches to elucidate its possible mechanisms of action. The essential oil was obtained by hydrodistillation and chemically characterized by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), revealing a predominance of sesquiterpenes, with emphasis on viridiflorene (51.84%) and patchoulol (31.60%). The *in vivo* approach consisted of evaluating the larvicidal and adulticidal activity of the essential oil on third-instar larvae and adult females of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, in addition to determining the lethal time (TL₅₀) and analyzing selectivity using nymphs of the non-target organism *Belostoma anurum*. The results demonstrated greater susceptibility of *Ae. aegypti* to the essential oil, especially in the larval (CL₅₀ = 149.2 µg/mL) and adult (CL₅₀ = 477.3 µg/mL) stages, as well as a faster action of the oil on this species. The *in silico* studies involved molecular modeling of the *acetylcholinesterase* (AChE) and gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor proteins of both species, followed by molecular docking analyses of the main sesquiterpenes identified in the essential oil. Simulations revealed favorable binding energies (-5.43 to -7.50 kcal·mol⁻¹), with patchoulol standing out, showing more stable interactions with AalbAChE and AalbGABA, while β-patchoulene demonstrated greater affinity with AaegGABA. Taken together, the *in vivo* and *in silico* results indicate that the essential oil of *V. officinalis L.* has high potential as a selective and environmentally safe bioinsecticide, reinforcing the relevance of the sustainable use of natural products in the management of vectors of medical importance.

Keywords: *Aedes* spp. *V. officinalis L.* Molecular docking. Vector control.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Mortalidade de larvas *Ae. aegypti* (A) e *Ae. albopictus* (B) após 24 h de exposição ao óleo essencial extraído da raiz da *V. officinalis L.*, as linhas contínuas representam os valores estimados de mortalidade pelo modelo probit. as linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança de 95% e os símbolos mostram a média (\pm ep) obtida para quatro repetições25

Figura 2 - Mortalidade de mosquitos adultos após 24 h de exposição do óleo essencial extraído da raiz da *V. officinalis L.* (A) *Ae. aegypti* e (B) *Ae. albopictus*. as linhas contínuas representam os valores estimados de mortalidade pelo modelo probit. linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança de 95% e os símbolos mostram a média (\pm ep) obtida para quatro repetições.....26

Figura 3 - Curva de sobrevivência de larvas (a) e adultos (b) de *Ae. aegypti* e *Ae. albipictus* quando submetidos à exposição ao óleo essencial de *V. officinalis L.* os valores de concentração letal TL₈₀), foram estimados com base em bioensaios de concentração letal TL₈₀), foram estimados com base em bioensaios de concentração-mortalidade27

Figura 4 - Mortalidade (%) de *Belostoma anurum* exposto a concentrações (CL₁₀, CL₈₀) de óleos essenciais da raiz de *V. officinalis L.* obtidos com *Ae. aegypti*. as linhas tracejadas representam a mortalidade esperada com base na estimativa para larvas de de *Ae. aegypti*. os níveis de significância (teste z, $p < 0,05$), são mostrados para cada concentração (CL₁₀, CL₈₀). a mortalidade foi registrada ao longo de um período de 24 horas.....28

CAPÍTULO 2

Figura 5 - Estruturas modeladas das proteínas acetilcolinesterase (AChE) e receptor GABA. Modelo da proteína acetilcolinesterase de *Ae. aegypti* (*AaegAChE*) em vista lateral, mostrando o arranjo globular (A). Modelo GABA de *Ae. aegypti* (*AaegGABA*), vista superior (B) e vista lateral do modelo GABA (C). Modelo da proteína acetilcolinesterase de *Ae. albopictus* (*AalbAChE*) em vista lateral, mostrando o arranjo globular (D). Modelo GABA *Ae. albopictus* (*AalbGABA*), vista superior (E) e vista lateral do modelo GABA (F)...42

Figura 6 - Gráficos de ramachandran dos modelos das proteínas AChE e GABA. (A–B) *AeegAChE* e *AeegGABA*; (C–D) *AalbAChE* e *AalbGABA*. 43

Figura 7 - Mapa de calor das energias de ligação entre os compostos de *V. officinalis* L. e AChE/GABA de *Ae. aegypti*/*Ae. albopictus*. vermelha indica afinidade menor (energias menos negativas) e a cor azul indica afinidade maior (energias mais negativas). 46

Figura 8 - Mapas de interação entre os ligantes e o sítio ativo da AChE. (A–B) interações de β -patchoulene e viridiflorene com *AeegAChE*. (C–D) interações de β -patchoulene e patchoulol com *AalbAChE* 47

Figura 9 - Mapas de interação entre os ligantes e o sítio ativo do receptor GABA. (A–B) interações de β -patchoulene e patchoulol com o receptor gaba de *aedes aegypti* (*AeegGABA*). (C–D) interações de patchoulol e viridiflorene com o receptor GABA de *Aedes*. 48

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1- Composição química do oe da raiz de *V. officinalis* L.. 0obtido por CG-EM.....28

CAPÍTULO 2

Tabela 2 - Proteína alvo e modelos baseados por homologia.43

Tabela 3 - Alinhamento das proteínas modeladas e seus sítios ativos.46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1 Biologia, ecologia e resistência de <i>Aedes</i>	14
1.2 Óleos essenciais e mecanismo de ação sobre insetos (AChE e GABA).....	16
1.3 Modelagem molecular aplicada a inseticidas naturais.....	17
REFERÊNCIAS	18
CAPÍTULO 1: Potencial Larvicida e Adulticida do Óleo Essencial de <i>Valeriana officinalis</i> L. no Controle de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>.	21
1 INTRODUÇÃO	23
2 MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.1 Obtenção do óleo essencial.....	25
2.2 Criação de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	25
2.3 Criação de <i>Belostoma anurum</i>	25
2.4 Toxicidade de <i>Valeriana officinalis</i> L. em larvas de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	26
2.5 Toxicidade de <i>V. officinalis</i> L. em adultos de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	26
2.6 Ensaio de tempo resposta letal da toxicidade do óleo em <i>V. officinalis</i> L. em adultos e larvas de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	26
2.7 Seletividade do óleo essencial de <i>V. officinalis</i> L. em ninfas de <i>Belostoma anurum</i> ..	27
2.8 Análise de dados	27
3 RESULTADOS	28
3.1 Composição do óleo essencial de <i>V. officinalis</i> L.	28
3.2. Toxicidade de <i>V. officinalis</i> L. em larvas de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	28
3.3 Toxicidade de <i>Valeriana officinalis</i> L. em adultos de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	29
3.4 Ensaio de tempo resposta letal da toxicidade do óleo em <i>V. officinalis</i> L. em adultos e larvas de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	30
3.5 Seletividade do óleo essencial de <i>V. officinalis</i> L. em ninfas de <i>Belostoma anurum</i> ...	31
4 DISCUSSÃO	32
5 CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

CAPÍTULO 2: Estudo <i>in silico</i> de Inibidores do Metabolismo de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> a Partir do Óleo Essencial de <i>Valeriana Officinalis L.</i>	38
1 INTRODUÇÃO	40
2 MATERIAIS E MÉTODOS	41
2.1 Preparação do ligantes	41
2.2 Modelagem por homologia de acetilcolinesterase (AChE) e o receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA).....	42
2.3 Acoplamento molecular	42
3 RESULTADO	43
3.1 Modelagem da estrutura tridimensional da enzima AChE e do receptor GABA.	43
3.2 Estudos de acoplamento Molecular	46
4. DISCUSSÃO	50
REFERÊNCIAS	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Biologia, ecologia e resistência de *Aedes*

O *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) estão entre as espécies de mosquitos mais prolíferas do mundo, pertencem a um dos grupos de artrópodes mais antigos, com registros evolutivos estimados entre 180 e 220 milhões de anos (Hillary *et al.*, 2024), sendo classificados na família Culicidae, ordem Díptera (Motta *et al.*, 2019). Os mosquitos do gênero *Aedes* são holometábolos, passando pelas fases de ovo, quatro instares larvais (L1–L4), pupa e adultos. As formas imaturas são estritamente aquáticas, enquanto o adulto constitui a única fase terrestre e alada. Em condições favoráveis de temperatura e alimento, o ciclo pode ser concluído entre 7 e 20 dias (Prasad *et al.*, 2023).

A postura ocorre nas paredes internas dos criadouros, próximas à lâmina d'água. Os ovos, elípticos ou ovais, com cerca de 1 mm, completam o desenvolvimento embrionário em até 48 horas e podem permanecer viáveis por longos períodos, resistindo até um ano. A fase larval inicia-se após a eclosão e corresponde ao principal estágio alimentício. Durante 6 a 8 dias, as larvas atravessam quatro instares, alimentando-se da matéria orgânica presente no criadouro, até a transição para a fase de pupa (Prasad *et al.*, 2023).

A pupa, que dura cerca de 3 dias, não se alimenta. Após a emergência, o adulto permanece sobre a superfície da água até que a cutícula endureça, permitindo o voo. Os machos emergem aproximadamente 24 horas antes das fêmeas e completam sua maturação sexual nesse período, alimentando-se de néctar ou açúcares. As fêmeas tornam-se aptas à cópula poucas horas após a emergência e necessitam do repasto sanguíneo para o desenvolvimento dos ovos (Contreras-Pereira *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2024).

Quanto aos hábitos, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* apresentam padrão semelhante de atividade. O repasto sanguíneo, realizado exclusivamente pelas fêmeas, ocorre predominantemente durante o dia, com picos pela manhã e ao final da tarde, enquanto a oviposição concentra-se no crepúsculo vespertino. Apesar das semelhanças, diferem na preferência por hospedeiros: *Ae. aegypti* é majoritariamente antropofílico, embora possa utilizar outros vertebrados; *Ae. albopictus* apresenta hábito mais zoofílico, oportunista e generalista, alimentando-se de mamíferos, aves, répteis e anfíbios. Quando disponível, também se alimenta de seres humanos, atingindo cerca de 95% das refeições em áreas periurbanas, o que demonstra grande aptidão para a transmissão de arbovírus ao homem (Egid *et al.*, 2022).

Em relação à preferência por criadouros, *Aedes aegypti* é frequentemente encontrado em recipientes artificiais e naturais presentes em ambientes urbanos, demonstrando maior afinidade por locais próximos às habitações humanas. Já *Aedes albopictus* está associado a áreas rurais, depositando seus ovos em reservatórios naturais e artificiais ao redor das casas e jardins (Terra *et al.*, 2017).

A população adulta de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* apresenta distribuição simpátrica e cosmopolita, ocorrendo amplamente em regiões tropicais e subtropicais, estando presente em todos os continentes, exceto na Antártica. A expansão geográfica dessas espécies é influenciada pela movimentação antrópica e pela disponibilidade de condições climáticas favoráveis. Atualmente, *Ae. aegypti* é registrado em 167 países e *Ae. albopictus* em 126 países (Kraemer *et al.*, 2019; Laporta *et al.*, 2023).

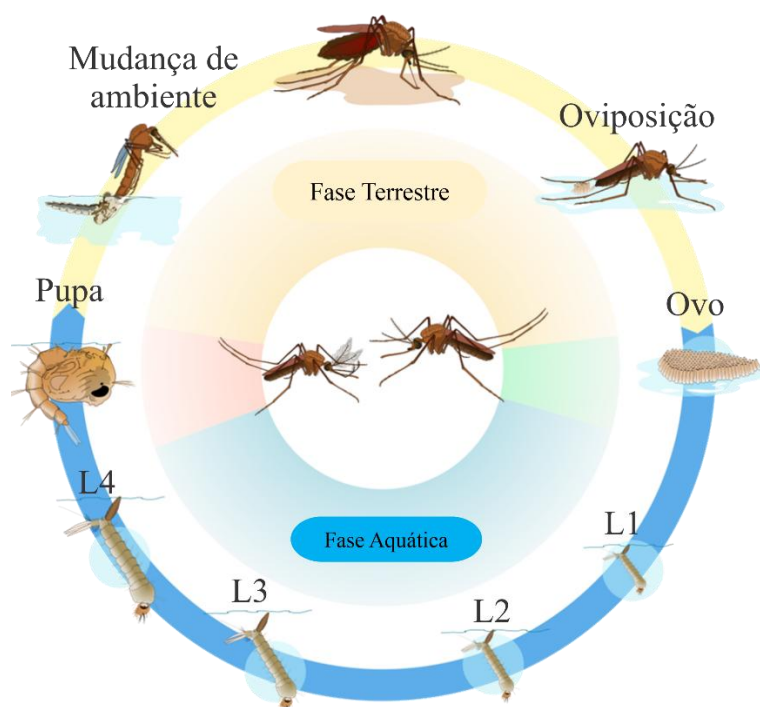
Considerando sua ampla presença em ambientes urbanos e periurbanos, a resistência dos *Aedes* está diretamente relacionada ao controle químico por inseticidas orgânicos e inorgânicos. A resistência é definida como a capacidade herdada de uma população sobreviver a uma dose que normalmente seria letal para indivíduos suscetíveis, quando administrada sob as mesmas condições. Esse processo não ocorre de forma imediata: a frequência de alelos de resistência resulta de um processo adaptativo impulsionado pela seleção natural, cuja dinâmica varia no espaço e no tempo e depende de fatores biológicos, genéticos e ambientais (Asgarian *et al.*, 2023; Vontas *et al.*, 2020).

O controle químico de *Aedes spp.* baseia-se principalmente em quatro grupos de inseticidas: organofosforados, carbamatos, piretroides e reguladores de crescimento de insetos. Os organofosforados, como temephos e malationa, atuam pela inibição irreversível da acetilcolinesterase, interferindo na transmissão dos impulsos nervosos (Lenina *et al.*, 2020). Os carbamatos apresentam mecanismo semelhante, embora com inibição reversível, já os piretroides, amplamente empregados em programas de saúde pública, têm como alvo os canais de sódio voltagem-dependentes, prolongando sua abertura e provocando hiperatividade neuronal (Al Nagggar *et al.*, 2025).

Além desses inseticidas neurotóxicos, os reguladores de crescimento de insetos (RCIs) interferem no desenvolvimento e metamorfose. O diflubenzuron inibe a síntese de quitina, enquanto piriproxifeno e metopreno atuam como análogos do hormônio juvenil, impedindo a emergência de adultos viáveis. Os neonicotinoides, como imidacloprido e tiametoxam, têm sido estudados como alternativas emergentes, atuando como agonistas dos receptores nicotínicos de acetilcolina. O uso contínuo desses inseticidas exerce forte pressão seletiva sobre as populações,

favorecendo o surgimento e a disseminação de mecanismos de resistência em *Aedes spp.* Esses processos, isolados ou combinados, reduzem a eficácia dos inseticidas convencionais e evidenciam a necessidade de alternativas com novos modos de ação, como o uso de óleos essenciais no controle de insetos (Bharadwaj *et al.*, 2025; Hawkins, 2018).

Figura 1- Ciclo de vida dos mosquitos



Fonte: Adaptado de NSADADA, (2025).

1.2 Óleos essenciais e mecanismo de ação sobre insetos (AChE e GABA)

Os óleos essenciais (OE) são misturas complexas de compostos voláteis produzidos por plantas aromáticas, formadas principalmente por terpenos e terpenoides, em especial monoterpenos e sesquiterpenos, além de fenóis, aldeídos, ésteres e outros metabólitos secundários. Historicamente, os óleos essenciais e seus constituintes voláteis vêm sendo utilizados desde a Idade Média em aplicações bactericidas, fungicidas, antiparasitárias, inseticidas, medicinais e cosméticas, o que evidencia seu amplo espectro de atividades biológicas (Yu *et al.*, 2025; Ríos, 2016).

As propriedades físico-químicas dos OEs estão intimamente relacionadas ao seu desempenho biológico sua natureza lipofílica dos terpenos facilita a partição desses compostos em membranas biológicas (Corrêa *et al.*, 2023), nos insetos, essa combinação permite que os

constituintes dos óleos essenciais penetrem pela cutícula, espiráculos ou por contato direto com superfícies tratadas, alcançando rapidamente tecidos-alvo, incluindo o sistema nervoso central

Assim, estudos em entomologia tem destacado os OEs como fontes promissoras de moléculas bioativas com potencial inseticida, repelentes e moduladoras de comportamento. Na área de manejo de pragas, os OE são frequentemente classificados como biopesticidas de baixo risco, devido especificidade, eco compatibilidade biodegradabilidade e segurança para os humanos (Gupta *et al.*, 2023).

Entre os principais alvos de ação dos OE em insetos está a acetilcolinesterase (AChE), enzima essencial para a terminação dos impulsos nervosos por meio da hidrólise da acetilcolina nas sinapses colinérgicas. A inibição dessa enzima resulta no acúmulo de de acetilcolina, provocando hiperestimulação neuronal (Rants'o *et al.*, 2022).

Outro alvo importante é o receptor ácido gama aminobutírico (GABA), responsável pela principal neurotransmissão inibitória no sistema nervoso dos insetos. Esses receptores, semelhantes aos canais GABA_A de vertebrados, são canais de cloreto ativados por ligante. Evidências mostram que constituintes de OE podem modular esses receptores, alterando a permeabilidade ao cloreto e impactando o equilíbrio entre excitação e inibição neuronal. Revisões apontam que interações hidrofóbicas em cavidades lipofílicas do canal, bem como ligações de hidrogênio com resíduos polares, contribuem para o encaixe e modulação desses receptores por monoterpenos e sesquiterpenos (Corrêa *et al.*, 2023; Araujo *et al.*, 2024)

De modo geral, os óleos essenciais apresentam modo de ação multimodal, podendo atuar simultaneamente sobre a acetilcolinesterase, receptores GABA e outros alvos neurofisiológicos, como canais iônicos e receptores octopaminérgicos. A combinação entre alta volatilidade, lipofilicidade e diversidade estrutural favorece a interação dos seus constituintes com múltiplos sítios de ligação, o que contribui para a ampla atividade inseticida observada em espécies de relevância médica, como *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (Popescu *et al.*, 2024).

1.3 Modelagem molecular aplicada a inseticidas naturais

A busca por inseticidas naturais mais seletivos e seguros tem estimulados o uso de ferramentas de modelagem molecular como suporte ao desenvolvimento de biopesticidas. Essas abordagens são relevantes no estudo de metabólitos secundários, por que permite avaliar, de maneira rápida e direcionada, o potencial inseticida de compostos (Duque *et al.*, 2023; Gupta *et al.*, 2023). Nesse sentido, ferramentas como o *docking molecular*, modelagem por

homologia, triagem virtual e simulações de dinâmica molecular possibilitam prever as interações entre moléculas e alvos essenciais no sistema nervoso ou metabolismo de insetos.

A dinâmica molecular (DM), é o complemento do *docking molecular*, no qual permite observar o comportamento do ligante e proteína ao longo do tempo, avaliando a estabilidade do encaixe, flexibilidade dos resíduos do sítio ativo e flutuação de parâmetros como RMSD. Nos estudos como inseticidas naturais, a DM é usada para verificar se os complexos previstos por Docking permanecem estáveis comprovando ou não a hipótese de que a atuação dos compostos no alvo (Bi *et al.*, 2023).

A modelagem tem se consolidado como ferramenta essencial no estudo de inseticidas naturais, permitindo compreender, prever e otimizar a interação entre compostos bioativos de origem vegetal e alvos moleculares presentes nos insetos. Entre os anos 2020 e 2025, uma grande quantidade de abordagens computacionais, como *docking molecular*, dinâmica molecular (MD) estão sendo aplicadas para avaliar e descobrir mecanismos de ação de metabolitos naturais e orientar o desenvolvimento de bioinseticidas mais seletivos e seguros a saúde humana (Gupta *et al.*, 2023).

REFERÊNCIAS

AL NAGGAR, Y. *et al.* Mechanisms and genetic drivers of resistance of insect pests to insecticides: emerging molecular insights. **Toxics**, v. 13, n. 8, p. 681, 2025.

ASGARIAN, T. S. *et al.* Worldwide status of insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, vectors of arboviruses of chikungunya, dengue, Zika and yellow fever. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1, 2023.

BI, S. *et al.* Exploring insecticidal properties and acetylcholinesterase inhibition by three plant essential oils against the cheese skipper *Piophilila* (Diptera: Piophilidae). **Industrial Crops and Products**, v. 203, p. 117198, 2023.

BHARADWAJ, Nikhil *et al.* Omics Approaches in Understanding Insecticide Resistance in Mosquito Vectors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 5, p. 1854, 21 fev. 2025.

CAETANO, G. C.; XAVIER, S. C. C.; DAVID, M. R. Infestation and larval habitat ecology of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in an urban gradient in Vassouras, Rio de Janeiro, Brazil. **Insects**, v. 16, n. 8, p. 869, 2025.

CHEN, M. *et al.* Chronology of sodium channel mutations associated with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 2, p. e21686, 2020.

- CONTRERAS-PEREIRA, Y. *et al.* Different larval diets for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions: in preparation for a mass-rearing system. **Biologia**, v. 78, n. 12, p. 3387–3399, 2023.
- CORRÊA, E. J. A. *et al.* Elucidating the molecular mechanisms of essential oils' insecticidal action using a novel cheminformatics protocol. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 4598, 2023.
- DA CRUZ ARAUJO, S. H. *et al.* Contributions of γ -aminobutyric acid (GABA) receptors for the activities of *Pectis brevipedunculata* essential oil against *Drosophila suzukii* and pollinator bees. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1392, 2024.
- SILVA, V. C. *et al.* Diversity of oviposition containers and buildings where *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* can be found. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 6, p. 1106–1111, 2006.
- ALMEIDA, P. S. *et al.* *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in artificial breeding sites in rural settlements and indigenous villages. **Journal of Tropical Pathology**, v. 53, n. 4, p. 333–343, 2024.
- DUQUE, J. E. *et al.* Insecticidal activity of essential oils from American native plants against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): an introduction to their possible mechanism of action. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, 2023.
- EGID, B. R. *et al.* Review of the ecology and behaviour of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Western Africa and implications for vector control. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 2, p. 100074, 2022.
- ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I. An overview of the biological effects of some Mediterranean essential oils on human health. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 9268468, 2017.
- GUPTA, I. *et al.* Plant essential oils as biopesticides: applications, mechanisms, innovations, and constraints. **Plants**, v. 12, n. 16, p. 2916, 2023.
- HAWKINS, N. J. *et al.* The evolutionary origins of pesticide resistance. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 373, n. 1757, p. 20170093, 2018.
- HILLARY, V. E.; CEASAR, S. A.; IGNACIMUTHU, S. Eficácia de produtos vegetais no controle de mosquitos vetores de doenças: uma revisão. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 172, n. 3, p. 195–214, 2024.
- KRAEMER, M. U. G. *et al.* Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 5, p. 854–863, 2019.
- LAPORTA, G. Z. *et al.* Distribuição global de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em um cenário de mudança climática. **Insects**, v. 14, n. 1, p. 49, 2023.
- LENINA, O. A. *et al.* Slow-binding reversible inhibitor of acetylcholinesterase with long-lasting action for prophylaxis of organophosphate poisoning. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 16611, 2020.

MOTTA, D. *et al.* Aplicação de redes neurais convolucionais para classificação de mosquitos adultos em campo. **PLoS One**, v. 14, n. 1, p. e0210829, 2019.

POPESCU, I. V. *et al.* An overview of the mechanisms of action and administration technologies of essential oils used as green insecticides. **Agriculture**, v. 14, n. 1, p. 1–23, 2024.

PRASAD, A. *et al.* Eggs of the mosquito *Aedes aegypti* survive desiccation by rewiring their polyamine and lipid metabolism. **PLOS Biology**, v. 21, n. 10, p. e3002342, 2023.

RÍOS, J. L. Essential oils: what they are and how the terms are used and defined. In: **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. p. 3–10. 2016.

SILVA, J. R. A. *et al.* Exploring larvicidal and adulticidal activity against *Aedes aegypti* of the essential oil of *Bocageopsis multiflora*. **Molecules**, v. 29, n. 10, p. 2240, 2024.

VONTAS, J. *et al.* Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 2, p. 126–131, 2020.

YU, J. Chemical composition of essential oils and their potential applications in postharvest storage of cereal grains. **Molecules**, v. 30, n. 3, p. 683, 2025.

CAPÍTULO 1: Potencial Larvicida e Adulticida do Óleo Essencial de *Valeriana officinalis* L. no Controle de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.

RESUMO

Inseticidas sintéticos são amplamente utilizados para o controle de mosquitos em todo o mundo, mas seu uso frequente tem levado ao desenvolvimento de resistência em populações de mosquitos. Nesse contexto, alternativas derivadas de plantas baseadas em metabólitos secundários surgiram como opções viáveis e promissoras para o controle desses vetores. Portanto, este estudo investigou o potencial do óleo essencial extraído da raiz de *Valeriana officinalis* L. contra as espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, com foco na atividade larvicida e adulticida, bem como na seletividade. O óleo foi obtido por hidrodestilação, e sua composição química foi determinada por CG-EM, revelando alta concentração de sesquiterpenos, com predominância de *viridifloreno* (51,84%) e *patchoulol* (31,60%). Bioensaios *in vivo* foram realizados com larvas de terceiro ínstar e fêmeas adultas, além de análises de tempo letal (TL₅₀) e avaliação de seletividade em ninfas de *Belostoma anurum*. Os resultados indicaram maior suscetibilidade de *Ae. aegypti* ao óleo essencial, na fase larval (CL₅₀ = 149,2 µg/mL) e na fase adulta (CL₅₀ = 477,3 µg/mL). O tempo letal demonstrou uma ação mais rápida sobre *A. aegypti*, na fase adulta e na fase larval para *Ae. albopictus*.

Palavras-chaves: Óleo essencial. *Valeriana officinalis* L. *Aedes*. Controle vetorial

ABSTRACT

Synthetic insecticides are widely used for mosquito control worldwide, but their frequent use has led to the development of resistance in mosquito populations. In this context, plant-derived alternatives based on secondary metabolites have emerged as viable and promising options for controlling these vectors. Therefore, this study investigated the potential of the essential oil extracted from the root of *Valeriana officinalis* L. against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* species, focusing on larvicidal and adulticidal activity, as well as selectivity. The oil was obtained by hydrodistillation, and its chemical composition was determined by GC-MS, revealing a high concentration of sesquiterpenes, with a predominance of *viridiflorene* (51.84%) and *patchoulol* (31.60%). In vivo bioassays were performed with third-instar larvae and adult females, in addition to lethal time (TL₅₀) analyses and selectivity assessment in *Belostoma anurum* nymphs. The results indicated greater susceptibility of *Ae. aegypti* to the essential oil, in the larval stage (CL₅₀ = 149.2 µg/mL) and in the adult stage (CL₅₀ = 477.3 µg/mL). The lethal time demonstrated a faster action on *A. aegypti*, in the adult stage and in the larval stage for *Ae. albopictus*. However, the oil was not selective against the aquatic predator *Belostoma anurum*, whose mortality exceeded 90% even at low concentrations.

Keywords: Essential oil. *Valeriana officinalis* L. *Aedes*. Vector control.

1 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) englobam um conjunto diversificado de enfermidades transmissíveis que predominam em regiões tropicais e subtropicais. Estas afetam cerca de 149 países ao redor do mundo, atingindo principalmente pessoas em situação de vulnerabilidade social, onde o acesso a saneamento básico, água potável e cuidados de saúde são limitados. Estima-se que mais de 1,7 bilhões de pessoas estão sob risco de contrair essas doenças (OMS, 2024). Dentre as DTNs, a dengue se destaca, principalmente, pelo seu grande alcance geográfico e impacto na saúde pública, sendo uma das doenças mais prevalentes nas regiões tropicais e subtropicais (Rai, 2022; Aguiar e Siebert, 2021).

A dengue faz parte do grupo de doenças denominadas arboviroses, causada por quatro sorotipo distintos (DENV – 1 – 4), identificados no Brasil, transmitida principalmente por mosquitos *Aedes*, como *Ae. aegypti* e, em menor extensão, pelos *Ae. albopictus*. (Asgarian *et al.*, 2023). Além da dengue, esses vetores também são responsáveis pela disseminação de outras doenças de relevância para a saúde pública, como *Zika*, *Chikungunya* e febre amarela, o que reforça a importância do seu controle (Leta *et al.*, 2018; Palaniyandi *et al.*, 2020).

Dados da Organização Mundial da Saúde mostram que a dengue está presente em 90 países com transmissão ativa, com mais 7,6 milhões de casos confirmados somente em 2024 (Menezes *et al.*, 2025; OMS, 2024). Diante desse cenário, a prevenção, o controle e a erradicação tornam-se essenciais, especialmente por que o *A. aegypti* e *A. Albopictus* são considerados altamente efetivos na disseminação de doenças e distribuição geográfica (Gómez *et al.*, 2022).

Apesar dos esforços contínuos para o controle vetorial, a realidade evidencia grandes desafios relacionados à diminuição desses vetores, especialmente em razão da dificuldade de manejo dos focos e da persistência da transmissão em áreas endêmicas (Martins, 2024). Embora já exista uma vacina disponível, sua eficácia ainda é limitada, não garantindo efetividade contra todos os quatro sorotipos da dengue (Silva e Fernandez-Sesma, 2023). O cenário agrava-se ainda mais diante da ausência de imunizantes eficazes também para a prevenção das doenças transmitidas pelos mesmos vetores, como a *Zika*, *Chikungunya* (Ostrowsky., 2025).

Diante dessas limitações, o controle dos vetores continua sendo a principal estratégia adotada baseada em grande parte na aplicação de inseticidas, piretróides e organofosfatado (Tuñon *et al.*, 2024; Zhu *et al.*, 2020; Hustedt *et al.*, 2020). Evidências demonstram que a utilização excessiva e prolongada desses inseticidas leva a resistências na população de mosquitos (Wang *et al.*, 2023; Sumitha *et al.*, 2023; Nurul-Nastasea *et al.*, 2023; Fernando *et*

al., 2020), sendo desenvolvida por meio da pressão de seleção criada pelo uso prolongado de inseticidas específicos. Dessa forma, cria-se uma necessidade urgente de identificar meios mais eficazes e ambientalmente sustentáveis de controlar os mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* como principais vetores da dengue (Tuñon *et al.*, 2024).

Diante da necessidade de alternativas sustentáveis para o controle, o uso de métodos simples, como o manejo ambiental, e o emprego de compostos à base de plantas tem se mostrado fundamental (Demirak e canpolat, 2022). Os óleos essenciais, ricos em metabólitos secundários extraídos por técnicas como a hidrosdestilação, tem apresentado como resultado diversas atividades biológicas, incluindo ação inseticida, representando uma alternativa natural e promissora aos inseticidas sintéticos (Wangrawa *et al.*, 2021)

Uma planta que tem despertado interesse por suas propriedades bioativas é a *Valeriana officinalis L.*, com características perene de pequeno porte da família das *Valerianáceas*, com grande distribuição na Europa e Norte da Ásia (Feng *et al.*, 2019; Yao, Ritchie e Brown-Woodman, 2007). Diversos estudos têm investigado suas aplicações na indústria farmacêutica, estando entre os fitoterápicos mais utilizado no mundo (Al-Attraqchi, Deb e Al-Attraqchi, 2020), principalmente por seus efeitos sedativos, ansiolíticos e neuroprotetores (Mungali *et al.*, 2021). Por outro lado, pesquisas que exploram seu potencial são limitadas, algumas evidências indiquem que seus metabólitos secundários presentes em suas raízes possam atuar no controle de pragas como *Liposcelis bostrychophila* e *Tribolium castaneum*, conhecidos como piolho de livro e besouro castanho (Feng B *et al.*, 2019; Liang *et al.*, 2013).

Dessa forma, o uso do óleo essencial de *V. officinalis L.* no manejo de vetores de importância médico-sanitária, com *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, surge como uma alternativa promissora, representando um avanço significativo rumo a estratégias de controle mais seguras, racionais e ambientalmente sustentáveis. Portanto, este trabalho teve como objetivo investigar a atividade bioinseticida do óleo essencial da raiz da *V. officinalis L.*, avaliando sua ação em indivíduos adultos (adulticida) e em larvas (larvicida), contra os vetores *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção do óleo essencial

As raízes de *Valeriana officinalis* L. utilizadas neste trabalho foram adquiridas comercialmente em loja especializada na venda de produtos naturais. 200g da raiz foi triturado em um liquidificador e então transferido para um balão de fundo redondo de 2.000mL, adicionando-se 650 mL de água destilada, sobre uma manta de aquecimento. O método utilizado para a extração foi a hidrodestilação em um aparelho de Clevenger, por 5 h. O óleo foi coletado e seco sobre sulfato de sódio anidro, e armazenado à 4 °C até a realização dos testes, conforme metodologia adaptada de Orlanda e Mouchrek (2021).

2.2 Criação de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

A criação e manutenção das populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foram realizadas no insetário localizado no Laboratório de Inovação e Tecnologia da Universidade Federal do Tocantins (Campus de Gurupi, Brasil), sob condições controladas de temperatura (26 ± 3 °C), umidade relativa ($60 \pm 5\%$) e fotoperíodo de 12 horas. As fases larvais foram criadas em recipientes plásticos (35 x 50 cm) e alimentadas com ração própria para tartarugas. Os mosquitos adultos foram alimentados com solução de sacarose a 10% conforme metodologia descrita por Aguiar *et al.*, (2015); Valbon *et al.*, (2019); Borges *et al.*, (2022).

2.3 Criação de *Belostoma anurum*

As ninfas de *Belostoma anurum* (Heteroptera: *Belostomatidae*), foram provenientes das instalações de piscicultura da Universidade Federal de Viçosa. Os adultos foram mantidos em pares (macho e fêmea) em recipientes de plástico (2L) contendo 1 litro de água desclorada. O ambiente foi mantido a uma temperatura de 25 ± 2 °C e um fotoperíodo de 12:12 L:D. Cada recipiente recebeu exemplares de *Eichhornia crassipes* (aguapé), que serviram como suporte para repouso e acasalamento. Após o acasalamento, as ninfas recém-eclodidas (primeiro instar) foram então separadas individualmente em pequenos frascos de vidro de 15 mL, contendo 10 mL de água descolorada. As ninfas foram alimentadas diariamente com larvas instar de *Aedes aegypti*, até que estes atingissem o segundo instar, fase escolhida para a realização dos bioensaios, (Montaño-campaz *et al.*, 2025).

2.4 Toxicidade de *Valeriana officinalis* L. em larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

A atividade larvicida do óleo essencial de *V. officinalis* L. foi avaliada em larvas de 3º instar (L3) de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, seguindo uma metodologia adaptada da WHO (2005). Inicialmente, foi preparada uma solução estoque do óleo essencial a 1000 µg/mL, utilizando 1% de dimetilsulfóxido (DMSO). Em seguida, essa solução foi diluída em 30 mL de água desclorada para obter as concentrações de 50 - 300 µg/mL. Os bioensaios foram realizados em triplicata, utilizando 25 larvas por concentração, número recomendado por protocolos internacionais para ensaios larvicidas por permitir adequada robustez estatística e comparabilidade com estudos prévios (WHO, 2005). As larvas foram expostas às soluções por 24 horas, e a mortalidade foi registrada ao final desse período. Foram consideradas mortas as larvas que não apresentaram resposta ao estímulo mecânico.

2.5 Toxicidade de *V. officinalis* L. em adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

Os bioensaios adulticidas foram realizados com base no procedimento operacional padrão da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022) e no protocolo do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) descrito por Ostertag *et al.* (2012), com adaptações. O óleo essencial de *V. officinalis* L. foi diluído em acetona para obtenção de cinco concentrações variando entre 200 e 800 µg/mL. Frascos de vidro de 250 mL foram previamente lavados com acetona e deixados para secar à temperatura ambiente por 12 horas. O controle negativo consistiu apenas na aplicação de acetona.

As soluções foram distribuídas uniformemente na superfície interna dos frascos por movimentos rotacionais horizontais e verticais, seguidos de 30 minutos para evaporação do solvente. Posteriormente, 15 fêmeas adultas de *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus* foram introduzidas em cada frasco, número recomendado pelo CDC para evitar superlotação e garantir sensibilidade do teste. A mortalidade foi avaliada após 24 horas, considerando-se mortos os insetos incapazes de se locomover.

2.6 Ensaio de tempo resposta letal da toxicidade do óleo em *V. officinalis* L. em adultos e larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

Os ensaios de tempo letal foram realizados para larvas e adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, utilizando como referência a concentração correspondente à CL₈₀ previamente estimada. A escolha da CL₈₀ justifica-se por representar uma concentração biologicamente ativa

capaz de produzir elevada mortalidade, permitindo avaliação mais precisa da dinâmica temporal da toxicidade.

Para os bioensaios larvicidas, a mortalidade foi registrada no intervalo de 0 a 10 horas, com avaliações a cada 40 minutos. Para os adultos, as observações foram realizadas no intervalo de 0 a 4 horas, com registros a cada 15 minutos, além de uma avaliação final após 24 horas de exposição. Os resultados foram expressos como tempo letal médio (TL₅₀), em minutos.

2.7 Seletividade do óleo essencial de *V. officinalis* L. em ninfas de *Belostoma anurum*

Ninfas de segundo ínstar de *Belostoma anurum* foram expostas às concentrações de óleo essencial estimadas para as larvas de *Aedes aegypti*. Usamos as concentrações de 81,2 µg/mL e 189,26 µg/mL, que correspondem aos valores de CL₁₀ e CL₈₀ respectivamente. Para evitar o canibalismo as ninfas foram expostas individualmente em um frasco de vidro (20 mL), contendo 10 mL das soluções com óleo essencial. O grupo controle foi exposto a 0,5% de DMSO (1,75 mL). Para cada tratamento utilizamos 30 ninfas, conforme metodologia adaptada de Borges *et al.*, (2022).

2.8 Análise de dados

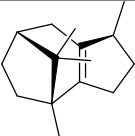
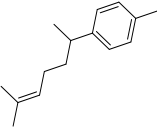
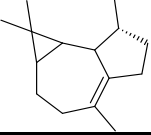
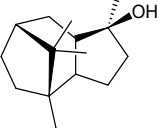
Os resultados de concentração–mortalidade obtidos nos bioensaios toxicológicos com larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foram submetidos à análise probit, utilizando a plataforma de software estatístico SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, NC, EUA, 2008), método usado em estudos toxicológicos por permitir a estimativa robusta das concentrações letais (CL₅₀ e CL₈₀) a partir de dados binários de mortalidade. A mortalidade das ninfas de *Belostoma anurum* foi submetida à análise de variância (ANOVA) por possibilitar a comparação estatística entre múltiplos tratamentos pelo HSD de Turkey ($p < 0,05$), utilizando o programa SigmaPlot 14.0 (Systat Software, San Jose, CA, EUA). Para o bioensaio de sobrevivência (larvas e adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*), foram utilizados estimadores de Kaplan–Meier, com comparação pelo método Log-rank, disponíveis no SigmaPlot 12.0 (Systat Software, San Jose, Califórnia, EUA), por se tratar de uma abordagem estatística apropriada para a análise temporal da sobrevivência e comparação entre curvas de mortalidade ao longo do tempo.

3 RESULTADOS

3.1 Composição do óleo essencial de *V. officinalis* L.

O óleo essencial da raiz de *V. officinalis* L., apresentou um rendimento de 0,35%, em relação a massa da amostra utilizada 200g, tendo como resultado um OE líquido viscoso de coloração amarela e de odor característico. Na análise de CG-EM, foi possível identificar quatro constituintes químicos na amostra, com predomínio da classe de sesquiterpenos que representavam cerca de 96,49% da composição total identificada (Tabela 1). A composição do OE revelou a presença de dois compostos majoritários principais: *viridiflorene* (51,84%) e *patchoulol* (31,60%) que juntos representam um total de 83,44%. Além desses, também foram identificados constituintes em menores concentrações, como *β-patchoulene* (2,63%) e *α-curcumene* (8,92%) (Tabela 1).

Tabela 1- Composição química do OE da raiz de *V. officinalis* L. obtido por CG-EM.

P	TR (min)	Nome	Estrutura	F.M.	M. M. (g.mol ⁻¹)	% A	Sim	^c IK	^t IK
1	29,144	β-patchoulene		C ₁₅ H ₂₄	204.35	2,63	80	1484	1484
2	33,693	α-curcumene		C ₁₅ H ₂₂	202.33	8,92	91	1453	1455
3	38,053	viridiflorene		C ₁₅ H ₂₄	204.35	51,84	92	1508	1505
4	40,508	Patchoulol		C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	31,60	91	1654	1653
Identificado (%) 96,49									
Sesquiterpeno (%) 96,49									

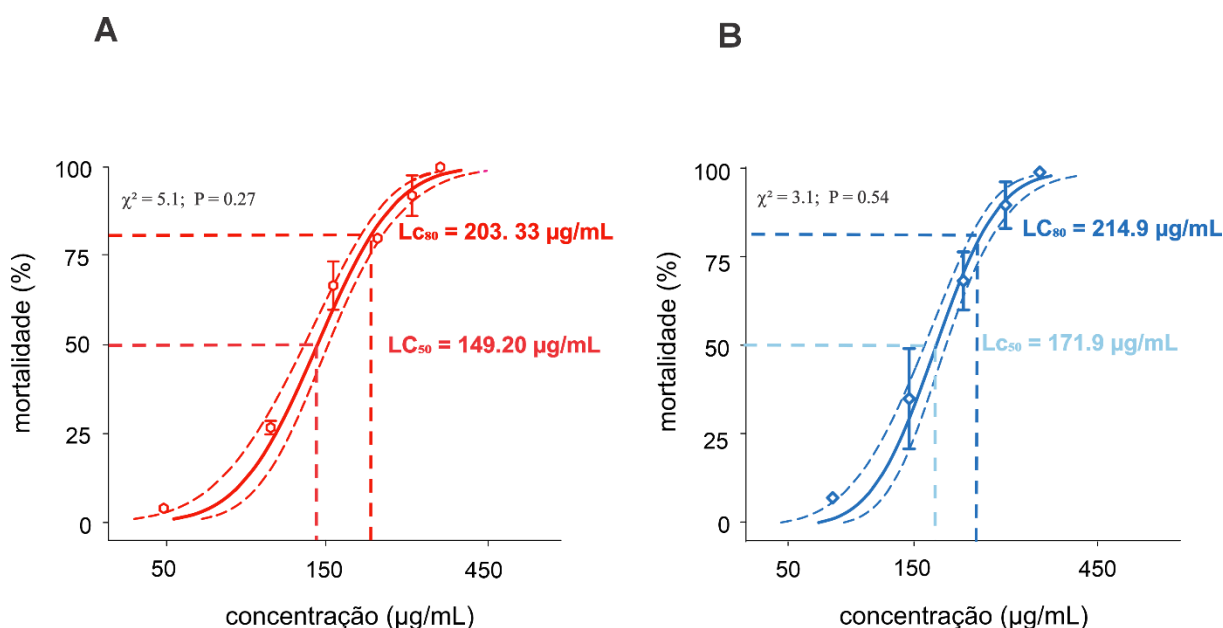
F.M.: Fórmula molecular; M.M.: Massa Molecular; 1: Percentual de área relativo; 2: Percentual de similaridade Biblioteca NIST 14. Fonte: Elaborado pelo Autor, 2025

3.2. Toxicidade de *V. officinalis* L. em larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

Os ensaios de mortalidade após 24 h de exposição das larvas do OE *V. officinalis* L. de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, demonstraram que as larvas de *Ae. albopictus* [CL₅₀ = 171,9 (161,5 – 181,0) µg/mL] apresentaram uma maior resistência quando comparadas as larvas de *Ae. aegypti* [(CL₅₀ = 149,2 ; IC = 139,7 – 157,8 µg/mL)], indicando que *Ae. albopictus* é mais resistente ao OE, pois requerem doses superiores para atingir o mesmo efeito letal (Figura 1).

A CL_{80} por sua vez apresentou resultados semelhantes para ambas as espécies. *Ae. albopictus* [($CL_{80} = 214,9$; $CL = 204,33 - 228,09 \mu\text{g/mL}$)], e *Ae. aegypti* [($CL_{80} = 203,33$; $IC = 192,09 - 217,19 \mu\text{g/mL}$)], sem diferenças estatísticas (ou seja, CL_{80}), (Figura 1).

Figura 1 – Mortalidade de larvas *Ae. aegypti* (A) e *Ae. albopictus* (B) após 24 h de exposição ao óleo essencial extraído da raiz da *V. officinalis L.* as linhas contínuas representam os valores estimados de mortalidade pelo modelo probit. As linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança de 95% e os símbolos mostram a média ($\pm EP$) obtida para quatro repetições.

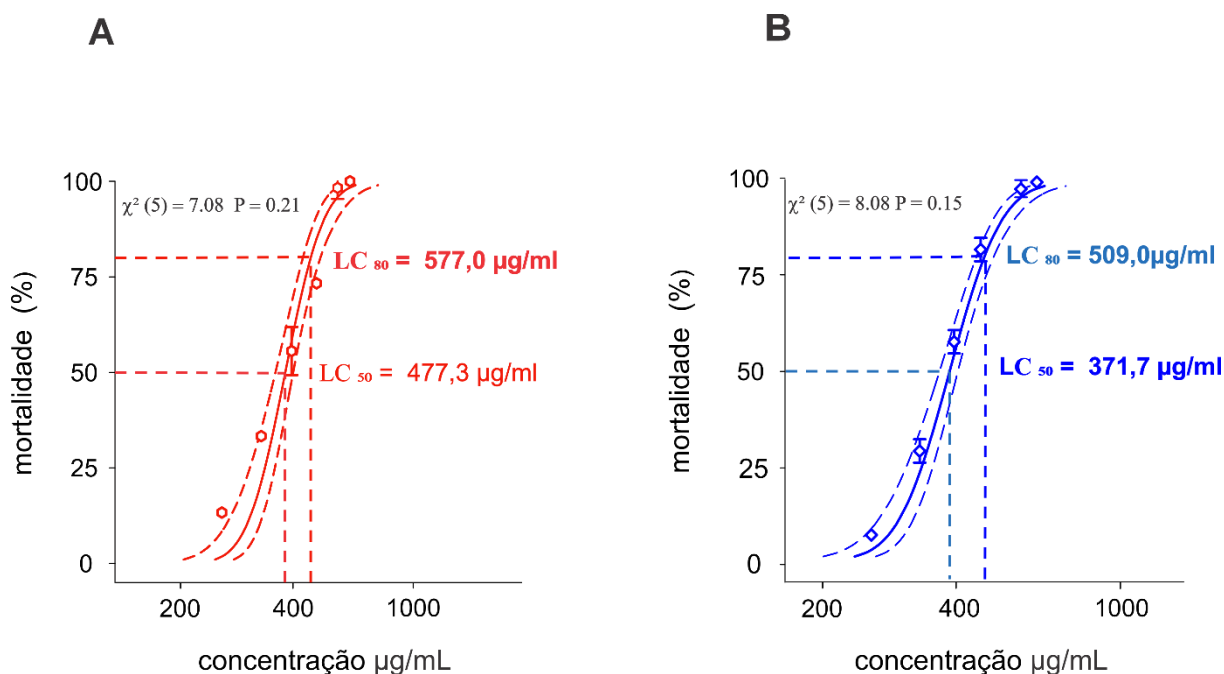


Fonte: Registro do Autor, 2025.

3.3 Toxicidade de *Valeriana officinalis L.* em adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

No bioensaio com os mosquitos adultos, OE demonstrou atividade inseticida significativa contra ambas as espécies de *Aedes*. De acordo com os dados obtidos, o *Ae. albopictus* demonstrou ser mais suscetível à ação do OE, quando comparado aos mosquitos de *A. aegypti*, que demonstraram ser mais resistentes (Figura 2 A e B). O resultado da CL_{50} para o *Ae. albopictus* foi [CL_{50} foi de $371,7$ ($344,36 - 396,8$) $\mu\text{g/mL}$], enquanto a CL_{80} atingiu [($509,0$ ($477,31 - 548,7$) $\mu\text{g/mL}$)]. No entanto para o mosquito *A. aegypti*, é necessário concentrações maiores para provocar a mesma porcentagem de mortalidade, de maneira que a CL_{50} calculada foi de [$477,3$ ($444,06 - 505,70$)] e a [$CL_{80} = 575,6$ ($542,95 - 617,43$)], (Figura 2 A e B).

Figura 2 - Mortalidade de mosquitos adultos após 24 h de exposição do óleo essencial extraído da raiz da *V. officinalis* L. (A) *Ae. aegypti* e (B) *Ae. albopictus*. As linhas contínuas representam os valores estimados de mortalidade pelo modelo probit. Linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança de 95% e os símbolos mostram a média (\pm EP) obtida para quatro repetições.



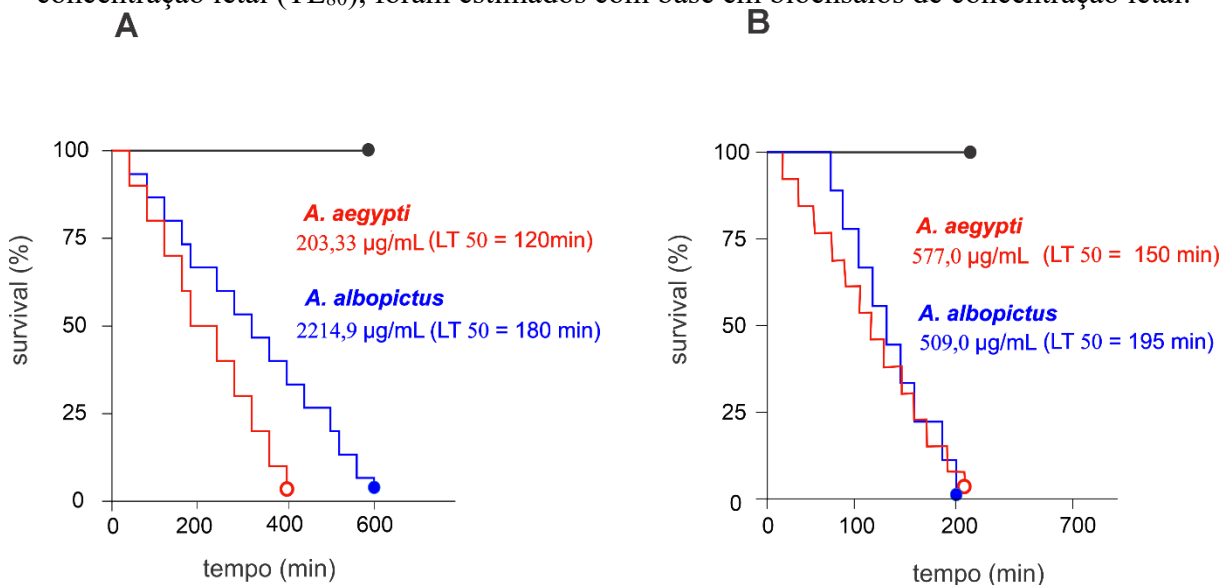
Fonte: Registro do Autor, 2025.

3.4 Ensaio de tempo resposta letal da toxicidade do óleo em *V. officinalis* L. em adultos e larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

As análises de sobrevivência indicaram diferença significativas entre as espécies de *Aedes* testadas com o OE, tanto na fase larval (Long – Rank: $x^2 = 45,49$; $df = 1$; $p = 0,0001$) quanto na fase adulta (Long – Rank: $x^2 = 18,43$; $df = 1$; $p = 0,0004$). No ensaio com as larvas (Figura 3A), o tempo letal mediano (TL₅₀) foi calculado a partir da curva de sobrevivência, utilizando como base a concentração correspondente à CL₈₀ de cada espécie. O TL₅₀ para o *Ae. aegypti* foi de 120 minutos, correspondente à concentração de 203,3 µg/mL. Já para as larvas de *Ae. albopictus*, a TL₅₀ foi de 180 minutos, correspondente à concentração de 214,9 µg/mL. Esses dados sugerem que as larvas de *Ae. albopictus* apresentam uma maior resistência ao OE em relação ao *Ae. aegypti* (Figura 3A). Curiosamente, os resultados obtidos nos bioensaios com mosquitos (Figura 3B), confirmaram a mesma tendência de suscetibilidade. O *Ae. aegypti* permaneceu apresentando uma maior sensibilidade ao OE, com TL₅₀ de 150 min na concentração de 577,0 µg/mL, quando comparado a TL₅₀ de *Ae. albopictus* estimado em 195 min na concentração de 509,0 µg/mL. Ainda que os valores das concentrações usadas para

realizar os testes nos mosquitos e larvas sejam diferentes é possível observar uma maior resistência do *Ae. albopictus* em ambas as fases avaliadas.

Figura 3 - Curva de sobrevivência de larvas (A) e adultos (B) de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* quando submetidos à exposição ao óleo essencial de *V. officinalis L.* Os valores de concentração letal (TL₈₀), foram estimados com base em bioensaios de concentração letal.

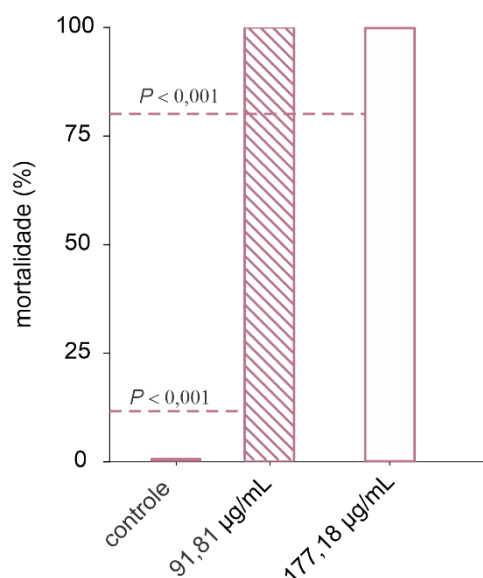


Fonte: Registro do Autor, 2025.

3.5 Seletividade do óleo essencial de *V. officinalis L.* em ninfas de *Belostoma anurum*

Aqui, verificou a seletividade das ninfas de *Belostoma anurum* e avaliou-se o OE de *V. officinalis L.* Os resultados demonstraram uma mortalidade superior a 90% mesmo na menor concentração testada (CL₁₀ 91,81 µg/mL), padrão também observado na concentração correspondente a CL₈₀ (189,26 µg/mL) (Figura 4). Ambos os tratamentos diferiram significativamente do grupo controle ($p < 0,001$), indicando que o OE de *V. officinalis L.* Apresenta uma alta taxa de toxicidade. Ressalta - se que a mortalidade observada nas ninfas de *B. anurum* foi significativamente superior à estimada para as larvas de *A. aegypti*.

Figura 4 - Mortalidade (%) de *Belostoma anurum* exposto a concentrações (CL₁₀, CL₈₀) de óleos essenciais da raiz de *V. officinalis* L. obtidos com *Ae. aegypti*. As linhas tracejadas representam a mortalidade esperada com base na estimativa para larvas de *A. aegypti*. Os níveis de significância (teste Z, $p < 0,05$), são mostrados para cada concentração (CL₁₀, CL₈₀). A mortalidade foi registrada ao longo de um período de 24 horas.



Fonte: Registro do Autor, 2025.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, o OE da raiz de *V. officinalis* L. demonstrou potencial contra larvas e adultos de ambas as espécies testadas. Além disso, esta pesquisa revelou diferenças de susceptibilidade entre *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*, indicando o OE como uma ferramenta promissora para o controle vetorial. Esses achados reforçam o interesse no uso de compostos naturais como alternativas ao controle químico de mosquitos, principalmente, diante do aumento de resistência dos insetos a produtos sintéticos.

O uso indiscriminado de inseticidas convencionais e a busca pelo desenvolvimento de novas alternativas para o controle de insetos têm sido considerados de grande importância (Oliveira *et al.*, 2023). Essas novas estratégias devem ser eficazes e biodegradáveis. Entre elas, destaca-se o desenvolvimento de produtos à base de material vegetal, como óleos e extratos, que se sobressaem por sua origem natural e por apresentarem compostos com atividades seletivas sobre insetos (Beran *et al.*, 2019).

O OE da *V. officinalis* L. apresentou um perfil químico com compostos majoritariamente de sesquiterpenos (Tabela 1). Esses compostos também foram identificados por Kokito *et al.* (2024) e Mungali *et al.*, (2021), embora não como majoritários. Ainda assim,

nossos resultados estão de acordo com a literatura. Esta variação pode ter ocorrido devido ao fato de que a composição depende da origem biológica (cultivar) e do estágio de desenvolvimento da planta, fatores que ocasionam diferenças significativas no perfil dos OE (Isashov *et al.*, 2025).

Vários autores descrevem o potencial dos OEs como biopesticidas sustentáveis (Gupta *et al.*, 2023; Assadpaour *et al.*, 2024; Lahlali *et al.*, 2022). Segundo Nakurte *et al.* (2021), o OE da raiz de *V. officinalis L.* contém acetato de bornila (94%) e valeranona (59%) como compostos majoritários. No entanto, Lunz *et al.* (2021) e Seidler-Lozykowska *et al.* (2011) relatam os sesquiterpenos como a segunda classe de compostos majoritários, acima de 70% da composição do óleo. O presente trabalho com OE corrobora os resultados encontrados por Lunz *et al.* (2021) e Seidler-Lozykowska *et al.* (2011).

A atividade larvicida do óleo essencial de *V. officinalis L.* demonstrou eficácia significativa contra as duas espécies de *Aedes* testadas. Os valores de CL_{50} foram significativamente diferentes entre as espécies deste estudo, sendo que as larvas do *Ae. aegypti* (149,2 $\mu\text{g/mL}$) foram mais sensíveis do que a espécie *Ae. albopictus* (171,9 $\mu\text{g/mL}$). Esses resultados indicam uma maior resistência de *Ae. albopictus* ao óleo quando comparado a *A. aegypti*. Essa diferença pode estar relacionada a fatores genótipos e fenótipos, influenciados por distintas pressões ambientais epigenéticas, que afetam os níveis de resistência ou suscetibilidade dos vetores (Salinas *et al.*, 2021; Felix *et al.*, 2021). Outro fator que pode influenciar a resistência ou sensibilidade das espécies expostas a óleo essenciais é a composição química de cada óleo.

Rodrigues *et al.* (2019) em seu estudo testaram, o OE de *Syzygium aromaticum* que apresentou maior toxicidade para as larvas de *Ae. aegypti* ($CL_{50} = 32,7$ ppm) do que para *Ae. albopictus* ($CL_{50} = 138,1$ ppm), enquanto o óleo de *Croton nepetaefolius* mostrou um perfil inverso, com *Ae. albopictus* sendo ligeiramente mais sensível ($CL_{50} = 76,1$ ppm) do que *Ae. aegypti* ($CL_{50} = 81,7$ ppm). Essas variações reforçam que a resposta diferencial entre espécies está diretamente relacionada ao perfil químico do óleo e à forma como seus compostos interagem com os sistemas neurofisiológicos dos insetos.

Os bioensaios realizados com o mosquito adulto permitiram observar que o *Ae. albopictus* foi *Ae. aegypti* mais suscetível, apresentando 50% de mortalidade na concentração 371,7 $\mu\text{g/mL}$, enquanto atingiu essa mortalidade em concentrações superiores a 477 $\mu\text{g/mL}$. Similarmente, estudos como de Fend *et al.* (2019) observaram alta atividade adulticida do OE de *V. officinalis L.*, contra *Liposcelis bostrychophila* e *Tribolium castaneum*. Além disso,

pesquisas com plantas do mesmo gênero também demonstraram atividade larvicida e adulticida em mosquitos (Dua *et al.*, 2008). Embora as análises químicas destes estudos não tenham como compostos majoritários os compostos específicos encontrados neste trabalho, estudos prévios demonstram que a classe dos sesquiterpenos encontrados apresentam atividade neurológica em mosquitos (Li *et al.*, 2023).

De acordo com Li *et al.*, (2023), os sesquiterpenos atuam sobre alvos moleculares relacionados ao sistema nervoso dos insetos, interferindo na atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE), fundamental na transmissão de sinapse provocando hiperestimulação e morte dos organismos. Embora o mecanismo molecular dos sesquiterpenos da *V. officinalis* L. ainda não tenha sido testado diretamente em mosquitos, Chen *et al.*, (2016), e colaboradores indicaram que os sesquiterpenos isolados da raiz de *V. officinalis* L. exibem forte atividade inibitória sobre a AChE nos mamíferos.

A avaliação do tempo letal (TL₅₀) revelou diferenças significativas entre as espécies. As larvas de *Ae. albopictus* mostraram mais resistência ao OE, enquanto as de *Ae. aegypti* foram mais suscetíveis. Nos adultos, observou-se o mesmo comportamento de resposta entre as duas espécies, embora os dados da CL₅₀ indiquem que *Ae. albopictus* pode apresentar maior sensibilidade após longos períodos de exposição. Segundo Norris *et al.* (2018), compreender o mecanismo envolvido no tempo letal em mosquitos é um desafio, uma vez que os óleos essenciais podem atuar simultaneamente em diferentes alvos do sistema nervoso.

Apesar do potencial do OE estudado para o controle de larvas e adultos de mosquitos, o resultado obtido evidenciou que o OE não apresentou seletividade frente ao organismo alvo, os *B. anurum*, um predador natural do mosquito. Os efeitos seletivos do óleo da *V. officinalis* L. ou de outras espécies da família *Valerianaceae* são poucos descritos na literatura. Estudos como o de Choi *et al.* (2021), que apresentou a toxicidade contra ácaros, também obteve baixa seletividade.

5 CONCLUSÃO

Os resultados deste capítulo demonstram que o óleo essencial da raiz de *V. officinalis* L. apresenta atividade larvicida e adulticida contra *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, associada a uma composição rica em sesquiterpenos, evidenciando seu potencial para o controle vetorial. As diferenças de susceptibilidade entre espécies e estágios de desenvolvimento, com maior resistência larval e maior suscetibilidade adulta de *Ae. albopictus*, sugerem influência de fatores fisiológicos dependentes do desenvolvimento. A atividade inseticida pode estar relacionada à

ação neurotóxica dos sesquiterpenos, embora os mecanismos específicos ainda necessitem de elucidação. Contudo, a ausência de seletividade frente a *Belostoma anurum* indica a necessidade de estudos adicionais sobre segurança ecológica e aprimoramento da seletividade, fundamentais para a viabilidade do uso desse óleo em programas de controle vetorial.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, E. The impact of climate change on travel-related vector-borne diseases: a case study on dengue virus transmission. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 65, p. 102841, 2025.
- AFINASARI, A. *et al.* In silico study of sesquiterpene and monoterpene compounds from valerian roots (*Valeriana officinalis*) as acetylcholinesterase inhibitors. **Indonesian Journal of Computational Biology**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2022.
- AGUIAR, E. M. S.; SIEBERT, T. H. R. Doenças tropicais negligenciadas no baixo Amazonas (2017–2019). **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 6, p. 27957–27972, 2021.
- AGUIAR, R. W. S. *et al.* Insecticidal and repellent activity of *Siparuna guianensis* Aubl. against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0116765, 2015.
- AHMAD, A. *et al.* Avaliação de extratos aquosos de plantas em altas doses para o controle sustentável de *Aedes aegypti* em laboratório. **Journal of King Saud University – Science**, v. 35, n. 11, p. 102991, 2023.
- AL-ATTRAQCHI, O.; DEB, P. K.; AL-ATTRAQCHI, N. Revisão das propriedades fitoquímicas e farmacológicas de *Valeriana officinalis*. **Current Traditional Medicine**, v. 6, n. 4, p. 260–277, 2020.
- ARIA, M. *et al.* bibliometrix: an R-tool for comprehensive science mapping analysis. **Journal of Informetrics**, v. 11, n. 4, p. 959–975, 2017.
- ASBAHANI, A. E. *et al.* Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1–2, p. 220–243, 2015.
- ASGARIAN, T. S. *et al.* Worldwide status of insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1, 2023.
- ASSADPOUR, E. Application of essential oils as natural biopesticides: recent advances. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 64, n. 19, p. 6477–6497, 2024.
- BENIAICH, G. *et al.* Chemical characterization, antioxidant, insecticidal and anti-cholinesterase activity of essential oils from *Cinnamomum verum* L. **Separations**, v. 10, n. 6, p. 348, 2023.
- BERAN, F. *et al.* Chemical convergence between plants and insects: biosynthetic origins and functions of shared secondary metabolites. **New Phytologist**, v. 223, n. 1, p. 52–67, 2019.

- BHARADWAJ, N. *et al.* Omics approaches in understanding insecticide resistance in mosquito vectors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 5, p. 1854, 2025.
- BORGES, J. C. M. *et al.* Methanolic extracts of *Chiococca alba* in *Aedes aegypti* biorational management. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 3298, 2022.
- BOSCHIERO, M. N.; SANSONE, N. M.; MARSON, F. A. Dengue outbreak in Brazil: comparative analysis between 2023 and 2024. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 28, p. 104168, 2024.
- BRITO, P. V. M. B. *et al.* Epidemiologia das internações por dengue no Brasil (2014–2024). **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 7, n. 2, p. 1518–1530, 2025.
- CASTELLANOS, N. L. *et al.* Imidacloprid-mediated alterations in salivary glands of *Euschistus heros*. **Ecotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 678–688, 2021.
- CHEN, H. W. *et al.* Sesquiterpenes with acetylcholinesterase inhibitory activity from *Valeriana officinalis*. **Fitoterapia**, v. 110, p. 142–149, 2016.
- CHOI, S. A. *et al.* Acaricidal properties of compounds from *Valeriana fauriei*. **Applied Biological Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 1–13, 2021.
- DUQUE, J. E. *et al.* Insecticidal activity of essential oils against *Aedes aegypti*. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2989, 2023.
- EGID, B. R. *et al.* Ecology and behaviour of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 2, p. 100074, 2022.
- FENG, Y. X. *et al.* Efficacy of bornyl acetate and camphene from *Valeriana officinalis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 16, p. 16157–16165, 2019.
- FERNANDO, H. S. D. *et al.* Insecticide resistance in *Aedes aegypti* from Sri Lanka. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 407, 2020.
- GUPTA, I. *et al.* Plant essential oils as biopesticides. **Plants**, v. 12, n. 16, p. 2916, 2023.
- HUSTEDT, J. C. *et al.* Use of pyriproxyfen in *Aedes* control. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 6, p. e0008205, 2020.
- KIM, J. *et al.* Nematicidal activity of essential oils including *Valeriana wallichii*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 16, p. 7316–7320, 2008.
- LUNZ, K.; STAPPEN, I. Root essential oils: composition and bioactivity. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3155, 2021.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito adulticides*. Geneva: World Health Organization, 2022.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global report on neglected tropical diseases 2024*. Geneva: World Health Organization, 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides*. Geneva: World Health Organization, 2005.

CAPÍTULO 2: Estudo *in silico* de Inibidores do Metabolismo de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* a Partir do Óleo Essencial de *Valeriana Officinalis L.*

RESUMO

As arboviroses transmitidas por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* continuam a representar um importante desafio para a saúde pública, especialmente em função da crescente resistência dessas espécies aos inseticidas sintéticos atualmente utilizados no controle vetorial. Diante desse cenário, compostos naturais de origem vegetal têm despertado interesse como alternativas sustentáveis e potencialmente seletivas. Neste contexto, o presente estudo investigou, por meio de abordagens *in silico*, o potencial inseticida dos principais sesquiterpenos identificados no óleo essencial de *V. officinalis L.* viridiflorene, β -patchoulene, patchoulol e α -curcumene frente às proteínas-alvo acetilcolinesterase (AChE) e receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA) de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Os modelos tridimensionais das quatro proteínas foram construídos utilizando a plataforma SWISS-MODEL e apresentaram elevada qualidade estrutural, conforme os parâmetros GMQE, QMEANDisCo e a análise dos gráficos de Ramachandran, assegurando confiabilidade para os estudos de acoplamento molecular. As simulações de *docking* revelaram energias de ligação favoráveis, variando entre $-5,43$ e $-7,50$ kcal·mol⁻¹, indicando afinidade significativa dos ligantes pelos sítios ativos das proteínas avaliadas. O patchoulol destacou-se por formar complexos mais estáveis com a AChE e o receptor GABA de *Ae. albopictus*, enquanto o β -patchoulene apresentou maior afinidade pelo receptor GABA de *Ae. aegypti*. As interações moleculares foram predominantemente do tipo hidrofóbico, envolvendo interações π -alkyl, alkyl e forças de van der Waals, além da formação de ligações de hidrogênio que contribuíram para a estabilidade dos complexos, especialmente nos sistemas envolvendo o patchoulol. Esses resultados sugerem que os sesquiterpenos do óleo essencial de *V. officinalis L.* possuem potencial para interferir em alvos neurofisiológicos essenciais à neurotransmissão dos insetos. De forma geral, os achados reforçam o potencial desses compostos como candidatos promissores ao desenvolvimento de bioinseticidas seletivos e ambientalmente seguros para o controle de *Aedes*, embora estudos experimentais adicionais sejam necessários para a validação dos mecanismos propostos.

Palavras-chaves: *Aedes*. modelagem molecular. *V. officinalis L.* bioinseticidas.

ABSTRACT

Arboviruses transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* continue to represent a significant challenge for public health, especially due to the increasing resistance of these species to synthetic insecticides currently used in vector control. In this context, natural compounds of plant origin have attracted interest as sustainable and potentially selective alternatives. This study investigated, using *in silico* approaches, the insecticidal potential of the main sesquiterpenes identified in the essential oil of *V. officinalis* L. viridiflorene, β -patchoulene, patchoulol, and α -curcumene against the target proteins *acetylcholinesterase* (AChE) and gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. Three-dimensional models of the four proteins were constructed using the SWISS-MODEL platform and showed high structural quality, according to the GMQE and QMEANDisCo parameters and Ramachandran plot analysis, ensuring reliability for molecular docking studies. *Docking* simulations revealed favorable binding energies, ranging from -5.43 to -7.50 kcal·mol⁻¹, indicating significant ligand affinity for the active sites of the evaluated proteins. Patchoulol stood out for forming more stable complexes with AChE and the GABA receptor of *Ae. albopictus*, while β -patchoulene showed greater affinity for the GABA receptor of *Ae. aegypti*. Molecular interactions were predominantly hydrophobic, involving π -alkyl and alkyl interactions and van der Waals forces, in addition to the formation of hydrogen bonds that contributed to the stability of the complexes, especially in systems involving patchoulol. These results suggest that sesquiterpenes from the essential oil of *V. officinalis* L. have the potential to interfere with neurophysiological targets essential to neurotransmission in insects. Overall, the findings reinforce the potential of these compounds as promising candidates for the development of selective and environmentally safe bioinsecticides for the control of *Aedes*, although further experimental studies are needed to validate the proposed mechanisms.

Keywords: *Aedes*. molecular modeling. *V. officinalis* L. bioinsecticides.

1 INTRODUÇÃO

O controle populacional de mosquitos constitui uma medida essencial para a saúde pública, uma vez que esses insetos estão entre os principais vetores de patógenos responsáveis pela disseminação de doenças de relevância epidemiológica (Aryaprema *et al.*, 2023). Entre essas doenças, destaca-se a dengue, que apresenta elevada taxa de morbidade e mortalidade na população, sendo considerada uma das principais doenças de importância médica transmitidas por mosquitos, com cerca de 390 milhões de casos registrados anualmente (França *et al.*, 2020).

Além da dengue, outras arboviroses também representam sérias ameaças à saúde humana, como aquelas causadas pelos vírus chikungunya, febre amarela e Zika. Esses vírus podem ser transmitidos por diferentes espécies de mosquitos, e a importância de cada uma dessas espécies como vetor é determinada pela sua capacidade vetorial e a sua distribuição geográfica, ou seja, quanto maior a capacidade de dispersão e adaptação ecológica das espécies vetoradas, maior é o potencial de transmissão viral e o risco de ocorrência de novos surtos epidêmicos (Moyes *et al.*, 2017).

Entre os principais mosquitos disseminadores de arboviroses o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* se destacam devido sua grande adaptabilidade estando presentes em todos os continentes com exceção da Antártida (Laporta *et al.*, 2023). O *Ae. aegypti* possui um comportamento antropofágico diretamente associado aos humanos com preferência por recipientes artificiais como criadouros, o que o torna o principal vetor de arboviroses no Brasil. Já o *Ae. albopictus*, possui uma flexibilidade em colonizar áreas periurbanas e rurais, capaz de desenvolver em criadouros artificiais (Kraemer *et al.*, 2015). Além disso, essa espécie tem demonstrado uma capacidade de coexistir em simpatria com o *Ae. aegypti*, que aliado a resistência a inseticidas convencionais, representa um desafio adicional para o controle vetorial (Sousa *et al.*, 2022).

A resistência de mosquitos a inseticidas sintéticos tem sido associada a diferentes mecanismos, como mutações nos sítios-alvo e aumento da atividade de enzimas metabólicas capazes de degradar compostos tóxicos. Entre as enzimas relacionadas ao metabolismo e à transmissão sináptica, destacam-se a acetilcolinesterase (AChE) e o receptor ácido gama-aminobutírico (GABA), fundamentais para o funcionamento do sistema nervoso dos insetos (Gan *et al.*, 2021). A AChE é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina, interrompendo a transmissão do impulso nervoso, já o receptor GABA atua na modulação inibitória do sistema nervoso central, controlando a excitabilidade neuronal. A interferência na

atividade dessas proteínas resulta em paralisia e morte do inseto, tornando-as alvos estratégicos no desenvolvimento de novos inseticidas (Casida & Durkin, 2015; Gan *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, compostos naturais, especialmente os presentes em óleos essenciais, têm se destacado como alternativas promissoras no controle de vetores, por apresentarem múltiplos mecanismos de ação e menor impacto ambiental. O óleo essencial de *Valeriana officinalis* L. é rico em sesquiterpenos, como viridifloreno, β -patchoulene, patchoulol e α -curcumene, moléculas com reconhecido potencial inseticida e neuroativo. Estudos indicam que esses compostos podem interagir com enzimas do sistema nervoso, promovendo a inibição da AChE e alterando a atividade dos receptores GABA, o que sugere ação neurotóxica seletiva (Baser *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2010).

Nesse contexto, abordagens computacionais têm se mostrado ferramentas valiosas para compreender a interação molecular entre compostos naturais e alvos biológicos. O estudo *in silico*, por meio da modelagem molecular e do acoplamento (*docking*), permite identificar o potencial de ligação de moléculas bioativas às proteínas de interesse, fornecendo informações sobre o modo de ação e orientando ensaios laboratoriais posteriores. Estudos já demonstram que constituintes de óleos essenciais, principalmente os sesquiterpenos podem interagir simultaneamente com múltiplos alvos neurológicos de *A. aegypti*, entre eles a AChE e o receptor GABA, reforçando a importância desses estudos para o desenvolvimento de novos agentes bioinseticidas (Passos *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2021).

Assim, este capítulo tem como objetivo investigar, por meio de modelagem *in silico*, o potencial de inibição da AChE e do receptor GABA de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* pelos principais compostos identificados no óleo essencial de *Valeriana officinalis* L., contribuindo para a elucidação dos mecanismos neurotóxicos envolvidos e para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis no controle de vetores.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação do ligantes

Os ligantes selecionados para a realização do acoplamento molecular foram os principais compostos encontrados no óleo essencial de *Valeriana officinalis*. As estruturas tridimensionais desses compostos foram obtidas no banco de dados PubChem Compound (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) e baixadas no Formato Padrão de Dados (SDF). Em seguida, os arquivos foram convertidos para o formato Protein Data Bank (PDB) utilizando o

software PyMOL (versão 2.5.1). As estruturas obtidas foram posteriormente utilizadas nas simulações de acoplamento molecular com os receptores selecionados (Barman, 2022).

2.2 Modelagem por homologia de acetilcolinesterase (AChE) e o receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA)

As sequências proteicas da acetilcolinesterase do *Aedes aegypti* (*AaegAChE*) e do receptor de ácido gama-aminobutírico (*AaegGABA*) foram obtidas no GenBank, utilizando os acessos XP_0217048104796.1 e AAA68961.1, respectivamente. Para *Aedes albopictus* foram utilizadas as sequências JAC13200.1 (*AalbAChE*) e BAE71347 (*AalbGABA*). Em seguida, as estruturas tridimensionais correspondentes foram construídas através do servidor SWISS-MODEL (swissmodel.expasy.org), que busca automaticamente moldes adequados na base de dados de estruturas proteicas, com base nas melhores correspondências obtidas via BLAST. O modelador interno ProMod3 3.3.0 foi utilizado para gerar os modelos tridimensionais. Os arquivos gerados no formato .pdb foram então submetidos a alinhamento à estrutura-molde utilizando PyMOL 2.5.5, com o objetivo de identificar o sítio ativo de cada proteína modelo. Para avaliação estereoquímica, foram gerados gráficos de Ramachandran utilizando o servidor SAVES v6.0, especificamente com a ferramenta PROCHECK, verificando a geometria de cada resíduo e avaliando a qualidade global dos modelos (Jumbo *et al.*, 2025).

2.3 Acoplamento molecular

Os receptores e ligantes foram preparados no AutoDockTools 1.5.7, com adição de hidrogênios polares, cargas de Gasteiger e definição das ligações rotacionáveis, sendo salvos no formato PDBQT (Araujo *et al.*, 2024). A grade de acoplamento (grid box) foi definida sobre o sítio ativo da proteína, e os mapas de energia foi realizando utilizando matriz (ligantes × proteínas) e utilizadas para gerar um *heatmap* no Python/Google Colab, com as bibliotecas *pandas* e *seaborn*. O *docking* foi realizado no AutoDock 4.2 pelo Lamarckian Genetic Algorithm, com 100 runs por ligante (Hoclob *et al.*, 2022). As poses foram classificadas pela energia de afinidade (kcal/mol) e agrupadas por RMSD. As interações proteína–ligante foram analisadas e visualizadas no PyMOL 2.5.5 e Discovery Studio Visualizer v21.1.0.20298 (Baroroh *et al.*, 2023).

3 RESULTADO

3.1 Modelagem da estrutura tridimensional da enzima AChE e do receptor GABA.

Os modelos tridimensionais das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e do receptor GABA de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foram obtidos por modelagem por homologia, utilizando os moldes com maior identidade de sequência e melhores escores de qualidade estrutural, incluindo o número de acesso GenBank, tamanho da sequência, modelo PDB utilizado (com sua resolução), porcentagem de identidade, além das métricas de validação GMQE e QMEANDisCo Global (Tabela 2).

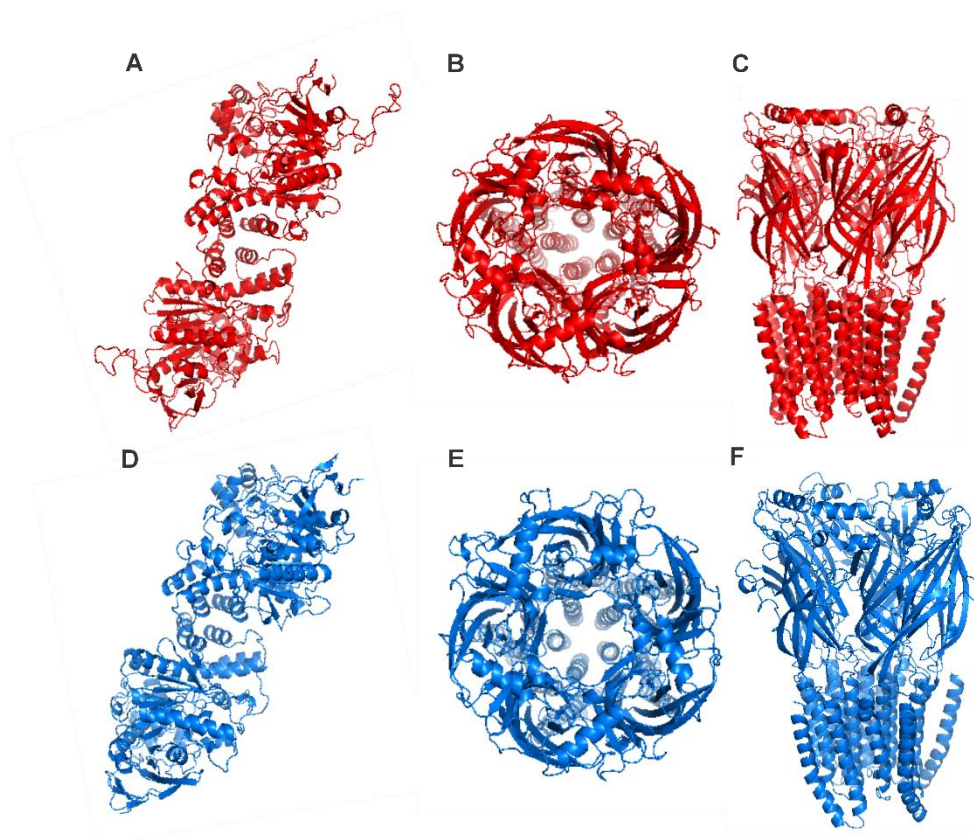
Tabela 2 - Proteína alvo e modelos baseados por homologia.

Organismo	Proteína	Sequência (GenBank ID)	Tamanho da Sequência	PDB molde/ resolução	Identidade da sequência (%)	Global model Quality Estimation (GMQE)	QMEANDisCo Global
Ae. aegypti	AegAChE	XP021704769.1	637 aa	6XYY/ 2.70 Å	69,08	0,80	0,84 ± 0,05
	AegGABA	AAA68691.1	533 aa	7PBQZ/ 2.79 Å	59.11	0,63	0,79 ± 0,05
Ae. albopictus	AalbAChE	BAE71347	702 aa	6ARY/ 2.26 Å	92,58	0,74	0,92 ± 0,05
	AalbGABA	JAC13200.1	687 aa	9FFV/ 2,80 Å	57,36	0,56	0,78 ± 0,05

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2025

Foram selecionados os seguintes moldes: XP021704769.1 para *Ae. aegypti* AChE, BAE71347 para *Ae. albopictus* AChE, AAA68691.1 para *Ae. aegypti* GABA e JAC13200.1 para *Ae. albopictus* GABA. Os valores de identidade de sequência variaram entre 59,11 % e 92,58 %, com escores GMQE de 0,56 a 0,80 e QMEANDisCo entre 0,78 ± 0,05 e 0,92 ± 0,05, indicando alta confiabilidade e qualidade estrutural dos modelos gerados. O processo de modelagem por homologia foi realizado a partir das sequências dessas proteínas, submetidas ao servidor SWISS-MODEL, que gerou as estruturas tridimensionais (Figura 5).

Figura 5 - Estruturas modeladas das proteínas acetilcolinesterase (AChE) e receptor GABA. Modelo da proteína acetilcolinesterase de *Ae. aegypti* (*Ae. aegypti* AChE) em vista lateral, mostrando o arranjo globular (A). Modelo GABA de *Ae. aegypti* (*Ae. aegypti* GABA), vista superior (B) e vista lateral do modelo GABA (C). Modelo da proteína acetilcolinesterase de *Ae. albopictus* (*Ae. albopictus* AChE) em vista lateral, mostrando o arranjo globular (D). Modelo GABA *Ae. albopictus* (*Ae. albopictus* GABA), vista superior (E) e vista lateral do modelo GABA (F).

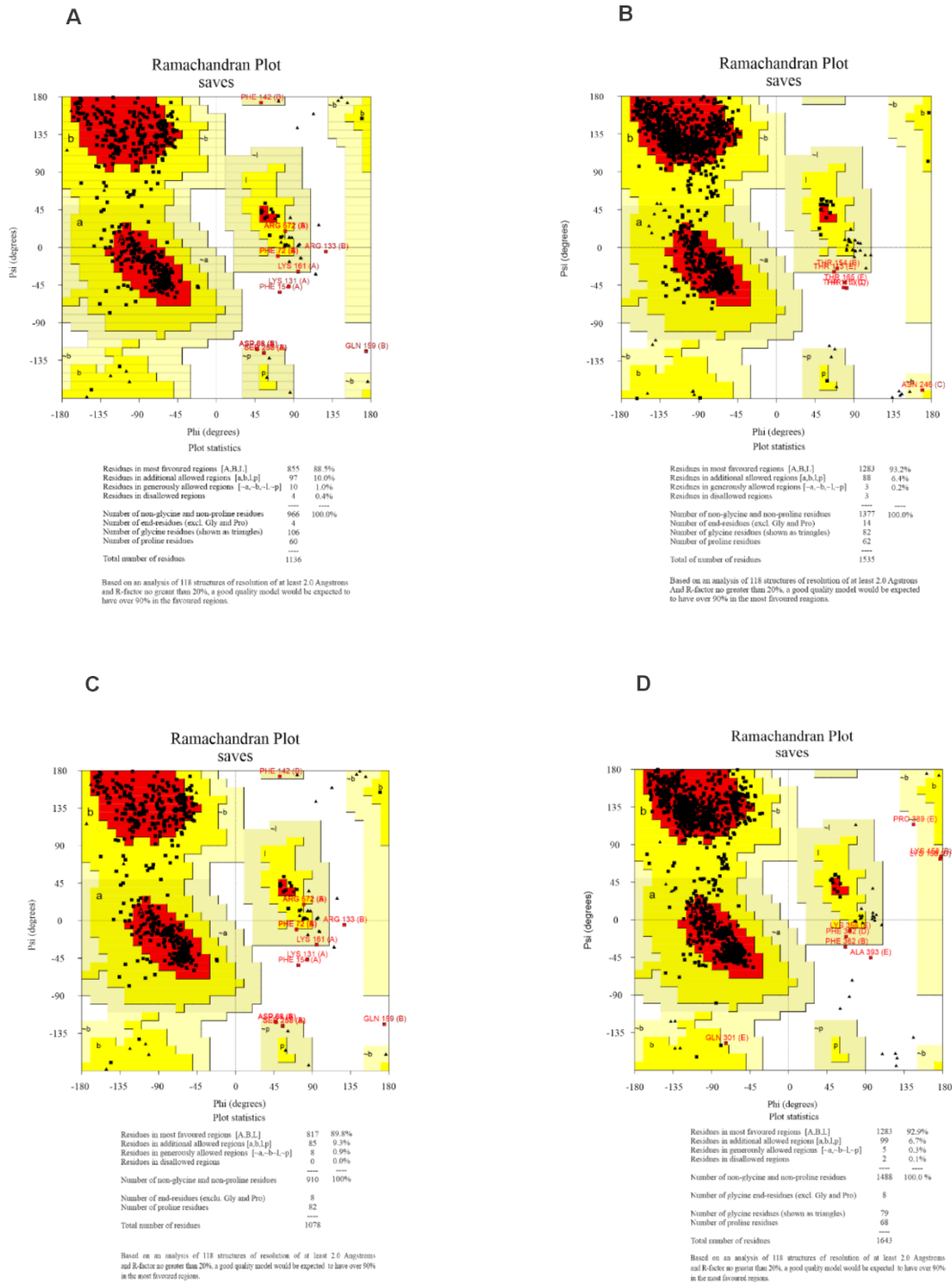


Fonte: Arquivo do autor, 2025.

A validação estereoquímica das estruturas modeladas foi realizada por meio da análise ProCheck. Resultando nos gráficos de Ramachandram (Figura 6). Os resultados indicaram que a maioria dos resíduos das proteínas estão localizados em regiões mais favoráveis, demonstrando a confiabilidade e estabilidade conformacional das estruturas modeladas. Para o modelo *AaegAChE* (Figura 6A), 88,5% dos resíduos foram observados em regiões favoráveis, 10% em regiões permitidas e apenas 0,4% em regiões desfavoráveis. De forma semelhante a análise PROCHECK para o modelo *AaegGABA* (Figura 6 B), revelou que 93,2% dos resíduos em regiões favoráveis, 6,4% em regiões permitidas e 0,2% nas regiões proibidas.

Os resultados para o *AalbAChE* (Figura 6C) também demonstraram um alta taxa de resíduos em regiões favoráveis com 89,8 % , valor bem próximo ao *AaegAChE*. Exibindo ainda uma porcentagem de 9,3% em regiões permitidas e 0,0% em regiões proibidas. Para o *AlboGABA* (Figura 6 D), a porcentagem para regiões favoráveis foi de 92,9% e regiões permitidas 6,7%.

Figura 6 - Gráficos de Ramachandran dos modelos das proteínas AChE e GABA. (A–B) *AeagAChE* e *AeagGABA*; (C–D) *AalbAChE* e *AalbGABA*



Fonte: Arquivo do autor, 2025.

Demonstrando que esses valores com uma variação inferior a 1% entre os modelos testados, reforçam a constância conformacional, ou seja, a qualidade geométrica homogêneas das estruturas tridimensionais, validando as mesmas para serem usadas em experimentos subsequentes, o que confirma a boa qualidade geral do modelo. Os modelos de AChE

apresentaram um bom alinhamento estrutural, a *AaegAChE* exibiu RMSD de 0,113 Å, mantendo os resíduos catalíticos Ser258, Glu387 e His501, enquanto AlboAChE apresentou o menor desvio de 0,072 Å, preservando a tríade Ser327, Glu387 e His501.

Tabela 3 - Alinhamento das proteínas modeladas e seus sítios ativos.

Organismo	Proteínas	PBD Molde	RMSD	Sítio catalítico
<i>Ae. aegypti</i>	<i>AaegAChE</i>	AChE <i>Drosophila melanogaster</i> (6XYY)	0,113 Å	Ser 258; Glu 387; His 501
	AaegGABA	Receptor GABA-A Homo sapiens (subunidade β3)	0,151 Å	Phe141; Glu199; Ser200; Phe201; Leu244; Thr246; Tyr249
<i>Ae. albopictus</i>	AalbAChE	AChE <i>Anopheles gambiae</i> (6ARY)	0,072 Å	Ser 327; Glu 387; His 501
	AalbGABA	Receptor GABA(A) Homo sapiens: subunidade α (9FFV)	0,124 Å	Leu274; Gln276; Ser343

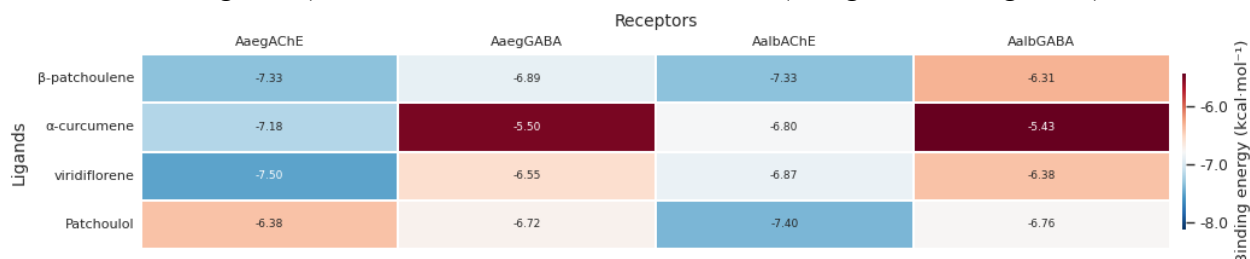
Fonte: Elaborado pelo Autor, 2025

Para os receptores GABA, os alinhamentos também foram consistentes. O modelo AaegGABA mostrou RMSD de 0,151 Å, com resíduos-chave no sítio ativo, como Phe141, Glu199 e Ser200. Já o AlboGABA apresentou RMSD de 0,124 Å, destacando resíduos como Leu274, Gln276 e Ser343. (Tabela 3).

3.2 Estudos de acoplamento Molecular

O acoplamento molecular foi realizado com os compostos, β-patchoulene α-curcumene viridiflorene Patchoulol identificados no óleo essencial de *V. officinalis L.* frente às proteínas alvo acetilcolinesterase (AChE) e receptor GABA de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. No mapa de calor (Figura 7), observa-se a distribuição das energias de ligação, com uma variação de -5,43 a -7,40 kcal·mol⁻¹. A tonalidade das cores representadas na Figura 7, demonstra a intensidade e estabilidade das interações entre os ligantes e os receptores. As regiões em azul correspondem aos valores mais negativos de energia de ligação, indicando interações mais fortes e complexos mais estáveis. Em contrapartida, as tonalidades avermelhadas representam energias menos negativas. Tendo como melhores resultados com uma menor energia de ligação, maior estabilidade e afinidade dos complexos os compostos viridiflorene, β-patchoulene e patchoulol.

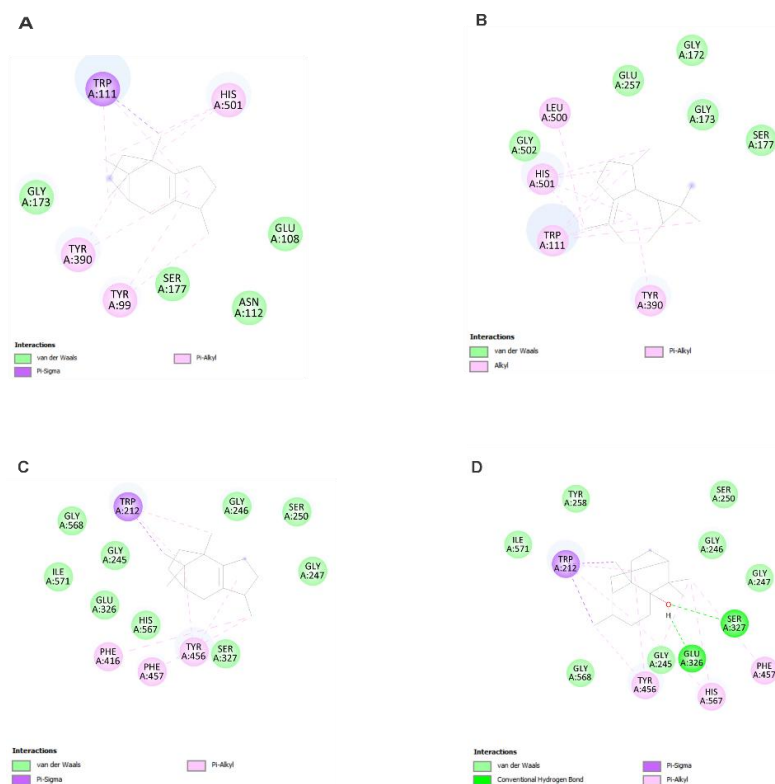
Figura 7 - Mapa de calor das energias de ligação entre os compostos de *V. officinalis L.* e AChE/GABA de *Ae. aegypti/Ae. albopictus*. Vermelha indica afinidade menor (energias menos negativas) e a cor azul indica afinidade maior (energias mais negativas).



Fonte: Arquivo do autor, 2025.

O resultado dos compostos como o viridiflorene com a menor energia de afinidade ($-7,50 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) com *AaegAChE*, indicou a afinidade mais forte entre todos os complexos analisados. O patchoulol também demonstrou alto potencial de interação, especialmente com a *AalbAChE* ($-7,40 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) e os receptores *AalbGABA* ($-6,76 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). O β-patchoulene manteve valores de energia consistente para *AalbAChE* e *AaegAChE* ($-7,33 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), reforçando seu potencial como inibidor colinérgico. Em seguida avaliamos as interações dos compostos de maior afinidade do óleo essencial de *V. officinalis L.* (Figura 8)

Figura 8 - Mapas de interação entre os ligantes e o sítio ativo da AChE. (A–B) Interações de β-patchoulene e viridiflorene com *AaegAChE*. (C–D) Interações de β-patchoulene e patchoulol com *AalbAChE*.



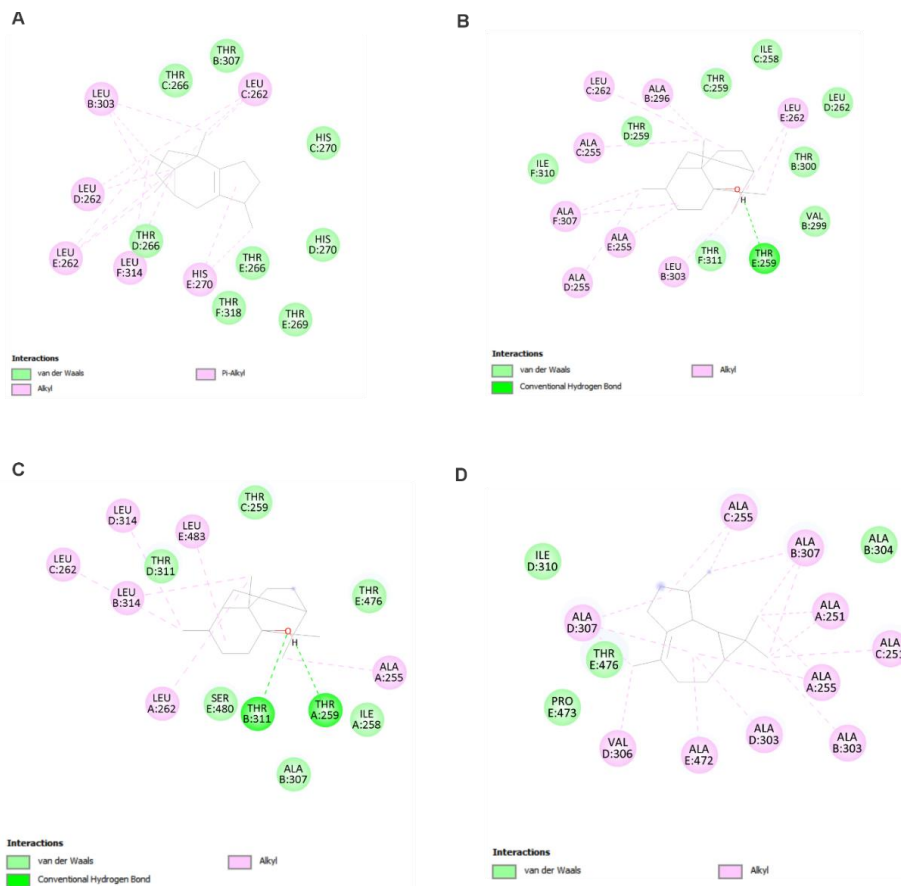
Fonte: Arquivo do autor, 2025.

No sítio da AaegChE, o β -patchoulene apresentou interações hidrofóbicas predominantes, ligações do tipo π -alkyl e π - σ com os resíduos TRP111, TYR99, TYR390 e HIS501, além das interações de van der Waals envolvendo resíduos GLU173, SER177, ASN112 e GLU108 (Figura 4A), indicando um padrão de ancoragem estável mediada por forças hidrofóbicas entre os compostos do ligante e a região interna do sítio ativo da AChE. O composto viridiflorene, também interagiu com a AegAChE (Figura 8B) formando interações do tipo π -alkyl com TRP111, TYR390 e HIS501, sustentadas por contatos da ligação do tipo van der Waals com GLY172, GLY173, SER177 E GLU257. A combinação de todas essas interações demonstra um encaixe flexível, com energia favorável e compatível com a alta afinidade de ligação entre o composto observado.

O resultado das ligações presentes na AalbAChE, para os seguintes compostos, β -patchoulene e patchoulol demonstram similaridade com a as interações encontradas no AegAChE. A interação do β -patchoulene apresentou ligações hidrofóbicas (Figura 8C) com interações π -alkyl e π - σ com TRP212, PHE416, PHE457, TYR456 e HIS567, além disso foi possível observar ligações van der Waal nos resíduos GLY245, GLY247, SER250, SER327, GLU326 e ILE571.

O patchoulol (Figura 8D), se destacou por apresentar como resultado as ligações hidrofóbicas com TRP212, TYR456, HIS567, PHE457, duas ligações de hidrogênio convencional no resíduo SER327 e 326, caracterizando uma interação polar mediada pelo grupo hidroxila do patchoulol, contribuindo para o aumento da estabilidade do complexo ligante proteína. Em relação as interações com o receptor GABA de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* ambos apresentaram perfis de ligações favoráveis (Figura 8), com os ligantes estabelecendo interações predominantes do tipo van der Waals, Alkyl, Pi-alkyl e ligações de hidrogênio convencionais.

Figura 9 - Mapas de interação entre os ligantes e o sítio ativo do receptor GABA. (A–B) Interações de β -patchoulene e patchoulol com o receptor GABA de *Aedes aegypti* (AegGABA). (C–D) Interações de patchoulol e viridiflorene com o receptor GABA de *Aedes albopictus* (AalbGABA).



Fonte: Arquivo do autor, 2025.

Nos complexos com o AegGABA, o β -patchoulene e o patchoulol formaram múltiplos contatos hidrofóbicos com resíduos LEU303, LEU314, LEU262, THR307, além de interações Pi-alkyl que contribuem para estabilidade conformacional do complexo (Figura 9A e B). O patchoulol apresentou ainda uma ligação de hidrogênio convencional como resíduo THR3011, reforçando a afinidade do ligante pelo sítio ativo. Para o AlbGABA(Figura 9C e D). os compostos patchoulol e viridiflorene interagiram de modo semelhantes, as ligações predominantes foram do tipo Alkyl e van der Waals com os resíduos LEU314, THR259, ALA255, ILE258, VAL299, THR311 E THR476. Nos resultados a formação de ligações de hidrogênio convencionais com THR311 e THR259, sugerindo específicas e um encaixe molecular estável, principalmente para o complexo viridiflorene AalbGABA, que demonstrou ser melhor forma tridimensional e orientação de espacial dos átomos do ligante, se ajustando de forma ideal ao formato do sítio ativos da proteína.

4. DISCUSSÃO

Os parâmetros de validação identidade de sequência, GMQE, QMEANDisCo e gráficos de Ramachandran indicam modelos consistentes e adequados para o acoplamento molecular. As energias de ligação negativas e a predominância de interações hidrofóbicas, van der Waals e ligações de hidrogênio evidenciam forte afinidade dos ligantes pelos sítios ativos, sugerindo não apenas estabilidade estrutural, mas também potencial relevância biológica dessas interações.

A identidade de sequência entre as proteínas alvo e seus respectivos moldes foi utilizada como um dos principais critérios para a seleção dos templates e para a estimativa preliminar da qualidade dos modelos. Em nossos resultados obtidos, as identidades variaram de 57,36% a 92,58%, valores significativamente superiores ao limite mínimo geralmente recomendado para a construção de modelos estruturalmente confiáveis. Demonstrando que os modelos gerados possuem qualidade e uma menor probabilidade de erro de alinhamento (Zhan *et al.*, 2014; Shakoori *et al.*, 2024).

Além da identidade de sequência, a validação dos parâmetros GMQE e QMEANDisCo também foi fundamental para verificar a coerência estrutural dos modelos gerados. Os valores de GMQE variaram de 0,56 a 0,80, sendo o menor para AalbGABA (9FFV) e o maior para *AaegAChE* (6XYY). Os demais modelos apresentaram valores intermediários, como 0,63 para *AaegGABA* (7PBQZ) e 0,74 para AalbAChE (6ARY). Esses resultados situam todos os modelos dentro da faixa considerada adequada para estudos de acoplamento molecular, já que o GMQE varia entre 0 e 1, e valores mais altos indicam maior confiabilidade estrutural (Omoniwa *et al.*, 2024). Omoniwa *et al.*, (2024), menciona que $GMQE \geq 0,60$ é frequentemente interpretado como indicativo de modelos robustos, o que reforça que os valores obtidos neste trabalho mesmo o menor, 0,56 se aproximam do limite recomendado e permanecem compatíveis com modelos estruturalmente aceitáveis.

Para a pontuação QMEANDisCo, que corresponde ao valor médio caCLulado para cada resíduo do modelo, valores inferiores a 0,6 indicam baixa qualidade estrutural (Ongtanasup *et al.*, 2022). Nos modelos obtidos neste estudo, as pontuações globais variaram entre $0,78 \pm 0,05$ e $0,92 \pm 0,05$ indicando boa confiabilidade estrutural. Resultados semelhantes foram relatados por Sandy e Winanda (2022), que obtiveram QMEANDisCo de aproximadamente $0,84 \pm 0,07$ ao modelar a proteína OBP1 de *Anopheles farauti*, e por Rants'o *et al.* (2022), que reportaram QMEANDisCo de $0,92 \pm 0,05$ para a AChE de *Anopheles*. Esses valores reforçam que a faixa

de QMEANDisCo encontrada neste estudo está de acordo com modelos estruturalmente confiáveis descritos na literatura.

A qualidade estereoquímica realizada através dos gráficos de Ramachandran apresentou para o modelo *AaegAChE* de 88,6% de resíduos em regiões favoráveis, 11% em regiões consideradas permitidas e 0,4% em regiões desfavoráveis. No entanto, o modelo *AalboAChE* apresentou apenas resíduos em regiões favoráveis (92,9%). Para o modelo *AaegGABA*, a porcentagem de resíduos em regiões favoráveis foi de 93,2%, 6,4% em regiões permitidas e 0,2 % em regiões proibidas. No modelo *AalboGABA* essa proporção se manteve os padrões ,com 92,9% dos resíduos em áreas favoráveis, 6,7 % em regiões permitidas e 0,1% em regiões desfavoráveis.

Demonstrando que a maior parte dos resíduos estão em conformações estaticamente estáveis do *backbone*, influenciando diretamente na confiabilidade adequada dos ângulos ϕ e ψ e organização correta do sítio ativo. De forma semelhante, as estruturas *AaegGABA*, *AlboAChE* e *AlboGABA*, apresentaram proporção de resíduos distribuídos em regiões energeticamente estáveis acima de 90%, indicando boa organização estereoquímica e confiabilidade estrutural e qualidade das cadeias principais (Laskowski *et al.*, 1993).

Araujo *et al.*, (2024), que observaram valores acima de 90% de regiões favoráveis para modelo selecionados para a modelagem por homologia de AChE e para os modelos proteicos do receptor GABA. Os autores demonstram que modelos com mais de 90% de regiões favorecidas do gráfico de Ramachandran apresentam qualidade estereometria adequada, além disso, os autores reforçam que valores elevados de QMEAN apoiam a confiabilidade dos modelos construídos.

Millan-Casarrubias *et al.* (2025), observaram em seus estudos de *docking* molecular que quanto menor a energia de ligação maior será a estabilidade de interação dos complexos. Nossos resultados com o mapa de calor e agrupamento das energias de ligação do acoplamento molecular mostraram interações favoráveis para *AaegAChE*, *AaegGABA*, *AalbAChE* e *AalbGABA* com energias entre -7,50 a -6,76 kcal/mol para os compostos como viridiflorene, patchoulol e β -patchoulene que apresentaram uma maior afinidade do ligante à proteína-alvo. Para o complexo *AaegAChE* o maior valor de energia de ligação com maior afinidade foi com o viridiflorene com energia de -7,50 kcal/mol. Os complexos *AalbAChE* e *AalbGABA* obtiveram energias de -7,40 e -6,76 kcal/mol ambas com o composto patchoulol. Já o complexo *AaegGABA* obteve maior afinidade com o β -patchoulene com uma energia de -6,89 kcal/mol.

Similarmente a esses resultados Beniaich *et al.*, (2023) e Alimi *et al.*, (2024) relatam energias de ligação negativas de -7 a -6 kcal/mol dos sesquiterpenos frente a AChE, reforçando que valores mais negativos de energia estão associados a maior afinidade dos ligantes pelo sítio ativo. Nos complexos analisados, foi possível observar a predominância de interações hidrofóbicas do tipo alkyl e π -alkyl, contatos de van der Waals e ligações de hidrogênio convencionais, que atuam de forma complementar na estabilização do ligante (BSER *et al.*, 202).

O RMSD é a métrica usada para medir o quão semelhante um modelo tridimensional é em relação à estrutura de referência. Neste estudo, os valores de RMSD variaram de 0,072 a 0,113 Å para AalbAChE e *AaegAChE*, e de 0,124 a 0,151 Å para AalbGABA e *AaegGABA*. Segundo Martí-Renom *et al.* (2000), resultados nessa faixa são considerados estruturalmente confiáveis e próximos da conformação nativa, indicando excelente sobreposição atômica, uma vez que modelos de homologia com RMSD inferiores a 2 Å já são classificados como adequados e bem ajustados ao molde cristalográfico.

Na análise de acoplamento molecular, os compostos β -patchoulene e viridiflorene estabelecem interações hidrofóbicas relevantes para *AaegAChE* do tipo π -alkyl, π - σ e van der Waals com resíduos aromáticos e apolares do sítio ativo. Esse padrão também foi observado para o AalbAChE com o composto β -patchoulene, mantendo ligações hidrofóbicas como principal força estabilizadora. Para o composto patchoulol além das ligações hidrofóbicas formou-se duas ligações de hidrogênio nos resíduos Glu326 e SER327, atuando como pontos específicos de ancoragem e contribuindo para o ajuste conformacional do ligantes de dentro da cavidade, facilitando as interações moleculares (Millan-Casarrubias *et al.*, 2025)

Nos complexos GABA, observou-se que o β -patchoulene se liga tanto ao *AaegGABA* quanto ao *AlboGABA* principalmente por meio de interações hidrofóbicas, como van der Waals e π -alkyl, que são típicas da região apolar do sítio de ligação desses receptores. Já o patchoulol, embora também utilize essas interações hidrofóbicas, apresenta um comportamento diferente: ele forma ligações de hidrogênio adicionais, o que lhe confere um encaixe mais firme. No *AaegGABA*, esse contato ocorre com o resíduo Thr259 da (cadeia E). No *AlboGABA*, o patchoulol estabelece duas ligações de hidrogênio, envolvendo Thr311 (cadeia B) e Thr259 (cadeia A). Padrão semelhante foi descrito para monoterpenos e sesquiterpenos de óleos essenciais interagindo com receptores GABA de *D. sukukii* e coleópteros de armazenamento, em que van der Waals e interações alkyl/ π -alkyl com resíduos apolares constituem o principal determinante de afinidade (Araújo *et al.*, 2024).

5. CONCLUSÃO

Os modelos tridimensionais da acetilcolinesterase e do receptor GABA apresentaram qualidade estrutural satisfatória, permitindo a realização confiável dos estudos de acoplamento molecular. Os sesquiterpenos viridiflorene, patchoulol e β -patchoulene exibiram afinidade significativa por esses alvos neurofisiológicos, sustentada por interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, indicando potencial interferência na neurotransmissão dos insetos. A coerência entre os resultados computacionais e os efeitos observados nos bioensaios sugere que esses alvos contribuem para a toxicidade registrada experimentalmente em *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*. Dessa forma, o acoplamento molecular se mostra uma ferramenta relevante para a interpretação dos mecanismos de ação do óleo essencial de *V. officinalis* L., embora estudos experimentais adicionais sejam necessários para a confirmação funcional e aplicação prática no controle vetorial.

REFERÊNCIAS

- ABDEL RAZEK, F. S. *et al.* In silico molecular docking analysis of green tea bioactive compounds targeting banana bunchy top virus proteins. **Discover Applied Sciences**, v. 7, n. 11, p. 1232, 2025.
- ABUHAMDAHP, S. *et al.* A molecular docking study of *Aloysia citrodora* Palau leaf essential oil constituents towards human acetylcholinesterase: implications for Alzheimer's disease. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 13, 2020.
- ALIMI, D. *et al.* Bioactivity and molecular docking studies of selected plant compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 104, n. 7, p. 4391–4399, 2024.
- ARAÚJO, S. H. *et al.* Contributions of γ -aminobutyric acid (GABA) receptors for the activities of *Pectis brevipedunculata* essential oil against *Drosophila suzukii* and pollinator bees. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1392, 2024.
- ARYAPREMA, V. S. *et al.* A systematic review of published literature on mosquito control action thresholds across the world. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 3, p. e0011173, 2023.
- BAROROH, U. *et al.* Molecular interaction analysis and visualization of protein–ligand docking using BIOVIA Discovery Studio Visualizer. **Indonesian Journal of Computational Biology**, v. 2, p. 22–30, 2023.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. 3. ed. Boca Raton; London; New York: CRC Press, 2020.
- BENIAICH, G. *et al.* Chemical characterization, antioxidant, insecticidal and anti-cholinesterase activity of essential oils extracted from *Cinnamomum verum* L. **Separations**, v. 10, n. 6, p. 348, 2023.

BHARADWAJ, N. *et al.* Omics approaches in understanding insecticide resistance in mosquito vectors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 5, p. 1854, 2025.

CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Novel GABA receptor pesticide targets. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 22–30, 2015.

CHEN, D. *et al.* Regulation of protein–ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. **Science Advances**, v. 2, n. 3, 2016.

DE SOUZA, S. J. P. *et al.* Spatial and temporal distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* oviposition on the coast of Paraná, Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 9, p. 246, 2022.

FRANÇA, L. P. *et al.* *Piper capitarianum* essential oil: a promising insecticidal agent for the management of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 8, p. 9760–9776, 2020.

GAN, S. J. *et al.* Dengue fever and insecticide resistance in *Aedes* mosquitoes in Southeast Asia: a review. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 1–19, 2021.

JUMBO, L. V. O. *et al.* Phytochemistry, mode of action predictions, and synergistic potential of *Hyponia irregularis* essential oil mixtures for controlling *Aedes aegypti*. **Toxins**, v. 17, n. 8, p. 402, 2025.

KRAEMER, M. U. G. *et al.* The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **eLife**, v. 4, 2015.

LAPORTA, G. Z. *et al.* Global distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a climate change scenario of regional rivalry. **Insects**, v. 14, n. 1, p. 49, 2023.

LASKOWSKI, R. A. *et al.* PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 26, n. 2, p. 283–291, 1993.

LI, Y. *et al.* Distribution areas and monthly dynamic distribution changes of three *Aedes* species in China. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2023.

LIU, J. *et al.* Insecticidal terpenes from the essential oils of *Artemisia nakaii* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 720816, 2021.

MARTÍ-RENOM, M. A. *et al.* Comparative protein structure modeling of genes and genomes. **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, v. 29, n. 1, p. 291–325, 2000.

MILLAN-CASARRUBIAS, E. J. *et al.* Molecular docking and pharmacological in silico evaluation of camptothecin and related ligands as promising HER2-targeted therapies. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 47, n. 3, p. 193, 2025.

MOYES, C. L. *et al.* Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. e0005625, 2017.

OMONIWA, B. P. *et al.* Larvicidal and adulticidal activities of essential oil of *Helianthus annuus* and molecular docking. **Informatics in Medicine Unlocked**, v. 45, p. 101446, 2024.

ONGTANASUP, T. *et al.* Homology modeling, molecular docking and molecular dynamic simulation of modified alpha-mangostin. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6338, 2022.

PASSOS, C. S. *et al.* Terpenóides com atividade sobre o sistema nervoso central. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 140–149, 2009.

RANTS’O, T. A. *et al.* In silico and in vitro analysis of donepezil derivatives for *Anopheles* acetylcholinesterase inhibition. **PLOS ONE**, v. 17, n. 11, p. e0277363, 2022.

SANDY, S.; WINANDA, E. Homology modeling of odorant-binding protein-1 of *Anopheles farauti*. **Biomedical and Pharmacology Journal**, v. 15, n. 3, p. 1759–1768, 2022.

SHAKOORI, A. M. *et al.* Molecular docking of daunorubicin and etoposide drugs against *Leishmania donovani*. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 61, n. 3, p. 369–375, 2024.

WANG, J. *et al.* Chemical analysis and biological activity of the essential oils of *Valeriana officinalis*. **Molecules**, v. 15, n. 9, p. 6411, 2010.

ZHAN, D. *et al.* Exploring the molecular basis for selective binding by virtual screening. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 2, p. 1826–1841, 2014.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o óleo essencial da raiz de *V. officinalis* L. apresenta atividade larvicida e adulticida significativa contra *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, associada a uma composição química rica em sesquiterpenos. As diferenças de susceptibilidade observadas entre as espécies e entre os estágios de desenvolvimento indicam que a ação do óleo essencial é influenciada por características fisiológicas e bioquímicas dos insetos, evidenciando a complexidade da resposta aos compostos naturais.

A integração entre os bioensaios e as análises computacionais permitiu avançar na compreensão dos possíveis mecanismos de ação envolvidos. Os estudos de acoplamento molecular indicaram afinidade significativa dos principais sesquiterpenos pelos alvos neurofisiológicos acetilcolinesterase e receptor GABA, sugerindo potencial interferência na neurotransmissão dos mosquitos. A coerência entre os resultados experimentais e computacionais reforça a relevância desses alvos para a toxicidade observada.

Apesar do potencial inseticida evidenciado, a ausência de seletividade frente a organismos não alvo e a variabilidade química inerente aos óleos essenciais indicam que a aplicação prática do óleo essencial de *V. officinalis* L., no controle vetorial requer cautela. Dessa forma, estudos adicionais voltados à avaliação da segurança ecológica, padronização química e validação funcional dos mecanismos propostos são necessários para viabilizar sua utilização de forma segura e eficaz.